

STRESZCZENIE

Rodzaj *Actinidia* Lindl. w rodzinie Actinidiaceae jest znany głównie z powodu owoców kiwi dwóch gatunków: *Actinidia chinensis* var. *deliciosa* oraz *A. chinensis* var. *chinensis*. *Actinidia arguta* (Siebold et Zucc.) Planch. ex Miq., nazywana także mini-kiwi jest jednym z 15 gatunków *Actinidia*, których owoce są jadalne. Obecnie owoce mini-kiwi są coraz bardziej popularne wśród konsumentów ze względu na ich cenne właściwości odżywcze, jednak krótki czas przechowywania i nierównomierne dojrzewanie owoców stanowią duży problem, a jego rozwiązanie jest wyzwaniem dla hodowców. Co więcej, otrzymanie nowej odmiany u gatunków drzewiastych i dostarczenie jej na rynek jest przedsięwzięciem czasochłonnym, ponieważ zajmuje średnio 12 do 14 lat.. Nasiona roślin okrytozalążkowych zawierają tkankę zapasową zwaną bielmem, która powstaje w wyniku podwójnego zapłodnienia i posiada - w porównaniu do zarodka – podwojoną ilość matczyne DNA. Do tej pory brak jest doniesień o odróżnicowaniu i organogenezie bielma w warunkach *in planta*. Jednak warunki eksperymentalne z wykorzystaniem metodologii roślinnych kultur tkankowych, umożliwiającą w założeniu pozyskanie nowej rośliny nawet z pojedynczej komórki, mogą stanowić obiecującą alternatywę dla hodowli tkanki bielmowej w warunkach *ex vitro*. Znane są doniesienia o regeneracji roślin z bielma w warunkach *in vitro*. W przedstawionej pracy doktorskiej zastosowałem technikę *in vitro* do kultury bielma wyizolowanego z nasion czterech tetraploidalnych odmian *A. arguta*: Bingo, Geneva, Scarlet September Kiwi i Weiki, w celu uzyskania roślin o wyższej ploidalności. Kultura prowadzona na pożywce z tidiazuronem (TDZ) doprowadziła do powstania *de novo* pędów przybyszowych z efektywnością 0.27, 0.03 i 0.01 odpowiednio dla odmiany Bingo, Scarlet September Kiwi i Geneva. W przypadku kiedy eksplantatami było bielmo wyizolowane z jednorocznych nasion tylko odmiana Bingo zareagowała organogenezą z efektywnością 0.14. Kontynuację wzrostu pędów uzyskano tylko dla odmiany Bingo i Scarlet September Kiwi na pożywkach z zeatyną lub metatopoliną. Pędy ukorzeniały się na pożywce z kwasem 3-indoliloctowym. Około 50% ukorzenionych regenerantów przeżyło etap aklimatyzacji do warunków glebowych. Analiza cytometrem przepływowym potwierdziła bielmowe pochodzenie uzyskanych regenerantów z bielma odmian Bingo i Scarlet September Kiwi. Są to pierwsze badania o uzyskaniu hexaploidów i oktaploidów z tetraploidalnej tkanki bielma odmian Bingo i Scarlet September Kiwi. Uzyskane regeneranty mini-kiwi i opracowana procedura, przy zastosowaniu której je otrzymano, może otworzyć nowe możliwości dla ulepszenia zasobów genowych tego gatunku, a same regeneranty mogą stanowić materiał hodowlany do uzyskania nowych odmian. W

prezentowanej pracy przedstawiam także szczegółową morfologiczno-histologiczną analizę bielma utrzymywanego w różnych warunkach kultury. Stwierdziłem, że świeżo wyizolowane bielmo *A. arguta* odmiany Bingo jest tkanką bogatą w substancje lipidowe i białkowe. Formowanie kalusa zostało stwierdzone po czterech tygodniach w warunkach kultury morfogennej na pożywce z 0.5 mg/l TDZ. Natomiast kalus w warunkach kultury niemorfogennej na pożywce z 2 mg/l 2,4-D i 5 mg/l kinetyny utworzył się po dwóch tygodniach kultury. Organogeneza de novo została zaobserwowana po sześciu tygodniach w warunkach kultury morfogennej. Kalus morfogeny miał zwartą strukturę, był zbudowany z równowymiarowych komórek i miał zielono-żółtawe zabarwienie. W odróżnieniu do kalusa morfogenego, kalus niemorfogeny był bardzo miękki, mocno uwodniony i zbudowany z wydłużonych komórek. Histologiczna analiza eksplantatów bielma utrzymywanych w warunkach kultury morfogennej potwierdziła formowanie kalusa morfogenego, natomiast w warunkach kultury niemorfogennej – kalusa niemorfogenego. Kalus organogeny był zbudowany z komórek izodiametrycznych, podczas gdy kalus nieorganogeny był zbudowany z luźno przylegających do siebie wydłużonych komórek. W warunkach kultury morfogennej zaobserwowano odkładanie w eksplantatach znacznych ilości skrobi. Nieliczne ziarna skrobi stwierdzono w kulturze niemorfogennej. Extracellular matrix bogatą w polisacharydy stwierdzono zarówno w kulturze morfogennej, jak i niemorfogennej. Jednakże zewnątrzkomórkowe substancje lipidowe wykryto tylko w warunkach kultury morfogennej.