

Streszczenie

Taraxacum pieninicum Pawł. jest krytycznie zagrożonym wyginięciem gatunkiem, występującym tylko na jednym stanowisku na terenie Pienin Centralnych w Karpatach Zachodnich. Ochrona *in situ* oraz *ex situ* (kolekcje w Ogrodach Botanicznych) jest dla tego gatunku mało efektywna z uwagi na brak syntezy taraksacyny i znaczące zgryzanie liści przez gatunki roślinożerne oraz szybką utratę żywotności nasion. Dlatego też kultura *in vitro* wydaje się zasadną metodą ochrony *T. pieninicum*, która umożliwia uzyskanie licznych osobników z niewielkiej ilości materiału wyjściowego.

Celem prezentowanej dysertacji doktorskiej było zbadanie możliwości przechowywania *T. pieninicum* w formie sztucznych nasion w warunkach spowolnionego wzrostu w kulturze *in vitro*. Ponadto oceniono możliwość wydłużenia czasu przechowywania zakapsułowanych eksplantatów poprzez wykorzystanie naturalnych retardantów wzrostu – kwasu abscysynowego (ABA) i kwasu jasmonowego (JA) oraz zweryfikowano możliwość konserwacji sztucznych nasion bez pożywki wzrostowej.

Uzyskane wyniki wykazały, iż światło w połączeniu z niską temperaturą, niezależnie od zastosowanej procedury przechowywania sztucznych nasion *T. pieninicum*, stanowiło czynnik stresogenny, który negatywnie wpływał na kondycję chłodzonego materiału roślinnego. Z kolei po przechowywaniu przez 12 miesięcy w ciemności, eksplantaty zachowywały zdolność do namnażania, która była porównywalna do materiału niechłodzonego. W pracy zastosowano dwa sposoby traktowania eksplantatów ABA oraz JA. Retardanty wzrostu zastosowano podczas prekultury poprzedzającej chłodzenie oraz w trakcie chłodzenia. Prekultura wierzchołków wzrostu na pożywce z dodatkiem ABA prowadziła do obniżenia współczynnika namnażania pędów i zahamowania ich wzrostu. Z kolei JA nie wpływał na zdolność pędów do proliferacji, ale również hamował ich wzrost. ABA oraz JA efektywnie hamowały wzrost zakapsułowanych pędów również w trakcie przechowywania. Parametry biochemiczne wykazały jednak, iż zastosowanie JA wydajniej ogranicza negatywny wpływ stresu chłodu w porównaniu do ABA, co stwierdzono na podstawie analiz poziomu H_2O_2 , TBARS oraz proliny w przechowywanym materiale. Obniżenie kosztów oraz ograniczenie wymaganej przestrzeni i wyposażenia laboratoryjnego uzyskano poprzez przechowywanie sztucznych nasion na szalkach bez pożywki wzrostowej. Wyniki wykazały, iż suplementacja sztucznego bielma sacharozą w stężeniu 3 i 6 % umożliwia przechowywanie sztucznych nasion przez 6 miesięcy bez wpływu na zdolność do późniejszego rozmnożenia pędów w warunkach optymalnego wzrostu. Natomiast przechowywanie sztucznych nasion na pożywce MS umożliwiło ich konserwację przez 12 miesięcy bez konieczności pasażowania. Ponadto wykazano możliwości wydłużenia

tego okresu poprzez zastosowanie ABA oraz JA. W pracy udowodniono również, iż kultywowanie materiału w warunkach *in vitro* nie wpływa negatywnie na proces kwitnienia tego gatunku po aklimatyzacji do warunków *ex vitro*. Uzyskane po przechowywaniu regeneranty nie wykazywały zmienności somaklonalnej. Stabilność genetyczną uzyskanych roślin zbadano z zastosowaniem cytometrii przepływowej oraz systemów markerowych DNA (RAPD, ISSR, SCoT).

Uzyskane wyniki wskazują, że opracowana procedura przechowywania wierzchołków wzrostu *T. pieninicum* w połączeniu z mikropropagacją po okresie chłodzenia, może być wykorzystana jako narzędzie aktywnej ochrony tego gatunku.

16.09.2018r.

Remińska Monika