

Rośliny w warunkach kultur in vitro wykazują nieograniczoną zdolność komórek do dzielenia się i odtwarzania całego organizmu roślinnego. Szczególną metodą rozmnażania wegetatywnego jest somatyczna embriogeneza (SE), w której do formowania się zarodków dochodzi z komórek wegetatywnych (somatycznych) ciała rośliny. Zjawisko to ze względu na wysoką efektywność jest szeroko wykorzystane w masowym rozmnażaniu wielu ważnych gospodarczo gatunków, zaś ze względu na szczególne podobieństwo do embriogenezy zygotycznej jest kluczowe w badaniach nad embriologią roślin i ich rozwojem. Dotychczas poznano i opisano czynniki i warunki indukujące tę drogę regeneracji, jak również przebieg rozwoju zarodków somatycznych w różnych grupach systematycznych. Zidentyfikowano również szereg genów i białek wskazywanych jako markery SE. Jednakże stale aktualne pozostaje pytanie postawione w 2005 roku na łamach czasopisma Science „Jak pojedyncza komórka staje się kompletną rośliną?” Opisany przez nas w 2015 roku system SE u tropikalnej paproci drzewiastej *Cyathea delgadii* może przyczynić się do pogłębienia wiedzy na ten temat. Unikalny charakter tego systemu eksperymentalnego polega przede wszystkim na: jednokomórkowym, epidermalnym pochodzeniu zarodków somatycznych oraz zachodzeniu procesu SE bez udziału roślinnych regulatorów wzrostu w pożywce. Jego atutem jest również wysoka efektywność i powtarzalność.

W skomplikowanym, wielokomórkowym organizmie roślinnym komórki komunikują się poprzez system błon cytoplazmatycznych (symplast) i ściany komórkowe (apoplast). Symplastowa i apoplastowa łączność pozwala na precyzyjną wymianę informacji pomiędzy komórkami, kontrolując w ten sposób procesy wzrostu i rozwoju roślin. Zakłada się, że w kulturze in vitro zainicjowanie SE z pojedynczej komórki somatycznej jest poprzedzone utratą jej łączności z komórkami sąsiednimi. W związku z tym celem naszych badań będzie uzyskanie odpowiedzi na pytanie czy istnieje korelacja między zmianami w komunikacji międzykomórkowej a różnicowaniem się komórek w procesie somatycznej embriogenezy.

Obiektem eksperymentalnym będą młodociane roślinki (sporofity) *C. delgadii* utrzymywane w kontrolowanych warunkach kultury in vitro. Do badań zostaną pobrane 2,5 mm długości fragmenty ogonków liściowych, których pojedyncze komórki epidermalne są źródłem zarodków somatycznych w ciągu 10 dni kultury. Jako kontrola zostaną wykorzystane eksplantaty niezdolne do SE oraz takie, w których zarodki wykazują wielokomórkowe pochodzenie. Ich osmotyczne stresowanie podnosi efektywność SE i zmienia drogę pochodzenia zarodków z wielokomórkowej w jednokomórkową. W badaniu komunikacji między komórkami zostaną użyte różne barwniki fluorescencyjne mogące przemieszczać się pomiędzy komórkami, a także przeciwciała reagujące ze składnikami budującymi ściany komórkowe. Zmiany w łączności międzykomórkowej zostaną zobrazowane z wykorzystaniem różnorodnych technik mikroskopii świetlnej, elektronowej transmisyjnej i skaningowej oraz konfokalnej.

Końcowym efektem badań będzie pogłębienie wiedzy o mechanizmach regulujących komunikację między roślinnymi komórkami na drodze symplastu i apoplastu w procesie SE i formowaniu zarodka. Badania z wykorzystaniem paproci *C. delgadii* przyczynią się więc do lepszego poznania tej drogi powstawania roślin, szczególnie w zakresie mechanizmów inicjowania embriogenicznej zdolności. Wykazanie korelacji pomiędzy czasową izolacją komórek i ich zdolnością do różnicowania zarodków somatycznych uzupełni skąpą wiedzę na temat wczesnego etapu embriogenezy roślin. W praktyce, pogłębiona wiedza na temat mechanizmów indukowania SE, może uutorować drogę intensyfikacji systemów regeneracyjnych innych roślin bazujących na tej drodze regeneracji.