

Streszczenie rozprawy doktorskiej

pt.: **Uwarunkowanie zmienności epigenetycznej i genetycznej indukowanej w kulturach *in vitro* u pszenżyta (*x Triticosecale* spp. Wittmack ex A. Camus)**

składającej się z publikacji:

1. **Machczyńska J**, Orłowska R, Zimny J, Bednarek P (2014) Extended metAFLP approach in studies of tissue culture induced variation (TCIV) in triticale. *Mol Breeding*:34: 845-854. doi:10.1007/s11032-014-0079-2
2. **Machczyńska J**, Orłowska R, Mańkowski D, Zimny J, Bednarek P (2014) DNA methylation changes in triticale due to *in vitro* culture plant regeneration and consecutive reproduction. *Plant Cell Tiss Organ Cult*:119: 289-299. doi:10.1007/s11240-014-0533-1
3. **Machczyńska J**, Zimny J, Bednarek P (2015) Tissue culture-induced genetic and epigenetic variation in triticale (*x Triticosecale* spp. Wittmack ex A. Camus 1927) regenerants. *Plant Mol Biol* 89, 279-292. doi: 10.1007/s11103-015-0368-0

Kultury tkankowe mogą być wykorzystane do produkcji roślin haploidalnych oraz podwojonych haploidów. Spośród wielu metod otrzymywania haploidów i podwojonych haploidów androgeneza odgrywa znaczącą rolę u wielu gatunków roślin. Jednakże regeneracja roślin w kulturach *in vitro* może indukować zmienność na poziomie morfologicznym, biochemicznym, genetycznym oraz epigenetycznym. Zmienność ta jest obserwowana u regenerantów i/lub ich potomstwa. W niniejszej pracy omówiono bibliografię dotyczącą zmienności indukowanej w kulturach *in vitro* u regenerantów i zmienności somaklonalnej u potomstwa regenerantów, zaprezentowano nowe możliwości metody metAFLP przeznaczonej do analizy zmian indukowanych w kulturach *in vitro* oraz wykonano ocenę tych zmian u pszenżyta. Pszenżyto stanowi interesujący obiekt badawczy ze względu na jego pochodzenie i postęp w hodowli, jednakże nie jest powszechnie stosowane w badaniach nad zmiennością. W niniejszej pracy badania prowadzono na roślinach donorowych, będących podwojonymi haploidami pszenżyta odmiany Bogo, ich regenerantach otrzymanych na drodze androgenezy i embriogenezy somatycznej oraz potomstwie generatywnym regenerantów. Na podstawie analizy metAFLP stwierdzono m.in. przewagę zmienności sekwencyjnej nad zmiennością wzorów metylacji u regenerantów pszenżyta. Badania przeprowadzone za pomocą RP-HPLC wykazały, że poziom globalnej metylacji DNA był najwyższy w roślinach donorowych, zmniejszał się w regenerantach i pierwszym/drugim pokoleniu generatywnym, a w kolejnym pokoleniu poziom globalnej metylacji wzrastał. Zaobserwowano wpływ genotypu i systemu regeneracji roślin na poziom analizowanych zmian. Wyniki dotyczące globalnej metylacji DNA uzyskane za pomocą metAFLP zestawiono z wynikami metody RP-HPLC. Rezultaty omówionych powyżej badań przedstawiono w postaci trzech publikacji w indeksowanych czasopismach naukowych.

Abstract: Tissue culture – induced genetic and epigenetic variation in triticale

(x *Triticosecale* spp. Wittmack ex A. Camus)

encompassing the following publications:

1. **Machczyńska J**, Orłowska R, Zimny J, Bednarek P (2014) Extended metAFLP approach in studies of tissue culture induced variation (TCIV) in triticale. *Mol Breeding*:34:845-854. doi:10.1007/s11032-014-0079-2
2. **Machczyńska J**, Orłowska R, Mańkowski D, Zimny J, Bednarek P (2014) DNA methylation changes in triticale due to *in vitro* culture plant regeneration and consecutive reproduction. *Plant Cell Tiss Organ Cult*:119: 289-299. doi:10.1007/s11240-014-0533-1
3. **Machczyńska J**, Zimny J, Bednarek P (2015) Tissue culture-induced genetic and epigenetic variation in triticale (× *Triticosecale* spp. Wittmack ex A. Camus 1927) regenerants. *Plant Mol Biol* 89: 279-292. doi: 10.1007/s11103-015-0368-0

In vitro plant regeneration from haploid generative cells is a common method used to obtain homozygous plants, the so-called doubled haploids (DH). However, *in vitro* culture may induce changes influencing the uniformity of regenerants and their subsequent progeny. The lack of expected consistency among *in vitro* regenerated plants may be observed at morphological, biochemical, genetic and epigenetic level. In our research, the plant material used to examine *in vitro* induced variation originated from homozygous and genetically uniform doubled haploid plants of triticale (cv Bogo), that were donors for their regenerants derived via androgenesis and somatic embryogenesis as well as their three subsequent generations of sexual progeny. The dissertation overviews the tissue culture-induced variation in regenerants and somaclonal variation in their offspring in different species. The research presents the development and application of metAFLP approach to study tissue culture-induced variation in triticale, species that has not been used for such analysis. MetAFLP revealed numerous genetic changes that prevailed over the epigenetic variation in triticale regenerants. RP-HPLC technique has been used to study global DNA methylation in donors, regenerants and their three constitutive generations. The results showed the decrease in the level of global DNA methylation from donor plants to the first/second progeny and then its slight increase. Both metAFLP and RP-HPLC techniques revealed the influence of genotype and plant regeneration method on tissue culture-induced variation. The global methylation changes observed via metAFLP have been correlated with results obtained from RP-HPLC. The results gathered from the study of tissue culture-induced variation and somaclonal variation in triticale have been recently published in peer-reviewed journals.

mgr Joanna Machczyńska