

# UDZIAŁ INSTYTUTU FIZJOLOGII ROŚLIN PAN W BUDOWANIU MIĘDZYNARODOWEJ SIECI WSPÓŁPRACY INSTYTUCJI I GRUP NAUKOWYCH

Franciszek Dubert (Kraków)

ARTYKUŁ INFORMACYJNY

## Wprowadzenie

Współpraca międzynarodowa w coraz większym stopniu staje się koniecznością, nie zaś przywilejem dostępnym tylko niektórym. Dzięki wspólnym badaniom można lepiej wykorzystywać własny potencjał aparaturowy, uzyskiwać dostęp do urządzeń, których własna placówka nie posiada, czy wreszcie występować wspólnie o projekty badawcze. Przyznać trzeba, że współpraca ta nie zawsze jest symetryczna, zwłaszcza w aplikacjach o granty, polskie placówki zbyt rzadko pełnią rolę instytucji koordynujących, częściej uczestnicząc jako tzw. podwykonawca. Sytuacja ta w przyszłości powinna się zmienić, tymczasem należy uświadomić sobie jej nieuchronność, bo tak jak w innych dziedzinach życia społeczeństwa, tylko otwarcie się na świat zewnętrzny i na konfrontację z tym światem umożliwi korzystanie z osiągnięć światowej nauki.

Instytut Fizjologii Roślin im. Franciszka Górskiego Polskiej Akademii Nauk, stara się, w miarę swoich możliwości materialnych i potencjału intelektualnego zespołu naukowego włączać w kooperację międzynarodową. Poniżej opisane będą główne kierunki i programy współpracy w układzie krajów/instytucji naukowych. Życie zwykle jest bogatsze od regulacji prawnych, więc współpraca ta przyjmuje różne formy organizacyjne, w tym i takie, których nie przewidział ustawodawca. Bardzo różny jest też okres tej współpracy, od pojedynczych lat do dziesiątek lat, jednak nie sposób zarzucać czytelnikowi nadmiarem informacji, więc ten aspekt poszczególnych przejawów współpracy zostanie pominięty.

**Partner zagraniczny:** Ustav Experimentální Botaniky A V ČR (Institute of Experimental Botany Academy of Sciences of the Czech Republic), Olomouc. Tytuł programu współpracy: Rola cytokinin w rozwoju generatywnym roślin.

Cytokiny są zaskakująco bogatą grupą hormonów roślinnych, zwłaszcza, jeśli uwzględnić oprócz czystych cząsteczek, także różne formy związane, fizjologicznie aktywne, bądź stanowiące jedynie formę puli rezerwowej. Badanie cytokinin metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej jest znacznie

efektywniejsze, jeśli posiada się spektrometr masowy, pozwalający na identyfikację związku przy wykorzystaniu towarzyszącej mu bogatej biblioteki, w przeciwnym razie badacz jest zmuszony stosować metodę wzorców chemicznych, jakby zamiast pytania jakie z związki chemiczne występują w badanej próbce, mógłby wprowadzić wzorzec i zapytać czy w badanej próbce jest obecna taka substancja, a jeśli odpowiedź jest negatywna, wprowadzić inny wzorzec i zapytać – to może ta substancja jest tam obecna, i tak dalej... Korzyści dla obydwu partnerów tej współpracy polegają na tym, że IFR PAN dysponuje unikalnym modelem indukcji rozwoju generatywnego roślin, zaś partner czeski może wykonać precyzyjne analizy ilościowe i jakościowe składu cytokinin przy użyciu chromatografu HPLC z przystawką do analizy masowej.

**Partner zagraniczny:** Institute of Plant Genetics and Biotechnology, Slovak Academy of Sciences, Nitra, Słowacja. Tytuł programu: Markery molekularne w analizie gradientu auksyny w zarodkach androgenicznych rzepaku.

Współpraca IFR PAN z instytucjami naukowymi zlokalizowanymi w Nitrze, dawniej z Katedrą Fizjologii Roślin Wyższej Szkoły Rolniczej datuje się od kilkunastu lat. Obejmowała zorganizowanie czterech wspólnych konferencji naukowych (dwie w Krakowie i dwie w ośrodku Naukowo-dydaktycznym w Rackovej Dolinie), natomiast temat obecnej współpracy wiąże się z badaniami prowadzonymi w IFR PAN, a dotyczącymi modelowego obiektu jakim są tzw. androgeniczne zarodki, powstające w warunkach *in vitro*, bezpośrednio z rozwijających się na drodze androgenyzy ziaren pyłku. Zarodki te pozwalają zbadać najwcześniejsze etapy rozwoju zarodków i porównać na ile ten modelowy przebieg procesu jest zgodny z przebiegiem naturalnej embriogenezy, a w jakich fragmentach obydwie procesy bieżą odrębnymi drogami. Badania te dotyczą więc najbardziej fundamentalnego procesu biologicznego, jakim jest przekształcenie się pojedynczej komórki (mikrogamety lub komórki jajowej) w złożony organizm zarodka. IFR PAN dysponuje dobrze opracowanym modelem cytologicznym procesu androgenyzy,

natomiast partner słowacki wykonuje analizy *in situ* mikrozwartości cząsteczek auksyny, przez użyciu opracowanego specyficznego markera. Wynikiem współpracy będą nowe fakty biologiczne oraz wspólne publikacje.

**Partner zagraniczny j.w.** tytuł projektu: Poszukiwanie białek odporności na pleśń śniegową u pszenicy ozimego.

Przedmiotem współpracy są wspólne badania zmierzające do identyfikacji białek odpowiedzialnych za to, że niektóre odmiany są odporniejsze od innych na pleśń śniegową. Pleśń śniegowa jest groźną chorobą ozimych zbóż, która rozwija się chętnie na roślinach zimujących pod okrywą śniegową. Choroba ta powoduje duże straty w jesiennych zasiewach, która w skrajnych przypadkach wymaga powtarzania zasiewów na wiosnę, przy użyciu odmian jarych, które jednak charakteryzują się niższym plonowaniem. Poszukiwanie białek odporności wymaga przeprowadzenia badań na poziomie proteomicznym przy użyciu wielkoskalowej elektroforezy dwukierunkowej, która pozwala rozdzielić całkowite białko tkankowe nawet na kilkaset frakcji i następnie osprzętu komputerowego, który pozwala analizować kilkaset zmian różnych jednostek białkowych równocześnie, co wykracza poza zakres obejmowany „niewzmocnionym” umysłem badacza. W IFR PAN dysponujemy wygodnym modelem biologicznym, na który składa się duża liczba genotypów tworzących tzw. populację mapującą podwojonych haploidów, natomiast partner słowacki dysponuje metodą i aparaturą pozwalającą na wykonanie badań proteomicznych z identyfikacją białek pozytywnie korelujących z przebiegiem procesu patogenezy.

**Partner zagraniczny:** Magyar Tudományok, Akadémia Növényvédelmi Kutatóintézet (Plant Protection Institute, Hungarian Academy of Sciences, Instytut Ochrony Roślin WAN).

Tytuł projektu: Rola steroidowych regulatorów roślin uprawnych w ich odpowiedzi na abiotyczne i biotyczne stresy.

Współpraca z partnerem węgierskim datuje się od wczesnych lat osiemdziesiątych i trwa nieprzerwanie. Podstawową przesłanką dla współpracy był fakt, że jej partnerzy pracowali nad pozornie różnymi procesami stresowymi (w IFR PAN były to stresy abiotyczne – głównie chłód i mróz, natomiast u partnera węgierskiego były to stresy biotyczne, głównie liczne choroby wirusowe, bakteryjne czy grzybowe), które jednak przebiegały poprzez podobne procesy fizjologiczne, głównie wpływ na właściwości i skład

membran komórkowych, a także udział w tych procesach substancji hormonalnych oraz takich procesów jak zwiększona emisja ciepła z tkanek roślin poddanych działaniu stresów. W ramach współpracy zorganizowano przynajmniej po 3 konferencje naukowe po stronie polskiej i węgierskiej, wykonano znaczną liczbę wspólnych publikacji oraz zaangażowano we wspólne działania młodsze pokolenie naukowców obydwu instytucji naukowych. W trakcie trwania współpracy obaj partnerzy doskonale poznali wzajemne wyposażenie aparaturowe i opanowane techniki badawcze/pomiarowe. Wzajemnie służą sobie pomocą w mtych problemach, w których jeden z partnerów jest „mocniejszy”.

**Partner zagraniczny:** VIB, Ghent University, 9052 ZWIJNAARDE – GENT, Belgia, Tytuł projektu: Auksyna jako cząsteczka sygnałowa w indukcji podwojonych haploidów (DHs) rzepaku.

Poznaczącym celem współpracy były wspólne badania nad poznaniem procesów cytologicznych i molekularnych związanych z inicjacją i rozwojem procesu embriogenicznego w kulturach androgenicznych. Jak wspomniano wcześniej, jednym z ważnych problemów biologicznych jest poznanie podobieństwa i różnic pomiędzy procesami embriogenicznymi przebiegającymi naturalnie oraz przebiegających podczas indukowanej embriogenezy androgenicznej. Poznanie mechanizmów komórkowych, subkomórkowych oraz molekularnych, zaangażowanych w te procesy, umożliwiłoby sterowanie ich przebiegiem. Wymagało to jednak odbycia przeszkolenia u partnera belgijskiego w zakresie technik, które w IFR PAN nie były dotąd stosowane (analiza ekspresji genów, sekwencjonowanie, tworzenie sond molekularnych), a także pogłębienia znajomości techniki immunocytochemicznego znakowania roślinnych regulatorów wzrostu, w tym znakowania auksyny w całej tkance bez naruszania ciągłości tkanek (technika z ang. *whole mount*). W ramach tych badań w 2012 roku określono endogenne poziomy auksyn oraz miejsca lokalizacji immunocytochemicznie znakowanej auksyny w mikrosporach i androgenicznych strukturach zarodkowych rzepaku w warunkach stymulujących przebieg procesu embriogenezy oraz w zawiesinie komórek z dodatkiem egzogennej auksyny oraz inhibitorów polarnego transportu auksyn. Przeprowadzono ponadto pilotażowe eksperymenty mające na celu ilościową analizę ekspresji genów – metodą RT-PCR (reakcja PCR w czasie rzeczywistym) oraz z wykorzystaniem techniki hybrydyzacji *in situ*, związanych z rozwojem zarodka androgenicznego.

**Partner zagraniczny:** Estación Experimental de Aula Dei Consejo Superior de investigaciones Cientificas, Zaragoza, Hiszpania, **Tytuł projektu:** N-butanol jako “czynnik spustowy” indukujący embriogenezę mikrospor w kulturach *in vitro* pszenicy (*Triticum aestivum* L.) i pszenżyta (*x Triticosecale* Wittm.).

Przyczyną współpracy były problemy po stronie IFR PAN z niską efektywnością mikrosporogenezy w kulturach pylnikowych oraz w kulturach izolowanych mikrospor u polskich genotypów pszenicy (*Triticum aestivum* L.) i pszenżyta (*x Triticosecale* Wittm.) i przez to niską wydajnością produkcji podwojonych haploidów (DH). Strona hiszpańska zaproponowała wykonanie wspólnych badań przy zastosowaniu *n*-butanolu jako stymulatora efektywności androgenezy i w razie pozytywnych wyników wykonanie badań nad nieznanym dotąd mechanizmem oddziaływania *n*-butanolu, w szczególności zaś poprzez jego wpływ na organizację mikrotubul kortykalnych i następnie na kierunek rozwoju mikrospor. W ostatnim roku wykonano wspólne badania w kulturach pylnikowych i kulturach izolowanych mikrospor z wykorzystaniem technik immunocytochemicznych umożliwiającą wizualizację cytoszkieletu komórek roślinnych. W badaniach tych wykorzystano będący na wyposażeniu IFR PAN mikroskop konfokalny, który w oparciu o znaczniki fluorescencyjne przyłączone specyficznym do przeciwciała znakującego  $\alpha$ -tubulinę, umożliwił wizualizację protofilamentu MT.

**Partner zagraniczny:** Laboratory of Growth Regulators, Faculty of Science, Palacký University Olomouc & Institute of Experimental Botany Academy of Sciences of the Czech Republic, Olomouc, Czechy. **Tytuł projektu:** Znaczenie związków steroidowych w reakcji roślin na biotyczne i abiotyczne czynniki stresowe.

Występowanie i funkcja fizjologiczna u roślin steroidowych hormonów płciowych jest oryginalnym tematem badawczym rozwijanym w IFR PAN, a przy tym niezwykle interesującym problemem biologicznym o nie w pełni poznanej roli w świecie roślin i zwierząt, w każdym razie jednak stanowiącym ważny argument na rzecz jedności świata roślin i zwierząt. Celem współpracy, zgłoszonym przez stronę polską była kontynuacja badań nad mechanizmem działania i aktywnością fizjologiczną obecnych w roślinach hormonów steroidowych (brasinosteroidów i progesteronu), głównie zaś nad zbadaniem efektywności stosowanych w medycynie inhibitorów steroidogenezy (inhibitor enzymu dehydrogenazy 3-beta-hydroksysteroidowej (3- $\beta$ -HSD) oraz 5-alfa-reduktazy) w hamowaniu biosyntezy w roślinach progesteronu i brasinosteroidów. Wykorzystano tu metodę analityczną UPLC-MS/MS,

którą nie dysponujemy w IFR PAN. Korzyścią dla strony czeskiej jest udział w dwóch przygotowywanych właśnie publikacjach.

**Partner zagraniczny:** Laboratory of Ecological Plant Physiology, Institute of Biology, Komi Science Centre, Ural Division of the Russian Academy of Sciences, Syktyvkar, Federacja Rosyjska. **Tytuł projektu:** Fizjologiczne mechanizmy prowadzące do podniesienia odporności roślin na stresy środowiskowe.

W ramach poznawania reakcji roślin na naturalne stresy abiotyczne występujące w klimacie znacznie od różnym od klimatu polskiego zorganizowano wspólną z partnerem rosyjskim oraz zespołem UJ Kraków wyprawę do rejonu południowego Timanu (rejon Troicko-Peczorski) – Rezerwat Sojvinski. W rejonie tym znajdują się siedliska roślin typu arktyczno-alpejskiego oraz stepowego, a także reprezentowana jest flora roślin storczykowatych i występuje szereg uralskich gatunków endemicznych. W trakcie wyprawy wykonano wiele pomiarów polowych, dzięki którym uzyskano nowe dane dotyczące reakcji aparatu fotosyntetycznego miejscowych odmian roślin, związane z natężeniem i składem spektralnym światła. Do badań wykorzystano aparaturę pomiarową będącą na wyposażeniu Instytutu Biologii RAN i aparaturę przywiezioną z Krakowa, na której przetestowano dobową dynamikę zmian fotochemicznego i niefotochemicznego wygaszania fluorescencji chlorofilu a (PSII) w naturalnych warunkach zróżnicowanego oświetlenia. Przeprowadzono także eksperymenty nad wpływem promieniowania UVC na wymianę gazową i aktywność PSII u miejscowych gatunków roślin i zebrano próbki do analizy aktywności enzymów antyoksydacyjnych.

**Partner zagraniczny:** International Center of Tropical Agriculture CIAT (Centrum Międzynarodowe Rolnictwa Tropikalnego – CIAT), Kolumbia, Ameryka Południowa. **Tytuł projektu:** Inbreeding in cassava by doubled haploid production (Inbriding manioku przez produkcję podwojonych haploidów).

Przedmiotem projektu jest udział naukowca z IFR PAN w międzynarodowym zespole, którego zadaniem jest prowadzenie badań nad uzyskiwaniem linii podwojonych haploidów manioku (*Manihot aesculenta* Kranz.). Uczestnik z IFR PAN, wykorzystując swoje doświadczenie w pracach nad gametogenezą i otrzymywaniem haploidów na drodze oddalonych krzyżowań u zbóż pełnił w zespole funkcję konsultacyjną i szkoleniową. Wystąpił także z wykładami w Narodowym Uniwersytecie w Palmirze oraz przeprowadził kurs z Embriologii Roślin na Uniwersytecie w Icesi.



**Partner zagraniczny** Institute for Crop Production and Agroecology in the Tropics and Subtropics (ICPA), University of Hohenheim. **Celem współpracy** są badania w zakresie komunikacji korzenie-liście w warunkach abiotycznego stresu.

**Partner zagraniczny:** Department of Agriculture and Ecology (DAE UC), Faculty of Life Sciences, University of Copenhagen. **Celem współpracy** są badania w zakresie efektywności wykorzystania wody przez rośliny oraz jakości plonu.

W odróżnieniu od poprzednich projektów współpracy, dotyczących nierzadko podstawowych problemów biologii roślin, ten projekt jest w części poznawczy (badanie kanałów komunikacji dalekodystansowej w roślinach, w warunkach wystąpienia stresów abiotycznych – np. stresu suszy glebowej, natomiast w pozostałej części ściśle praktyczny – poświęcony metodom nawadniania roślin stosowanych dla zwiększenia efektywności wykorzystywania wody przez rośliny i przez to zmniejszenia kosztów produkcji roślinnej na przykładzie roślin warzywnych. W chwili obecnej pomiędzy IFR PAN i obydwoma instytucjami naukowymi podpisano *Memorandum of Understanding* o współpracy naukowej. W jego ramach nastąpiły wzajemne wizyty naukowców oraz z powodzeniem przygotowano wspólny projekt badawczy.

**Partner zagraniczny:** Professor Steve Quarrie, **temat współpracy:** Badania nad lokalizacją *loci* genów warunkujących cechy ilościowe (QTL) związane z odpornością roślin pszenicy na suszę z wykorzystaniem mapy markerów i populacji linii podwojonych haploidów w korelacji ze wskaźnikami fizjologicznymi.

Współpraca dotyczy zagadnienia wykorzystania populacji podwojonych haploidów pszenicy, które pokrywają cały genom i stąd nazywane są populacją mapującą. Jeśli pozna się, stosując markery molekularne, rozmieszczenie alleli genów warunkujących ważne cechy ilościowe roślin, oraz wykona u roślin z każdego podwojonego haploidu pomiary tychże cech, można otrzymać w wyniku lokalizacji genów decydujących o natężeniu tej cechy. Badania te są z jednej strony niezwykle pracołłonne, z drugiej bardzo trudne. Stąd też wprowadzenie ich do zestawu technik pomiarowych stosowanych w IFR PAN, nie byłoby możliwe bez konsultacji i szkolenia przeprowadzonego przez profesora Quarrie, wybitnego specjalisty w tej tematyce. Z drugiej strony dzięki tej współpracy profesor Quarrie uzyskał znacznie większą możliwość rozwijania opracowanej przez siebie możliwości techniki badań. Efektem współpracy są wspólne publikacje.

**Partner zagraniczny:** Plant Breeding Unit/FAO/IAEA Agriculture and Biotechnology Laboratory z Wiednia, **Temat współpracy:** Pomiar dyskryminacji izotopu węgla  $^{13}\text{C}$  na populacji mapującej CSDH w celu określenia loci cech ilościowych (QTL) związanych z odpornością roślin pszenicy na suszę.

Współpraca jest ściśle ukierunkowana na wykonanie wspólnych badań nad dyspersją w populacji mapującej linii DH pszenicy cechy odporności na suszę przy wykorzystaniu metody pomiaru dyskryminacji stabilnego izotopu węgla  $^{13}\text{C}$ . W ramach tej współpracy IFR PAN dostarcza unikalnego materiału roślinnego i wykonuje pomiary odporności roślin na suszę, zaś partner współpracy zapewnia dostęp do aparatury pomiarowej, którą IFR PAN nie dysponuje.

**Partner zagraniczny:** Institut für Biophysik und und Nanosystemforschung Österreichische Akademie der Wissenschaften (Institute of Biophysic and Nanosystems Austrian Academy of Science, Austria – Graz), **Temat współpracy:** Badania struktury i polarności modelowych i naturalnych chloroplastowych membran lipidowych w aspekcie procesów różnicowania komórek roślinnych.

Współpraca dostarcza obustronnych korzyści, strona polska sformułowała problem badawczy i zapewniła wykonanie badań, a następnie przygotowanie publikacji, natomiast strona austriacka zapewniła dostęp do aparatury badawczej, której IFR PAN nie posiada.

**Partner zagraniczny:** IB, Ghent University, 9052 ZWIJNAARDE – GENT, Technologiepark 927, Belgium. **Temat współpracy:** Auksyna jako cząsteczka sygnałowa w indukcji podwojonych haploidów (DHs) rzepaku.

W tym zakresie współpracy strona polska zapewniła sformułowanie tematu badawczego, który jest ambitny, ale trudny w realizacji, zaś laboratorium belgijskie zapewniło dostęp do aparatury i metod badawczych.

Poza wymienionymi z „nazwiska i imienia” partnerami współpracy należy zauważyć uzyskanie przez członków zespołu IFR PAN czterech projektów w ramach badań międzynarodowych objętych wspólną nazwą Akcji COST.

Badania te prowadzone są w zespołach zlokalizowanych w całej Europie. Tytuły tych Akcji są następujące:

- Akcja COST FA0604 – Genomika Triticeace w podnoszeniu jakości zbóż europejskich – Triticeace genomics for the advancement of essential European crops (TRITIGEN)

- Akcja COST FA0605 (INPAS) – Kontrola sygnałowa tolerancji na stres i produkcja związków ochronnych przed stresem u roślin – Signalling Control of Stress Tolerance and Production of Stress Protective Compounds in Plants (INPAS)
  - Akcja COST FA0903 – Wykorzystanie reprodukcji w celu ulepszenia roślin uprawnych – Harnessing plant reproduction for crop improvement
  - Akcja COST FA0901 - Wykorzystanie halofitów w praktyce – od genów do ekosystemu – Putting Halophytes to Work – From Genes to Ecosystems
- określona przez „stypendiodawcę”. Należą tu wyjazdy stypendialne pracowników IFR PAN do Niemiec:
    - Projekt DAAD A0973675 „Nowoczesne zastosowania biotechnologii”, Tytuł projektu: “Selection of *Lolium perenne* lines with desirable traits (delayed senescence higher sugar content) for bioenergy production”.
    - Projekt DAAD A/11/13497 (“Forschungsaufenthalte für Hochschullehrer und Wissenschaftler”), Tytuł projektu: „Early changes in the photosynthetic apparatus associated with senescence in barley flag leaf”.

Wreszcie, należy wymienić dwa wyjazdy szkoleniowe (stypendia), których tematyka jest z zasady