

W trakcie wzrostu i rozwoju rośliny narażone są na działanie wielu czynników zewnętrznych, które określane są mianem stresów środowiskowych. Trawy energetyczne, w tym gatunki z rodzaju *Miscanthus*, stały się interesującym obiektem badań nad określeniem podłoża genetycznego zmian fenotypowych pojawiających się w wyniku działania stresów. Szczególnie istotne są badania dotyczące przemian zachodzących w składzie i strukturze ściany komórkowej tych roślin, ze względu na to, że ich biomasa użytkowana jako odnawialne źródło energii, składa się w rzeczywistości ze ścian komórkowych. **Celem** proponowanego projektu badawczego jest identyfikacja i wyjaśnienie podstaw molekularnych, biochemicznych i histologicznych zmian zachodzących w ścianie komórkowej miskanta chińskiego (*Miscanthus sinensis*), jednej z najważniejszych traw energetycznych, w odpowiedzi na stres chłodu.

Hipotezą wyjściową projektu jest założenie, że ekspozycja na niskie temperatury roślin *M. sinensis* wpływa na zmiany w profilu ekspresji genów kodujących kluczowe enzymy syntezy komponentów ściany komórkowej oraz percepcji/transdukcji sygnału, w szczególności: spadek ekspresji genu(ów) syntazy celulozy (CesA), wzrost ekspresji genu(ów) liazy amoniako-fenyloalaninowej (PAL) oraz wzrost ekspresji genu(ów) kinazy sprzężonej ze ścianą (WAK) skutkując reorganizacją składu i struktury ściany komórkowej.

Obiektem badawczym w projekcie będą młode rośliny *M. sinensis*, w stadium minimum 3 pędów. Badania będą prowadzone w dwóch etapach doświadczeń wazonowych. W doświadczeniu wstępnym określona zostanie tolerancja na stres chłodu wybranych wcześniej 10 genotypów *M. sinensis*, obejmujących po 5 genotypów o wysokiej lub niskiej żywotności podczas chłodu. Na podstawie pomiarów biometrycznych (wysokość i średnica pędów, długość i szerokość liści), testów odrostu roślin i oznaczenia biomasy oraz zawartości i fluorescencji chlorofilu oraz analiz integralności błon biologicznych poprzez oznaczenie wycieku elektrolitów (EL) wyselekcjonowane zostaną dwa genotypy o maksymalnej i minimalnej tolerancji (ang. HCT - high cold tolerant and LCT - low cold tolerant) chłodu oraz zdefiniowane zostaną krytyczne momenty badanych zmian fizjologicznych. Ponadto dla wybranych 2 genotypów uzyskana zostanie sekwencja transkryptomów i zidentyfikowane zostaną specyficzne dla *M. sinensis* geny/rodziny genów, kodujące kluczowe enzymy syntezy komponentów ściany komórkowej oraz percepcji sygnału stresu: syntazę celulozy (CesA) i liazę amoniako-fenyloalaninową (PAL), rozpoczynającą syntezę ligniny oraz kinazę sprzężoną ze ścianą (WAK). Na podstawie ww. wstępnych analiz, przeprowadzone będą szczegółowe badania reakcji na chłód. W kolejnych punktach czasowych, tj. przed wystąpieniem stresu, w trakcie zdefiniowanych poprzednio krytycznych momentów pre-hartowania i hartowania oraz po ustaniu stresu, wykonane będą analizy: a) zmiany profilu ekspresji wszystkich reprezentantów rodzin genów kodujących CesA, PAL i WAK metodą ilościowego RT-PCR; b) składu ściany komórkowej (celuloza, hemiceluloza, pektyny, lignina); c) struktury ściany komórkowej z wykorzystaniem technik histochemicznych, mikroskopii konfokalnej i SEM oraz nowatorskiej metody ilościowania histologicznego; d) biometryczne, e) zawartości i fluorescencji chlorofilu. Uzyskane dane będą opracowane i zintegrowane metodami analizy statystycznej. Wyniki realizacji wyżej opisanych badań będą mieć istotne znaczenie dla rozwoju kompleksowej i podstawowej wiedzy nt. zróżnicowania reakcji genotypów *M. sinensis* na stres niskich temperatur. Będą to kompleksowe i pionierskie badania dotyczące dynamiki zachodzących zmian w składzie i strukturze ściany komórkowej na poziomie biochemicznym i histologicznym w powiązaniu z ekspresją kluczowych genów i fizjologią całej rośliny. Wyniki projektu będą podstawą do dalszych badań nad rozpoznaniem innych procesów i genów uczestniczących w reakcji różnych gatunków miskanta i spokrewnionych rodzajów traw na niskie temperatury. Oprócz bezpośrednich efektów, wyniki proponowanych badań umożliwią w perspektywie opracowanie markerów fizjologicznych i genetycznych, w tym do selekcji i/lub otrzymywania nowych form miskanta cechujących się tolerancją na niskie temperatury.