

## **Ideotyp wysokoplonującej rośliny pszenicy bazujący na genetycznej regulacji cytokinin.**

### **Cel prowadzonych badań i hipoteza badawcza**

Głównym celem projektu jest ustalenie roli cytokinin i genów biorących udział w regulacji tego fitohormonu w różnych aspektach rozwoju i produktywności roślin pszenicy. Hipoteza badawcza stanowi, że interakcja pomiędzy genami wpływającymi na cytokininowo-zależny rozwój odgrywa kluczową rolę w regulacji homeostazy i determinacji cech plonotwórczych pszenicy.

Do badań wybraliśmy cztery grupy czynników, które mogą silnie wpływać na homeostazę cytokinin w rozwijających się organach generatywnych, korzeniach siewek i liściach flagowych pszenicy. Plan badawczy opiera się na uzyskaniu wiedzy na temat tych czynników i określeniu ich wpływu na produktywność roślin pszenicy. Są to: **1) Metabolizm cytokinin** – miejscowo-specyficzna regulacja poziomu cytokinin przez geny syntezy i degradacji, ich wpływ na rozwój badanych organów. Celem tego zadania jest ustalenie optymalnego poziomu cytokinin, wynikającego z balansu pomiędzy tymi procesami w badanych organach, korzystnie wpływającego na produktywność. Hipoteza badawcza stanowi, że produktywność pszenicy jest zależna od lokalnej równowagi pomiędzy biosyntezą i katabolizmem cytokinin w określonych organach. **2) Regulacja transkrypcji** genów metabolizmu cytokinin przez wybrane czynniki transkrypcyjne NAC i ich związek ze starzeniem się liści. Celem tego zadania jest ustalenie, które z czynników transkrypcyjnych modulują zawartość cytokinin w badanych organach i jak regulują metabolizmem i ścieżkami sygnałowymi cytokinin w celu promocji cech związanych z produktywnością. Hipoteza badawcza stanowi, że niektóre czynniki transkrypcyjne są wtórnymi obiektami sygnalizacji cytokinin, wpływającymi na starzenie się liści oraz plon ziarna. **3) Współdziałanie genów głównych** warunkujących cechy związane z produktywnością poprzez intensyfikację podziałów komórkowych w ko-regulacji aktywności cytokinin. Celem jest ustalenie czy inne geny główne, determinujące produktywność poprzez podziały komórkowe biorą udział w koregulacji genów regulujących zawartość cytokinin w organach generatywnych/korzeniach. Hipoteza badawcza stanowi, że geny te współpracują z genami regulującymi zawartość cytokinin w kierunku podniesienia produktywności. **4) Współdziałanie innych fitohormonów**, cytokinin, auksyn, kwasu giberelinowego (GA) i ABA w koregulacji rozwoju korzenia oraz części generatywnych roślin pszenicy. **Zaprojektowanie wysokoplonującego ideotypu pszenicy.** Celem są badania wspólnej regulacji przez te fitohormony rozwoju organów generatywnych i korzenia w promowaniu produktywności roślin pszenicy. Hipoteza badawcza stanowi, że interakcje regulacyjne pomiędzy tymi hormonami są komplementarne w promowaniu produktywności.

### **Materiały i zastosowane metody badawcze**

**Materiał roślinny:** 1) dwie odmiany pszenicy używane przez nas we wcześniejszych badaniach, 2) genetycznie zmodyfikowane linie pszenicy wykazujące stabilne wyciszenie ekspresji genów *TaCKX1* i *TaCKX2.1/2.2*, promujących cechy związane z produktywnością pszenicy; linie te uzyskano w wyniku zakończonego projektu NCN (Opus), 3) wyselekcjonowane w naszych badaniach linie hodowlane różniące się istotnie wzorami ekspresji genów z rodziny *TaCKX* i genu *NAC2* w badanych organach oraz cechami plonotwórczymi.

**Metody badawcze:** 1) przeszukiwanie baz danych i projektowanie starterów, 2) analiza ekspresji z pomiarem w czasie rzeczywistym RT-qPCR, 3) edytowanie wybranych genów za pomocą CRISPR/Cas9 i transformację z użyciem *Agrobacterium* w badanych odmianach w celu uzyskania określonych mutantów, 4) pomiary aktywności enzymów (CKX, inne), 5) pomiary zawartości fitohormonów (cytokinin, auksyny, GA i ABA) w badanych tkankach, 6) pomiary morfometryczne cech plonotwórczych oraz zawartości chlorofilu, 7) analiza transkryptomu (RNAseq), 8) analizy statystyczne (program Statistica 13 (StatSoft)).

Większość protokołów została opracowana i/lub zaadaptowana w naszym laboratorium, włączając w to edytowanie (wniosek patentowy oraz publikacje). Badania zawartości fitohormonów będą wykonane przez specjalistę, dr hab. A. Bajguza z Uniwersytetu w Białymstoku.

**Dostarczymy wszechstronnej wiedzy na temat wszystkich czterech wymienionych problemów badawczych.** Przedstawimy jak różne procesy i mechanizmy działania cytokinin są ko-regulowane w korzeniach siewek, rozwijających się organach generatywnych oraz liściach flagowych. Te dane umożliwią wskazanie na te z nich, które są powiązane ze ścieżkami sygnałowymi cytokinin oraz istotne w determinacji cech plonotwórczych oraz pozwolą na zaprojektowanie wysokoplonującego ideotypu pszenicy.