

Streszczenie popularnonaukowe

W ekspozycji na stres, rośliny – w przeciwieństwie do organizmów zwierzęcych – zdają się być na przegranej pozycji. Okazuje się jednak, że to właśnie osiadły tryb życia roślin spowodował, że ich reakcja na stres definiowana jest szybko i w wydajny sposób zapewnia ochronę na drodze – ucieczki, adaptacji, bądź tolerancji. Badania zmierzające do identyfikacji kluczowych regulatorów odpowiedzi na stres koncentrują się na zasadniczym pytaniu o funkcję danego genu w konkretnym szlaku sygnałowym. A kolejne pytanie dotyczy sposobu w jaki można uzyskaną wiedzę wykorzystać w celu uzyskania upraw odpornych na działanie stresów. To ma z kolei szczególne znaczenie obecnie, kiedy dotknięty stresem suszy areał uprawny na świecie podwoił się w czasie ostatnich 40 lat. Dane jasno również wskazują, że ok. 80% strat ekonomicznych związanych z działaniem suszy w krajach rozwijających się dotyczy sektora rolniczego.

W proponowanym projekcie **zamierzamy wykazać rolę kompleksu wiążącego strukturę czapeczki (ang. Cap-Binding Complex; CBC) w sygnalizacji ABA i stresie w czasie rozwoju jęczmienia jarego poprzez wykorzystanie trzeciej generacji sekwencjonowania transkryptomu (PacBio) w połączeniu z szeregiem analiz fizjologicznych.** Kompleks CBC składa się z dwóch podjednostek – mniejszej kodowanej przez *CBP20* (Cap-Binding Protein 20) oraz większej kodowanej przez *CBP80*. Kompleks jest zaangażowany w procesy związane z metabolizmem RNA. Zgodnie z oczekiwaniami zarówno sekwencja genomowa, jak i białkowa obu podjednostek wykazują wysoki stopień konserwowalności. Co szczególnie ciekawe, mutanty w genach kodujących podjednostki CBC u kilku gatunków roślin wykazują nadwrażliwość na ABA w czasie kiełkowania nasion oraz tolerancję na stres suszy. W naszych poprzednich badaniach wskazaliśmy prawdopodobny mechanizm w osiągnięciu adaptacji do warunków stresu suszy w stadium młodej siewki u mutantu jęczmienia w genie *CBP20*. Pomimo, że powiązaliśmy rolę *CBP20* z lepszą adaptacją do stresu suszy wynikającą z szybszego zamykania aparatów szparkowych i większej depozycji wosków epikutikularnych na powierzchni liści w odpowiedzi na stres, nie mogliśmy precyzyjnie określić mechanizmu molekularnego. Te wyniki jednak przyniosły kolejne pytania badawcze. Kwas abscysynowy (ABA) jest głównym regulatorem odpowiedzi roślin na stres. I choć dostępna wiedza na temat szlaku sygnałowego ABA w odpowiedzi na stres wciąż rośnie, **wiedza na temat zaangażowania kompleksu CBC w sygnalizację ABA, szczególnie u gatunków uprawnych jak jęczmień, jest wciąż fragmentaryczna.**

Do tej pory prowadziliśmy badania wykorzystując jako narzędzie mutanty w pojedynczych genach kodujących podjednostki kompleksu CBC. W proponowanym projekcie oprócz mutantów w genie *CBP20*, *CBP80* **planujemy również wykorzystać unikalny materiał genetyczny jakim jest wyprowadzony przez nasz zespół podwójny mutant jęczmienia niosący mutacje w obu w/w genach.** Zastosowanie takiego układu eksperymentalnego umożliwi nam wnioskowania na temat zmian w sygnalizacji ABA/stresowej, które są zależne od każdej z podjednostek, ale także od całego kompleksu CBC.

Każde z zaplanowanych zadań badawczych w niniejszym projekcie koncentruje się na innym stadium rozwojowym jęczmienia jarego (kiełkujące ziarna, młode siewki i stadium poprzedzające kwitnienie) w kontekście działania kompleksu CBC w sygnalizacji ABA. W każdym z zadań planujemy przeprowadzić szczegółową analizę ekspresji w oparciu o dane pochodzące z sekwencjonowania trzeciej generacji (PacBio). Zastosowanie tej technologii umożliwi nam nie tylko identyfikację genów/transkryptów o zróżnicowanej ekspresji, ale także dostarczy informacji na temat zdarzeń alternatywnego splicingu. Jednakże najciekawszym efektem jest możliwość identyfikacji nowych genów i nowych izoform kluczowych transkryptów dla badanego szlaku sygnałowego. Ponadto w każdym z planowanych zadań podejmiemy próbę określenia koncentracji panelu fitohormonów. Oprócz badań transkryptomowych w zadaniach skupiających się na stadium młodej siewki i dojrzałej rośliny planujemy również analizy morfologii epidermy (ze szczególnym uwzględnieniem liczby aparatów szparkowych), analizy fizjologiczne (przewodnictwo szparkowe, wydajność fotosyntezy).

Zakładamy, że **wyniki uzyskane w ramach proponowanego projektu mogą dostarczyć narzędzi do dalszych, bardziej szczegółowych analiz odpowiedzi na ABA i stres u jęczmienia.** Biorąc też pod uwagę wysoki stopień konserwowalności sekwencji genów kodujących podjednostki CBC przypuszczamy, że **przeniesienie uzyskanej u jęczmienia wiedzy będzie możliwe do innych gatunków uprawnych.** Zatem, możliwe będzie określenie genotypu jęczmienia przystosowanego do zmian klimatycznych, co w obecnych realiach uzasadnia podjęcie tematu badawczego.