

„Wszystko czeka na swój czas, czas zaś na nic nie czeka” – mówi dawne przysłowie. Czy możliwe jest, aby w najbliższej przyszłości przestało być ono aktualne? Czy zatrzymanie czasu i proces starzenia jest osiągalne, przynajmniej dla roślin, i jakie znaczenie mają w tym mikroskopijnej wielkości nanocząstki? Odpowiedzi na te pytania przybliży niniejszy projekt.

Ochrona bioróżnorodności, czyli zróżnicowania i zmienności genów, gatunków i ekosystemów, jest jednym z najważniejszych wyzwań współczesnego świata. Na przestrzeni dekad opracowano wiele strategii ochrony różnorodności biologicznej. Za najbardziej przyszłościową z nich uznaje się krioprezerwację, czyli przechowywanie tkanek w kriogenicznej temperaturze ciekłego azotu (-196°C). Jednak aby utrzymanie żywego materiału biologicznego w tak niskiej temperaturze było możliwe, musi on zostać odpowiednio przygotowany. Przydatne w tym mogą okazać się nanocząstki.

Nanocząstki to maleńkie, niedostrzegalne gołym okiem ani nawet przy użyciu klasycznego mikroskopu, struktury o wymiarach od 1 do 100 nm (czyli  $10^{-9}$  m!). W porównaniu z konwencjonalnymi materiałami charakteryzują się wyższą reaktywnością chemiczną i unikalnymi właściwościami fizycznymi, w tym zwiększonym przewodnictwem cieplnym. W ostatnich latach nastąpił gwałtowny rozwój nanotechnologii. Nanocząstki stosowane są coraz powszechniej w różnych gałęziach przemysłu, medycynie, farmacji, kosmetyce oraz środkach ochrony roślin. Do tej pory nie wykorzystano ich jednak w krioprezerwacji i długotrwałym przechowywaniu roślinnych zasobów genowych. Wciąż brakuje kompleksowych badań na temat wpływu nanocząstek na organizmy żywe.

Projekt dotyczy analizy wpływu nanocząstek srebra i złota na właściwości roślin odtworzonych z tkanek przechowywanych w ciekłym azocie. W ten sposób zweryfikowana zostanie przydatność nanomateriałów w kriobiologii. Zbadane będzie wnikanie nanocząstek do komórki, ich wpływ na reakcje stresowe, metabolizm oraz zmiany w materiale genetycznym i wyglądzie roślin. Jest to nowatorskie i pionierskie rozwiązanie, niewykorzystane dotąd w biotechnologii roślin.

Materiał badawczy stanowiąc będą dwie odmiany serduszek okazałej. Ze względu na łatwość uprawy, wyjątkowe piękno i trwałość kwiatów oraz dekoracyjne walory liści, jest to gatunek bardzo popularny na rynku ogrodniczym. Ponadto, dzięki licznym prozdrowotnym substancjom zawartym w roślinie, jest ona również wykorzystywana w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym. Ponieważ istnieje niewiele natywnych (endemicznych) populacji tego gatunku, a jednocześnie prezentuje on dużą wrażliwość na działanie czynników mutagennych, jest to idealny organizm modelowy do badań z zakresu ochrony bioróżnorodności oraz szeroko pojętej stabilności roślin.

W trakcie badań nanosrebro oraz nanozłoto będą aplikowane w różnych stężeniach w czasie pierwszego (prekultura) lub drugiego etapu (kapsułkowanie) procedury krioprezerwacji. Ma to na celu przyspieszenie tempa schładzania i odtajania prób. Po okresie przechowywania tkanek w ciekłym azocie oraz regeneracji roślin *in vitro* określony zostanie wpływ nanocząstek na powodzenie krioprezerwacji. Zaplanowano obrazowanie nanocząstek wnikających do komórek za pomocą transmisyjnego mikroskopu elektronowego (TEM), który pozwala badać strukturę materii na poziomie atomowym (powiększenia rzędu kilku – kilkunastu tysięcy razy). Przy pomocy markerów molekularnych oraz cytogenetycznych określony zostanie wpływ krioprezerwacji i zastosowanych nanocząstek na zmiany w genomie roślin. Wskaźniki biochemiczne (zawartość barwników, związków fenolowych oraz aktywność wybranych enzymów antyoksydacyjnych w pędach) pozwolą na ocenę stabilności metabolicznej komórek. Ponadto zaplanowano analizę cech morfologicznych i ocenę fenotypu roślin przeniesionych do dalszej uprawy w szklarni.

Wyniki uzyskane w projekcie istotnie poszerzą wiedzę na temat wpływu nanocząstek srebra i złota na rośliny oraz będą miały ogromne znaczenie zarówno dla świata nauki, zwłaszcza kriobiologii, jak i praktyki ogrodniczej. Szczególnie ważne będzie zweryfikowanie przydatności nanomateriałów w krioprezerwacji i ochronie bioróżnorodności. Ważnym aspektem naszych badań jest analiza ewentualnych zmian w materiale genetycznym roślin oraz na poziomie syntezy metabolitów, który może zostać wykorzystany przez producentów i hodowców roślin, a także przemysł farmaceutyczny oraz kosmetyczny.

Projekt realizowany we współpracy międzynarodowej z Uniwersytetem Przyrodniczym w Pradze.