

## I. Cel naukowy projektu

Obserwowane od wielu lat, gwałtowne zmiany klimatyczne wraz z nieustającym wzrostem populacji wymagają ciągłego ulepszania znanych odmian roślin uprawnych, **ale także zmuszają do poszukiwania, nowych, efektywnych źródeł białka roślinnego zarówno w celu uzupełnienia diety człowieka jak i hodowli zwierząt.** Łubin biały (*Lupinus albus* L.) jest jednym z najważniejszych, alternatywnych dla soi (*Glycine max* L.) źródeł białka roślinnego. Charakteryzuje się przede wszystkim wysoką zawartością białka (34-45%) i olejów (10-13% w tym głównie nienasyconych kwasów tłuszczowych) w nasionach. Ponadto łubin jest rośliną dnia długiego, co w przeciwieństwie do soi, stanowi znaczą przewagę adaptacyjną do warunków panujących w Polsce. **Tym samym, zdaniem specjalistów i hodowców, *L. albus* może stać się kluczowym składnikiem żywności, a także pasz dla zwierząt i nawozu zielonego w ciągu kilku najbliższych lat.** Jednak obecne odmiany nadal wymagają udoskonalenia genetycznego, aby zmaksymalizować ich potencjał agronomiczny i przystosować do krótkiego sezonu wegetacyjnego. Obecnie jednym z głównych ograniczeń hodowlanych łubinu białego jest długi czas kwitnienia i dojrzewania.

Wyniki naszych dotychczasowych badań, wykorzystujące nasiona ze światowej kolekcji linii i odmian łubinu białego, jednoznacznie wskazują na bardzo złożony mechanizm indukcji kwitnienia u tego gatunku. Zidentyfikowano co najmniej kilka Loci Cech Ilościowych (QTLs) zlokalizowanych w kilku chromosomach. Ponadto, wykazaliśmy również, że cecha wczesności kwitnienia *Lupinus angustifolius* L., uważanego za gatunek referencyjny w obrębie rodzaju, związana jest z występowaniem delekcji 1,4-kb w regionie promotorowym homologu genu *Flowering Locus T (FT)*. Porównując uzyskane wyniki można jednoznacznie stwierdzić, że pomimo bliskiego pokrewieństwa obu gatunków, mechanizm warunkujący wczesne kwitnienie łubinu białego zdecydowanie różni się od gatunku referencyjnego. Z uwagi na to, *L. albus* został wybrany jako odpowiedni model do badania szlaków inicjacji kwitnienia w tym projekcie.

**Głównym celem projektu jest identyfikacja znanych i nowych, niekodujących RNA, zaangażowanych w indukcję kwitnienia *L. albus* oraz stworzenie nowego, kompleksowego modelu indukcji kwitnienia nie tylko dla łubinów, ale także całej rodziny roślin strączkowych.** Aby to osiągnąć niezbędne jest przeprowadzenie kompleksowej analizy sekwencji genomowej, transkryptomu i degradomu, a także potwierdzenie uzyskanych wyników z użyciem techniki RT-qPCR.

## II. Opis badań realizowanych w projekcie

W trakcie realizacji projektu założone zostaną 2 doświadczenia w kontrolowanych warunkach temperatury i wilgotności oraz różnych fotoperiodach. Jeden zestaw roślin będzie uprawiany w 8-godzinnym dniu, a drugi w 12-godzinnym. Połowa roślin z obu zestawów będzie poddana wernalizacji przed siewem. W celu przeprowadzenia dalszych analiz (sekwencjonowania krótkich RNA i analiz RT-qPCR) próby liści będą zbierane co tydzień, na początku fazy jasnej i godzinę przed jej końcem. Zarówno znane, jak i nowe mikroRNA zostaną zidentyfikowane i poddane adnotacji funkcjonalnej z wykorzystaniem dostępnych zasobów genetycznych, a także oprogramowania do przewidywania miRNA *de novo*. Analiza RT-qPCR zostanie przeprowadzona z wykorzystaniem specyficznych starterów dla kandydujących miRNA jak również ich docelowych genów związanych z indukcją kwitnienia, zidentyfikowanych za pomocą analizy degradomu.

## III. Powody podjęcia tematyki badawczej

W ramach realizacji poprzedniego projektu określono różnorodność genetyczną i strukturę genetyczną kolekcji linii łubinu białego, a także utworzono zestaw subpopulacji, grupujących genetycznie podobne linie i odmiany. Potwierdzono istotną korelację między fenotypem, a rozmieszczeniem linii w subpopulacjach. **Jednak obserwowane wysokie odchylenie standardowe sugeruje, że pomimo dokładnego dopasowania do zidentyfikowanej grupy, liczba dni od siewu do kwitnienia w obrębie subpopulacji, dla kilku linii jest różna. Potwierdza to istnienie dodatkowego mechanizmu kontroli indukcji kwitnienia u tego gatunku.** Pomimo określenia genetycznego podłoża indukcji kwitnienia u *L. albus*, będącego głównym celem projektu SONATINA, zaobserwowano również dodatkową zmienność w obrębie subpopulacji. Analizy asocjacji całego genomu (GWAS) ujawniły ponadto, kilka markerów genetycznych skorelowanych z czasem kwitnienia, zlokalizowanych w regionach międzygenowych, w których potwierdzono występowanie hipotetycznych klastrów miRNA. Sugeruje to, że dodatkowa, równie ważna regulacja opiera się na miRNA.

Ze uwagi na globalne ocieplenie klimatu optymalny czas siewu łubinów zależnych od wernalizacji ulega skróceniu, dlatego termoneutralność i krótki okres dojrzewania powinny być najważniejszymi cechami w selekcji nowych odmian. Badania zaproponowane w tym projekcie są kontynuacją poprzednich prac badawczych. Uzyskane dane, wraz z wcześniejszymi wynikami, stanowiąc będą pierwszą kompleksową analizę mechanizmów indukcji kwitnienia *L. albus*, uwzględniającą tło genetyczne, regulacje opartą o małe RNA, a także sekwencje transkryptomu i degradome. Pozwoli to określić rolę każdej z warstw regulacji w procesie indukcji kwitnienia łubinu białego i stworzyć nowy, kompleksowy model indukcji kwitnienia, nie tylko dla łubinu, ale także dla całej rodziny roślin strączkowych. Ponadto, ułatwi również zrozumienie mechanizmu indukcji kwitnienia łubinu białego i umożliwić świadomą selekcję komponentów krzyżowania genetycznego.