

Obecne zmiany klimatyczne spowodowały zwiększoną częstość występowania niedoboru wody podczas fazy rozwoju wegetatywnego i generatywnego zbóż. Ten stres ma niekorzystny wpływ na fizjologię i plon roślin. Biorąc to pod uwagę, obecnie priorytetem jest opracowanie nowych odmian zbóż tolerancyjnych na stresy środowiskowe. To pilne wyzwanie może zostać osiągnięte dzięki wykorzystaniu półkarłowych mutantów zbóż, które cechują się zaburzeniami biosyntezy brasinosteroidów (BR) lub reakcji (znanej jako sygnalizacja) na te fitohormony. BR regulują różne procesy rozwojowe i fizjologiczne i odgrywają kluczową rolę modulatorów architektury (tj. wzrostu i pokroju) roślin. Architektura roślin jest jednym z wyznaczników reakcji na stresy środowiskowe, w tym niedobór wody. Ostatnie doniesienia (również publikacje pochodzące z naszego zespołu) wykazały, że mutanty cechujące się zaburzeniami biosyntezy lub sygnalizacji BR charakteryzują się obniżonym wzrostem i podwyższoną tolerancją na niedobór wody podczas fazy rozwoju wegetatywnego. Większość badań prowadzonych na gatunkach modelowych i uprawnych dotyczyła efektów niedoboru wody wyłącznie na rozwój wegetatywny. Warto podkreślić, że rośliny w momencie przejścia do rozwoju generatywnego są szczególnie wrażliwe i każdy stres występujący w tym stadium poważnie zaburza fizjologię i plon. Obecnie mechanizmy adaptacji roślin do niedoboru wody występującego podczas tej kluczowej fazy rozwoju oraz rola BR w regulacji rozwoju generatywnego w tych warunkach stresu pozostają w dużej mierze nieznanymi, nawet u gatunków modelowych, oraz wymagają dalszych badań.

W celu uzupełnienia tak znaczącej luki w wiedzy na temat biologii roślin, w tym projekcie zostaną zastosowane różne podejścia, aby zbadać genetyczne, biochemiczne i fizjologiczne adaptacje roślin jęczmienia do stresu niedoboru wody występującego podczas fazy rozwoju generatywnego oraz w celu analizy wpływu niedoboru wody na parametry plonu i skład chemiczny ziaren. Zastosowanie półkarłowych mutantów jęczmienia cechujących się zaburzeniami w biosyntezie lub sygnalizacji BR wraz z genotypami referencyjnymi umożliwi określenie roli BR w regulacji tych procesów. Planowane analizy odzwierciedlają główne cele i spodziewane rezultaty projektu:

1) opis fenotypowy mutantów BR i genotypów referencyjnych w warunkach optymalnych oraz dwutygodniowego stresu niedoboru wody (stosowanego podczas przejścia do fazy rozwoju generatywnego) przez obserwacje dynamiki wzrostu roślin, względnej zawartości wody w liściach, czasu kłoszenia, krzewistości całkowitej i produkcyjnej, masy ziaren na roślinę oraz masy 1000 ziaren;

2) charakterystyka odpowiedzi na niedobór wody z zastosowaniem metod fizjologicznych i biochemicznych przez pomiar akumulacji chlorofilu, wydajności fotosyntezy, wymiany gazowej i aktywności enzymu Rubisco oraz analizy metabolizmu węglowodanów (cukrów) i akumulacji proliny, która jest komponentem systemu ochrony komórek przed skutkami warunków stresowych;

3) wyjaśnienie mechanizmów regulujących rozwój kłosów w warunkach kontrolnych i niedoboru wody przez profilowanie transkryptomu (sekwencjonowanie RNA i mikroRNA) oraz określenie zawartości różnych fitohormonów (BR, giberelin, auksyn i kwasu abscysynowego) w kłosach z użyciem metody HPLC-MS/MS. Dodatkowo, skład chemiczny ziaren zostanie scharakteryzowany z zastosowaniem spektroskopii w bliskiej podczerwieni;

4) charakterystyka genów i białek ulegających zróżnicowanej ekspresji w kłosach mutantów BR i odmian referencyjnych, rozwijających się w warunkach kontrolnych i niedoboru wody, poprzez określenie przestrzennych wzorów ekspresji tych genów, analizę porównawczą ekspresji tych genów w różnych organach i stadiach rozwoju, identyfikację miejsc wiązania czynników transkrypcyjnych i elementów cis-regulatorowych w promotorach tych genów oraz sprawdzenie czy te geny ulegają regulacji przez mikroRNA. Przewidziane zostaną również interakcje między białkami kodowanymi przez geny ulegające zróżnicowanej ekspresji.

Materiał roślinny będzie obejmował sześć genotypów: uprzednio scharakteryzowane półkarłowe mutanty jęczmienia (dwa mutanty cechujące się zaburzeniami biosyntezy BR, dwa mutanty z nieprawidłową sygnalizacją BR) oraz odmianę referencyjną 'Bowman'. Oprócz odmiany 'Bowman' będzie również badana linia hodowlana 'Cam/B1' zaadaptowana do półpustynnych warunków środowiskowych. Ta linia hodowlana będzie wykorzystana jako dodatkowy punkt odniesienia podczas interpretacji odpowiedzi fizjologicznej na niedobór wody. Te wielokierunkowe analizy będą prowadzone na organach wegetatywnych (liściach) i generatywnych (kłosach) jęczmienia. Eksperymenty będą prowadzone na poziomie subkomórkowym, tkankowym oraz organów, w celu scharakteryzowania złożonych procesów adaptacyjnych, zachodzących podczas reakcji roślin na niedobór wody. Projekt będzie realizowany w bliskiej współpracy z Università degli Studi di Milano (Włochy) oraz Laboratory of Growth Regulators, Palacky University (Czechy).