

W odpowiedzi na bodźce stresowe rośliny, aby przetrwać, uruchamiają szereg procesów, które umożliwiają im przetrwanie w trudnych warunkach. Susza oraz wahania zawartości azotu w glebie są powszechnie występującymi stresami abiotycznymi w środowisku naturalnym. Mechanizmy regulujące strategie adaptacyjne do tych czynników stresowych nie są w pełni poznane, a wyjaśnienia wymagają szczególnie te, które kontrolują reakcję na oba te stresy jednocześnie. Ze względu na wielofunkcyjność brasinosteroidów (BR; steroidowe hormony roślinne odpowiadające głównie za wydłużenie pędu) można podejrzewać, że ich szlak sygnalizacyjny jest kluczowym szlakiem hormonalnym w rozwoju roślin oraz w odpowiedzi na stresy biotyczne i abiotyczne. Ostatnio pojawia się coraz więcej dowodów świadczących o dużej roli długich niekodujących RNA (lncRNA) w regulacji kluczowych procesów molekularnych i biologicznych, choć obecne rozumienie funkcjonowania lncRNA jest wciąż bardzo ograniczone.

Wszystkie powyższe aspekty stanowiły podstawę projektu, którego celem jest wyjaśnienie mechanizmów molekularnych leżących u podstaw odpowiedzi jęczmienia jarego na suszę i ekstremalne poziomy stężenia azotu, a także zbadanie ich powiązań ze szlakiem sygnalizacji brasinosteroidów. Będziemy badać, w jaki sposób zmiany w lncRNA wywołane stresem przyczyniają się do dostosowań transkryptomicznych, metabolicznych i fenotypowych. W szczególności skoncentrujemy się na roli lncRNA w koordynowaniu działania fitohormonów oraz w ich wzajemnej interakcji w liściach jęczmienia. Dodatkowo wyjaśnimy mechanizmy leżące u podstaw odpowiedzi jęczmienia na połączoną suszę i skrajne stężenia azotu w glebie regulowanej za pośrednictwem brasinosteroidów. Ponadto, zbadamy wpływ niedoboru jak i nadmiaru azotu w glebie na molekularne, metaboliczne i fenotypowe odpowiedzi jęczmienia na suszę. Odpowiemy także, czy adaptacja roślin do bodźców stresowych, jak również współdziałanie brasinosteroidów z innymi fitohormonami, są regulowane przez lncRNA i jego interakcję ze specyficznymi miRNA i mRNA.

Zastosowanie odpowiednich metod badawczych oraz dobór właściwego materiału roślinnego zapewni osiągnięcie celu i weryfikację postawionych hipotez. Przeprowadzimy serię komplementarnych doświadczeń, w których wybrane formy jęczmienia (odmiana Bowman – typ dziki i jego bliskoizogeniczna linia BW312 (*uzu 1.b*), charakteryzująca się karłowatym fenotypem ze względu na niewrażliwość na brasinosteroidy wynikającą z mutacji zmiany sensu w genie *HvBRI1* kodującym receptor BRs). Modyfikacje kodujących i niekodujących transkryptów wywołane zmieniającymi się warunkami wodnymi oraz azotu w glebie będą oceniane za pomocą sekwencjonowania nowej generacji. Przeprowadzona zostanie niecelowana analiza metabolomiczna (HPLC/MS) wraz z oceną zmian w akumulacji fitohormonów spowodowanymi połączoną suszą i niskim/wysokim poziomem azotu (UPLC/MS). Z kolei precyzyjne cyfrowe fenotypowanie jęczmienia (z wykorzystaniem innowacyjnej platformy obrazowania multispektralnego, systemu PlantEye) wyposażonej w najnowsze urządzenia służące do ciągłego, nieinwazyjnego mierzenia licznych cech fenotypowych, umożliwi ocenę plastyczności fenotypowej nadziemnych części roślin narażonych na suszę i niedobór/nadmiar azotu w glebie. Integracja danych dotyczących różnych parametrów zostanie zrealizowana przy użyciu metod analizy wielowymiarowej. Szczególny nacisk zostanie położony na analizę sieciową genów związanych z sygnalizacją brasinosteroidów. Zbadana zostanie rola lncRNA w regulacji szlaków metabolicznych w liściach jęczmienia z zaburzonym i niezaburzonym szlakiem sygnalizacji brasinosteroidów. Podsumowując, kluczowe jest podkreślenie, że w niniejszym badaniu zostaną wykorzystane 2 genotypy jęczmienia, które będą poddane analizom multiomicznym w 4 różnych wariantach środowiskowych oraz w 3 punktach czasowych. Takie podejście pozwoli uzyskać 24 warianty badawcze, umożliwiając kompleksową ocenę dynamicznych procesów zachodzących w jęczmieniu w wymiarze czasowym i środowiskowym w warunkach stresów abiotycznych. Co ważne, powtórzenie wszystkich planowanych analiz w ciągu 2 kolejnych lat zwiększy siłę statystyczną otrzymanych wyników.

Zintegrowane badania oraz wiedza zgromadzona w trakcie realizacji tego projektu mogą stanowić fundament dla postępów biologicznych oraz metodologii mających na celu poprawę jęczmienia i innych roślin uprawnych, szczególnie w kontekście rosnącej roli jęczmienia jako organizmu modelowego. Zebrane dane z różnych podejść eksperymentalnych znacząco wzbogacą zrozumienie molekularnej adaptacji roślin do stresów abiotycznych oraz sposobu w jaki sekwencje regulatorowe w genomie jęczmienia wpływają na jego rozwój. Nasze wyniki badań, wraz z istniejącą literaturą, wskazują na obiecujące nowe kierunki badań dotyczących molekularnych mechanizmów leżących u podstaw reakcji jęczmienia na stres abiotyczny, które są istotne zarówno z naukowego, jak i hodowlanego punktu widzenia. Niniejsze badania powinny z pewnością obejmować także badania związane z lncRNA, a realizacja projektu doskonale wpisuje się w ten obszar.