

Syntetyczny opis wyników uzyskanych w drugim roku realizacji projektu
„Analiza zmienności epigenetycznej indukowanej stresem suszy oraz ocena jej stabilności transgeneracyjnej w aspekcie tolerancji jęczmienia na stres niedoboru wody”
wykonywanego w ramach programu ‘Postęp biologiczny w produkcji roślinnej’ MRiRW

Metylacja cytozyny jest modyfikacją DNA odgrywającą istotną rolę w regulacji ekspresji genów. Całościowy profil metylacji cytozyny w genomie, określany jako metylom DNA, może ulegać zmianom o charakterze dziedzicznym lub niedziedzicznym, określanym zbiorczo jako zmiany epigenetyczne w DNA. Indukowane czynnikami stresowymi zmiany epigenetyczne, a w konsekwencji zmiany w aktywności transkrypcyjnej genów, odgrywają istotną rolę w procesie odpowiedzi roślin na niekorzystne warunki środowiskowe. Długoterminowym celem wieloletniego projektu jest weryfikacja hipotezy zakładającej, że zmiany w metylacji DNA, indukowane podczas stresu suszy, mogą mieć pozytywną wartość adaptacyjną. W związku z tym zakłada się również, że indukcja nowych, korzystnych epialleli może być cennym narzędziem stosowanym w hodowli roślin.

W drugim roku badań realizowano trzy tematy badawcze.

Temat badawczy 1

Globalne analizy transkryptomu jęczmienia roślin pokolenia EPI₁ (potomstwa roślin EPI₀), rosnących w warunkach kontrolnych, z wykorzystaniem metody RNA-Seq oraz identyfikacja genów ulegających zróżnicowanej ekspresji w stosunku do pokolenia EPI₀.

Analizy transkryptomu roślin będących potomstwem roślin traktowanych stresem suszy w pokoleniu EPI₀ wykazały, że stres niedoboru wody zadany w pokoleniu EPI₀ wyidukował potencjalnie dziedziczne zmiany w transkryptomie roślin potomnych pokolenia EPI₁Se0 i EPI₁SI0. Analiza funkcjonalna zidentyfikowanych genów wykazała, że istotną grupę nadreprezentowanych genów ulegających zróżnicowanej ekspresji stanowią takie, których rola związana jest z odpowiedzią roślin na stresy abiotyczne, w tym stres suszy. Wydaje się więc prawdopodobne, że zróżnicowana ekspresja genów u roślin EPI₁Se0 i EPI₁SI0 w stosunku do roślin EPI₀ może mieć potencjalne znaczenie dla adaptacji analizowanych roślin do warunków stresu niedoboru wody. Konieczne jest jednak potwierdzenie stabilności wyindukowanych zmian w transkryptomie w kolejnych pokoleniach.

Temat badawczy 2

Analizy profili metylacji DNA roślin pokolenia EPI₁ przeprowadzane na poziomie genomowym z wykorzystaniem metody RRBS (Reduced Representation Bisulfite Sequencing).

Wykorzystując metodę RRBS przeprowadzono analizy metylomu roślin pokolenia EPI₁ a uzyskane profile metylacji porównywano z profilami roślin pokolenia EPI₀. Wykazano

niewielki poziom zmian w profilach metylacji pomiędzy roślinami rodzicielskimi, które w pokoleniu EPI₀ poddawane były stresowi niedoboru wody a roślinami potomnymi pokolenia EPI₁. Wykazano przy tym duże zróżnicowanie nowych profili metylacyjnych. Przeprowadzone analizy sugerują, że zmiany metylacyjne wywołane silnym stresem suszy tylko w niewielkim stopniu odziedziczane są przez rośliny będące potomstwem roślin poddawanych stresowi. Dodatkowo, duża zmienność pomiędzy indywidualnymi roślinami pokolenia EPI₁ sugeruje losowy charakter indukowanych zmian i/lub losowe odziedziczenie wyindukowanych zmian. Niemniej jednak nie można wykluczyć wpływu indukowanych zmian w metylomie na zmiany w ekspresji genów roślin pokolenia EPI₁.

Temat badawczy 3

Analizy fizjologiczne roślin pokolenia EPI₁ podczas stresu suszy zadawanego w dwóch stadiach rozwojowych, oraz roślin rosnących w warunkach kontrolnych, oraz fenotypowanie parametrów wzrostu roślin i cech struktury plonu.

Przeprowadzone analizy wskazują na istotne różnice w odpowiedzi i tolerancji na stres niedoboru wody u roślin pokolenia EPI₁. Zaobserwowano wiele różnic w parametrach określających stan aparatu fotosyntetycznego. Podczas suszy w stadium siewki potomstwo roślin wzrastających w warunkach kontrolnych (C0Se1 i C0S11) wykazywało obniżenie maksymalnej fluorescencji w stosunku do potomstwa roślin poddanych obu typom stresu niedoboru wody. Zaobserwowano, że potomstwo roślin wzrastających w warunkach kontrolnych, wykazuje silniejsze zaburzenia zarówno w reakcjach jasnych, jak i ciemnych, gdyż wartości współczynników określających stan podstawowych reakcji fotochemicznych oraz reakcji termicznych, niezależnych od światła ulegały istotnemu obniżeniu, w porównaniu do potomstwa roślin poddanych stresowi niedoboru wody. Wskazuje to na obecność większych uszkodzeń w fotosystemie drugim. Analiza fenomenologicznych przepływów energii wykazała między innymi inaktywację większej części centr reakcyjnych fotosystemu drugiego u potomstwa roślin wzrastających w warunkach kontrolnych. W konsekwencji, potomstwo roślin poddanych obydwu typom stresu suszy wykazywało zwiększony przyrost biomasy podczas ponownego nawodnienia, w porównaniu do potomstwa roślin kontrolnych. Co istotne, analizy przeprowadzone na roślinach traktowanych stresem suszy w stadium siewki wykazały, że potomstwo roślin poddanych stresowi niedoboru wody w warunkach suszy wczesnej, jak i później wykazuje lepsze cechy istotnie agronomicznie - wytwarza istotnie większą ilość pędów, co przekłada się na zwiększoną suchą masę rośliny oraz liczbę kłosów. Jednakże rośliny poddane stresowi suszy w stadium strzelania w źdźbło nie wykazywały istotnych różnic w cechach struktury plonu, które były silnie zredukowane w obydwu analizowanych liniach. Przeprowadzone analizy wykazały więc, że potomstwo roślin poddanych stresowi niedoboru wody potencjalnie może wykazywać lepszą tolerancją na ten stres niż potomstwo roślin wzrastających w warunkach kontrolnych. Linie te cechują się znacznie lepszą wydajnością procesów fotosyntetycznych, większym przyrostem biomasy oraz korzystniejszymi parametrami cech istotnych agronomicznie.