

Globalna zmiana klimatu zmienia warunki środowiskowe, a tym samym wpływa na rozmnażanie roślin z nasion. W proponowanym projekcie planujemy zbadać ekofizjologię kiełkowania nasion buka zwyczajnego (*Fagus sylvatica* L.) w celu oceny potencjału adaptacyjnego tego gatunku do zmian środowiskowych. Buk europejski rośnie w różnych środowiskach i rozwinął szereg mechanizmów adaptacyjnych. Jednym z najważniejszych mechanizmów jest głęboki stan spoczynku fizjologicznego nasion, zapewniający przetrwanie nasion przez zimę i kiełkowanie wiosną. Różnorodność środowiskowa w szerokim naturalnym zasięgu występowania buka doprowadziła do rozwoju różnych populacji przystosowanych do lokalnego klimatu. Zmienność kiełkowania nasion buka i jego plastyczność w zmiennych warunkach środowiskowych nie są obecnie znane. Celem tego projektu jest określenie zależności pomiędzy parametrami kiełkowania nasion buka a różnymi warunkami środowiskowymi oraz identyfikacja molekularnych mechanizmów odpowiedzialnych za takie adaptacje. Przetestujemy następujące hipotezy: H1. Zmienność głębokości spoczynku i zdolności kiełkowania nasion buka związana jest z długotrwałymi warunkami klimatycznymi oddziałującymi na populację; H2. Mechanizm regulujący adaptację kiełkowania nasion do warunków środowiskowych jest kontrolowany na poziomie transkrypcyjnym, translacyjnym i potranslacyjnym. Kiełkowanie nasion buka europejskiego musi być poprzedzone zimną chłodną stratyfikacją. W tym projekcie planujemy połączyć kilka poziomów badań.: 1. W ramach dyscypliny nauki leśnej dokonamy analizy zróżnicowania buka europejskiego w Polsce pod kątem głębokości spoczynku nasion. Zbierzemy nasiona z kilku populacji buka rosnących na różnych siedliskach w Polsce. Jednocześnie zbierane będą dane dotyczące warunków pogodowych w siedlisku populacji. Analiza ta będzie miała na celu zbadanie zróżnicowania klimatycznego i międzypopulacyjnego głębokości spoczynku nasion. Testy kiełkowania pozwolą na odniesienie spoczynku nasion do warunków środowiskowych. 2. W ramach dyscypliny nauk biologicznych dokonamy: 2.1. Analizy różnic w transkryptomie nasion wśród populacji buka różniących się głębokością spoczynku nasion. Planujemy zbadać różnice między partiami nasion poprzez analizę ekspresji genów na poziomie transkryptomu. W tych badaniach ogólna zmienność głębokości spoczynku będzie analizowana na poziomie transkryptomu przy użyciu RNASeq. Do precyzyjnego określenia roli poszczególnych genów w kontrolowaniu głębokości spoczynku posłuży metoda RT-qPCR. 3. Analiza różnic w proteomie nasion wśród populacji buka różniących się głębokością spoczynku nasion. Planujemy zbadać różnice pomiędzy partiami nasion poprzez analizę ekspresji genów na poziomie białek metodami proteomicznymi. Fosfoproteom, nitroproteom, S-nitrozoproteom, acetylom i ubiquitom zostaną zbadane w celu określenia ich roli w regulacji głębokości spoczynku. 4. Analiza struktury chromatyny i modyfikacji histonów w regionie promotorowym genów zaangażowanych w regulację głębokości spoczynku nasion buka. W celu sprawdzenia, czy zmiany w obrębie nukleosomu zmieniają region promotorowy genów zidentyfikowanych w poprzednich zadaniach podczas kiełkowania nasion buka, zostanie zastosowana analiza MNase-qPCR i ChIP-qPCR ze specyficznymi przeciwciałami rozpoznającymi modyfikacje histonu 3. Pomyślne zakończenie tego zadania badawczego pozwoli wskazać epigenetyczne mechanizmy związane z regulacją kiełkowania nasion buka. Wyniki tego badania poszerzą wiedzę na temat środowiskowej kontroli spoczynku nasion. Dotychczas nie przeprowadzono kompleksowych badań różnorodności procesów związanych ze spoczynkiem nasion buka na podstawie analizy transkryptomicznej, proteomicznej i epigenetycznej. Oczekuje się, że zostanie wykazane zróżnicowanie głębokości spoczynku w odniesieniu do klimatu, a także między populacjami i że różnice te będą obserwowane na poziomie ekspresji genów. Oczekuje się, że dane uzyskane w ramach tego projektu pozwolą na rozpoznanie czynników regulujących adaptację i przetrwanie poszczególnych populacji drzew w warunkach globalnego ocieplenia. Wierzymy, że wyniki proponowanego projektu poprawią nasze zrozumienie procesów adaptacyjnych. W szczególności przewidujemy, że dane z proponowanych analiz spowodują rozwój badań dotyczących biologii nasion.