

# Identyfikacja i charakterystyka zmian biosyntezy miRNA w odpowiedzi soi na stres niskich temperatur

Jakub Kuczyński

## Streszczenie

Soja [*Glycine max* (L.) Merr.] jest istotną rośliną oleistą i wysoko cenioną na całym świecie jadalną rośliną strączkową. Soja jest bogatym źródłem tłuszczów i jednym z najlepszych roślinnych źródeł białka, ponieważ zawiera wszystkie aminokwasy niezbędne w diecie człowieka oraz skarmianiu zwierząt gospodarskich. W Europie uprawa soi jest ograniczona ze względu na niesprzyjający klimat. Popyt na soję w Europie, częściowo spowodowany ciągłym wzrostem liczby ludności, jest znacznie większy niż rzeczywista produkcja, dlatego Europa jest w dużym stopniu uzależniona od importu soi, głównie z obu Ameryk. Ciągłe doskonalenie jakości i plonowania odmian roślin uprawnych jest niezbędne dla rozwoju rolnictwa, zwłaszcza w obliczu zmieniających się oraz trudnych warunków środowiskowych. Wykazano, że wiele mikroRNA (miRNA) pełni ważne funkcje regulacyjne we wzroście, rozwoju i odpowiedzi roślin na stres. Opracowanie technologii sekwencjonowania o dużej przepustowości umożliwiło opisanie wielu roślinnych miRNA. Ponadto pomyślnie zidentyfikowano dużą pulę genów kontrolowanych przez miRNA, co umożliwiło naukowcom uzyskanie wglądu w powiązania regulacyjne między miRNA, a ich genami docelowymi. Celem pracy było wyjaśnienie molekularnych podstaw odporności soi na stres zimna, ze szczególnym uwzględnieniem miRNA. Na początkowych etapach pracy przeprowadzono fenotypowanie dwóch odmian soi poddanych stresowi zimna w celu zbadania jego wpływu na produktywność soi. Wyniki doświadczeń polowych i pomiarów wykonanych podczas wzrostu soi w kontrolowanych warunkach chłodu wykazały, że odmiany Augusta i Fiskeby V różnie reagowały na niskie temperatury. Pomimo wpływu niskich temperatur na wzrost generatywny obu odmian, liczba produkowanych nasion utrzymywała się na niezmiennym poziomie. Różnicową ekspresję pięciu miRNA w warunkach stresu zimna wykryto za pomocą ddPCR. Zaobserwowano, że miRNA w odmianach Augusta i Fiskeby V poddanych stresowi w fazie reprodukcyjnej wykazywały odmienne profile ekspresji. Odkryto ujemną korelację między ekspresją miR169, miR319 i miR398, a ich genami docelowymi w korzeniach odmian Augusta i Fiskeby V. W kolejnej fazie przeanalizowano rolę miRNA i ich docelowych genów w tolerancji na zimno czterech różnych odmian soi (Augusta, Fiskeby V, Toyomusume i *Glycine soja* [*G. soja*]) o różnym poziomie odporności na stres. Wysokowydajna analiza sekwencjonowania krótkich niekodujących RNA tych czterech odmian soi w warunkach stresowych, w porównaniu do kontrolnych ujawniła zróżnicowaną ekspresję 162 znanych miRNA, jak również 18 nowych miRNA. Analiza degradomu umożliwiła przypisanie miRNA o zróżnicowanej ekspresji do ich potencjalnych genów docelowych. Na podstawie anotacji w bazach Gene Ontology (GO) i Kyoto

Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) odkryto, że w ramach odpowiedzi na stres abiotyczny zaangażowane są one w procesy takie jak: metabolizm reaktywnych form tlenu, synteza flawonoidów i kontrolowanie potencjału osmotycznego. Wyniki tej rozprawy doktorskiej zostały opublikowane w dwóch recenzowanych artykułach eksperymentalnych. Zagadnienia dotyczące wysokowydajnych technik stosowanych w analizie odpowiedzi soi na stres zostały opisane i podsumowane w pracy przeglądowej, która również jest częścią niniejszej rozprawy doktorskiej.