

„Wyciszenie ekspresji genów *CBP20* i *CBP80* w ziemniaku a tolerancja roślin na niedobór wody”

Marcin Pieczyński

Stypendysta projektu pt. „Wsparcie stypendialne dla doktorantów na kierunkach uznanych za strategiczne z punktu widzenia rozwoju Wielkopolski”, Poddziałanie 8.2.2 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

Od wielu już lat w Polsce, a w szczególności na terenie Wielkopolski występuje okresowe zagrożenie suszą glebową. Jedna piąta naszego kraju (60 tys. km² centralnej Polski) objęta jest stepowieniem prowadzącym do degradacji gleb i utraty przez nie walorów rolniczych. Tylko podczas suszy w czerwcu i lipcu 2006 roku w Wielkopolsce doszło do „wypalenia” większości arealów łąk i aż ponad 70% upraw ziemniaków i buraków.

Podczas wcześniejszych badań prowadzonych w Zakładzie Ekspresji Genów uzyskano rośliny *Arabidopsis thaliana* z wyłączoną aktywnością genów *CBP20* oraz *CBP80*. Otrzymane rośliny wykazują podwyższoną odporność na deficyt wody, co jest związane z ograniczeniem odparowywania wody poprzez wcześniejsze zamykanie aparatów szparkowych znajdujących się na liściach w odpowiedzi na niedobór wody w podłożu.

Celem prowadzonych prac eksperymentalnych było wyciszenie genów *CBP20* i *CBP80* w ziemniaku *Solanum tuberosum* w odmianach *Sante* i *Désirée* w celu odpowiedzi na pytanie: czy uzyska się ten sam efekt tolerowania niedoboru wody w roślinach ziemniaka, jak w przypadku rośliny modelowej *Arabidopsis thaliana*?

W wyniku przeprowadzonych prac uzyskano sekwencje obu badanych genów *CBP20* i *CBP80* z obu badanych odmian ziemniaka *Sante* i *Désirée*. W kolejnym etapie prac zaprojektowano i uzyskano konstrukty ekspresyjne w celu wyciszenia w roślinie ziemniaka obu badanych genów. Transformację roślin ziemniaka przygotowanymi konstrukcjami została przeprowadzona we współpracy z Zakładem Patogenezy Roślin z Instytutu Biochemii i Biofizyki PAN w Warszawie.

Wśród roślin uzyskanych w wyniku transformacji zidentyfikowaliśmy linie roślin ziemniaka *Solanum tuberosum* odmiany *Désirée* wykazujące znaczny spadek aktywności genów *CBP20* lub *CBP80* w porównaniu do roślinach nietransformowanych. Dalsze analizy

potwierdziły brak obecności białka CBP80 w dwóch wybranych liniach roślin transformowanych wywodzących się z odmiany *Désirée*, u których wcześniej stwierdzono znaczny spadek aktywności genu *CBP80*.

Rośliny ziemniaka odmiany *Désirée*, u których stwierdzono brak obecności białka CBP80, zostały następnie poddane testom w celu oceny stopnia odporności tych roślin na okresowy deficyt wody. Wspomniane eksperymenty zostały przeprowadzone we współpracy z Pracownią Biotechnologii w Zakładzie Genetyki i Materiałów Wyjściowych Ziemniaka Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin oddział w Młochowie.

Wyniki eksperymentów prowadzonych w warunkach szklarniowych i w pomieszczeniach hodowlanych z wykorzystaniem roślin ziemniaka odmiany *Désirée*, o potwierdzonym braku białka CBP80 wykazały, iż badane rośliny są zdecydowanie bardziej tolerancyjne na okresowy niedobór wody w porównaniu do roślin ziemniaka odmiany *Désirée* nie poddanych transformacji.

Analiza zawartości wody w liściach potwierdziła nie tylko, że uzyskane rośliny transgeniczne potrafią dłużej utrzymać wysoki poziom uwodnienia tkanek. Rośliny te zdolne są również szybciej powrócić do normalnego stanu uwodnienia tkanek po okresie niedoboru wody w porównaniu do roślin nietransformowanych.

Wśród uzyskanych roślin transgenicznych, w tym roślin ze stwierdzonym brakiem białka CBP80, nie zaobserwowano jak dotąd różnic (pokrój roślin, okres kwitnienia, szybkość wzrostu, ilość i jakość bulw) w porównaniu do roślin nietransformowanych.

W perspektywie przyszłości zdobyta wiedza pozwoli na wzbogacanie zaawansowanych materiałów hodowlanych, o ograniczonej naturalnej zmienności genetycznej o cechy użytkowe pozwalające na tolerowanie coraz poważniejszych niedoborów wody.