

Głównym celem projektu jest identyfikacja kluczowych genów kontrolujących kwitnienie w odpowiedzi na różne sygnały środowiskowe u trzech dzikich gatunków łubinów Starego Świata: *Lupinus cosentinii* Guss., *L. hispanicus* Boiss. i Reut. oraz *L. pilosus* Murr. Aby to osiągnąć skrzyżowane zostaną osobniki o różnych wymaganiach fotoperiodycznych (długość dnia) i wrażliwości na wernalizację (okres niskiej temperatury), w celu utworzenia populacji mapujących dla każdego z badanych gatunków. Analiza powstałych populacji osobników wsobnych pozwoli na ustalenie, które geny są odpowiedzialne za obserwowane różnice. Ponadto przeanalizujemy również sekwencje promotorowe wytypowanych genów, aby sprawdzić, czy zmiany w ich strukturze przekładają się na zmiany w obserwowanych terminach kwitnienia.

Świat nieustająco poszukuje nowych, bardziej ekologicznych, źródeł białka roślinnego, a szczególnie roślin zdolnych do wiązania azotu atmosferycznego co bezpośrednio pozwoli na ograniczenie stosowania nawozów azotowych. Jednymi z najlepszych kandydatów są łubiny, które wyróżniają się dodatkowo dobrym dostosowaniem do ubogich, suchych i piaszczystych gleb, których obszar nieustannie powiększa się, wraz ze zmieniającym się klimatem. Pomimo tego, że obecnie łubiny wykorzystywane są do różnych celów, w tym do produkcji pasz i żywności czy nawożenia gleby, wciąż wymagają wprowadzania nowych programów uprawnych, nastawionych na lepsze dostosowanie do niestabilnego klimatu. Jednym z głównych wyzwań współczesnej genetyki łubinów jest dostosowanie terminu kwitnienia i dojrzewania do lokalnych warunków klimatycznych. Kwestia ta nabiera jeszcze większego znaczenia teraz, gdy ekstremalne zjawiska pogodowe, takie jak fale upałów i susze, coraz częściej prowadzą do istotnych strat w plonowaniu, szczególnie w przypadku odmian późno kwitnących. Dotychczasowe wysiłki mające na celu optymalizację kwitnienia i odporności na choroby zostały zahamowane ze względu na ograniczoną pulę genetyczną gatunków uprawnych, do czego doszło podczas ich udomawiania. Najlepszym rozwiązaniem wydaje się wykorzystanie potencjału genetycznego dzikich gatunków łubinu przystosowanych do różnorodnych środowisk, co pozwoliłoby ulepszyć istniejące odmiany bądź przyspieszyć udomowienie nowych gatunków łubinu, lepiej przystosowanych do klimatu jutra.

Analizując wyniki badań wstępnych, wytypowaliśmy trzy dzikie gatunki łubinów Starego Świata, a mianowicie *L. cosentinii*, *L. hispanicus* i *L. pilosus*, jako doskonałe obiekty do badań indukcji kwitnienia. U każdego z nich zaobserwowaliśmy znaczne zróżnicowanie w obrębie populacji wewnątrzgatunkowych pod względem liczby dni do kwitnienia, reakcji na wernalizację czy wrażliwość na fotoperiod. Nasze wstępne ustalenia wskazują, że mechanizmy związane z indukcją kwitnienia i odpowiedzią na wernalizację u tych gatunków najprawdopodobniej są regulowane przez wiele genów, tzw. loci cech ilościowych (ang. QTL). Aby dokładnie zbadać tego typu złożone mechanizmy konieczne jest wyprowadzenie populacji mapujących linii rekombinantów wsobnych (ang. RIL), co pozwoli na zmapowanie głównych QTL, umożliwiając identyfikację głównych genów odpowiedzialnych za wcześniej wspomniane cechy.

Aby osiągnąć założony cel, wyprowadzimy 2 populacje mapujące dla każdego badanego gatunku, krzyżując parę genotypów rodzicielskich o skrajnych cechach, takich jak wczesność kwitnienia, reakcja na wernalizację i wrażliwość na fotoperiod. Pokolenia F₁-F₅ będą uprawiane w kontrolowanych warunkach szklarniowych pod używając lamp przyspieszających wzrostu i rozwój roślin. Pokolenia F₂-F₅ uzyskane zostaną metodą pojedynczego nasiona (ang. SSD). Następnie genomy wszystkich linii rodzicielskich zostaną zsekwencjonowane przy pomocy dwóch, odmiennych metod: PacBio, która generuje bardzo długie odczyty oraz Illumina NovaSeq, będąca źródłem bardzo krótkich sekwencji. Wykorzystanie obu metod jest niezwykle pomocne w analizie złożonych genomów roślinnych i pozwala na uzyskanie genomów najlepszej jakości. Ponadto, planujemy przeprowadzić fenotypowanie populacji F₅ w dwóch różnych fotoperiodach (8 i 16 godzin), dwóch wariantach (wernalizowane i niewernalizowane) oraz w trzech różnych środowiskach (szklarnia i pole w dwóch różnych lokalizacjach).

Następnie dla wszystkich rośliny F₅ wygenerujemy specyficzne markery typu DArT-seq i RAD-seq, które wykorzystamy je do skonstruowania gatunkowo-specyficznych map genetycznych. Powstałe mapy zintegrujemy z sekwencjami genomów każdego z gatunków, co pozwoli na mapowanie QTL – wytypowanie konkretnych miejsc w genomie, w których najprawdopodobniej znajdują się szukane geny. Analiza wskazanych miejsc umożliwi identyfikację genów kandydujących związanych z regulacją kwitnienia i odpowiedzi na wernalizację u badanych gatunków.