

## Streszczenie

Nasilające się zmiany klimatyczne skutkują wzrostem średniej temperatury powierzchni Ziemi, a także zwiększającą się częstością występowania ekstremalnych zjawisk pogodowych, które są zagrożeniem dla produkcji żywności. Biorąc pod uwagę powiększającą się populację ludzi i spadającą powierzchnię gruntów uprawnych istnieje pilna potrzeba opracowania nowych upraw, lepiej przystosowanych do zmieniających się warunków klimatycznych. Rozwój takich upraw możliwy jest dzięki opracowywaniu nowych odmian roślin. Możliwe jest to z wykorzystaniem klasycznych metod hodowli lub dzięki zastosowaniu inżynierii genetycznej. To drugie podejście wymaga szczegółowej wiedzy na temat mechanizmów molekularnych leżących u podstaw różnych reakcji na stresy, w szczególności stresu temperaturowego, który indukowany jest zarówno przez niskie, jak i wysokie temperatury. Stres temperaturowy prowadzi do zmian w wydajności fotosyntezy i zaburzenia potencjału redoks, rearanżacji cytoszkieletu i przebudowy ścian komórkowych, które są stosunkowo słabo poznane. Dlatego też skupiono się na odpowiedzi na stres temperaturowy liści modelowego gatunku dla traw strefy klimatu umiarkowanego, jakim jest *Brachypodium distachyon*.

Celem niniejszej pracy była analiza odpowiedzi białek ściany komórkowej liści *Brachypodium distachyon* na niską (4 °C) i wysoką temperaturę (40 °C), jak też uzyskanie mutantów z inaktywowanymi genami kodującymi białko arabinogalaktanowe typu Fasciclin (*Bradi3g39740*) i metyloesterazę pektynową (*Bradi3g24750*). W celu charakteryzacji wpływu stresu komórkowego na białka ściany komórkowej wykorzystano techniki immunocytochemii z przeciwciałami wiążącymi się specyficznie z epitopami białek arabinogalaktanowych i ekstensyn, analizy profilu ekspresji genów kodujących białka arabinogalaktanowe i ekstensyny, jak też analizę proteomu ściany komórkowej. By uzyskać mutanty z inaktywowanymi genami wykorzystano mutagenезę ukierunkowaną opartą na systemie CRISPR/Cas9. Transformację kalusa embriogennego wyindukowanego z niedojrzałych zarodków przeprowadzono wykorzystując komórki bakteryjne *Agrobacterium tumefaciens*.

Badania rozmieszczenia epitopów AGP w liściach *B. distachyon* ujawniły ich obecność głównie w wiązce przewodzącej, a ekstensyn w mezofilu. Wykazano różnice w rozmieszczeniu i intensywności sygnałów dla czterech przeciwciał rozpoznających AGP: JIM8, JIM16, LM2 i LM6. Jednocześnie nie zaobserwowano różnic w rozmieszczeniu i intensywności sygnałów dla

przeciwciał rozpoznających epitopy ekstensyn. Analiza profilu ekspresji genów kodujących AGP i ekstensyny ujawniła głównie wzrost poziomu ekspresji, który był znacznie większy w przypadku roślin inkubowanych w wysokiej temperaturze. Z kolei, analiza proteomiczna ściany komórkowej pozwoliła na identyfikację 46 białek o zróżnicowanej obecności w wysokiej temperaturze w porównaniu do kontroli. Zmiany te sugerują niższą aktywność proteaz, lignifikację i ekspansję ściany komórkowej oraz zmiany w architekturze polimerów ściany komórkowej, zwłaszcza pektyn. Wykorzystując system CRISPR/Cas9 uzyskano po cztery mutanty z inaktywowanymi genami kodującymi białko arabinogalaktanowe typu Fasciclin i metyloesterazę pektynową. Choć uzyskane mutanty cechują się brakiem zmian w odpowiedzi na stres temperaturowy, to wykazują słabszy wzrost w odpowiedzi na stres solny.

