



Информация за изпълнение на етап на проект

Наименование на конкурса:
Конкурс за финансиране на научни изследвания - 2017 г.
Основна научна област:
Селскостопански науки
№ на договор:
ДН 16/10 от 20.12.2017
Начална и крайна дата на проекта:
20.12.2017 - 20.12.2020
Заглавие на проекта:
Транскриптомни и метаболомни изследвания на гени участващи в процесите на зреене на семената и нодулирането при бобови
Базова организация:
Агробиоинститут
Партньорски организации:
НЕ
Ръководител на научния колектив (академична длъжност, научна степен, име):
ГЛ. АС. Д-Р МАРИЯНА РАДКОВА
Общ размер на отпуснатото финансиране за първи етап:
60 000 ЛЕВА
Интернет страница на проекта (ако има такава):
Научни публикации по проекта:
„Zinc finger CCHC-type protein related with seed size in model legume species <i>Medicago truncatula</i> “, https://doi.org/10.1080/13102818.2019.1568914



Описание на очакваните резултати по проекта (до 1 стр. в рамките на полето по-долу):

Бобовите култури са широко разпространени по целия свят, осигуряващи повече от 69% от протеина, както и 30% от мазнините необходими за диетата на човека. Представителите на бобовите като грах (*Pisum sativum*), соята (*Glycine max*) и бакла (*Vicia faba*) са основен източник на протеини като съдържанието им варира от 20% до 40% в зависимост от генотипа и условията на средата. Проучване механизмите които са в основата на зреенето на семената както и формирането на нодули /грудки/ свързани с усвояването на азота при бобовите култури, характеристики с огромно икономическо значение, е целта на нашето проучване. Очакваните от нас резултати са следните:

1. Транскриптомен анализ на гени свързани със зреенето на семената.

С цел по - задълбочено проучване на процесите, протичащи по време на формирането и развитието на семената, изследвахме нивата на експресия на нов за генома на моделното бобово *M. truncatula* ген, кодиращ транскрипционен фактор *Mt-CCHC-Zn* както във вегетативните, така и в репродуктивни органи в контролната линия 2НА на *M. truncatula*. В допълнение имахме за цел да проследим и нивата на експресия на гени, за които се предполага, че имат отношение към процесите на зреене на семената. Ще установим дали и евентуално как този ген си взаимодейства с гени, участващи в процесите на клетъчната пролиферация, която от своя страна оказва влияние на размера на вегетативните и генеративни органи, най-вече на размера на семената. На базата на подробно проучване на литературата, бяха подбрани такива гени, след което бяха синтезирани специфични праймери за успешната им амплификацията.

2. Транскриптомен анализ на гена *Mt-CCHC-Zn finger* в отговор на стрес. Способността на бобовите растения да асимилират атмосферния азот чрез симбиотични взаимоотношения с почвени микроорганизми е от изключителна важност и намира приложение в земеделските практики в България и в световен мащаб, и спомага за редуциране на неограниченото и неконтролирано използване на изкуствени торове. Нашите проучвания са съсредоточени към изследвания дали гена *Mt-CCHC-Zn* има отношение към процесите свързани с отговора на растението към стрес - биотичен и абиотичен. Използвахме методите на полуколичесвен PCR и PCR в реално време, където нивото на транскрипта на гена *Mt-CCHC-Zn* се сравнява с това на ген, който се транскрибира непрекъснато през време на жизнения цикъл на растението. Нивата на транскрипция са проследени след заразяване със симбиотичната почвена бактерия за *M. truncatula* - *Sinorisobium meliloty* в динамика от 36 час до 12-ти ден, както и след третиране на семеначета с различни концентрации на сол и ниски температури.

В работната програма са заложили и задачи свързани с метаболитното профилиране на линии с променена транскрипция на гена *Mt-CCHC-Zn* - линии OE (*over expression*) и линии RNAi (*RNA interference*, метода на РНК интерференцията) с цел да установим дали променената експресия на гена води до отклонения в метаболитните профили на тези линии. Предвид на това, че съществуват значителни сходства по отношение



състава на запасните вещества - аминокиселини, мастни киселини и разтворими захари в семената на моделното бобово *M. truncatula* и другите зърнено бобови, получените данни ще ни позволят да направим препратка към метаболитните профили на отбрани сортове и линии при културния вид *G. max*. За целта сортове и линии соя бяха отгледани на поле и третирани с *Bradirisobium japonicum* - почвения симбионт за соя. Бяха подбрани положително повлияващи се генотипи, които ще бъдат анализирани през следващия етап на проекта.



Членове на научния колектив

Организации/участници¹	Бележка²
Базова организация:	
Агробиоинститут	
Ръководител на научния колектив	
Гл. ас. д-р Марияна Радкова	ПД
Участници:	
Гл. ас. д-р Миглена Николова Ревалска Студент Емили Веселинова Кременлиева Доцент д-р Илиян Костадинов Баджаков Гл. ас. д-р Ивайла Недялкова Динчева Доцент д-р Росица Минчева Тодорова Доцент д-р Галина Красиминова Найденова Кети Асенова Кръстанова Соня Милева Иванова	ПД СТ, Биологически факултет, СУ Станция по соята, гр. Павликени Станция по соята, гр. Павликени Техник Техник
Партньорска организация:	
Участници:	
Партньорска организация:	
Участници:	
Партньорска организация:	
Участници:	

1 Отбележете академичната длъжност, научната степен, име и фамилия на всеки участник като включите и участниците, които са работили по проекта не през целия период за изпълнение на проекта

2 Отбележете дали участникът в колектива е млад учен (МУ), постдокторант (ПД), докторанти (ДО) или студенти (СТ), или учен от чужбина (УЧ).



ФОНД
НАУЧНИ
ИЗСЛЕДВАНИЯ

Министерство на образованието и науката

--	--



Постигнати резултати от изпълнението на проекта и кратък анализ на тяхната приложимост (до 1 стр. в рамките на полето по-долу)

Получените резултати през първия отчетен период показаха, че новооткритият ген *Mt-CCHC-Zn* има отношение към формирането и развитието на семената т.к. се експресира в по-голяма степен в семената на дивия вид *M. truncatula* в сравнение с корени, листа и шушулки. Установихме, че експерсията на гена е по-висока в ранните етапи от развитието на семето, като нивото на транскрипта е по-висок в зелени семена в сравнение със зрелите (сухи) семена на контролата. Тази връзка беше потвърдена и след проведените експерименти с PCR в реално време със зелени и зрели семена формирани в линии с модифициран профил на транскрипция на гена от *M. truncatula*. Допълнително беше демонстрирано, че гените GRF (GROWTH REGULATING FACTOR), GIF (GRF-INTERACTING FACTOR1) и Cysl3 (Cyclin 3) се транскрибират преференциално в зелените семена на контролата и ОЕ линия 1.5, което предполага вероятно взаимодействие на гена *Mt-CCHC-Zn* и описаните гени или ген.

Установихме, че генът *Mt-CCHC-Zn* има отношение към грудкообразуването, демонстрирано чрез индуциране нивото на транскрипта на гена на 36 час до 12 ден след заразяване с естествената почвена бактерия *Sinorisobuim meliloty*. По отношение на абиотичните фактори установихме, че проучваният ген не се индуцира под влияние на солеви стрес, но се повлиява положително под влияние на ниски положителни температури.

Отгледаните на поле сортове и линии соя (*G.max*) са морфологично оценени по отношение на показателите на наземната част на растенията – маса на растението във фенофаза R4-R5, височина на растенията, брой плодни възли, брой разклонения, брой бобове, брой семена от растение, добив на семена от растение, маса на хиляда семена, жътвен индекс, както и на подземната част, съответно коренова маса във фенофаза R4-R5, брой грудки на растение, свежа маса на грудките от растение, суха маса на грудките от растение през земеделския сезон на 2018, в района на станцията по соята гр. Павликени. Въз основа на получените данни са отбрани сортове и линии, с които ще се проведат анализи на ниво транскрипция на гени свързани с размера на семената и грудкообразуването през следващия период на проекта, както и метаболитно профилиране на зелени и зрели семена.

Подхода който използваме в настоящото проучване позволява прехвърляне на знания свързани с процесите на образуване на семената и азотфиксацията от моделния див вид *M. truncatula* към културният вид *G. max*. Икономическото значение на соята както за България така и в световен мащаб е огромно предвид богатото



съдържание на протеин и мастни киселини в семената на тази култура.