

Streszczenie

Zmiany profilu wybranych metabolitów polarnych w kiełkujących nasionach i siewkach grochu (*Pisum sativum* L.) pod wpływem stresów abiotycznych

Monika Ciak

Rozprawa doktorska wykonana w Katedrze Fizjologii, Genetyki i Biotechnologii Roślin

Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie pod kierunkiem *prof. dr. hab. Lesława Bernarda Lahuty*

Dla zaspokojenia rosnącego zapotrzebowania na białko roślinne dla celów spożywczych, paszowych i przemysłowych oraz dążenia do dywersyfikacji jego dostaw koniecznym staje się zwiększenie produkcji nasion krajowych roślin strączkowych. Wśród nich najważniejsze znaczenie ma groch (*Pisum sativum* L.), ze względu na wysoką zawartość białka w nasionach, wysoki potencjał plonotwórczy i korzystny wpływ na zasobność gleb w azot i stan fitosanitarny gleby. Istotną przeszkodą w zwiększaniu upraw grochu jest jego znaczna wrażliwość na działanie głównie abiotycznych czynników stresowych, przyczyniająca się do zawodności plonowania. Dlatego pełniejsze zrozumienie mechanizmów wpływających na odporność grochu na stresy abiotyczne staje się pilnym wyzwaniem.

W prezentowanej pracy podjęto próbę określenia w jaki sposób zmienia się profil metaboliczny tkanek w najwcześniejszych etapach wegetatywnego wzrostu grochu – podczas imbibicji i kiełkowania nasion oraz początkowego wzrostu siewek, narażonych na desykcję, stres osmotyczny, niską temperaturę i obecność w środowisku nanocząstek i jonów srebra. Przeprowadzenie porównawczych analiz składu i zawartości metabolitów polarnych (za pomocą technik chromatograficznych GC-FID i GC-MS) w poszczególnych organach – osi zarodkowej i liścieniach kiełkujących nasion oraz w korzeniu, epikotyli i liścieniach kilkudniowych siewek umożliwiło określenie wczesnych (po kilku godzinach) i późniejszych (po kilku dniach) zmian w profilu metabolicznym tkanek w reakcji na stresy. Natężenie działania czynników stresowych dobrano w taki sposób, aby możliwym było prześledzeniem zmian po ustąpieniu stresu, gdy siewki wznawiały wzrost. Dynamicznie kształtujący się profil metaboliczny tkanek podczas kiełkowania nasion oraz wzrostu i rozwoju siewki podlegał silnej modyfikacji po zadziałaniu każdego z badanych czynników stresowych. Największe zmiany (tak jakościowe jak i ilościowe) dotyczyły głównie cukrowców rozpuszczalnych (sacharozy, oligosacharydów rodziny rafinozy, monosacharydów) i aminokwasów

(niebiałkowego homoseryny oraz niektórych aminokwasów białkowych - proliny, kwasu asparaginowego, glutaminowego i ich amidów).

Podstawową reakcją kiełkujących nasion i siewek grochu na zaburzenia homeostazy wodnej komórek (podczas desykcji i stresu osmotycznego) była szybka akumulacja sacharozy z wykorzystaniem już obecnych w tkankach monosacharydów i/lub wymagająca przyspieszonej mobilizacji materiałów zapasowych - pierwotnych, jak oligosacharydy rodziny rafinozy, bądź głównych – jak skrobia. Jednocześnie tkanki zaczynają wytwarzać i gromadzić prolinę, powszechnie uznawany osmoprotektant. Jednak zmiany w składzie i zawartości aminokwasów wskazują na przypuszczalnie większe znaczenie homoseryny – niebiałkowego aminokwasu, który ilościowo dominował w tkankach rozwijającej się siewki, a którego zawartość istotnie wzrastała podczas stresu. Zmiany zachodziły relatywnie szybko – w 5-dniowych siewkach poddawanych desykcji, już niewielkie zmiany w zawartości wody po 4-8 godzinach zmieniały gradient stężenia cukrów i aminokwasów pomiędzy tkankami poszczególnych stref wzrostu – zarysowała się alokacja sacharozy i proliny z liścieni do wierzchołków wzrostu korzenia i epikotyła. Na zmianę w dystrybucji aminokwasów wskazywało też gromadzenie w wierzchołku korzenia większych ilości kwasu glutaminowego i glutaminy, a w epikotyli – asparaginy. Nagromadzenie większych ilości metabolitów mogło również wynikać z osłabionego ich wykorzystania przez komórki, których wzrost został zahamowany w wyniku niedoboru lub utraty wody, spadku turgoru, niskiej temperatury czy obecności nanocząstek/jonów srebra, hamujących metabolizm. Istotnym wynikiem jest też wykazany brak wpływu oligosacharydów rodziny rafinozy na utrzymywanie się odporności kiełkujących nasion na desykcję. Z drugiej strony, poznanie czynników indukujących ich syntezę (głównie rafinozy) w siewkach podczas stresu wodnego i działania niskiej temperatury, jak też znaczenie dla odporności siewek na stresy, wymagają dalszych badań. Niejasną pozostaje też rola homoseryny w regulacji metabolizmu azotowego siewek grochu w warunkach stresu.