

Mgr Piotr Zgłobicki

Streszczenie rozprawy doktorskiej

„Modulacja odpowiedzi roślin na UV pod wpływem światła
widzialnego i cukrów”

Promieniowanie ultrafioletowe jest jedną ze składowych widma światła słonecznego i ważnym czynnikiem stresowym szczególnie dla organizmów fotoautotroficznych. Ochrona przed jego szkodliwym działaniem zachodzi na wielu różnych poziomach: unikania ekspozycji, pochłaniania promieniowania i, jeśli powyższe zawiodą, naprawy powstających uszkodzeń. Rośliny używają licznych mechanizmów fotoprotekcyjnych, sterowanych przez receptory światła. Wiele z nich, jak na przykład ruchy chloroplastów, jest modulowanych przez zależne od cukrów ścieżki sygnałowe. W roślinnych szlakach sygnału pochodzącego od cukrów kluczową rolę pełni glukoza, której receptorem jest heksokinaza. Receptor sacharozy pozostaje nieznany, jednak istnieją dowody, że jest ona odbierana jako odrębny sygnał.

Celem tej pracy było zbadanie roli światła widzialnego oraz cukrów w ochronie roślin przed skutkami promieniowania UV. Pierwszym etapem było określenie wpływu sterowanych światłem niebieskim ruchów organelli komórkowych zawierających DNA - jąder komórkowych i chloroplastów na unikanie ekspozycji na UV. Badanie przeprowadzono na *Arabidopsis thaliana* typu dzikiego oraz mutantach z zaburzonym ruchem organelli. Liście roślin naświetlano lub zaciemniano warunkując określone położenie chloroplastów i jąder komórkowych, a następnie poddawano działaniu UV ($2,5 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$). Poziom dimerów pirymidynowych w DNA izolowanym z różnych frakcji subkomórkowych oznaczano metodą ELISA z użyciem specyficznych przeciwciał. W dalszej części analizowano wpływ cukrów dodanych do pożywki na kolejne poziomy ochrony *Arabidopsis* przed UV. Badano rośliny hodowane *in vitro* na podłożach z różnymi stężeniami glukozy i sacharozy oraz odpowiadającymi im osmotycznie stężeniami mannitolu, a także na pożywce kontrolnej bez dodatkowych składników. Wysokosprawna chromatografia cieczowa (HPLC) posłużyła do zmierzenia poziomu związków pochłaniających UV i przeciwutleniaczy. Następnie określano poziom dimerów pirymidynowych w DNA bezpośrednio po naświetleniu UV ($2,5 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$) oraz naprawę tych dimerów w roślinach przeniesionych do różnych warunków świetlnych. Stosując technikę PCR w czasie rzeczywistym zmierzono poziom transkryptów genów

zaangażowanych w różne szlaki naprawy DNA. Określono także wydajność fotosyntetyczną roślin rosnących na różnych podłożach po naświetleniu UV używając metody fluorymetrycznej. Dodatkowo prowadzono obserwacje wpływu cukrów 4

w pożywce na przeżywanie, wzrost i rozwój roślin traktowanych różnymi dawkami UV (2,5 kJ·m⁻², 28 kJ·m⁻²).

W wyniku przeprowadzonych badań nie stwierdzono ochrony przed uszkodzeniami wywoływanymi UV w genomie chloroplastowym i jądrowym dzięki sterowanym światłem niebieskim ruchom organelli. Zaobserwowano wzrost przeżywalności po naświetlaniu dużą dawką UV (28 kJ·m⁻²) roślin hodowanych na sacharozie lub glukozie. Wzrost ten jest skorelowany z mniejszym spadkiem wydajności fotosyntetycznej oraz z niższym poziomem uszkodzeń w DNA. Efekt ten nie jest związany z różnicami w naprawie DNA, ponieważ jej poziom nie zależał od cukrów. Prawdopodobnie wynikał on ze zmniejszonej penetracji promieniowania w głąb tkanki dzięki zwiększonej ilości polifenolowych związków absorbujących UV. Wśród nich największy wzrost obserwowano w przypadku kemferytyny i jabłczanu sinapoilu w roślinach rosnących na pożywce z wysokim stężeniem glukozy. Przeciwną tendencję stwierdzono w przypadku odpowiedzialnych za redukcję wolnych rodników związków poliprenowych, takich jak tokoferole czy plastochromanol-8, których poziom był niższy w roślinach hodowanych na badanych cukrach. Stwierdzono wpływ cukrów (sacharozy i glukozy) w medium hodowlanym na poziom transkryptów niektórych genów uczestniczących w naprawie błędnie sparowanych nukleotydów, naprawie przez wycięcie nukleotydów, a także markerów jądrowych proliferujących komórek (PCNA) i gyrazy DNA. Ostatnim etapem badań było sprawdzenie długoterminowych efektów dodatku do pożywki cukrów na wzrost i rozwój roślin po naświetlaniu UV. Przy niskich dawkach UV (2,5 kJ·m⁻²) zaobserwowano przyspieszone kwitnienie roślin na pożywce z sacharozą. Efekt ten nie był obserwowany ani przy traktowaniu UV roślin rosnących na innych podłożach, ani dla roślin rosnących na podłożu z sacharozą nie naświetlonych. Efekt przyspieszonego kwitnienia nie był jednak zależny od receptora UV-B – UVR8, gdyż nie obserwowano różnic między roślinami typu dzikiego a mutantem *uvr8*.

Uzyskane wyniki świadczą o ważnej roli sygnału pochodzącego od cukrów w ochronie roślin przed UV. Wykazano, że dodatek cukrów do pożywki zwiększa przeżywalność roślin po stresie UV i moduluje procesy rozwojowe. Cukry wpływają m.in. na poziom ekspresji genów zaangażowanych w naprawę DNA i produkcję związków absorbujących UV.