

Streszczenie

Temat:

Molekularny mechanizm działania tlenu azotu, w podejściu transkryptomycznym i proteomicznym, podczas ustępowania spoczynku i kiełkowania nasion jabłoni

Nasiona jabłoni (*Malus domestica* Borkh.) obarczone są głębokim spoczynkiem zarodkowym. W warunkach naturalnych spoczynek ten ustępuje po 90-dniowej chłodnej stratyfikacji. Podczas tego zabiegu, w nasionach dochodzi do zmian hormonalnych, a około 14 dnia następuje emisja tlenu azotu (NO) i rośnie zawartość reaktywnych form tlenu (ROS).

W warunkach laboratoryjnych przełamanie spoczynku uzyskuje się m.in. przez krótkotrwałe (3 h) traktowanie zarodków NO. Towarzyszy mu zmiana bilansu fitohormonalnego oraz wzmożona produkcja ROS. Spoczynek nasion pozostaje zatem pod ścisłą kontrolą kompleksu regulatorowego ROS/NO - fitohormony (kwas abscysynowy – ABA, gibereliny – GA, kwas jasmonowy – JA).

Celem pracy było wskazanie molekularnych zdarzeń związanych z regulacją hormonalną (ABA, GA, JA) podczas ustępowania spoczynku i kiełkowania nasion/zarodków jabłoni. Analizowano zmiany transkryptomu i proteomu osi zarodkowych nasion jabłoni różniących się głębokością spoczynku wynikającą z (i) krótkotrwałego traktowania NO lub (ii) chłodnej stratyfikacji.

Na podstawie wyników analizy ekspresji genów wykazano, że molekularny mechanizm współdziałania NO z hormonami uczestniczącymi w regulacji spoczynku i kiełkowania nasion związany jest:

- 1) z obniżonym poziomem ekspresji genów NCED1 oraz CYP707A2,
- 2) z podwyższonym poziomem ekspresji GA3ox i GA20ox oraz obniżonym poziomem ekspresji DELLA,
- 3) ze zwiększonym poziomem ekspresji COI,
- 4) ze zwiększonym poziomem ekspresji POX oraz PTP i CaM.

Do analizy białek ulegających S-nitrozylacji zastosowano metodę SNOSID. W osiach zarodków pochodzących z nasion poddanych stratyfikacji lub traktowanych NO zidentyfikowano 351 peptydów zawierających w sekwencji, co najmniej jedną S-Cys. Porównując otrzymane wyniki z bazą sekwencji białek dla rodziny różowatych (GDR, ang. The Genome Database for Rosaceae) z zawężeniem do gatunku *Malus x domestica*, peptydy te przypisano 270 białkom. Szczegółowej analizie poddano białka, związane z biosyntezą/degradacją hormonów, metabolizmem ROS oraz szlakami transdukcji sygnałów tych cząsteczek. Białka, które zidentyfikowano jako S-nitrozylowane to m.in. CaM, CAT, CYP707A1, GR, MdGASA17, MdGASA20, PHYA, PYL, PRDX, RBOH, SOD, Trx. Zdarzenia molekularne stwierdzone w osiach zarodkowych nasion, których spoczynek ustępuje w wyniku chłodnej stratyfikacji lub traktowania NO wykazują szereg podobieństw jednak nie są identyczne, o czym świadczy różny przebieg zmian poziomu ekspresji badanych genów.