

STRESZCZENIE

Charakterystyka biochemiczno-fizjologiczna mutantu insercyjnego *mkk2 Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.

Paulina Zimak-Piekarczyk

Kaskada kinaz białkowych aktywowanych mitogenami (MAPK) stanowi uniwersalny szlak percepcji i transdukcji sygnałów wzrostowo-rozwojowych oraz stresowych dla komórek eukariotycznych. Kaskada ma budowę hierarchiczną MAPKKK-MAPKK-MAPK, gdzie kolejne komponenty podlegają odwracalnej fosforylacji, by następnie zmieniać aktywność innych kinaz, wybranych czynników transkrypcyjnych i w efekcie regulować poziom ekspresji różnych genów. Jedną ze słabo scharakteryzowanych kinaz jest MKK2 (kinaza kinazy białkowej aktywowanej mitogenami) z *Arabidopsis thaliana*. Celem prezentowanej pracy było scharakteryzowanie fenotypu *A. thaliana* o zahamowanej ekspresji *MKK2* i określenie funkcji tego genu w procesach wzrostowo-rozwojowych i stresowych u *A. thaliana*. W przeprowadzonych badaniach podjęto próbę weryfikacji następujących hipotez:

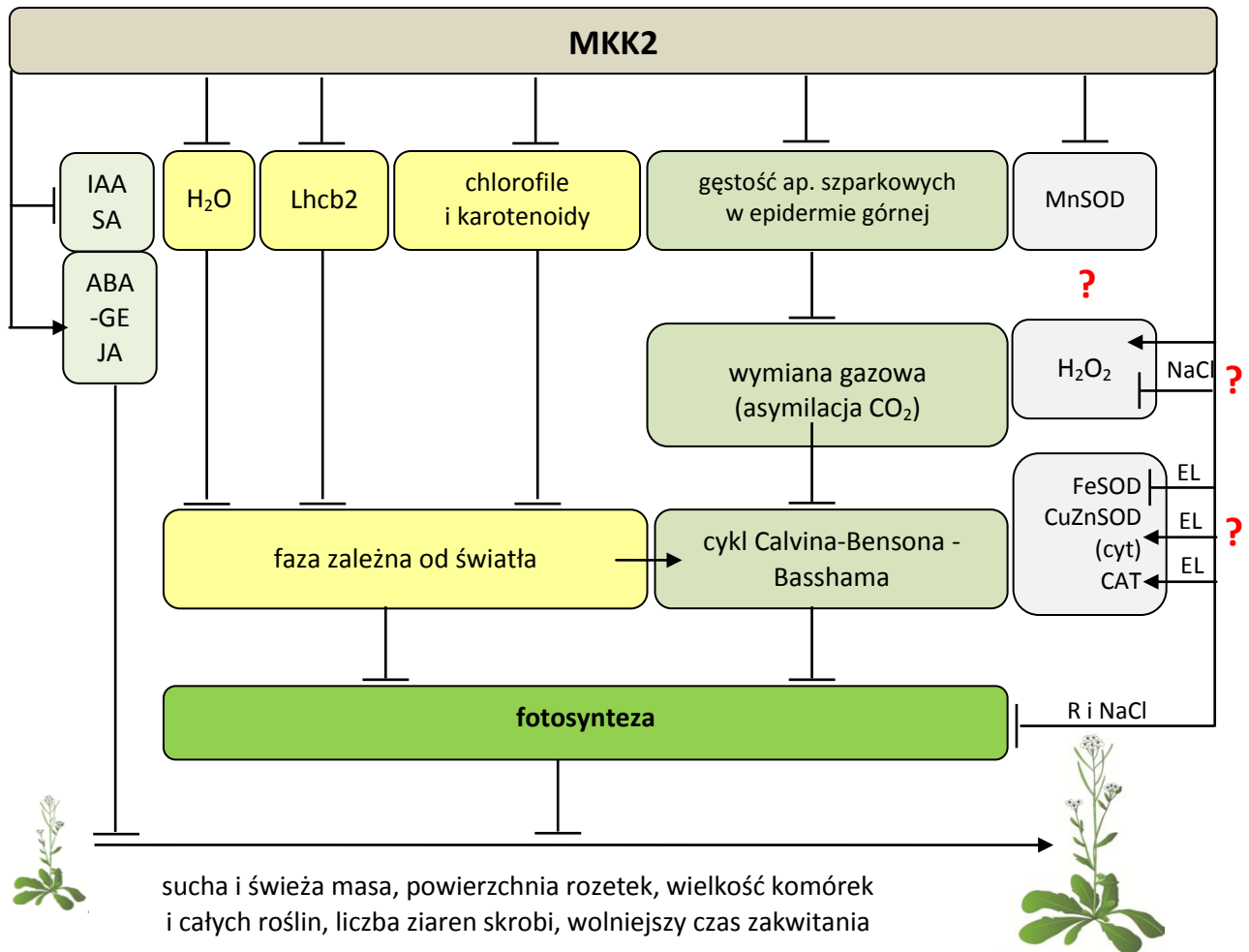
1. *MKK2* uczestniczy w procesach wzrostu i rozwoju w *A. thaliana*.
2. *MKK2* wpływa na odpowiedź roślin poddanych działaniu wybranych, abiotycznych czynników stresowych: nadmiaru światła i zasolenia.

Genotypowanie roślin potwierdziło obecność insertu w genie *MKK2* i homozygotyczność linii SAIL mutantu *mkk2 A. thaliana*. Ponadto, mutanty *mkk2* miały całkowicie zahamowaną ekspresję genu *MKK2*, co pozwoliło wyciągać wnioski na temat funkcji tego genu w porównaniu do roślin typu dzikiego (WT), które posiadały funkcjonalne allele *MKK2*.

Stwierdzono, że rośliny mutantu *mkk2* charakteryzowały się istotnie większą biomasą i powierzchnią rozetek w porównaniu do roślin WT *A. thaliana*. W celu wyjaśnienia tych różnic przeprowadzono pomiary aktywności fotosystemów, zawartości barwników fotosyntetycznych i wybranych białek fotosystemowych oraz dużej podjednostki RubisCO, wymiany gazowej, gęstości aparatów szparkowych oraz tzw. indeksu szparkowego. Dodatkowo, określono zawartość wody oraz wybranych fitohormonów w liściach *A. thaliana*. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że zahamowana ekspresja *MKK2* w *A. thaliana* wiązała się ze zwiększoną wydajnością kwantową fotosystemu I (PSI) i fotosystemu II (PSII), podwyższoną zawartością białka strukturalnego kompleksu antenowego zbierającego światło w PSII - Lhcb2, większą ilością chlorofili i karotenoidów przypadającą na jednostkę powierzchni liścia oraz efektywniejszą asymilacją CO₂. Ponadto zaobserwowano wzrost zawartości kwasu indolilo 3-octowego (IAA) i kwasu salicylowego (SA) oraz obniżenie zawartości estru glukozy kwasu abscysynowego (ABA-GE) i kwasu jasmonowego (JA) w mutantach *mkk2*. W badaniach wykazano niewielki wpływ *MKK2* na aktywność wybranych enzymów antyoksydacyjnych: dysmutazy anionorodnika ponadtlenkowego (SOD), katalazy (CAT) i niespecyficznej peroksydazy (POX). Z drugiej strony, różnice w zawartości H₂O₂ pomiędzy mutantami *mkk2* i roślinami WT, sugerują zaangażowanie *MKK2* w metabolizm ROS.

Dane te wskazują, że efekt fenotypowy, jakim był przyspieszony wzrost, przyrost biomasy i powierzchni liści, wynikał ze sprawniejszej aktywności fotosyntetycznej mutantów *mkk2*. Ponadto, o biomacie i powierzchni roślin decydowały większe rozmiary komórek miękiszu liściowego oraz podniesiona zawartość wody w komórkach, które najprawdopodobniej były rezultatem działania podwyższonego poziomu IAA na wzrost

komórek. Wyniki te wskazują na istotny udział *MKK2*, jako negatywnego regulatora w procesach wzrostu i rozwoju u *A. thaliana*. Wynika z nich również, że *MKK2* w różnym stopniu kontroluje metabolizm roślin za pośrednictwem zmian w aktywności układu fotosyntetycznego, fitohormonalnego i antyoksydacyjnego. Kinaza *MKK2* pośredniczy również w odpowiedzi na czynniki zewnętrzne o charakterze stresowym: zasolenie (NaCl) oraz krótkotrwały stres świetlny, co świadczy o jej zaangażowaniu w mechanizmy aklimatyzacyjne roślin do zmieniających się warunków otoczenia. Wnioski jakie można sformułować na podstawie przeprowadzonych badań zaprezentowano na schemacie (Rys. 1.).



Rys. 1. Schemat ukazujący regulację procesów wzrostowo-rozwojowych i stresowych w wyniku obecności kinazy *MKK2* u *A. thaliana*. CAT - katalaza; cyt - cytozolowa; EL - stres nadmiaru światła; H₂O₂ - nadtlenuk wodoru; IAA - kwas indolilo-3-octowy; Lhcb2 - białko strukturalne kompleksu zbierającego światło fotosystemu PSII; MnSOD/FeSOD/CuZnSOD - manganowa/żelazowa/miedziowo-cynkowa dysmutaza anionorodnika ponadtlenkowego; NaCl - chlorek sodu; R - warunki poststresowe; SA - kwas salicylowy. Nad liniami podano warunki stresowe, w jakich obserwowano zmiany. Pozostałe linie wskazują warunki kontrolne. ? - wskazuje konieczność dalszych badań ze względu na bardziej skomplikowane mechanizmy regulacyjne w procesach antyoksydacyjnych. Znak "⊥" oznacza hamowanie, a "↓" stymulację danego procesu.