

POPULARYZATORSKI OPIS REZULTATÓW PROJEKTU

Pt. Molekularny mechanizm działania tlenu azotu (NO), w podejściu transkryptomycznym i proteomicznym, podczas ustępowania spoczynku i kiełkowania nasion jabłoni

Nr. wniosku: 2012/07/N/NZ2/01645

Spoczynek nasion występuje u wielu gatunków roślin i umożliwia ich przetrwanie w niekorzystnych warunkach środowiskowych. Definiowany jest jako stan zahamowanej aktywności metabolicznej a tym samym wzrostowej, który wywołany jest przez mechanizmy wewnętrzne organizmu. W zależności od gatunku rośliny, nasiona mogą być w stanie płytkiego lub głębokiego spoczynku. W niniejszym projekcie prace były prowadzone na nasionach jabłoni, które charakteryzują się głębokim spoczynkiem zarodkowym. W takim przypadku nasiona są dojrzałe morfologicznie, ale nie są dojrzałe fizjologicznie. Stan ten zależy m.in. od działania hormonów roślinnych. Wysokie stężenie kwasu abscysynowego (ABA) i niskie stężenie giberelin (GA) odpowiadają za utrzymanie stanu spoczynku nasion. U jabłoni okres ustępowania spoczynku nasion trwa aż 90 dni w warunkach chłodnej stratyfikacji. We wcześniejszych badaniach wykazano, że ten długi okres ustępowania spoczynku można skrócić do 4 dni poprzez krótkotrwałe traktowanie zarodków – tlenkiem azotu (NO). Okazało się również, że NO jest produkowany przez zarodki w czasie chłodnej stratyfikacji. Wzrost stężenia NO w zarodkach jabłoni wpływa na zmniejszenie zawartości ABA i zwiększenie zawartości etylenu. NO indukuje także zwiększoną produkcję reaktywnych form tlenu (ROS), które są jednym z elementów sygnalizacji komórkowej związanej z rozpoczęciem kiełkowania i powodują utlenienie białek, szczególnie białek zapasowych. Do analiz przeprowadzonych w ramach niniejszego projektu wykorzystano zarodki jabłoni, które były traktowane NO, jak również zarodki izolowane z nasion poddanych chłodnej stratyfikacji.

W ramach niniejszego projektu określono zmiany zachodzące w syntezie RNA i białek kodowanych przez geny zaangażowane w różnym stopniu w przełamywanie spoczynku nasion. Ustalono, czy zachodzi różnica w wydajności syntezy RNA oraz w jakości białek zaangażowanych w ww. proces, w tym głównie genów kodujących enzymy biorące udział w syntezie i degradacji hormonów roślinnych ABA, GA i kwasu jasmonowego (JA) oraz wspomnianych powyżej ROS, a także najważniejszych elementów szlaków transdukcji sygnałów indukowanych przez ABA, GA, JA oraz ROS. Ponadto, zidentyfikowano białka ulegające *S*-nitrozylacji – modyfikacja ta świadczy o wzroście stężenia NO w zarodkach podczas ustępowania spoczynku. Wyniki uzyskane w niniejszym projekcie poszerzają wiedzę na temat mechanizmów zachodzących w komórkach zarodków nasion, u których następuje przełamywanie spoczynku.

Jakość materiału siewnego oraz zdolność nasion do kiełkowania mają bardzo duże znaczenie w rolnictwie, ogrodnictwie i leśnictwie. Wysoka jakość nasion, wyrażająca się między innymi szybkim i równomiernym kiełkowaniem, jest jednym z ważniejszych czynników biologicznych wpływających na plonowanie roślin uprawnych. Poszukiwanie metod poprawy jakości nasion uwarunkowane jest m. in. poznaniem i zrozumieniem podstawowych mechanizmów przerywania spoczynku i podnoszenia zdolności kiełkowania nasion, szczególnie o tzw. głębokim spoczynku. Poza tym poznanie mechanizmów działania NO na proces kiełkowania nasion może przyczynić się do opracowania metod stymulacji kiełkowania nasion o głębokim spoczynku.

← **Sformatowano:** Wcięcie: Pierwszy wiersz: 0 cm

DESCRIPTION OF THE PROJECT RESULTS No. 2012/07/N/NZ2/01645

TITLE: MOLECULAR MODE OF ACTION OF NITRIC OXIDE (NO) DURING DORMANCY ALLEVIATION AND GERMINATION OF APPLE SEEDS ANALYZED ON TRANSCRIPTOMIC AND PROTEOMIC LEVEL

Seed dormancy is a key feature of many plant species and it allows them to survive in unsuitable environmental conditions. It is defined as a period in plant's life cycle when growth, development, and metabolic activity are temporarily inhibited. Generally seed dormancy is divided into two categories: exogenous and endogenous. The research was carried on apple seeds characterized by endogenous dormancy. Its mode of action is physiological because it is caused by an accumulation of growth inhibitors like abscisic acid (ABA) or phenolic compounds. Under natural conditions deep embryonic dormancy of apple seeds may be overcome by 3-month cold stratification or in laboratory (at 20 °C) by short term fumigation with nitric oxide (NO).

Currently, it is believed that alleviation of seed dormancy and germination of apple embryos are controlled by a regulatory complex consisting of plant hormones - ABA and gibberellins (GA), small signalling molecules such as NO and ROS. During seed dormancy removal ABA is degraded, while the inactive form of GA is changed into the active one and the GA transduction pathway is activated. The activation of GA signal transduction triggers seed germination and seedling growth. In plants, NO and ROS are involved in the regulation of many physiological processes e.g.: root development, flowering, responses to abiotic stresses and pathogens. Their mode of action involves post translational modifications of some proteins crucial for regulation of various physiological processes.

The aim of this project was to determine the molecular mechanisms of NO action during dormancy alleviation and germination of apple seeds or embryos. Set goals in this project have been achieved. The transcript accumulation level of genes involved in breaking seed dormancy and germination was investigated. The differences in quality of proteins involved in the above processes were determined. As well the impact of NO on expression level of some major genes encoding enzymes involved in metabolism (biosynthesis/degradation) of seed dormancy-related phytohormones (ABA, GA, jasmonic acid) were analysed. Moreover, the effect of ROS and the key elements of signal transduction pathways induced by these phytohormones were also examined. Further, *S*-nitrosylated proteins were identified. These modifications correspond to the increase of concentration of NO in embryos during seed dormancy alleviation and germination.

Results obtained in the course of the project significantly extend the knowledge of the seed biology. So far, in literature is a lack of detailed data on molecular mechanisms of regulation of deep embryonic dormancy, as well as about molecular signals that terminate deep dormancy of seeds. As a material, we used both dormant apple embryos pre-treated with NO and embryos isolated from stratified seeds.

The quality of the seeds and the ability to seed germination are of great importance in agriculture, horticulture and forestry. Rapid and uniform germination of seeds belongs to the most important biological factors affecting the crop yield. The improvement of seed quality depends on understanding the basic mechanisms of breaking seed dormancy and seed germination, including seeds characterized by deep dormancy. Moreover, understanding the NO involvement in the process of seed germination may contribute to the development of methods/treatments for stimulation of seed germination.