

UNIWERSYTET PRZYRODNICZY W POZNANIU
WYDZIAŁ OGRODNICTWA I ARCHITEKTURY KRAJOBRAZU

Agata Korbas

**Udział poliamin w reakcji ogórka (*Cucumis sativus* L.)
na stres zasolenia**

**Involvement of polyamines in responses of cucumber
(*Cucumis sativus* L.) to salt stress**

Rozprawa doktorska
wykonana w Katedrze Fizjologii Roślin

Promotor:
prof. UPP dr hab. Jan Kubiś

Promotor pomocniczy:
dr Tamara Chadzinikolau

Poznań 2020

1. Streszczenie

Poliaminy (PA) są małymi alifatycznymi polikationami o niskiej masie cząsteczkowej, zawierającymi dwie lub więcej grup aminowych. Mogą wiązać się z małymi cząsteczkami tworząc koniugaty, jak również z ujemnie naładowanymi makrocząsteczkami występując jako formy związane. Poliaminy obecne są u wszystkich organizmów żywych, w komórkach organizmów eukariotycznych i prokariotycznych, niezależnie od wystąpienia presji czynnika stresowego. PA są powiązane z odpowiedzią i ochroną przeciw różnego rodzaju stresom.

Stężenie wewnątrzkomórkowe PA zmienia się podczas wystawienia roślin na różnego rodzaju stresy środowiskowe. Dochodzi do intensyfikacji metabolizmu poliamin i ich akumulacji w tkankach w przypadku takich stresów abiotycznych jakim jest m.in. stres zasolenia, który stanowi poważny problem w produkcji roślinnej na całym świecie.

Celem badań było wykazanie udziału poliamin w mechanizmie reagowania ogórka gruntowego na stres zasolenia. Analizowano wpływ poliaminy (spermidyny) na poziom względnej zawartości wody oraz na intensywność generowania reaktywnych form tlenu, aktywność enzymów antyoksydacyjnych, akumulację wolnych poliamin, zawartość Na^+ oraz Cl^- , produkcję biomasy i stan chloroplastów u roślin poddanych stresowi zasolenia.

Materiał badawczy stanowiły rośliny ogórka gruntowego (*Cucumis sativus* L.) odmian mieszańcowych pochodzących z firmy hodowlano-nasiennej „SPÓJNIA” w Nochowie. Badania przeprowadzono na pięciu odmianach: AVATAR F1, HUZAR F1, METEOR F1, POZNAŃSKI F1 oraz ŚREMSKI F1. W dalszej kolejności badania prowadzono na dwóch odmianach wybranych na podstawie przeprowadzonych wcześniej analiz.

Stwierdzono, że stres zasolenia ma negatywny wpływ na fizjologię roślin na poziomie całej rośliny upośledzając ich funkcje życiowe. Stanowi to zagrożenie dla upraw roślin rolniczych i ogrodniczych na świecie wpływając na wielkość i jakość uzyskanego plonu.

Przeprowadzone analizy z wykorzystaniem metod spektrofotometrycznych potwierdziły wzrost aktywności enzymów układu antyoksydacyjnego. Aktywność enzymów była zróżnicowana w zależności od intensywności stresu oraz czasu działania czynnika stresowego. Stosowanie egzogennej PA u roślin poddanych stresowi zasolenia stymulowało wzrost aktywności enzymów antyoksydacyjnych. Również taką zależność stwierdzono podczas analizy poziomu generowania reaktywnych form tlenu (RFT), ich poziom był bardzo wysoki pod wpływem działania czynnika stresowego, a zastosowanie egzogennej spermidyny obniżało generowanie RFT. Natomiast obniżenie poziomu akumulacji PA przez zastosowanie inhibitora syntezy spowodowało dalszy wzrost poziomu generowania RFT.

Analizy przeprowadzone z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) wykazały wysoki poziom akumulacji PA, szczególnie Spd w porównaniu do pozostałych oznaczanych PA – Put i Spm. Egzogenna aplikacja Spd powodowała istotny (dodatkowy) wzrost poziomu PA w warunkach działania czynnika stresowego.

Działanie egzogennej Spd w dużym stopniu zależy od czasu traktowania roślin, organów roślinnych, gatunków roślin i genotypów oraz presji czynnika stresowego, jak i stężenia aplikowanej egzogennie Spd.

Prowadzone badania potwierdzają istnienie łagodzącego działania PA – spermidyny wobec represyjnego działania stresu zasolenia. Działanie Spd zostało potwierdzone w badaniach z zastosowaniem inhibitora syntezy PA, w których uzyskano istotne obniżenie poziomu

akumulowanych w stresie PA. Przeprowadzone badania dowodzą, że PA mogą się stać skutecznym elementem metabolizmu służącym do poprawy tolerancji roślin uprawnych na działanie stresu zasolenia, a przypuszczalnie także innych czynników stresowych.

2. Summary

Polyamines (PAs) are small aliphatic low-molecular-weight polycations containing two or more amino groups. They can bind to small molecules to form conjugates as well as to negatively charged macromolecules as bound forms. Polyamines are present in all living organisms, in the cells of eukaryotic and prokaryotic organisms, regardless of the occurrence of stress factor. PAs are connected with response and protection against various types of stresses. The intracellular concentration of polyamines changes when the plants are exposed to various environmental stresses. The metabolism of polyamines and their accumulation in tissues increases in the case of such abiotic stress as salinity stress, which is a serious problem in plant production around the world.

The aim of the study was to demonstrate the role of polyamines in the response mechanism of cucumber to salinity stress. The influence of polyamine (spermidine) on the level of relative water content and intensity of reactive oxygen production, antioxidant enzymes activities, accumulation of free polyamines and Na⁺ and Cl⁻ content, biomass production and chloroplast status in plants exposed to salinity stress were analyzed.

The research material consisted of cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) of hybrid varieties originating from the plant breeding and seed production company „SPÓJNIA” in Nochowo. The research was carried out on five varieties: AVATAR F1, HUZAR F1, METEOR F1, POZNAŃSKI F1 and ŚREMSKI F1. Further research was carried out on two varieties selected on the basis of previous analyses.

It was found that salinity stress has a negative effect on plant physiology at the level of whole plants, disrupting their vital functions. It poses a threat to the cultivation of agricultural and horticultural plants in the world, affecting the quantity and quality of obtained yield.

The analyses carried out using spectrophotometric methods confirmed the increase in the activity of enzymes of the antioxidant system. The enzyme activity varied depending on the intensity of stress and the duration of the stress factor. The application of exogenous PAs in plants exposed to salinity stress stimulated an increase in activity and generation of antioxidant enzymes. Such a correlation was also found during the analysis of the level of generating reactive oxygen species (RFT), their level was very high under the influence of a stress factor, and the application of exogenous spermidine reduced RFT generation. In contrast, reducing the level of PA accumulation by the use of a synthesis inhibitor resulted in a further increase in the level of RFT generation.

The analyses carried out using high performance liquid chromatography (HPLC) showed a high level of accumulation of PAs, especially Spd, compared to the other PAs - Put and Spm. Exogenous Spd application caused a significant (additional) increase in PA levels under stress factors.

The effect of exogenous Spd largely depends on the treatment time of plants, plant organs, plant species and genotypes as well as stress factor pressure and the concentration of exogenously applied Spd.

The research confirms the soothing effect of PA - spermidine against the repressive effect of salinity stress. The effect of Spd has been confirmed by studies using a PA synthesis inhibitor in which a significant level reduction of PAs accumulated under stress was obtained.

The research conducted in this work proves that PAs can become an effective element of metabolism to improve the tolerance of crop plants to the effects of salinity stress, and probably also other stress factors.