

Streszczenie

Przeprowadzone doświadczenia pozwalają przybliżyć rolę steroidowych hormonów roślinnych brasinosteroidów (BR) u jęczmienia w szczególności w procesach zachodzących w trakcie aklimacji roślin do niskiej i wysokiej temperatury. W badaniach wykorzystano rośliny z zaburzeniami w biosyntezie BR (BW084 (mutacja *HvCPD*) i 522DK (mutacja *HvDWARF*)) oraz rośliny z mutacją *HvBR11* i defektem receptora BR, (BW312), które analizowano na tle odmian referencyjnych. W tkance liści stwierdzono występowanie trzech BR, a w chloroplastach zidentyfikowano ich osiem. U linii z defektem receptora BR potwierdzono charakterystyczną nadmierną akumulację BR C₂₈, ale nie homokastasteronu, co sugeruje, że związek ten może być ligandem innego receptora niż jedyny poznany BR11. W czasie aklimacji roślin w 5°C poziom BR w liściach wzrastał, natomiast w 27°C przejściowo obniżał się. Zaburzenia biosyntezy i percepcji BR wiązały się z obniżeniem tolerancji na mróz, ale ze zwiększeniem tolerancji na wysokie temperatury (np. 45°C), u roślin poddanych aklimacji odpowiednio w 5°C i 27°C. Niższą tolerancję BW084 i BW312 na mróz, w stosunku do odmiany referencyjnej, można łączyć z niższą zawartością homokastasteronu (jednego z BR) i kwasu abscysynowego, wyższą zawartością niektórych giberelin oraz z niższą płynnością membran (monowarstw zbudowanych z digalaktolipidów i fosfolipidów). Zwiększona tolerancja roślin z zaburzeniami w biosyntezie/percepcji BR na wysoką temperaturę (na tle odmian referencyjnych) może zostać powiązana z niższą zawartością homokastasteronu i obniżonym stopniem płynności membran (monowarstw zbudowanych z frakcji mono- i digalaktolipidów). W badaniach dynamiki molekularnej metodą Elektronowego Rezonansu Paramagnetycznego weryfikowano hipotezę, że BR oddziałują bezpośrednio z membranami (tak jak sterole) i stabilizują je. Do badań wybrano mutant z deficytem BR (522DK) i jego odmianę referencyjną, jednak w trakcie eksperymentu stwierdzono, że w izolowanych chloroplastach (w odróżnieniu od liści) całkowita zawartość BR była podobna, co można uznać za przyczynę małych różnic w dynamice molekularnej membran chloroplastów pomiędzy odmianą i 522DK. Sugeruje to także istnienie mechanizmów odpowiedzialnych za akumulację BR w chloroplastach niezależnie od zaburzeń ich biosyntezy w komórce. Analizy membran modelowych z wbudowywanymi BR jednak także nie potwierdziły wpływu BR na ich dynamikę. Ustalono, że BR u jęczmienia regulują ekspresję białek szoku cieplnego (HSP), a także zlokowanych w membranach akwaporyn i pompy protonowej, działając zarówno na poziomie transkrypcji jak i biosyntezy białka. W przypadku biosyntezy występuje jednak mocna zależność tej regulacji od temperatury wzrostu i częściowo od tła genetycznego.

Summary

The experiments carried out as part of the presented doctoral dissertation allow to bring closer the role of plant steroid hormones brassinosteroids (BR) in barley, in particular in the processes of plant acclimation to low and high temperatures. In the study, plants with disturbances in BR biosynthesis (BW084 (*HvCPD* mutation) and 522DK (*HvDWARF* mutation)) and plants with *HvBR11* mutation and BR receptor defect (BW312) were used and analyzed against reference cultivars. Three BRs were found in leaf tissue, and eight were identified in chloroplasts. In the BR receptor defective line, a characteristic excessive accumulation of BR C₂₈ was confirmed. But it was not observed in case of homocastasterone accumulation what suggest that this compound may be a ligand for other receptor than the only known BR11. During plant acclimation at 5°C the BR level in leaves increased, while at 27°C it temporarily decreased. Disturbances in BR biosynthesis and perception were associated with decreased frost tolerance and with increased tolerance to high temperatures (e.g. 45°C) in plants acclimated to 5°C and 27°C, respectively. The lower frost tolerance of BW084 and BW312, compared to the reference cultivar, can be associated with a lower content of homocastasterone (one of BR) and abscisic acid, a higher content of some gibberellins and a lower membranes fluidity (monolayers made of digalactolipids and phospholipids). In studies of molecular dynamics of chloroplast membranes with the Electron Paramagnetic Resonance method, the hypothesis that BR interacts directly with membranes (like sterols) and stabilizes them was verified. The BR-deficient mutant (522DK) and its reference cultivar were selected for the study, but during the experiment it was found that in isolated chloroplasts (in contrast to leaves) the total content of BR was similar, which can be considered as the reason for small differences in the molecular dynamics of chloroplast membranes between Delisa cultivar and 522DK mutant. It also suggests the existence of mechanisms responsible for the accumulation of BR in chloroplasts that are not related to disturbances in BR biosynthesis in the cell. Also, analyzes of model membranes with incorporated BR, did not confirm the influence of BR on their molecular dynamics, but this issue remains open for further research. It was found that BR in barley regulates the expression of heat shock proteins (HSPs), as well as membrane-bound aquaporins and proton pumps, acting both at the level of transcription and protein biosynthesis. However, in the case of biosynthesis, there is a strong dependence of this regulation on the growth temperature and partly on the genetic background.