

Unikalne zmiany w biosyntezie glukozynolanów wśród gatunków plemienia Camelineae rodziny Brassicaceae

Paweł Czerniawski

Streszczenie

Glukozynolany to zawierające atomy azotu i siarki metabolity wtórne powszechnie występujące w roślinach z rodziny Brassicaceae i pełniące funkcje w obronie przed ataku insektów i patogenów. Dwie główne klasy tych metabolitów to pochodzące od metioniny glukozynolany alifatyczne (AG) i produkowane z tryptofanu glukozynolany indolowe (IG). Pomimo dobrze udokumentowanej konstytutywnej obecności AG i IG w badanych gatunkach Brassicaceae, niektóre opublikowane wyniki sugerują, że gatunki jednego z kładów plemienia Camelineae mogą stanowić wyjątek od tej reguły. Celem niniejszej pracy doktorskiej było określenie, poprzez systematyczne analizy metabolomiczne, genomiczne i transkryptomocne, zdolności biosyntezy glukozynolanów przez *Capsella rubella*, *Capsella bursa-pastoris*, *Capsella grandiflora*, *Camelina sativa* i *Neslia paniculata*, które to gatunki reprezentują omawiany kład Camelineae.

Przeprowadzone niecelowane analizy metabolomiczne przy użyciu chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas wykazały, że badane gatunki produkują glukozynolany w pędach, łuszczynekach nasiennych i korzeniach, ale nie w liściach. Wykazaliśmy również, że IG są produkowane w tych roślinach w znacznie mniejszych ilościach niż AG, a dodatkowo znacznie poniżej poziomu obserwowanego w roślinie modelowej *Arabidopsis thaliana*. Analizy dostępnych sekwencji genomowych pozwoliły na identyfikację ortologów genów kodujących enzymy związane z biosyntezą glukozynolanów, a przeprowadzone analizy ich ekspresji wykazały organospecyficzny wzór pokrywający się z akumulacją glukozynolanów. Z kolei identyfikacja i analiza ekspresji ortologów czynników transkrypcyjnych MYB, które w roślinie modelowej *A. thaliana* kontrolują biosyntezę glukozynolanów zasugerowała, że badane gatunki nie posiadają funkcjonalnego ortologu białka MYB34, które bierze udział w regulacji ekspresji genów związanych z biosyntezą IG. To przypuszczenie zostało potwierdzone przez ekspresję genu *MYB34* z *C. rubella* w *A. thaliana*. Co więcej, wzrost akumulacji IG, spowodowany ekspresją *MYB34* z *A. thaliana*, w *C. rubella* wykazał, że utrata funkcji przez MYB34 jest jedną z molekularnych przyczyn obniżonej zdolności do biosyntezy IG przez badane gatunki Camelineae.

Dodatkowo nasze analizy metabolomiczne wykazały zmiany w różnorodności strukturalnej AG i IG w badanych gatunkach. Objawiały się one preferencją do akumulacji rzadkich długołańcuchowych AG oraz obniżoną zdolnością do modyfikacji pierścienia indolowego IG. Analizy ortologów genów kodujących białka biorące udział w wydłużaniu łańcuchów bocznych AG oraz w modyfikacji IG wykazały, że odpowiedzialne za obserwowane zmiany różnorodności glukozyolanów mogą być odpowiednio pojawienie się nowego ortologu syntazy metyloalkilójabłczanowej oraz wsteczna ewolucja monooksygenaz rodziny CYP81F.