Streszczenie

Len (Linum usitatissimum) jest rośliną o dużym znaczeniu odżywczym i przemysłowym, w której glikozydy cyjanogenne (CGs) stanowią istotną grupę drugorzędowych metabolitów zawierających azot. Szczególnie obficie występują w nasionach i siewkach, a ich rozkład prowadzi do uwalniania toksycznego cyjanowodoru (HCN). Choć zwykle postrzegane są jako związki antyżywieniowe, coraz więcej dowodów wskazuje, że pełnią one także szersze funkcje fizjologiczne, m.in. w gospodarce azotem i siarką, regulacji rozwoju oraz odpowiedzi na stresy środowiskowe. Celem niniejszej pracy było kompleksowe scharakteryzowanie metabolizmu CGs w lnie w odniesieniu do wzrostu i adaptacji roślin do stresów biotycznych i abiotycznych, a także określenie jego powiązań ze stanem odżywienia azotem i siarką.

Badania obejmowały analizy transkryptomiczne, biochemiczne i enzymatyczne. Oceniano ekspresję genów kluczowych dla biosyntezy, degradacji i detoksykacji cyjanku. Równolegle oznaczano zawartość poszczególnych CGs, całkowity potencjał cyjanogenny, wolny cyjanek oraz aktywność β-CAS.

Uzyskane wyniki wykazały, że metabolizm CGs w lnie jest wysoce dynamiczny i zależny od czynników stresowych. W warunkach indukowania umiarkowanej suszy dominowała odpowiedź transkrypcyjna, silna indukcja genów biosyntezy i detoksykacji przy stabilnych pulach metabolitów, co wskazuje na zwiększony obrót w stanie ustalonym i podkreśla reaktywność CGs. Intensywna indukcja stresu suszy prowadziła do wyraźnego wzrostu potencjału cyjanogennego, wolnego cyjanku i aktywności β-CAS. Warunki świetlne stanowią istotny czynnik regulacyjny: transkrypty genów biosyntezy i detoksykacji wykazywały rytm dobowy, osiągając maksimum po rozpoczęciu fazy jasnej i spadając w warunkach przedłużonej ciemności, co świadczy o ścisłym powiązaniu metabolizmu CGs z zegarem okołodobowym. Mechaniczne uszkodzenia tkanek lnu wywoływały szybką i przejściową indukcję β-glukozydaz oraz enzymów detoksykacyjnych; choć prawdopodobnie cyjanek był uwalniany krótkotrwale, równoczesna aktywacja mechanizmów neutralizacji wskazuje, że CGs pełnią rolę natychmiastowej, miejscowej obrony chemicznej. Infekcja Fusarium oxysporum prowadziła natomiast do odmiennej odpowiedzi metabolicznej, słabszej indukcji enzymów uwalniających cyjanek co sugeruje ograniczoną skuteczność obrony opartej na CGs wobec tego patogenu.

Analizy porównawcze transgenicznej linii lnu CD22, wzbogaconej w aminokwasy siarkowe, wykazały jej większą stabilność metaboliczną w warunkach zmienionej podaży makroelementów azotowych i siarkowych w stosunku do odmiany Linola. Wyniki doświadczeń z suplementacją azotu i siarki podkreślają złożoność interakcji składników mineralnych w kształtowaniu metabolizmu CGs. Kluczowe znaczenie wydaje się mieć równowaga między składnikami mineralnymi, która wspiera utrzymanie homeostazy szlaku. Próby wyciszenia genów związanych z metabolizmem CGs z użyciem antysensowych oligonukleotydów oraz transformacji Agrobacterium nie przyniosły jednoznacznych rezultatów, ale wskazały na potencjalną istotność integralnego metabolizmu CGs dla kluczowych procesów rozwojowych. Co istotne, sama aplikacja

oligonukleotydów działała jako czynnik stresowy, wywołując przejściowe zmiany w poziomach cyjanku i aktywności β-CAS, co dodatkowo potwierdza wysoką wrażliwość tego szlaku na bodźce środowiskowe.

Podsumowując, przeprowadzone badania wspierają koncepcję, że CGs są nie tylko metabolitami obronnymi, ale także istotnymi mediatorami procesów sygnalizacji stresowej i utrzymania równowagi w gospodarce makroelementami. Dwutorowy charakter tych związków, problematycznych z perspektywy żywieniowej, a jednocześnie wielofunkcyjnych w metabolizmie roślin, podkreśla ich znaczenie dla biologii lnu i jego potencjału hodowlanego. Wyniki pracy dostarczają nowych informacji o regulacji szlaku CGs, zwracając jednocześnie uwagę na trudności i ograniczenia towarzyszące próbom jego modyfikacji.