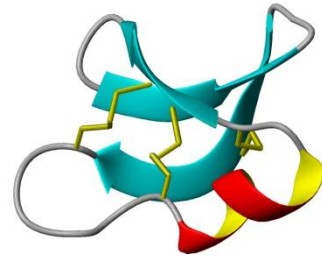


Jak fiołek wonny (*Viola odorata* L.) broni się przed patogenami i szkodnikami – cyklotydy jako rodzaj roślinnego układu odpornościowego?

Polipeptydy, podobnie jak białka zbudowane są z aminokwasów – podstawowych cegiełek, z których składają się organizmy żywe. Cyklotydy to polipeptydy wytwarzane przez rośliny sześciu niespokrewnionych rodzin botanicznych należących w tym w rodziny Violaceae z której pochodzi fiołek wonny (*V. odorata*). Rodzaj aminokwasów i ich kolejność w łańcuchu polipeptydowym (sekwencja) zależy od kodu genetycznego zapisanego w DNA. Nazwa "cyklotydy" pochodzi od połączenia słów "cykliczne peptydy", określających ich charakterystyczną strukturę, w której dwa końce łańcucha peptydowego są ze sobą połączone. Cząsteczka cyklotydu jest bardzo ściśle upakowana i stabilna, przypomina supeł lub węzeł. Cyklotydy wykazują różne tak zwane aktywności biologiczne - m.in. działają przeciwdrobnoustrojowo, hemolitycznie, antywirusowo, cytotoksycznie oraz ograniczają aktywność życiową larw roślinożernych owadów, co sugeruje, że są związkami obronnymi. Aktywność biologiczna cyklotydu zależy ściśle od ich sekwencji aminokwasowych – np. jedne wykazują działanie przeciwko szkodliwym owadom, natomiast inne przeciwko drobnoustrojom takim jak bakterie i grzyby. Rośliny produkują skomplikowane mieszanki, złożone niekiedy nawet z kilkudziesięciu różnych cyklotydu a poszczególne ich zestawy są charakterystyczne dla danego gatunku, organu np. korzenie czy liście; czy nawet tkanek – poszczególnych warstw komórek. Części rośliny, np. nadziemne i podziemne wystawione są na działanie różnych czynników, tak jak różne jest środowisko, które je otacza. Biorąc to pod uwagę można dojść do wniosku, że poszczególne mieszanki cyklotydu są produkowane w odpowiednich miejscach, tak by umożliwić jak najlepszą ochronę różnych części rośliny. Ponadto, w wielu badaniach wykazano różnice w produkowanych zestawach tych polipeptydów w roślinach rosnących w różnych warunkach. Czy swoiste zestawy cyklotydu i ich rozmieszczenie przestrzenne w organach i tkankach są kształtowane w reakcji na różne czynniki środowiskowe, w tym takie jak infekcja czy atak szkodnika?

Struktura cyklotydu cycloviolacin O2 (cyO2)



Aby potwierdzić hipotezę o funkcji obronnej cyklotydu należy wyjaśnić mechanizmy, które będą umożliwiały im działanie w miejscu kontaktu z patogenem. Cyklotydy zamknięte są w wakuoli, przedziale wewnątrz komórki roślinnej a wiele szkodliwych mikroorganizmów egzystuje na zewnątrz komórki, w przestrzeniach międzykomórkowych. Możliwym wyjaśnieniem tego problemu jest występowanie specyficznego typu reakcji nadwrażliwości (HR) oraz programowanej śmierci komórki (PCD). Są to mechanizmy wykorzystywane przez rośliny do obrony przed różnymi patogenami, pozwalające roślinie na izolację zakażonych komórek i ograniczenie rozwoju infekcji. Opisano dwie drogi uczestnictwa wakuoli w tych procesach. Droga destrukcyjna, jest mechanizmem obrony przed wirusami, mnożącymi się w cytoplazmie. Prowadzi ona do przerwania błony biologicznej wakuoli, wydostaniu się zawartości wakuoli do cytoplazmy, jej destrukcji i szybkiej śmierci komórkowej. Natomiast droga nie destrukcyjna przebiega poprzez fuzję błony komórkowej i wakuoli z wytworzeniem kanałów oraz wyrzutem zawartości wakuoli na zewnątrz komórki. Jaką drogę wybrały cyklotydy?

Cel i znaczenie prowadzonych badań

Celem projektu jest sprawdzenie hipotezy, że cyklotydy o różnej strukturze i budowie biorą udział w budowaniu specyficznych reakcji odpornościowych oraz wyjaśnienie mechanizmów odpowiedzialnych za sekrecję tych związków na zewnątrz komórki w procesie obronnym przeciwko mikroorganizmom.

Szczegółowymi celami projektu są:

- 1) Zbadanie ilościowych, jakościowych i przestrzennych różnic w zestawach cyklotydu produkowanych przez *V. odorata* w odpowiedzi na różne rodzaje stresu biotycznego w krótkim i długim czasie ekspozycji;
- 2) prześledzenie toku wczesnych etapów odpowiedzi nadwrażliwości (HR) i wykazanie wydzielania cyklotydu do przestrzeni międzykomórkowej w tym procesie.

Wykazanie aktywności tych peptydów przeciwko drobnoustrojom wraz z wyjaśnieniem procesu umożliwiającego pełnienie przez nich roli stanowić będzie pełny opis zjawiska, jakim są cyklotydy. Ponadto, gdy spojrzeć z szerszej perspektywy, można zauważyć, iż projekt dotyczy procesów ogólnych dla świata roślin, które wciąż są bardzo słabo poznane. Zrozumienie skomplikowanych interakcji pomiędzy rośliną a patogenami ma ogromne znaczenie nie tylko dla nauk podstawowych, ale także prowadzi do lepszych, przyjaznych środowisku metod ochrony roślin.