

Streszczenie

Pektyny są kluczowymi składnikami ścian komórkowych roślin wpływając na sztywność, odporność mechaniczną, a także na integrację tkankową. Spośród pektyn, szczególne znaczenie ma ramnogalakturonan I (RG-I) ze względu na skomplikowaną strukturę i zmienność w zależności od źródła. Struktura molekuł pektyn bogatych w RG-I zależy przede wszystkim od obecności ramnozy w łańcuchu głównym RG-I, do której przyłączone są pozostałe cukry proste. Wtrącenie jednostki ramnozy może powodować powstawanie ugięć w konformacji łańcucha głównego RG-I. W porównaniu z liniowymi łańcuchami HG, może to powodować mniejszą ruchliwość molekuł RG-I w roztworze i zmniejszenie stopnia oddziaływania z innymi cząsteczkami. W konsekwencji, może to skutkować odmiennymi właściwościami funkcjonalnymi RG-I, zarówno sieciującymi w roztworze jak i mechanicznymi w ścianie komórkowej. Frakcja pektyn rozpuszczalna w słabych alkaliach (DASP), oprócz liniowego homogalakturonanu, jest bogata w RG-I. W związku z tym, w niniejszej pracy postawiono hipotezę, że **obecność ramnozy w pektynach rozpuszczalnych w słabych alkaliach (DASP) ma wpływ na strukturę i właściwości sieciujące tej frakcji, a tym samym na właściwości mechaniczne materiałów, w których są obecne.** Powyższa hipoteza została zweryfikowana w eksperymencie prowadzonym na pektynach DASP ekstrahowanych z dwóch gatunków roślin ogrodniczych (jabłko i marchew). Badano skład monosacharydowy pektyn, ich nanostrukturę, właściwości reologiczne w roztworze oraz właściwości mechaniczne ścian komórkowych oraz analogów ścian komórkowych zawierających pektyny frakcji DASP. Analizowano różnice wynikające z gatunku rośliny oraz powstające w wyniku modyfikacji enzymatycznych ukierunkowanych na usunięcie ramnozy oraz łańcuchów bocznych pektyn RG-I w tej frakcji. Celem rozprawy doktorskiej była ocena wpływu **ramnozy oraz składu monosacharydowego pektyn rozpuszczalnych w słabych alkaliach (DASP) na właściwości sieciujące tej frakcji, a tym samym na właściwości mechaniczne materiałów, w których są obecne.**

Praca obejmuje trzy główne etapy badawcze. Pierwszy z nich skupiony jest na porównaniu strukturalnych i reologicznych właściwości frakcji DASP ekstrahowanej z dwóch źródeł roślinnych: jabłek (*Malus domestica* Borkh.) i marchwi (*Daucus carota* subsp. *sativus*). W kolejnym etapie zastosowano szereg enzymów degradujących region RG-I oraz hydrolizę chemiczną w celu uzyskania informacji o wpływie konkretnych elementów na strukturę i właściwości pektyn. Ostatecznie zbadano wpływ frakcji DASP na mechanikę ścian komórkowych poprzez włączenie natywnego oraz zmodyfikowanego enzymatycznie DASP do analogów roślinnych ścian komórkowych oraz badania mechaniczne materiału ścian komórkowych (CWM), również modyfikowanego enzymatycznie.

Badania wykazały, że frakcja pektyn rozpuszczalna w słabych alkaliach (DASP) jest bogata w domenę RG-I, przy czym jej udział jest znacznie większy w próbkach z marchwi niż jabłka. DASP

z marchwi zawiera znacznie więcej ramnozy, za to mniej arabinozy niż DASP z jabłka. Roztwory pektyn DASP z dwóch badanych źródeł wykazują właściwości elastyczne,

przy czym obecność arabinozy sprzyja tworzeniu silniejszych żeli (próbki DASP z jabłek), natomiast obecność ramnozy może być związana z większą odpornością na odkształcenia mechaniczne (próbki DASP z marchwi). Wykazano, że arabinoza w łańcuchach bocznych RG-I uczestniczy w tworzeniu sieci pektynowej i wpływa na właściwości pseudoplastyczne oraz lepkość roztworu pektyn DASP. Znaczący wzrost długości łańcuchów po usunięciu arabinozy wskazuje, że w pewnych konformacjach, mogą one ograniczać interakcje łańcuchów polimerowych. Wtrącenie ramnozy, obecność przyłączonej do ramnozy arabinozy oraz stopień acetylacji są parametrami strukturalnymi domeny RG-I odpowiedzialnymi za różnice we właściwościach reologicznych roztworów pektyn DASP pochodzących z owoców jabłoni i korzenia marchwi. Badania reologiczne pokazały, że lepkość roztworów pektyn DASP zmniejsza się wraz ze stopniem degradacji domeny RG-I i zależy proporcjonalnie od masy cząsteczkowej. Zmniejszeniu lepkości towarzyszyło powstanie polimerów o krótszych łańcuchach jednak o wysokim stopniu liniowości w wyniku hydrolizy kwasowej lub powstanie polimerów o liniowym charakterze w wyniku selektywnej degradacji enzymatycznej domeny RG-I. Badania mechaniczne pokazały natomiast, że pektyny frakcji DASP, bogatej w RG-I, odgrywają istotną rolę we właściwościach mechanicznych ściany komórkowej roślin. Degradacja domeny RG-I w postaci depolimeryzacji łańcucha głównego Rha-GalA oraz degradacji przyłączonych do ramnozy łańcuchów arabinozy powodują zmniejszenie modułu Younga zarówno naturalnej ściany komórkowej jak i analogów ścian komórkowych opartych na celulozie bakteryjnej.

Słowa kluczowe: pektyny, DASP, ramnogalakturnan I, AFM, modyfikacje enzymatyczne, właściwości reologiczne, ściana komórkowa.