

Streszczenie

Ściana komórkowa jest zewnętrzną warstwą komórki roślinnej, a jej struktura oraz wiązania pomiędzy poszczególnymi składnikami są kluczowe dla funkcjonowania całego organizmu. Ważnymi składnikami odpowiedzialnymi za współtworzenie amorficznej macierzy zewnątrzkomórkowej są białka arabinogalaktanowe (AGP). AGP są proteoglikanami, należącymi do rodziny glikoprotein bogatych w hydroksyprolinę. Zbudowane są z domeny białkowej połączonej z łańcuchami węglowodanowymi. Zaburzenia podczas poszczególnych etapów biosyntezy AGP są krytyczne dla ich budowy i rozmieszczenia w komórce, co z kolei może oddziaływać na ich funkcjonalność podczas zachodzących procesów fizjologicznych, w tym w procesie dojrzewania owoców.

W związku z tym, w niniejszej rozprawie doktorskiej sformułowano hipotezę, zgodnie, z którą **proces dojrzewania owoców pomidora jest ściśle skorelowany ze zmianami dystrybucji i cechami molekularnymi AGP**. Powyższa hipoteza została zweryfikowana w ramach badań *in situ* i *ex situ*, które polegały na analizie zmian w strukturze, zawartości i lokalizacji AGP w trakcie procesu dojrzewania owoców pomidora (*Solanum lycopersicum* L.) roślin „dzikiego typu” oraz linii ze zmodyfikowaną ekspresją genu *SIP4H3*. **Głównym celem niniejszej rozprawy doktorskiej było zbadanie roli AGP w formowaniu struktury ściany komórkowej, ze szczególnym uwzględnieniem czasowo-przestrzennej dystrybucji pozostałych jej składników w trakcie procesu dojrzewania owoców.**

Rozprawa doktorska obejmuje trzy zasadnicze etapy badawcze. Pierwszy etap badań umożliwił wyodrębnienie AGP jako potencjalnych markerów procesu dojrzewania. Zaobserwowano stopniowe zmniejszenie zawartości AGP w miarę postępu dojrzewania owoców. W początkowych stadiach procesu dominowały frakcje AGP o masie molekularnej 60-120 kDa. Podczas gdy w fazach kończących proces odnotowano dominację frakcji o masie molekularnej 20-25 kDa. Ponadto, w finalnych stadiach procesu zaobserwowano obecność AGP o masie molekularnej 30 kDa, które uznano za marker zakończenia procesu dojrzewania. Badania mikroskopowe tkanki owoców potwierdziły występowanie zmian ilościowych, jak i czasowo-przestrzennych modyfikacji specyficznych epitopów AGP w miarę postępującego procesu dojrzewania. W owocach we wstępnych stadiach procesu, epitopy AGP, rozpoznawane przez przeciwciała JIM13 i LM2, zlokalizowano w przestrzeni pomiędzy ścianą a błoną komórkową. W miarę postępu dojrzewania zaobserwowano zaburzenie charakterystycznego wzorca dystrybucji AGP.

Kolejny etap badań umożliwił określenie zmian w zawartości oraz lokalizacji epitopów AGP w owocach linii transgeniczných, w których zmodyfikowano ekspresję genu *SIP4H3*. Przeprowadzone badania ujawniły zależności pomiędzy zmianami ekspresji genu *SIP4H3* a ilością AGP w owocach. Stwierdzono brak charakterystycznej frakcji AGP – markerów zakończenia procesu dojrzewania, a rozkład mas molekularnych analizowanych epitopów AGP był odmienny niż w owocach „dzikiego typu”. Zaobserwowano występowanie nieprawidłowości anatomicznych i morfologicznych w owocach linii transgeniczných. Epitopy AGP w owocach znajdowały się głównie w zdegradowanych kompartmentach ściany komórkowej, w cytoplazmie.

Ostatni etap badań umożliwił określenie bezpośredniego wpływu zmian w strukturze AGP oraz ich lokalizacji na montaż ściany komórkowej. Ilość i czasowo-przestrzenna dystrybucja ekstensyn, ksylanu, ramnogalakturonanu typu I, nisko i wysoko estryfikowanego homogalakturonanu uległy modyfikacji. Dodatkowo, w owocach linii transgeniczných, aberracje w organizacji ściany komórkowej spowodowały zmiany w tkance owoców, które uwidoczniło na poziomie tkankowym, komórkowym oraz subkomórkowym.

Podsumowując, zaburzenia struktury, zawartości i czasowo-przestrzennej dystrybucji AGP stanowią czynnik zakłócający prawidłowy przebieg procesu dojrzewania owoców. W związku z powyższym, **wyniki uzyskane w ramach niniejszej rozprawy doktorskiej potwierdzają hipotezę, że AGP mają kluczowe znaczenie dla procesu dojrzewania owoców.**

Słowa kluczowe: białka arabinogalaktanowe, ściana komórkowa, proces dojrzewania, owoce pomidora