

WPŁYW SUSZY I WYSOKIEJ TEMPERATURY NA POZIOM EKSPRESJI GENÓW KODUJĄCYCH AKWAPORYNY

THE IMPACT OF DROUGHT AND HIGH TEMPERATURE ON THE EXPRESSION LEVEL OF AQUAPORIN-CODING GENES

mgr inż. Anna Pawłowska¹, dr hab. Dominika Boguszewska-Mańkowska²
dr hab. Anna Bilaska-Kos³, dr hab. Krzysztof Treder¹

¹ IHAR-PIB Oddział w Boninie, ² IHAR-PIB Oddział w Jadwisinie,
³ IHAR-PIB w Radzikowie, autor korespondencyjny: a.pawlowska@ihar.edu.pl

Streszczenie

Zrozumienie mechanizmów tolerancji ziemniaka na suszę glebową i wysoką temperaturę jest ważnym aspektem poznawczym, mogącym istotnie przyspieszyć postępy prac w hodowli nowych odmian ziemniaka odpornych na niekorzystne warunki środowiska. Susza i wysoka temperatura stanowią coraz większy problem w rolnictwie, dlatego celowe jest tworzenie odmian dobrze tolerujących te stesy. Narzędziem wspomagającym może być test określający ekspresję genów kodujących akwaporyny. Zwiększona ekspresja akwaporyn w warunkach stresowych może wskazywać, że dana odmiana lepiej toleruje warunki stresu suszy.

Słowa kluczowe: akwaporyny, susza, ziemniak

Abstract

Understanding the mechanisms of potato tolerance to soil drought and high temperature is an essential research aspect that can significantly accelerate progress in breeding new potato cultivars tolerant to unfavorable environmental conditions. Drought and high temperatures are an increasing problem in agriculture. Thus, it is advisable to create genotypes that tolerate these stresses well. A test that determines the expression of genes encoding aquaporins can be a tool supporting this goal. Increased expression of aquaporins under stress conditions can indicate that a given variety tolerates drought stress conditions better.

Keywords: aquaporins, drought, potato

Susza i wysokie temperatury stanowią coraz większy problem w rolnictwie, co wpływa na bezpieczeństwo produkcji żywności, dlatego kluczowe znaczenie mają badania nad reakcją roślin uprawnych na te stresy. Jest to bardzo ważne zagadnienie z uwagi na ocieplający się klimat, który powoduje występowanie suszy w głównych regionach uprawy ziemniaków na całym świecie. W naturalnych warunkach polowych suszy glebowej zazwyczaj towarzyszy wysoka temperatura. Ziemniak jest typową rośliną klimatu umiarkowanego. Optymalna temperatura wzrostu i rozwoju części nadziemnej to 20-25°C, a tuberyzacji i rozwoju bulw 15-20°C. Przewiduje się, że do 2040 r. w obecnych regionach uprawy ziemniaków nastąpi wzrost o 1,4°C, który zmniejszy globalny potencjalny plon od 18 do 32% (Hijmans 2003). Rośliny próbują się bronić przed stgrem, aktywując wewnętrzny system obronny, ograniczając utratę wody (np. przez zmniejszenie powierzchni liści, zmniejszoną liczbę aparatów szparkowych) i zwiększenie poboru wody (zwiększone tworzenie korzeni, zwiększanie grubości liści i zwijanie się liści) (Sicher i in. 2012). Ekstremalna susza powoduje wiele zmian morfologicznych, fizjologicznych, biochemicznych i molekularnych, przez co przełamuje system obronny roślin (Salehi-Lisar i in. 2016, Lal i in. 2022).

Zmiany morfologiczne roślin ziemniaka pod wpływem stresu na obszarach o nieregularnych opadach deszczu lub słabo nawadnianych (Evers i in. 2010, Thiele i in. 2010, Monneveux i in. 2013) mogą hamować proces tworzenia się bulw, co ostatecznie wpływa na zmniejszenie plonu, a co za tym idzie straty ekonomiczne (Gong 2020, Wu i in. 2022). Badania wykazały, że susza może spowodować nawet 64% strat plonu ziemniaka (Cantore i in. 2014). Ponadto towarzy-

szący suszy stres cieplny również negatywnie wpływa na plon. Wirusy ziemniaka, jak wirus Y (PVY), w wysokiej temperaturze potrafią przełamywać odporność typu nadwrażliwości warunkowaną przez geny N (Zimnoch-Guzowska i in. 2013, Valkonen 2015). Dlatego stres cieplny może zwiększać również zagrożenie wirusami, które wraz z patogenami kwarantannowymi są najważniejszym problemem w produkcji nasiennej ziemniaka i znaczącym w produkcji towarowej. Podobnie jak stres cieplny, susza może również wpływać na jakość bulw, m.in. poprzez akumulację toksycznych glikoalkaloidów (Bejarano i in. 2000) oraz wady bulw takie jak pęknięcie, wtórny wzrost i zniekształcenia (Harris 1978).

Ziemniak jest rośliną wrażliwą na czasowe niedobry wody, szczególnie w okresie zawiązywania bulw (Ambrosone i in. 2011). Jednocześnie charakteryzuje się dość dużą zmiennością stopnia tolerancji na oba rodzaje stresów. Nawet przy spokrewnionych genotypach rośliny mogą istotnie różnić się reakcją na stres, dlatego różne odmiany ziemniaka stanowią doskonały model do badania takich różnic. Mechanizmy tolerancji ziemniaka na stres suszy i stres wysokiej temperatury są złożone, co przekłada się m. in. na stosunkowo wolny postęp hodowlany w tej dziedzinie. Proces tworzenia odmian lepiej dostosowanych do zmieniającego się klimatu przyśpieszyłby miarodajny test do selekcji linii hodowlanych o zwiększonej tolerancji na suszę i wysokie temperatury.

W Instytucie Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowym Instytucie Badawczym prowadzone są badania nad poziomem ekspresji genów kodujących akwaporyny ziemniaka w roślinach podlewanych i poddawanych stresowi suszy w temperaturze optymalnej oraz w warunkach stresu cieplnego. Akwaporyny to białka, które

tworzą kanały błonowe do transportu wody przez błony biologiczne większości organizmów żywych, w tym u wszystkich roślin i zwierząt. U roślin wyższych akwaporyny można podzielić na pięć ewolucyjnie odrębnych podrodzin pod względem podobieństwa sekwencji aminokwasów i lokalizacji międzykomórkowej: białka wewnętrzne błony plazmatycznej (PIP, plant plasma membrane intrinsic proteins), białka wewnętrzne tonoplastu (TIP, tonoplast intrinsic proteins), białka wewnętrzne podobne do noduliny-26 (NIP, nodulin-26 like intrinsic proteins), małe zasadowe białka wewnętrzne (SIP, small basic intrinsic proteins) i białka wewnętrzne X/nieokreślone białka wewnętrzne (XIP, X intrinsic proteins / uncharacterised-intrinsic proteins).

Roślinne akwaporyny poza wodą mogą transportować różne substraty fizjologiczne. Transport nadtlenu wodoru czy rozpuszczonych gazów, takich jak dwutlenek węgla i amoniak, lub metaloidów, takich jak bor i krzem, jest szczególnie istotny dla prawidłowych funkcji życiowych roślin, w tym ich reakcji na stresy (Maurel i in. 2015). Akwaporyny mają także znaczący wpływ na szereg procesów fizjologicznych roślin, takich jak fotosynteza, kiełkowanie czy zawiązywanie korzeni bocznych oraz utrzymanie homeostazy komórek i tkanek w warunkach stresowych. Geny kodujące akwaporyny (Alexandersson i in. 2005, Alexandersson i in. 2010) są bezpośrednio zaangażowane w procesy chroniące rośliny

przed stresem suszy. Mechanizmy regulujące gospodarkę wodną za pośrednictwem akwaporyn są wysoce złożone. Zrozumienie ich molekularnego podłoża może mieć nie tylko znaczenie poznawcze, ale również może prowadzić do zwiększenia produktywności roślin w warunkach stresowych i do opracowania testu do selekcji odmian o zwiększonej tolerancji na suszę.

Metody badań

W celu zbadania wpływu suszy i wysokiej temperatury na poziom mRNA pięciu badanych akwaporyn i kodowanych przez nie białek wykonane zostało doświadczenie fitotronowe. Do badań wykorzystano dwie odmiany ziemniaka, które mają wspólnych przodków, ale znacznie różnią się pod względem reakcji na suszę: tolerancyjną Gwiazda i wrażliwą Oberon (Boguszevska-Mańkowska i in. 2018). Rośliny *in vitro* tych dwóch odmian zostały wysadzone w fitotronie i po osiągnięciu pełni rozwoju zostały poddane suszy glebowej i stresowi wysokiej temperatury. Były one badane w czterech kombinacjach: (1) rośliny podlewane, rosnące w optymalnych warunkach temperaturowych (21°C, kontrola), (2) rośliny niepodlewane, rosnące w optymalnych warunkach temperaturowych (susza), (3) rośliny podlewane i poddane wysokiej temperaturze (38°C) oraz (4) rośliny niepodlewane i poddane wysokiej temperaturze (fot. 1).



Fot. 1. Rośliny obu odmian po trzech dniach stresów. Podlewane w temperaturze optymalnej – 1, poddane stresowi suszy w temperaturze optymalnej – 2, podlewane w wysokiej temperaturze – 3, poddane stresowi suszy w wysokiej temperaturze – 4 (fot. A. Pawłowska)

Materiał roślinny został pobrany po 72 godz. od zastosowania danego stresu. W każdym terminie z trzech roślin pobrane zostały liście złożone z trzeciego lub czwartego piętra, licząc od szczytowego stożka wzrostu. Liście były ucierane w ciekłym azocie na proszek, z którego pobrane zostały próby po 50 mg do izolacji całkowitego RNA i po 100 mg do ekstrakcji całkowitego białka. Dla potwierdzenia obecności mRNA kodującego badane akwaporyny z zebranych prób było izolowane całkowite RNA za pomocą zestawu MagMAX™ Plant RNA Isolation Kit (ThermoFisher Scientific) za pomocą robota KingFisher DuoPrime. Jakość i koncentrację wyizolowanego RNA oznaczano za pomocą spektrofotometru mikro płytkowego Epoch z wykorzystaniem płytki do pomiaru w mikroobjętościach Take3™.

Poziom ekspresji był badany dla pięciu genów kodujących akwaporyny błony komórkowej: PIP 1-1 (Wu), PIP 1-4, PIP 1-5, PIP 2-6 i PIP 2-8 za pomocą techniki RT-PCR w czasie rzeczywistym z wykorzystaniem zestawu TaqPath 1-Step Multiplex Master Mix z dodatkiem barwnika SYBR

Green do mieszaniny reakcyjnej. Jako gen referencyjny stosowany był czynnik elongacyjny 1 α (eEF1 α). Do analiz wykorzystany został termocykler czasu rzeczywistego CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System (BioRad). Skład mieszaniny reakcyjnej: 2,5x TaqPath™ 1-Step Multiplex Master Mix, 6 μ m SYBR GREEN, 300 nM starterów oraz 3 μ l RNA uzyskanego w poprzednim etapie. Program termiczny amplifikacji: inkubacja – 2 min w 25°C; odwrotna transkrypcja – 10 min w 53°C; aktywacja polimerazy – 2 min w 95°C; amplifikacja – 40 cykli po 15 sek. w 95°C i 60 sek. w 60°C. Sekwencje stosowanych starterów podano w tabeli 1.

Wyniki analizy poziomu mRNA akwaporyn przedstawiono na rysunku 1. Względny poziom ekspresji widoczny na osiach Y na rysunku 1 oznacza, ile razy więcej lub mniej mRNA danej akwaporyny było w roślinach danej odmiany rosnących w warunkach suszy w porównaniu z poziomem ekspresji mRNA akwaporyny u roślin podlewanych, którego wartość przyjęto za równą jeden.

Tabela 1

Sekwencje starterów. Startery specyficzne wobec ziemniaczanych akwaporyn błony komórkowej (PIP) – wg Venkatesh i innych (2013). Startery specyficzne wobec eEF1 α – wg Nicot i innych (2005)

Nazwa	Sekwencja
PIP 1-1 (Wu) R	GCTTTAGATAACAAGCATTAAACCTG
PIP 1-1 (Wu) F	TTTCCCTGTCTGGTGCTG
PIP 1-4 R	GCCGCAAATTACATACATTCTTCT
PIP 1-4 F	TCATTCTGTTCTGTGCCATT
PIP 1-5 R	GACCATCATTGTCAATCATAGCAAAGTAACCA
PIP 1-5 F	CTTGGCCTATTGGCTATGGCTATGT
PIP 2-6 R	AACTCTCCTCTTTCTGTTACTGA
PIP 2-6 F	CCATTTGCACTCACTTCTCATC
PIP 2-8 R	TCTCTTCTCTGGCTGGTTGATAAC
PIP 2-8 F	ATGGCAGCAGCAATATAACCATCAG
eEF1 α R	TCCTTACCTGAACGCCTGTCA
eEF1 α F	ATTGGAAACGGATATGCTCCA

Zmiany w koncentracji białek akwaporyn były badane techniką Western Blotting. Elektroforezę prowadzono w aparacie Mini-PROTEAN Tetra cell (BioRad). Do 40 mg tkanki dodawano 50 μ l 2x stężonego buforu do prób (65.8 mM Tris-HCl, pH 6.8, 2.1% SDS, 26.3% w/v glicerol, 0.01% błękit bromofenolowy) i 10 μ l wody. Denaturowano

termicznie przez 5 min we wrzącej łaźni wodnej. Chłodzono na lodzie i wirowano w 12 000xg w 4°C przez 15 min. Po 30 μ l supernatantu nakładano do studzienek żelu poliakrylamidowgo (4–20% Mini-PROTEAN® TGX Stain-Free™ Protein Gels, 10 well, 30 μ l, BioRad).

Jako bufor elektrodowy stosowano 25 mM Tris; 192 mM glicynę; 0,1% SDS; pH 8,3. Elektroforezę prowadzono przy 200 V przez 1 godz. Po zakończonym rozdiale żel układano na membranę nitrocelulozową (Nitrocellulose Membrane, Precut, 0.2 μ m, 7 x 8.4 cm, BioRad) zanurzoną w buforze do transferu (25 mM Tris, 192 mM glicyna, pH 8,3). Z obu stron nakładano papier do blottingu (Filter Paper, 7.5 x 10.5 cm, BioRad) również namoczony w buforze. Kanapkę z żelem, membraną i papierem wkładano do kasety, którą wkładano do modułu do transferu umieszczonego w zbiorniku wypełnionym buforem do transferu.

Transfer prowadzono, stosując stałe napięcie 100 V przez 1 godz. Membranę płukano buforem 1xPBS (10 mM fosforan sodu, 150 mM NaCl, pH 7.4) trzykrotnie po 5 min. Blokowano przez 15 min w buforze EveryBlot Blocking Buffer (BioRad), stosując 10 ml buforu na jedną membranę. Do 10 ml takiego samego buforu dodano przeciwciała pierwszorzędowe (2 μ l) i membranę inkubowano w lodówce przez noc. Na drugi dzień membranę płukano 5x5 min buforem 1xPBS. Następnie płukano 5 min w 10 ml buforu EveryBlot Blocking Buffer i dodawano drugorzędowe przeciwciała w tym samym buforze (1 μ l/10 ml). Stosowano dostępne komercyjnie pierwszorzędowe przeciwciała wykrywające roślinne akwaporyny błony komórkowej (królicze przeciwciała anty PIP 1-3, PIP 2-3, PIP 2-5 i PIP 2-1-7) oraz przeciwciała mysie na aktywę zakupiono w firmie Agrisera (Szwecja).

Obecność kompleksu białka akwaporyny ze specyficznym przeciwciałem była wybarwiana za pomocą antykróliczych przeciwciał drugorzędowych znakowanych barwnikami fluorescencyjnymi. Do wykrycia kompleksu akwaporyn stosowano antykrólicze przeciwciała kozie znakowane StarBright Blue 720, a do wykrycia aktywy przeciwciała kozie antymysie znakowane barwnikiem StarBright Blue 520 (BioRad). Miarą poziomu ekspresji białka akwaporyny była intensywność prążka widocznego na membranie (przykładowy obraz wybarwionej membrany pokazano na rysunku 3). Względny poziom monomeru białka akwaporyn normalizowano do monomeru aktywy. Obraz uzyskany po wzbudzeniu fluorescencji archiwizowano za pomocą

urządzenia ChemiDock MP. Intensywność prążków wyznaczano za pomocą programu do analizy obrazu Image Lab firmy BioRad. Intensywność uzyskaną dla prążka monomeru akwaporyny dzielono przez intensywność aktywy z tej samej próby. Następnie wartości uzyskane dla prób poddanych stresom suszy i wysokiej temperatury dzielono przez wartości uzyskane dla roślin podlewanych w optymalnej temperaturze. Uzyskane wyniki przedstawiono na rysunku 2.

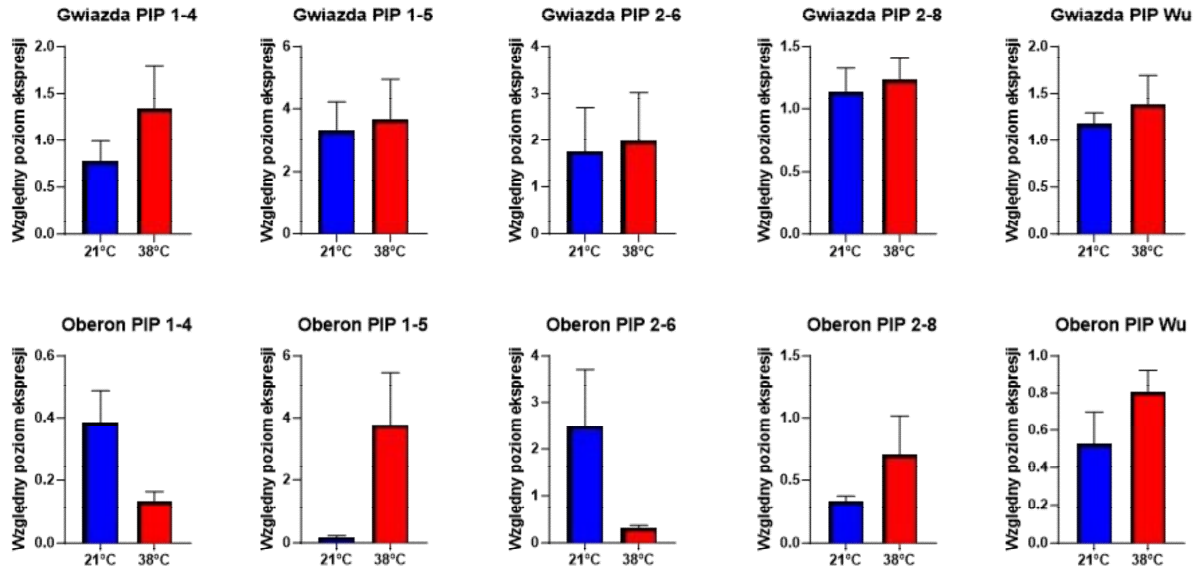
Wyniki badań

Badano wpływ suszy na ekspresję genów kodujących akwaporyny w temperaturze optymalnej (21°C) i w warunkach stresu termicznego (38°C). W temperaturze optymalnej zarówno rośliny odmiany Gwiazda, jak i odmiany Oberon reagowały na suszę silnym zahamowaniem wzrostu (fot. 1, rośliny nr 2 vs rośliny nr 1 obu odmian). Stres termiczny również hamował wzrost podlewanych roślin odmiany Gwiazda (fot. 1, panel Gwiazda, roślina nr 3 vs roślina nr 1). Stres suszy dodatkowo wzmacniał ten efekt (fot. 1, panel Gwiazda, roślina nr 4 vs roślina nr 3). Gwiazda reagowała na stres termiczny zmniejszeniem powierzchni liści i spadkiem turgoru (fot. 1, panel Gwiazda, roślina nr 3 vs roślina nr 1 oraz roślina nr 4 vs roślina nr 2). W przypadku odmiany Oberon rośliny podlewane dobrze tolerowały stres termiczny; zarówno ich wzrost, jak i wygląd liści był podobny do roślin podlewanych w temperaturze optymalnej (fot. 1, panel Oberon, roślina 3 vs roślina 1). Stres suszy w temperaturze optymalnej dla tej odmiany nie powodował zmian w wyglądzie liści. Rośliny były niższe, ale nie wykazywały objawów odwodnienia (fot. 1, panel Oberon, roślina 2 vs roślina 1). Rośliny tej odmiany silnie reagowały na łączone działanie wysokiej temperatury z suszą, nie tylko zahamowaniem wzrostu, ale i całkowitą utratą turgoru (fot. 1, panel Oberon, roślina 4 vs roślina 1).

W ramach prowadzonych badań wykryto duże różnice w ekspresji poszczególnych akwaporyn zarówno w obrębie tej samej odmiany, jak i pomiędzy odmianami. W przypadku odmiany Oberon akwaporyny PIP 1-4, PIP 2-8 i PIP Wu wykazywały obniżoną ekspresję w porównaniu z kontrolą. W przypadku dwu ostatnich akwaporyn więcej

mRNA akwaporyn obserwowano w wysokiej temperaturze (choć nadal mniej niż w roślinach kontrolnych). Odwrotna sytuacja wy-

stąpiła w przypadku mRNA akwaporyny PIP 1-4.



Rys. 1. Wpływ suszy na poziom ekspresji mRNA akwaporyn ziemniaka w różnych warunkach temperaturowych w porównaniu z ekspresją w roślinach kontrolnych (podlewanych)

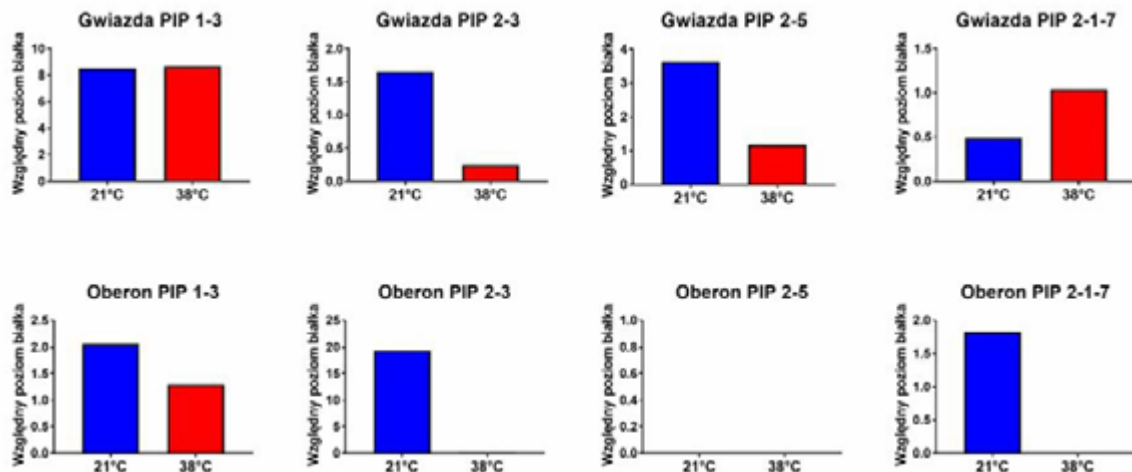
W odmianie Oberon ekspresja akwaporyny PIP 1-5 w optymalnej temperaturze również była obniżona, lecz pod wpływem wysokiej temperatury poziom tego mRNA wzrastał prawie czterokrotnie w porównaniu z roślinami kontrolnymi. Odwrotna reakcja wystąpiła w przypadku akwaporyny PIP 2-6, której mRNA w optymalnej temperaturze było 2,5-krotnie więcej w roślinach poddanych suszy niż w roślinach kontrolnych, podczas gdy w wysokiej temperaturze nastąpił duży spadek poziomu tego mRNA w porównaniu z kontrolą.

W odmianie Gwiazda, w przeciwieństwie do odmiany Oberon, poziom ekspresji akwaporyn u roślin poddanych suszy był podobny lub lekko podwyższony w porównaniu z podlewana kontrolą zarówno w temperaturze optymalnej, jak i w warunkach stresu termicznego. Różnice między ekspresją poszczególnych akwaporyn w obu temperaturach nie były tak wysokie, jak obserwowano u odmiany Oberon. Wyjątkiem była akwaporyna PIP 1-4, której mRNA było nieznacznie obniżone w stosunku do podlewanej kontroli.

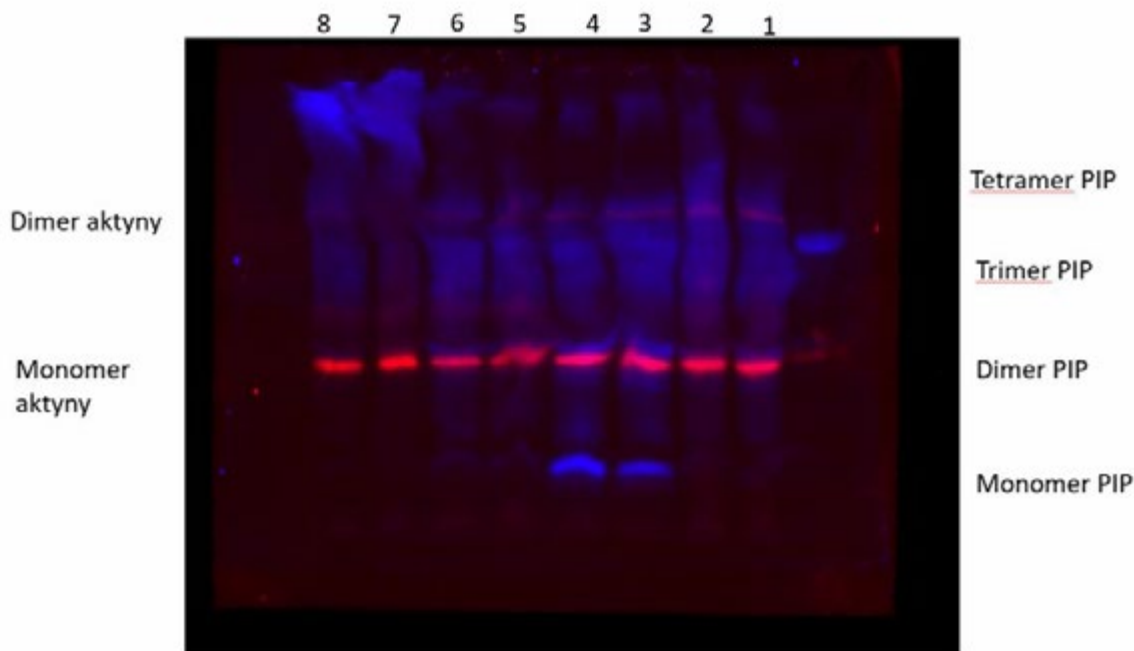
Ponieważ poziom mRNA często nie przekłada się bezpośrednio na poziom produk-

wanego z niego w procesie translacji białka, podjęto również próbę badania poziomu zawartości białka akwaporyny za pomocą przeciwciał produkowanych przez firmę Agrisera (rys. 2). W odmianie Gwiazda poziom białka poszczególnych akwaporyn był generalnie podwyższony w optymalnej temperaturze w porównaniu z kontrolą, z wyjątkiem PIP 2-1-7, gdzie uległ obniżeniu. Jednocześnie w wysokiej temperaturze poziom akwaporyn był taki sam jak w roślinach kontrolnych (PIP 2-5 i 2-1-7), obniżony względem nich (PIP 2-3) lub podwyższony w takim samym stopniu jak w temperaturze optymalnej (PIP 1-3).

Rośliny odmiany Oberon reagowały podwyższeniem ilości białka akwaporyn w temperaturze optymalnej w stopniu od niewielkiego (PIP 2-1-7 i 1-3) do prawie 20-krotnie wyższego niż w roślinach podlewanych (PIP 2-3). Susza w wysokiej temperaturze generalnie hamowała ekspresję białka akwaporyn w tej odmianie. Wyjątkiem była PIP 1-3, której poziom nie uległ zmianie w porównaniu z roślinami podlewanymi w wysokiej temperaturze. W przypadku PIP 2-6 również w optymalnej temperaturze susza całkowicie hamowała powstawanie białka tej akwaporyny.



Rys. 2. Wpływ suszy na względny poziom białka akwaporyn w różnych warunkach temperaturowych w porównaniu z poziomem w roślinach kontrolnych (podlewanych). Poziom białka oznaczano za pomocą techniki western blotting



Niebieski – PIP 2-1-7, czerwony - aktyna

Rys. 3. Poziom białka akwaporyny PIP 2-1-7 wykrywany techniką western-blotting w porównaniu z poziomem białka referencyjnego – aktyny. Gwiazda podlewana w 21°C – 1; Gwiazda niepodlewana w 21°C – 2; Gwiazda podlewana w 38°C – 3; Gwiazda niepodlewana w 38°C – 4; Oberon podlewana w 21°C – 5; Oberon niepodlewana w 21°C – 6; Oberon podlewana w 38°C – 7; Oberon niepodlewana w 38°C – 8

Dyskusja

Uzyskane wyniki wskazują na to, że zarówno poziom mRNA, jak i białka akwaporyn zmieniają się różnicowo pod wpływem stresów suszy i wysokiej temperatury między odmianami Gwiazda i Oberon, jak również w obrębie obu odmian. W doniesieniach

literaturowych pokazano, że odmiany odporne na stres wykazywały silniejszą ekspresję genów związanych ze wzrostem roślin i rozwojem, metabolizmem hormonów oraz metabolizmem pierwotnym i wtórnym niż podatne odmiany (Demirel i in. 2020). Wg Wang i innych (2017) obniżona

ekspresja genu StPIP1 skutkuje opóźnieniem kiełkowania nasion, nieprawidłowym wydłużaniem się liści, przyspieszonym wędnięciem oraz spowolnionym wzrostem roślin ziemniaka. Jest to zgodne z naszymi obserwacjami cech morfologicznych, gdzie u odmiany wrażliwej na niedobory wody – Oberon – w porównaniu z odmianą Gwiazda odnotowano silne wędnięcie, jednak dopiero w warunkach niedoboru wody połączonego ze stresem cieplnym.

Ciekawą obserwacją jest to, że w warunkach przeprowadzonego doświadczenia odmiana Oberon wydaje się lepiej tolerować stres termiczny w warunkach optymalnego nawodnienia niż Gwiazda. Jednocześnie w wysokiej temperaturze zwiększa się wrażliwość tej odmiany na suszę. Ze zdolnością tolerowania suszy przez odmianę Gwiazda może wiązać się stosunkowo stabilna ekspresja różnych akwaporyn, zarówno na poziomie mRNA (rys. 1), jak i białka (rys. 2). U tej odmiany obserwowano nieznaczne zwiększenie ekspresji akwaporyn w warunkach stresowych lub jej utrzymanie na poziomie roślin kontrolnych. Jednocześnie obniżenie ekspresji akwaporyn pod wpływem temperatury u odmian różniących się tolerancją na suszę świadczy o tym, że poziom ekspresji mRNA akwaporyn ma potencjał na selektywne wskazywanie poziomu tolerancji na stres suszy.

Niestety, nie ma na rynku przeciwciał specyficznych wobec akwaporyny ziemniaka, dostępne są tylko przeciwciała, o potwierdzonej lub przewidywanej zdolności do rozpoznawania danej klasy przeciwciał również w ziemniaku. Z tego powodu nie było możliwe zbadanie poziomu białka akwaporyny, dla którego oznaczano poziom ekspresji mRNA (rys. 1). Komercyjne przeciwciała mogą wykrywać wszystkie akwaporyny lub inne ich rodzaje. Wobec tego nie jest możliwe bezpośrednio porównanie wyników z rysunku 1 z tymi z rysunku 2. Tym bardziej interesujące jest to, że różnice obserwowane w poziomie białka akwaporyny między odmianami w pewnym sensie odzwierciedlają różnice w poziomie mRNA. Jednak miarodajne wyniki, porównujące poziom mRNA z poziomem białka dla poszczególnych akwaporyn, będą

możliwe dopiero po uzyskaniu przeciwciał specyficznych dla białek kodowanych przez poszczególne mRNA.

Wnioski

1. U podatnej na suszę odmiany Oberon zarówno mRNA, jak i poziom białka akwaporyn ulegają znacznie bardziej dramatycznym zmianom pod wpływem suszy w optymalnej i niskiej temperaturze niż u tolerancyjnej odmiany Gwiazda.
2. Odmiana Gwiazda wykazywała bardziej stabilny poziom zarówno mRNA, jak i białka akwaporyn po zadaniu stresu suszy w obu temperaturach.
3. Ekspresja zarówno mRNA, jak i białka poszczególnych akwaporyn jest zmienna i w ramach odmiany, i pomiędzy odmianami.
4. Dokładne poznanie relacji między poziomem mRNA poszczególnych akwaporyn a poziomem kodowanego przez te mRNA białka wymaga uzyskania specyficznych przeciwciał i dalszych badań.

Literatura

1. **Alexandersson E., Danielson J. A.H., Rade J. et al. 2010.** Transcriptional regulation of aquaporins in accessions of Arabidopsis in response to drought stress. – *Plant J.* 61(4): 650-660. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2009.04087.x>;
2. **Alexandersson E., Fraysse L., Sjøvall-Larsen S. et al. 2005.** Whole gene family expression and drought stress regulation of aquaporins. – *Plant Mol. Biol.* 59(3): 469-484. <https://doi.org/10.1007/s11103-005-0352-1>;
3. **Ambrosone A., Costa A., Martinelli R., Massarelli I., De Simone V., Grillo S., Leone A. 2011.** Differential gene regulation in potato cells and plants upon abrupt or gradual exposure to water stress. – *Acta Physiol. Plant.* 33: 1157-1171;
4. **Bejarano L., Mignolet E., Devaux A., Espinola N., Carrasco E., Larondelle Y. 2000.** Glycoalkaloids in potato tubers: the effect of variety and drought stress on the α -solanine and α -chaconine contents of potatoes. – *J. Sci. Food Agric.* 80: 2096-2100. doi: 10.1002/1097-0010(200011)80:14<2096::AID-JSFA757>3.0.CO;2-6;
5. **Boguszewska-Mańkowska D., Pieczyński M., Wyrzykowska A., Kalaji H. M., Sieczko L., Szwejkowska-Kulińska Z., Zagdańska B. 2018.** Divergent strategies displayed by potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars to cope with soil drought. – *J. Agron. Crop Sci.* 204: 13-30. <https://doi.org/10.1111/jac.12245>;
6. **Burritt D., Tran L. S. editors. 2016.** Drought stress tolerance in plants, vol. 1. Cham: Springer; <https://doi.org/>

- org/ 10.1007/978-3-319-28899-4_1; 7. **Cantore V., Wassar F., Yamaç S. S., Sellami M. H., Albrizio R., Stellacci A. M., Todorovic M.** 2014. Yield and Water Use Efficiency of Early Potato Grown under Different Irrigation Regimes. – *Int. J. Plant Prod.* 8: 409-428; 8. **Demirel U., Morris W. L., Ducreux L. J. M., Yavuz C., Asim A., Tindas I., Campbell R., Morris J. A., Verrall S. R., Hedley P. E., Gokce Z. N. O., Caliskan S., Aksoy E., Caliskan M.E., Taylor M. A. Hancock R. D.** 2020. Physiological, Biochemical, and Transcriptional Responses to Single and Combined Abiotic Stress in Stress-Tolerant and Stress-Sensitive Potato Genotypes. – *Front. Plant Sci.* 11: 169. doi: 10.3389/fpls.2020.00169; 9. **Evers D., Lefèvre I., Legay S., Lamoureux D., Hausman J. F., Rosales R. O. et al.** 2010. Identification of drought-responsive compounds in potato through a combined transcriptomic and targeted metabolite approach. – *J. Exp. Bot.* 61: 2327-2343. doi: 10.1093/jxb/erq060; 10. **Gong Z. Z., Xiong L. M., Shi H. Z. et al.** 2020. Plant abiotic stress response and nutrient use efficiency. – *Sci. China Life Sci.* 63(5): 635-674. <https://doi.org/10.1007/s11427-020-1683-x>; 11. **Harris P. M.** 1978. *The potato crop — The scientific basis for improvement* (London: Chapman and Hall); 12. **Hijmans R. J.** 2003. The effect of climate change on global potato production. – *Am. J. Pot. Res.* 80: 271-280. doi: 10.1007/BF02855363; 13. **Lal M. K., Tiwari R. K., Kumar A., Dey A., Kuma, R., Kumar D., Jaiswal A., Changan S. S., Raigond P., Dutt S. et al.** 2022. Mechanistic Concept of Physiological, Biochemical, and Molecular Responses of the Potato Crop to Heat and Drought Stress. – *Plants* 11: 2857. <https://doi.org/10.3390/plants11212857>; 14. **Maurel C., Boursiac Y., Luu D. T., Santoni V., Shahzad Z., Verdoucq L.** 2015. Aquaporins in plants. – *Physiol. Rev.* 95: 1321–1358; 15. **Monneveux P., Ramírez D. A., Pino M.-T.** 2013. Drought tolerance in potato (*S. tuberosum* L.): can we learn from drought tolerance research in cereals? – *Plant Sci.* 205–206: 76–86. doi: 10.1016/j.plantsci.2013.01.011; 16. **Nicot N., Hausman J. F., Hoffmann L., Evers D.** 2005. Housekeeping gene selection for real-time RT-PCR normalization in potato during biotic and abiotic stress. – *J. Exp. Bot.* 56: 2907-2914; 17. **Salehi-Lisar S. Y., Bakhshayeshan-Agdam H.** 2016. Drought stress in plants: causes, consequences, and tolerance. [In:] Hossain M., Wani S., Bhattacharjee S., Burritt D., Tran L. S. (eds). *Drought Stress Tolerance in Plants*, Vol 1. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-28899-4_1; 18. **Sicher R. C., Timlin D., Bailey B.** 2012. Responses of growth and primary metabolism of water-stressed barley roots to rehydration. – *J. Plant Physiol.* 169(7): 686-695. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2012.01.002>; 19. **Thiele G., Theisen K., Bonierbale M., Walker T.** 2010. Targeting the poor and hungry with potato science. – *Potato J.* 37: 75-86; 20. **Valkonen J. P.** 2015. Elucidation of virus-host interactions to enhance resistance breeding for control of virus diseases in potato. – *Breed. Sci.* 65: 68-76; 21. **Venkatesh J., Yu J. W., Park S. W.** 2013. Genome-wide analysis and expression profiling of the *Solanum tuberosum* aquaporins. – *Plant Physiol. Bioch.* 73: 392-404; 22. **Wu J., Wang J., Hui W. et al.** 2022. Physiology of plant responses to water stress and related genes: a review. – *Forests* 13: 324. <https://doi.org/10.3390/f13020324>; 23. **Zimnoch-Guzowska E., Yin Z., Chrzanowska M., Flis B.** 2013. Sources and effectiveness of potato PVY resistance in IHAR's breeding research. – *Am. J. Potato Res.* 90: 201-227

Ciasto ziemniaczane z orzechami

Ciasto: * 15 dag cukru * 15 dag margaryny

* 1 łyżeczką proszku do pieczenia * 3 żółtka * 3 łyżki śmietany

Masa: * 3 żółtka * 6 białek * 50 dag ugotowanych ziemniaków

* 20 dag zmielonych orzechów włoskich * 5 dag cukru pudru * olejek migdałowy

Oraz: * tłuszcz * bułkę tarta * cukier puder

Składniki na ciasto wyrobić, podzielić na dwie równe części i rozwałkować. Jedną częścią wyłożyć blachę (20 x 30 cm) natłuszczoną i oprószoną bułką. Ziemniaki zemieć, dodać orzechy, cukier, żółtka i olejek, wyrobić. Białka ubić, delikatnie wymieszać z masą. Wyłożyć na ciasto, przykryć drugą częścią ciasta.

Piec ok. 40 min w 170°C. Wystudzić i posypać cukrem pudrem.

Anna Kaczmarek, Brodziszewo.

Prześlij przepis. Wyd. specj.

Pyszne ziemniaki. Nr 10/2022