Streszczenie

Bakteria *Agrobacterium tumefaciens* jest kluczowym czynnikiem umożliwiającym transformację genetyczną oraz badania z zakresu genomiki funkcjonalnej wielu roślin uprawnych ważnych ekonomicznie i przemysłowo. Jednakże uzyskanie pożądanych efektów transformacji w przypadku opornych na ten proces roślin takich jak dziurawiec (*Hypericum perforatum* L.) stanowi poważne wyzwanie ze względu na niezgodną interakcję roślina-bakteria. W niniejszej pracy po raz pierwszy zastosowano wszechstronne podejście proteomiczne i fizjologiczne do wykrycia zmian zachodzących u *H. perforatum* w odpowiedzi na działanie *A. tumefaciens.*

W pierwszym etapie prac poprzez ocenę wzrostu kolonii analizowano żywotność bakterii *A. tumefaciens* w obecności kultury zawiesiny komórkowej *H. perforatum.* Stwierdzono, że zawiesina komórkowa *H. perforatum* redukowała żywotność *A. tumefaciens* osiągając śmiertelność 90% bakterii w czasie 24 godzin. Analiza proteomu kultury komórkowej *H. perforatum* po tej interakcji przeprowadzona na drodze chromatografii cieczowej w połączeniu z tandemową spektrometrią mas wykazała obecność 1200 białek o zróżnicowanej ekspresji (613 o podwyższonej i 587 o obniżonej zawartości) po 12 godzinach oraz 390 białek (174 o podwyższonej i 216 o obniżonej zawartości) po 24 godzinach traktowania. Na drodze analizy funkcjonalnej zidentyfikowano szereg białek u dziurawca zaangażowanych w tworzeniu odpowiedzi obronnej wobec *A. tumefaciens*. Zbiór danych proteomicznych wskazuje na aktywację białka obronnego PR-10 oraz akumulację białek związanych ze stresem oksydacyjnym – peroksyredoksyny i peroksydazy L-askorbinianowej. Także indukcja białek modyfikujących ścianę komórkową takich jak mutaza UDP arabinopyranozowa i acetyloesteraza pektynowa czy też akumulacja białek związanych z mechanizmami obronnymi na drodze metabolizmu wtórnego takich jak amoniakoliaza fenyloalaniny, syntaza 1,3,7-trójhydroksyksantonu i syntaza benzofenonowa wskazuje

skoordynowaną odpowiedź obronną rośliny skierowaną na ograniczenie inwazji patogena. Podwyższone poziomy dehydrogenazy jabłczanowej oraz syntazy sacharozy sugerują podwyższone zapotrzebowanie metaboliczne na energię. Ponadto analizy fizjologiczne uwidoczniły istotną odpowiedź antystresową *H. perforatum* zawierającą postępujące obniżenie procesów fotosyntetycznych wraz ze wstępnym podwyższeniem a następnie znacznym obniżeniem przewodnictwa szparkowego, wewnątrzkomórkowego stężenia CO_2 i prędkości transpiracji.

Podsumowując, zmiany proteomu oraz modyfikacje odpowiedzi fizjologicznej *H. perforatum* zwiększają zrozumienie czynników leżących u podstaw oporności roślin na transformacje prowadzone przy użyciu *Agrobacterium*.