

## ROLA SYSTEMU ANTYOKSYDACYJNEGO W ODPOWIEDZI KOMÓREK DROŻDŻY *Saccharomyces cerevisiae* NA SILNY STRES SOLNY

Agata Świącilo, Anna Krzepitko

Zakład Biologii i Biochemii, Instytut Nauk Rolniczych w Zamościu,  
Akademia Rolnicza w Lublinie

### Wstęp

W toku ewolucji wykształciły się różnorodne systemy umożliwiające organizmom przystosowanie się do zmieniających się warunków środowiska. Molekularne mechanizmy uruchamiane podczas ekspozycji organizmów na różne szkodliwe czynniki środowiska noszą nazwę odpowiedzi na stres środowiskowy. W ostatnich latach jednym z głównych abiotycznych czynników stresowych modyfikujących reakcje organizmów glebowych jest stres solny. Około 20% światowych użytków rolnych i blisko połowa ze wszystkich nawadnianych wodą morską jest narażona na zasolenie [ZHU JIAN-KANG 2001]. Duże stężenie soli w roztworze glebowym powoduje powstanie dwóch głównych rodzajów stresu. Pierwszy powodowany jest przez obecność nadmiernego stężenia pewnych jonów. Najczęściej sprawcą zasolenia środowiska jest chlorek sodu. Jony sodu a w mniejszym stopniu chlorkowe są toksyczne dla większości organizmów. Drugi typ stresu to stres deficytu wody (osmotyczny) spowodowany spadkiem potencjału osmotycznego w roztworze glebowym.

Reakcja organizmów na zwiększoną koncentrację NaCl w środowisku może być różna. Zależy ona od stężenia soli, rodzaju organizmu glebowego, stanu środowiska i innych czynników towarzyszących. Komórki drożdży *Saccharomyces cerevisiae* w warunkach umiarkowanego zasolenia tracą wodę co prowadzi do obkurczenia protoplastów i jest przyczyną zmian ich aktywności metabolicznej. Obserwuje się w tych warunkach przejściowe (zależne od nasilenia zasolenia) zahamowanie wzrostu [HOHMANN, MAGER 1997]. Przetrawanie komórek w takim środowisku jest możliwe po uaktywnieniu procesów adaptacyjnych. W odpowiedzi na stres solny zaobserwowano w komórkach drożdży wzrost poziomu syntezy białek zaangażowanych między innymi w metabolizm węglowodanów, obronę antyoksydacyjną oraz transport metabolitów [MARTÍNEZ-PASTOR i in. 1996; BOY-MARCO-TTE i in. 1999]. Konsekwencją tych zmian jest między innymi wzrost stężenia glicerolu w cytosolu, co umożliwia przywrócenie prawidłowego poziomu turgoru. Akumulacja glicerolu jest wynikiem jego syntezy *de novo* oraz ograniczenia wydzielania go do środowiska zewnętrznego [ALBERTYN i in. 1994; LUYTEN i in. 1995; TAMAS i in. 1999].

W warunkach umiarkowanego stresu solnego wzrasta także aktywność cytoplazmatycznej katalazy T [SCHÜLLER i in. 1994], enzymu usuwającego nadtlenuk wodoru z przestrzeni cytoplazmatycznej. Podobne zmiany aktywności katalazy T zanotowano u drożdży w warunkach stresu termicznego, alkoholowego i oksydacyjnego [MARTÍNEZ-PASTOR i in. 1996]. Indukcja katalazy T jest więc przejawem ogólnej odpowiedzi na środowiskowe czynniki stresowe.

Silny stres solny hamuje wyżej opisane mechanizmy adaptacyjne i jest czynnikiem ograniczającym wzrost komórek w tym środowisku.

W ostatnich latach pojawiły się hipotezy sugerujące udział wolnych rodników w odpowiedzi komórek na różne typy stresów. Do tej pory zgromadzono wiele dowodów pośrednich wskazujących na słuszność takiego założenia. Pod wpływem różnych czynników stresowych stwierdzono w komórkach wzrost stężenia reaktywnych form tlenu oraz zmiany poziomu aktywności enzymów antyoksydacyjnych. Badania DAVIDSON i in. [1996] wskazują na tlen jako bezpośrednią przyczynę śmierci komórek drożdżowych w warunkach silnego szoku termicznego. W świetle tych danych celowym wydawało się zbadanie reakcji komórek drożdży pozbawionych różnych elementów systemu antyoksydacyjnego na silny stres solny.

Komórki drożdży posiadają zorganizowany wielopoziomowo system obrony antyoksydacyjnej. Ważnym elementem tego systemu są enzymy takie jak katalazy i dysmutazy ponadtlenukowe. Dysmutazy ponadtlenukowe (SOD) są odpowiedzialne za usuwanie powstających w wielu procesach metabolicznych aminorodników ponadtlenukowych ( $O_2^-$ ). Komórki drożdży posiadają dwa rodzaje dysmutaz ponadtlenukowych. W cytoplazmie występuje forma cynkowo-miedziowa dysmutazy ponadtlenukowej (CuZnSOD) natomiast w macierzy mitochondrialnej obecna jest dysmutaza zawierająca mangan (MnSOD). Aktywność tego enzymu jest indukowana w warunkach stresu termicznego i osmotycznego [COSTA i in. 1997; JEONG i in. 2001]. Aktywność katalazową u drożdży stwierdza się w cytoplazmie oraz w peroksysomach. Oba typy katalaz różnią się nie tylko lokalizacją komórkową ale także strukturą polipeptydową i sposobem regulacji aktywności. Synteza katalazy T jest indukowana środowiskowymi czynnikami stresowymi, natomiast peroksysomalna katalaza A tylko obecnością kwasów tłuszczowych (C10-C18) [SKONECZNY i in. 1988].

## Materiał i metody badań

W badaniach wykorzystano izogeniczne szczepy drożdży, otrzymane w wyniku mutacji szczepu SP4.

### Charakterystyka szczepów

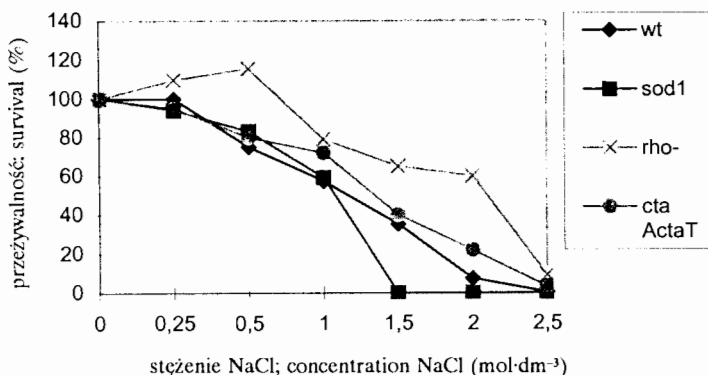
- SP4 szczep dziki (*wt*),  $\alpha$  leu1arg4 [BILIŃSKI i in. 1978],
- DSCD1-1C (*sod1*), pozbawiony aktywności cytoplazmatycznej dysmutazy ponadtlenukowej ( $\alpha$  leu1arg4 *sod1*), [BILIŃSKI in. 1985],
- A50DSCD1-9C 5b, pozbawiony aktywności katalazy cta Acta T [WAWRYN 2000],
- SP4 *rho-*, pozbawiony funkcjonalnych mitochondriów, wyizolowany po trzykrotnym pasażu komórek szczepu dzikiego SP4 w obecności bromku etydyliny.

Drożdże hodowano w pożywce płynnej i stałej YPG zawierającej: 1% ekstraktu drożdżowego, 1% peptonu, 2% glukozy. Do pożywek stałych dodawano 2% agaru. Hodowlę drożdży w pożywce płynnej prowadzono w warunkach aerobowych w kolbach stożkowych, w temperaturze 28°C przez 24 godz. do uzyskania hodowli logarytmicznych. W celu oznaczenia przeżywalności komórek drożdży w warunkach stresu solnego inkubowano je przez 1 godzinę w obecności różnych stężeń NaCl. Następnie hodowlę rozcieńczono i wysiano zawiesinę komórek na podłoża stałe w celu uzyskania koloni. Z hodowli drożdży szczepu dzikiego wykonano ekstrakty w których oznaczono aktywność katalazową.

Ekstrakty z komórek drożdży wykonano wg metody opisanej w pracy BILINSKI i in. [1985]. Białko oznaczono metodą Lowry [LOWRY i in. 1951]. Całkowitą aktywność katalazy oznaczono spektrofotometrycznie wg metody Beers i Sizer [BEERS, SIZER 1952]. Spadek absorpcji roztworu nadtlenu wodoru spowodowany przez katalazę znajdującą się w ekstrakcie z komórek drożdżowych mierzono przy długości fali 240 nm. Aktywność właściwą katalazy wyrażono w  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  rozłożonych w ciągu 1 minuty przez 1 mg białka w temperaturze 25°C ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$  białka). Przedstawione wyniki są średnią z co najmniej trzech niezależnie przeprowadzonych eksperymentów.

## Wyniki i dyskusja

Efekty indukowane obecnością NaCl są różne w zależności od koncentracji tej soli w środowisku hodowlanym. Niskie stężenie tej soli ( $0,25 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ ) nie wpływa w istotny sposób na przeżywalność komórek wszystkich badanych szczepów (rys 1).



Rys 1. Krzywe przeżywalności komórek drożdży różnych szczepów w obecności NaCl  
Fig 1. The survival curves of various strains of yeast in the presence of NaCl

W tych warunkach odnotowano około 10-krotny wzrost aktywności katalazowej komórek szczepu dzikiego (tab. 1). Aktywność katalazy T jest u drożdży wyznacznikiem poziomu odpowiedzi stresowej. W promotorze genu katalazy T *CTT1* wykryto charakterystyczną sekwencję promotorową *STRE*, aktywowaną przez czynniki transkrypcyjne *Mns2/4p* pośredniczące w uruchamianiu syntezy białek stresu [WIESER i in. 1991; MARTÍNEZ-PASTOR i in. 1996]. Badania REP i in. [1999] udowodni-

ty, że katalaza może być indukowana w warunkach szoku osmotycznego nawet w komórkach pozbawionych aktywności tych czynników. Role aktywatorów transkrypcji genu *CTTI* pełnią w tej sytuacji najprawdopodobniej czynniki *Mns1p* i *Hot1p*. Odpowiedź stresowa musi więc być mechanizmem o kluczowym znaczeniu skoro istnieją różne szlaki prowadzące do podwyższenia poziomu białek chroniących przed skutkami stresu. Wysoka przeżywalność komórek drożdży w warunkach łagodnego zasolenia może być wynikiem ochronnego i naprawczego działania tych białek.

Tabela 1; Table 1

Aktywność katalazy w komórkach drożdży szczepu dzikiego SP4  
w warunkach stresu solnego

Catalase activity in yeast cells of a wild strain  
under the conditions of salt stress

Stężenie NaCl (mol·dm <sup>-3</sup> ) Concentration of NaCl (mol·dm <sup>-3</sup> )	0	0,25	0,5	1	1,5	2
Aktywność katalazy (μmol·min <sup>-1</sup> ·mg <sup>-1</sup> białka) Activity of catalase (μmol·min <sup>-1</sup> ·mg <sup>-1</sup> protein)	2,4	22,6	28,5	2,6	0,2	0,1

Symptomy silnego stresu solnego u badanych drożdży obserwowano w obecności NaCl o stężeniu większym niż 0,5 (mol·dm<sup>-3</sup>). W tych warunkach komórki wykazywały niską aktywność katalazy (tab. 1) oraz obniżoną przeżywalność (rys. 1). Najbardziej wrażliwe okazały się komórki mutanta pozbawionego aktywności cytosolowej dysmutazy ponadtlenkowej (*sod1*), których śmiertelność w obecności NaCl o stężeniu 1,5 (mol·dm<sup>-3</sup>) wynosiła 100%.

Mutanty *sod1 Saccharomyces cerevisiae* są także nadwrażliwe na czynniki zwiększające poziom anionorodnika tlenowego takie jak tlen, parakwat, menadion [BILIŃSKI i in. 1985; ŚWIĘCIŁO, KRZEPIŃKO 2004] i produkty utleniania wielonienasyconych kwasów tłuszczowych [BILIŃSKI i in. 1989], a także na inkubacje z solami żelaza Fe<sup>+2</sup> [WIŚNICKA i in. 1998]. Uzyskane wyniki wskazują na anionorodnik ponadtlenkowy jako cząsteczkę pośredniczącą w reakcji komórek drożdży na silny stres solny.

Stosunkowo odporne na silne zasolenie okazały się komórki pozbawione funkcjonalnych mitochondriów (rys. 1).

Intensywnie oddychające mitochondria są głównym źródłem powstawania anionorodnika ponadtlenkowego w większości komórek aerobowych [BARTOSZ 2004]. O<sub>2</sub><sup>-</sup> powstaje na drodze jednoelektronowej redukcji tlenu cząsteczkowego przez zredukowane formy koenzymu dehydrogenazy NADH i ubichinonu. W komórkach drożdży jednoelektronowa redukcja O<sub>2</sub> dostarcza około 4 nmol O<sub>2</sub><sup>-</sup> na mg białka mitochondriów w ciągu minuty [BOVERIS 1984].

Uszkodzenie mitochondrialnego łańcucha oddechowego w komórkach mutantu *rho-* uniemożliwia wykorzystanie tlenu w procesie oddychania komórkowego i obniża tym sposobem poziom produkcji anionorodnika ponadtlenkowego a w konsekwencji nadtlenu wodoru. Tolerancja komórek mutantu *rho-* na stres solny (rys. 1) wskazuje na udział reaktywnych form tlenu (RFT) w toksyczności spowodowanej obecnością NaCl. Komórki *rho-* okazały się także bardziej odporne na sole żelaza<sup>+2</sup> [WIŚNICKA i in. 1997]. Nic wykluczone, że zarówno NaCl jak i sole żelaza<sup>+2</sup> zaburzają przepływ elektronów w łańcuchu oddechowym funkcjonalnych mitochondriów, co jest przyczyną uwalniania większych ilości potencjal-

nie niebezpiecznych cząsteczek RFT.

Komórki mutanta pozbawione aktywności katalazowej reagowały na stres solny podobnie do komórek szczepu dzikiego (rys. 1). Dane te są zgodne z wcześniejszymi obserwacjami, wskazującymi na to, że brak aktywności katalazowej nie powodował istotnych różnic w reakcji komórek na stres oksydacyjny generowany wysokim stężeniem tlenu, obecnością parakwatu, menadionu czy naświetlaniem UV [BILIŃSKI i in. 1985; ŚWIECIŁO, KRZEPIŁKO 2004].

Komórki drożdży *S. cerevisiae* mogą adaptować się do wysokiego poziomu nadtlenu wodoru, co prowadzi do pojawienia się odporności na jego wysokie stężenie [BILIŃSKI i in. 1985]. W detoksykacji nadtlenu wodoru kluczową rolę odgrywają aktywności katalazy T i A oraz peroksydaza cytochromu c. W tych warunkach te trzy enzymy są w stanie usunąć ponad 90% tej substancji [WIŚNICKA i in. 1998]. Brak aktywności katalazowej może być zatem rekompensowany przez inne elementy systemu antyoksydacyjnego.

Według danych literaturowych najważniejszym elementem odpowiedzi na stres solny indukowany NaCl jest zdolność do gromadzenia glicerolu. Podwójny mutant *gpd1gpd2* pozbawiony możliwości syntezy glicerolu jest bardzo wrażliwy na wzrost zewnętrznego ciśnienia osmotycznego i nie rośnie w hodowli płynnej w obecności 0,8 mol NaCl·dm<sup>-3</sup> [ANSELL i in. 1997]. Taki sam efekt w przypadku tych komórek obserwowano po zastosowaniu innych osmotycznie czynnych substancji takich jak glicerol o stężeniu 2 mol·dm<sup>-3</sup> lub erytritol, ribitol, ksylitol, amnitol lub sorbitol o stężeniu 1 mol·dm<sup>-3</sup> [KARLGREN i in. 2004]. Bardzo powolny wzrost w obecności 0,8 mol NaCl·dm<sup>-3</sup> obserwowano w przypadku komórek drożdży dzikiego typu do których wprowadzono na plazmidzie wiele kopii genu *FPS1* [TAMAS i in. 1999]. Produkt tego genu jest gliceroporyną umożliwiającą transport glicerolu przez błonę komórkową. Przyczyną nadwrażliwości komórek drożdży jest w tym przypadku niekontrolowany wypływ komórkowego glicerolu do środowiska zewnętrznego, uniemożliwiający prawidłowe ich funkcjonowanie.

Wnioskowanie dotyczące znaczenia poszczególnych elementów systemu odpowiedzi na stres na podstawie porównania dynamiki wzrostu komórek typu dzikiego i zmutowanych jest metodą powszechnie stosowaną, ale nie zawsze daje zadowalające wyniki. Szczególnie trudno wyciągnąć takie wnioski analizując wyniki uzyskane przez różnych autorów ze względu na różnice warunków eksperymentalnych. Nie bez znaczenia jest też tło genetyczne analizowanych szczepów drożdży. Niewątpliwie w odpowiedzi komórek drożdży na stres solny bierze udział wiele czynników, których wzajemne interakcje umożliwiają optymalne przystosowanie się komórek do nowych warunków.

## Wnioski

1. Łagodny stres solny (do 0,5 mol NaCl·dm<sup>-3</sup>) indukował syntezę katalazy T i nie obniżał żywotności badanych komórek drożdży.
2. Silny stres solny (powyżej 1,5 mol NaCl·dm<sup>-3</sup>) prowadził do obniżenia poziomu aktywności katalazowej oraz przeżywalności komórek badanych szczepów.
3. Brak aktywności cytoplazmatycznej dysmutazy nadadtlenkowej prowadził do wrażliwości komórek na silny stres solny.

4. Mutacja uniemożliwiająca zdobywanie energii na drodze oddychania tlenowego czyniła komórki bardziej odpornymi na silny stres solny.

### Literatura

- ALBERTYN J., HOHMANN S., THEVELEIN J.M., PRIOR B.A. 1994. *GPD1, which encodes glycerol-3-phosphate dehydrogenase, is essential for growth under osmotic stress in Saccharomyces cerevisiae, and its expression is regulated by the high-osmolarity glycerol response pathway.* Mol. Cell. Biol. 14: 4135–4144.
- ANSELL R., GRANATH K., HOHMANN S., THEVELEIN J.M., ADLER L. 1997. *The two isoenzymes for yeast NAD<sup>+</sup> – dependent glycerol 3-phosphate dehydrogenase encoded by GPD1 and GPD2 have distinct roles in osmoadaptation and redox regulation.* EMBO J. 1: 2179–2187.
- BARTOSZ G. 2004. *Druga twarz tlenu.* PWN SA: 73–75.
- BEERS R.F., SIZER J.W. 1952. *A spectrophotometric method of measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase.* J. Biol. Chem. 195: 133–140.
- BILIŃSKI T., KRAWIEC Z., LICZMAŃSKI A., LITWIŃSKA J. 1985. *Is hydroxyl radical generated by the Fenton reaction in vivo?* Biochem. Biophys. Res. Commun. 130(2): 533–539.
- BILIŃSKI T., LITWIŃSKA J., BŁASZCZYŃSKI M., BAJUS A. 1989. *Superoxide dismutase deficiency and the toxicity of the products of autooxidation of polyunsaturated fatty acids in yeast.* Biochim Biophys Acta 1001(1): 102–106.
- BILIŃSKI T., LUKASZKIEWICZ J., SLEDZIEWSKI A. 1978. *Demonstration of anaerobic catalase synthesis in the cz1 mutant of Saccharomyces cerevisiae.* Biochem. Biophys. Res. Commun. 83(3): 1225–1233.
- BOVERIS A. 1984. *Determination of the production of superoxide radicals and hydrogen peroxide in mitochondria.* Methods Enzymol. 105: 429–435.
- BOY-MARCOTTE E., LAGNIEL G., PERROT M., BUSSEREAU F., BOUDSOCQ A., JACQUET M., LABARRE J. 1999. *The heat shock response in yeast: differential regulations and contributions of the Msn2p/Msn4p and Hsf1p regulons.* Mol. Microbiol. 33(2): 274–283.
- COSTA V., AMORIM M.A., REIS E., QUINTANILHA A., MORADAS-FERREIRA P. 1997. *Mitochondrial superoxide dismutase is essential for ethanol tolerance of Saccharomyces cerevisiae in the post-diauxic phase.* Microbiology 143(Pt 5): 1649–1656.
- DAVIDSON J.F., WHYTE B., BISSINGER P.H., SCHIESTL R.H. 1996. *Oxidative stress is involved in heat-induced cell death in Saccharomyces cerevisiae.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1493(10): 5116–5121.
- HOHMANN S., MAGER W.H. (Eds.) 1997. *Yeast Stress Responses.* R.G. Landes 101: 146.
- JEONG J.H., KWON E.S., ROE J.H. 2001. *Characterization of the manganese-containing superoxide dismutase and its gene regulation in stress response of Schizosaccharomyces pombe.* Biochem. Biophys. Res. Commun. 283(4): 908–914.
- KARLGREN S., PETTERSSON N., NORDLANDER B., MATHAI J.C., BRODSKY J.L., ZEIDEL M.L., BILL R.M., HOHMANN S. 2004. *Conditional osmotic stress in yeast: A system to study transport through aquaglyceroporins and osmotic stress signaling.* J. Biol. Chem. 279(8): 7186–7193.

- LOWRY O.H., ROSEBROUGH W.J., FARR A.L., RANDALL R.J. 1951. *Protein measurement with the Folin phenol reagent*. J. Biol. Chem. 193: 265–275.
- LUYTEN K., ALBERTYN J., SKIBBE W.F., PRIOR B.A., RAMOS J., THEVELEIN J.M., HOHMANN S. 1995. *Fps1, a yeast member of the MIP family of channel proteins, is a facilitator for glycerol uptake and efflux and is inactive under osmotic stress*. EMNBO J. 14: 1360–1371.
- MARTÍNEZ-PASTOR M.T., MARCHLER G., SCHÜLLER C., MARCHLER-BAUER A., RUIS H., ESTRUCH F. 1996. *The Saccharomyces cerevisiae zinc finger proteins Msn2p and Msn4p are required for transcriptional induction through the stress response element (STRE)*. EMBO J. 15(9): 2227–2235.
- REP M., REISER V., GARTNER U., THEVELEIN J.M., HOHMANN S., AMMERER G., RUIS H. 1999. *Osmotic stress-induced gene expression in Saccharomyces cerevisiae requires Msn1p and the novel nuclear factor Hot1p*. Mol. Cell Biol. 19(8): 5474–5485.
- SCHÜLLER G., BREWSTER J.L., ALEXANDER M.R., GUSTIN M.C., RUIS H. 1994. *The HOG pathway controls osmotic regulation of transcription via the stress response element (STRE) of the Saccharomyces cerevisiae CTT1 gene*. EMBO J. 13: 4382–4389.
- SKONECZNY M., CIEŁSTOWSKA A., RYTKA J. 1988. *Study of the coinduction by fatty acids of catalase A and acyl-CoA oxidase in standard and mutant Saccharomyces cerevisiae strains*. Eur. J. Biochem. 174(2): 297–302.
- ŚWIĘCICHÓ A., KRZEPIŁKO A. 2004. *Rola dysmutaz ponadtlenkowych i katalaz w odpowiedzi komórek drożdży Saccharomyces cerevisiae na stres oksydacyjny indukowany menadionem*. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol. 496: 519–526.
- TAMAS M.J., LUYTEN K., SUTHERLAND F.C., HERNANDEZ A., ALBERTYN J., VALADI H., LI H., PRIOR B.A., KILIAN S.G., RAMOS J., GUSTAFSSON L., THEVELEIN J.M., HOHMANN S. 1999. *Fps1p controls the accumulation and release of the compatible solute glycerol in yeast osmoregulation*. Mol. Microbiol. 31(4): 1087–104.
- WAWRYN J. 2000. *Rola tlenu i systemów antyoksydacyjnych w procesie starzenia się komórek drożdży*. Praca doktorska – Zakład Biochemii Instytutu Nauk Rolniczych w Zamościu AR w Lublinie.
- WIESER R., ADAM G., WAGNER A., SCHULLER C., MARCHLER G., RUIS H., KRAWIEC Z., BILIŃSKI T. 1991. *Heat shock factor-independent heat control of transcription of the CTT1 gene encoding the cytosolic catalase T of Saccharomyces Cerevisiae*. J. Biol. Chem. 266: 12406–12411.
- WIŚNICKA R., KRZEPIŁKO A., WAWRYN J., KRAWIEC Z., BILIŃSKI T. 1998. *Protective role of superoxide dismutase in iron toxicity in yeast*. Bioch. Molec. Biol. Intern. 44(3): 635–641.
- WIŚNICKA R., KRZEPIŁKO A., WAWRYN J., BILIŃSKI T. 1997. *Iron toxicity in Yeast*. Acta Microbil. Pol. 46(4): 339–347.
- ZHU JIAN-KANG 2001. *Plant salt tolerance*. Trends in Plant Science 6: 2.

**Słowa kluczowe:** stres solny, dysmutaza ponadtlenkowa, katalaza, rho-

### Streszczenie

Stres solny jest jednym z najważniejszych czynników abiotycznych, ograniczających produkcję roślinną na świecie. W odpowiedzi na stres solny organizmy rozwinęły różne mechanizmy adaptacyjne. Akumulacja glicerolu w komórkach

drożdży jest pierwszą zaobserwowaną i najczęściej badaną cechą pojawiającą się w wyniku wzrostu ciśnienia osmotycznego środowiska. W tych warunkach zaobserwowano także syntezę katalazy T. W prezentowanej pracy badano odpowiedź komórek pozbawionych różnych elementów systemu antyoksydacyjnego na stres solny indukowany NaCl. W warunkach umiarkowanego stresu solnego obserwowano wzrost aktywności katalazy T ale poziom przeżywalności komórek badanych szczepów nie ulegał zmianom. Komórki drożdży pozbawione aktywności cytoplazmatycznej dysmutazy nadadtlenkowej (Cu, ZnSOD) były nadwrażliwe na silny stres solny. Komórki pozbawione funkcjonalnych mitochondriów (*rho*<sup>-</sup>) okazały się bardziej odporne na silny stres solny niż komórki szczepu dzikiego. Komórki pozbawione aktywności katalazowej zachowywały się w tych warunkach w taki sam sposób jak komórki szczepu dzikiego.

## THE ROLE OF ANTIOXIDANT SYSTEM IN RESPONSE OF YEAST *Saccharomyces cerevisiae* CELLS TO STRONG SALT STRESS

*Agata Święcilo, Anna Krzepińko*

Department of Biology and Biochemistry,  
Institute of Agriculture at Zamość, Agricultural University, Lublin

Key words: salt stress, superoxide dismutase, catalase, *rho*<sup>-</sup>

### Summary

Soil salinity is a major abiotic factor that limits crop productivity in many areas around the world. To cope with salt stress, organisms developed a variety of adaptive mechanisms. The intracellular glycerol accumulation is one of the best known and well understood reaction of yeast cells on increased extracellular osmolarity induced NaCl. Besides glycerol accumulation, synthesis of catalase T was also observed under these conditions. We studied the response of yeast strains deficient in various antioxidant systems to salt stress. Mild stress salt induced the activity of catalase and did not change the level of cells survival. Yeast cells deficient in the cytosolic superoxide dismutase (Cu, ZnSOD) were more sensitive to strong salt stress when the wild cells. In contrast, respiratory deficient strain (*rho*<sup>-</sup>) was more resistant to hyperosmotic stress. Mutant that are deficient in catalases did not differ from the standard strain in this respect.

Dr Agata Święcilo  
Zakład Biologii i Biochemii  
Instytut Nauk Rolniczych w Zamościu  
Akademia Rolnicza  
ul. Szczepkowska 102  
22-400 ZAMOŚĆ  
e-mail: amyszka@inr.edu.pl