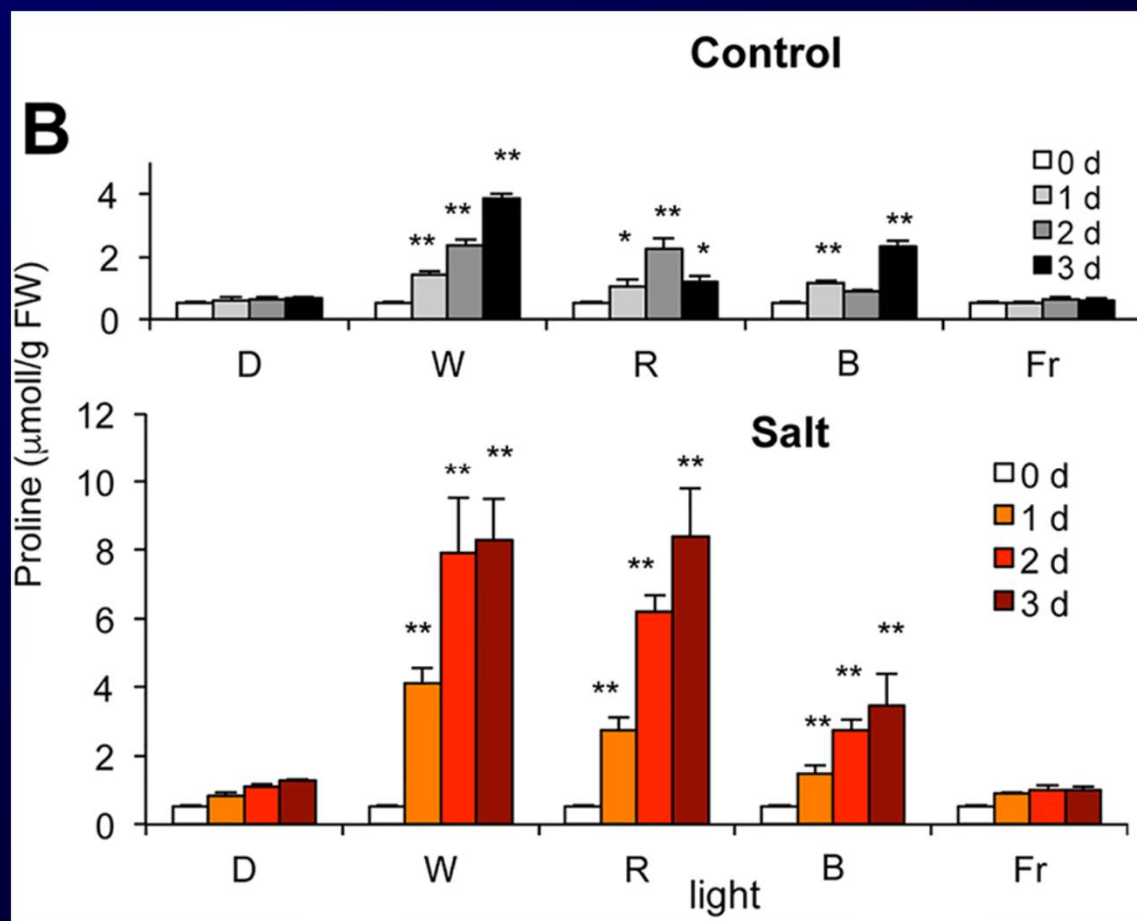


3) Vliv světla na citlivost rostlin k zasolení



Martin Fellner
Laboratoř růstových regulátorů
PřF UP a ÚEB
Skupina molekulární fyziologie

**Vliv světla****Vliv světla + NaCl (150 mM)**

D – dark = tma

W – white light = bílé světlo

R – red light = červené světlo

B – blue light = modré světlo

FR – far-red light = dlouhovlnné
červené světlo

Modré (a červené) světlo zvyšují akumulaci prolínu v rostlinách *Arabidopsis* a tím zvyšují toleranci rostlin k zasolení.

Zapojení fotoreceptorů modrého světla na citlivost rostlin k zasolení

3

Historie - 1997



University of Saskatchewan
Saskatoon, Canada



Prof. Vipen K. Sawhney

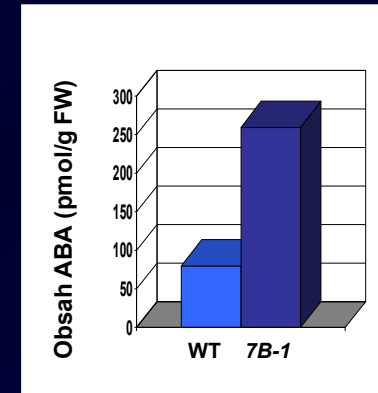
Sawhney VK (1997) Genic male sterility. In: Shivanna KR, Sawhney VK (eds) Pollen biotechnology for crop production and improvement. Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp 183–198



Na fotoperiodě závislé znaky 7B-1 :

- Pylová sterilita
- Nadprodukce ABA (3x)
- Deficit GA (5x)
- Deficit IAA (1,5x)
- Deficit etylénu (4x)
- Redukovaná de-etiolizace

Zvýšený
prodlužovací
růst 7B-1



Rostliny rostoucí *in vitro* na modrém světle

7B-1 – defekt v signální dráze fototropinů; tolerantní k abiotickým stresům specificky na BL

Fellner M et al. (2001) J Exp Botany 52: 725-738

Fellner M, Sawhney VK (2001) TAG 102: 215-221

Fellner M, Sawhney VK (2002) Planta 214: 675-682

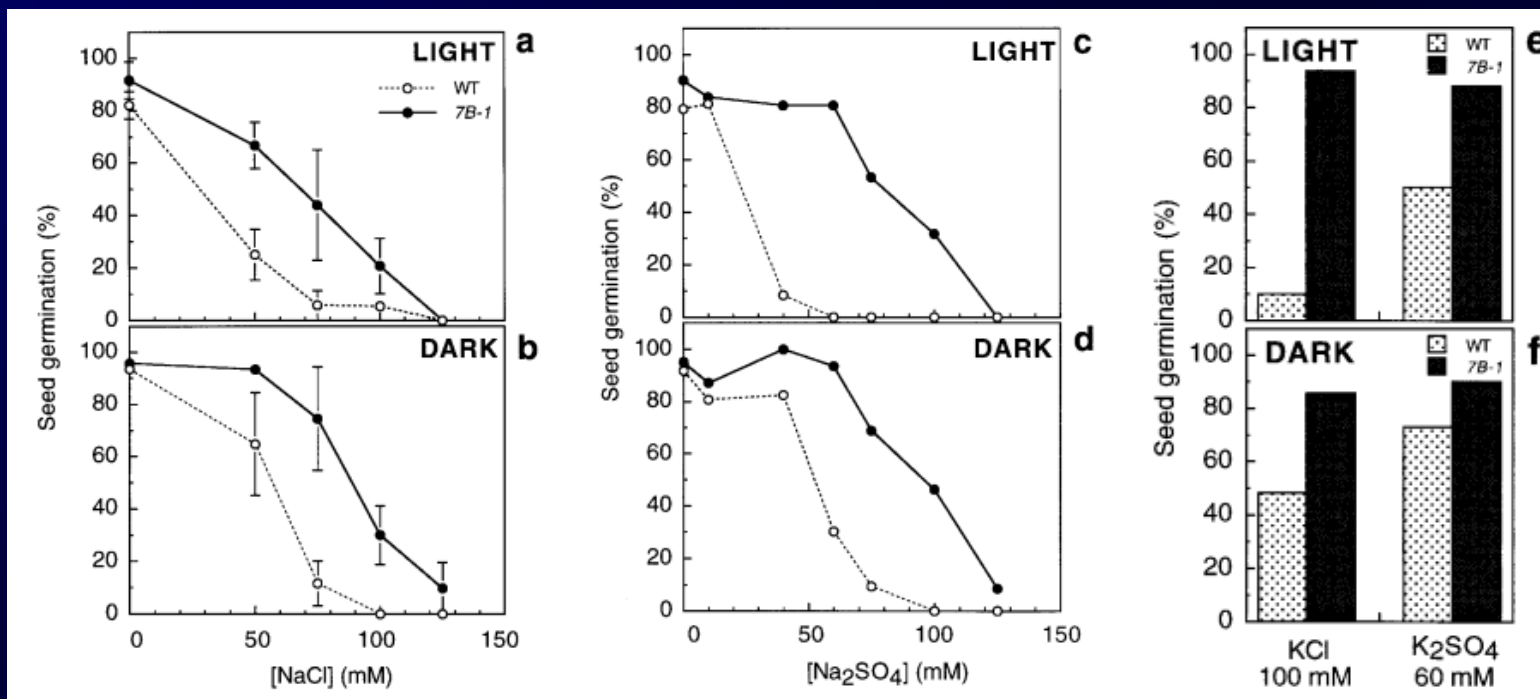
Fellner M et al. (2005) Acta Biologica Cracoviensia, Bot 47: 205-212

Bergougnoux V et al. (2009) J Exp Botany 60: 1219-1230

Hlavinka J et al. (2013) Plant Science 209: 75-80

Ve tmě i na bílém světle (16/8 hodin) ukazovala semena mutanta *7B-1* s defektem ve fototropinové signalizaci toleranci k zasolení vlivem NaCl, Na₂SO₄, KCl a K₂SO₄.

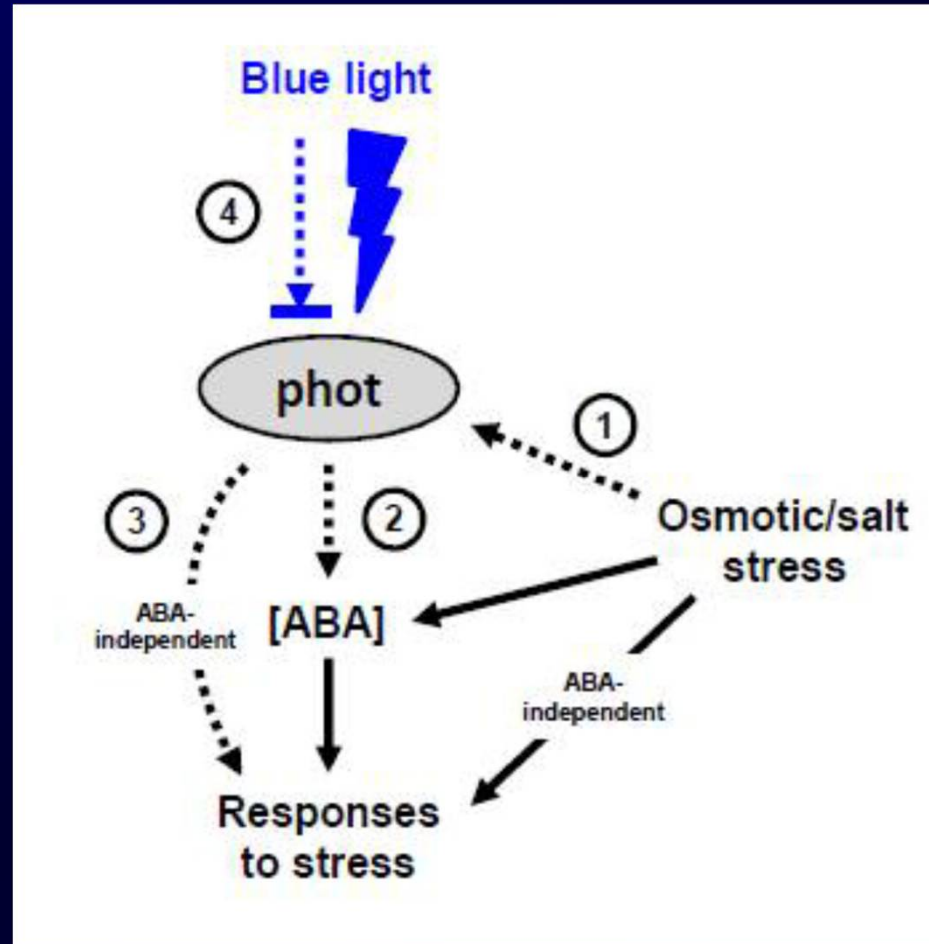
Rajče



Fellner M, Sawhney VK (2001) Theoretical and Applied Genetics 102: 215-221

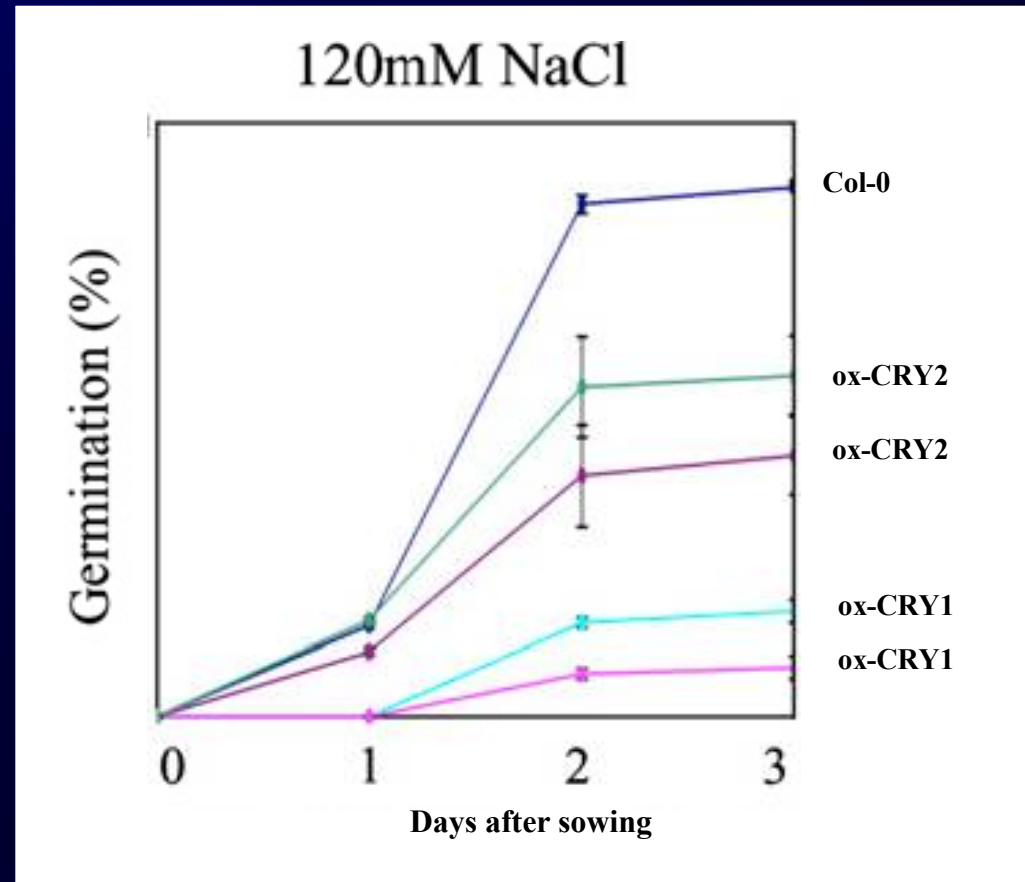
Receptory modrého světla fototropiny zvyšují citlivost (snižují toleranci) klíčení semen rajčete k inhibičním účinkům zasolení.

Hypotéza a výzkumný projekt



Úloha fototropinů a signálních drah modrého světla v toleranci rostlin k abiotickým stresům.

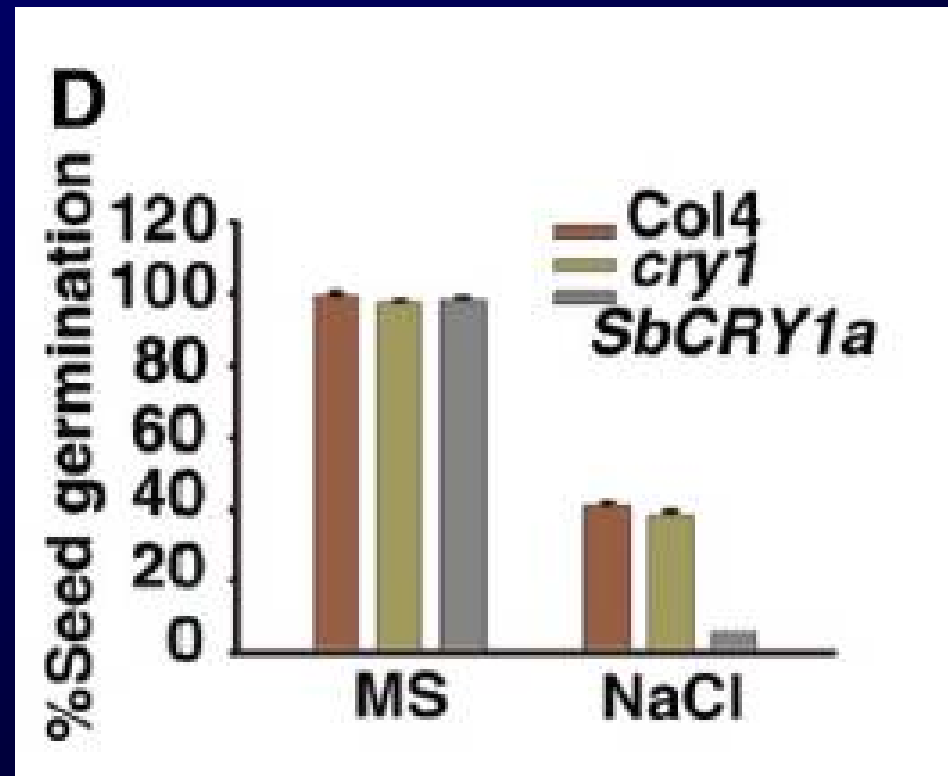
Xu P et al. (2009) Plant Physiology 149: 760-774



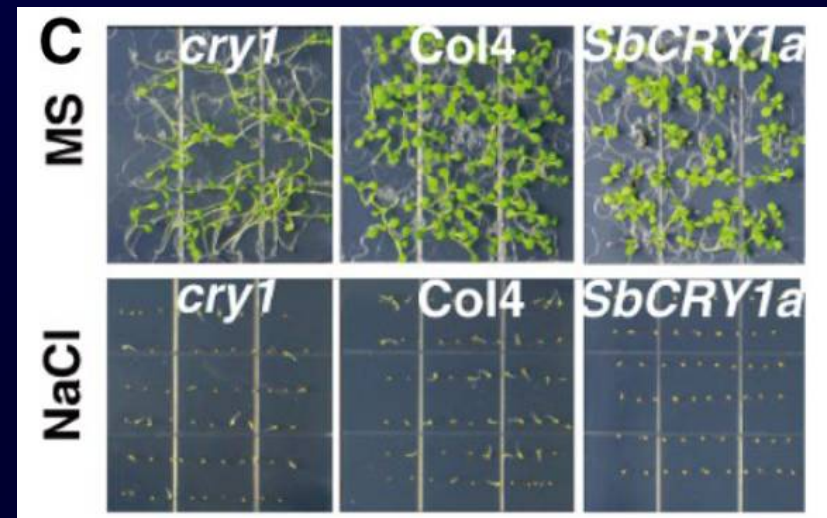
Arabidopsis

Modré světlo prostřednictvím pšeničných kryptochromů (CRY1 a CRY2) snižuje toleranci rostlin *Arabidopsis* k zasolení.

Arabidopsis



Zhou T et al. (2018) Plant Cell Report 37: 251-264



Col4 – kontrolní rostlina

cry1 – *A. thaliana* mutant s vypnutým CRY1

SbCRY1a – *A. thaliana* rostlina overexprimující CRY1a z rostliny *Sorghum bicolor* (čirok)

SbCRY1 zvyšuje citlivost klíčení semen *Arabidopsis* k zasolení.

Zapojení fytochromů v reakcích rostlin k zasolení

Gavassi MA et al. (2017) Scientia Horticulturae 222: 126-135

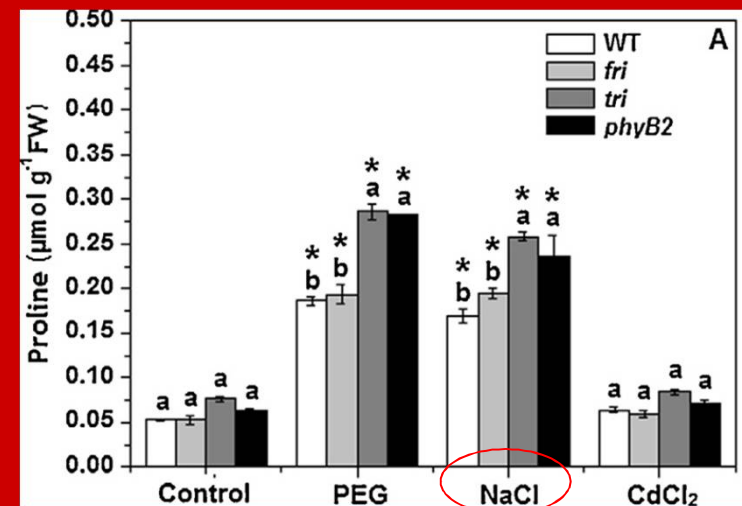
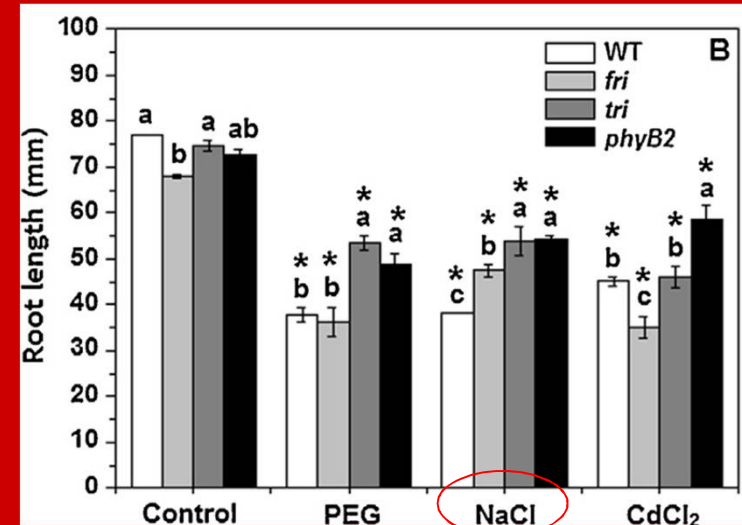
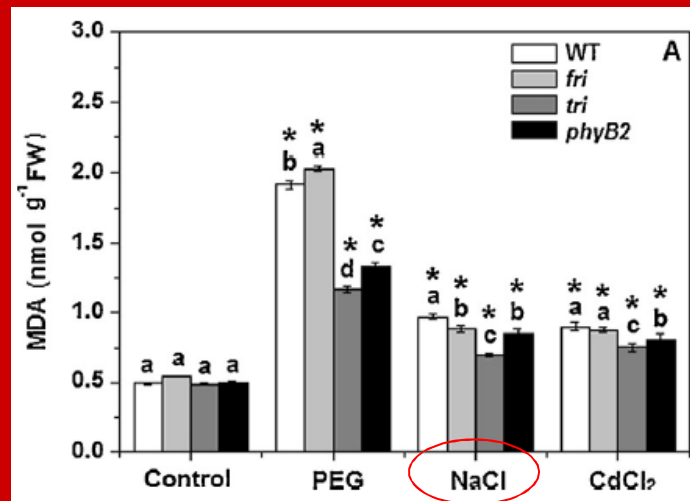
Rajče

fri – mutant s defektem ve PhyA

tri – mutant s defektem ve PhyB1

phyB2 – mutant s defektem ve PhyB2

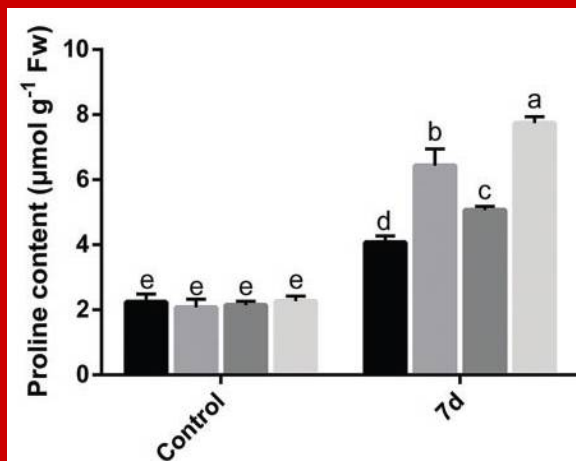
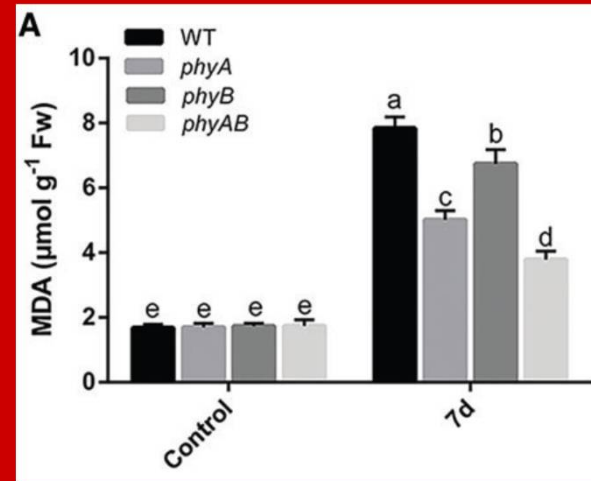
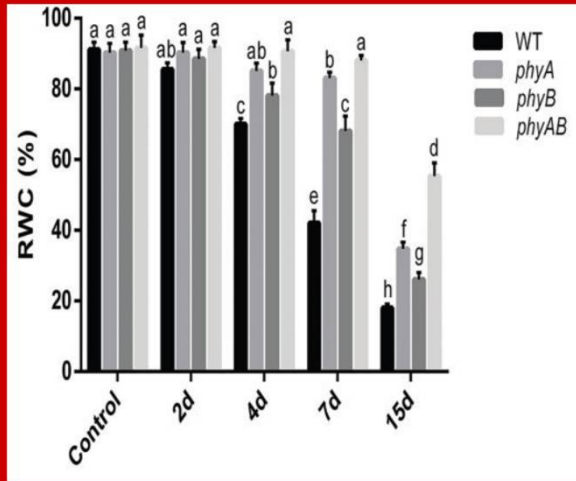
Mutanti rajčete ve PhyB1 a B2 ukazují zvýšenou toleranci k zasolení.



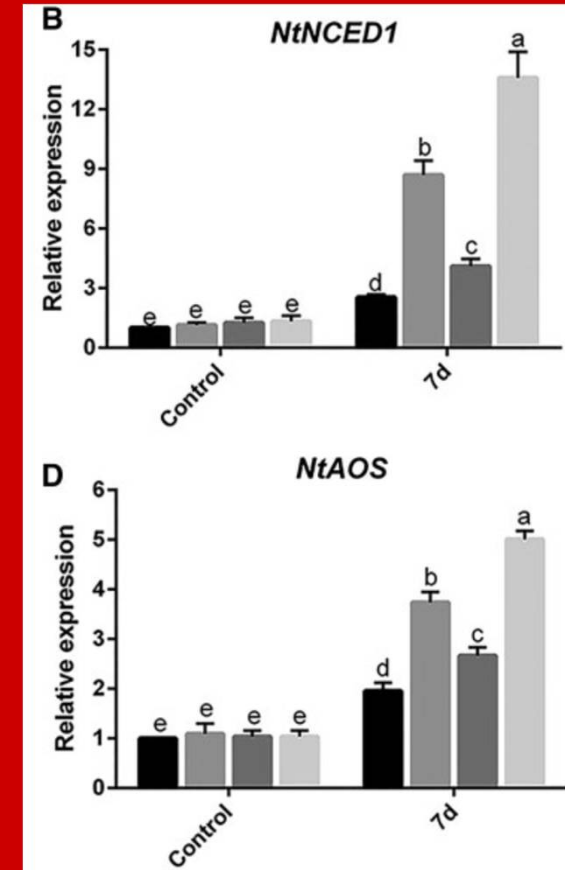
Světlo prostřednictvím PhyB1 a B2 snižuje toleranci rostlin rajčete k zasolení.

Yang T et al. (2018) Plant Cell Physiol 59: 2381-2393

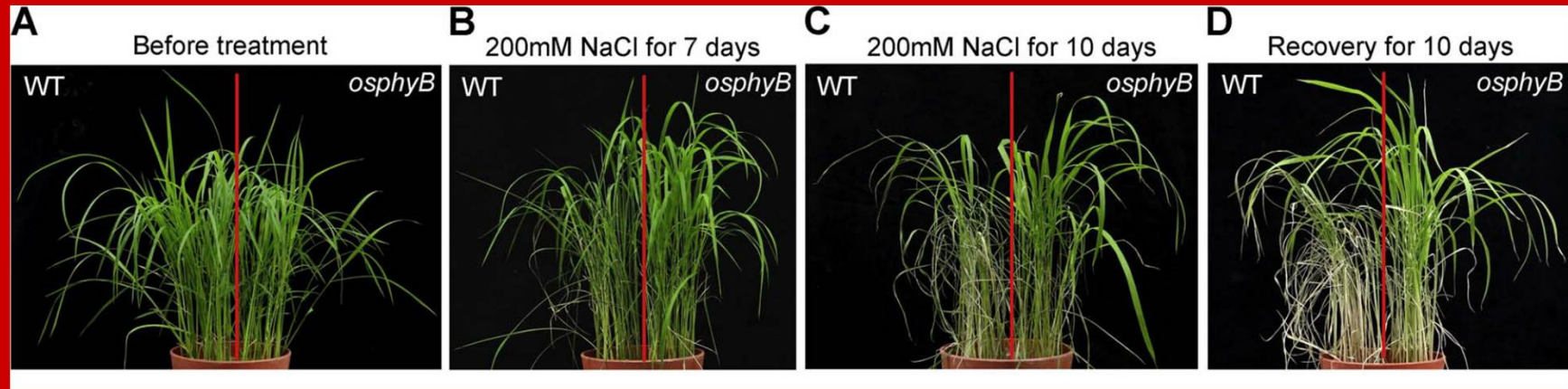
Tabák



Mutanti ve *PhyA* i *PhyB* u tabáku ukazují zvýšenou toleranci k zasolení a současně zvýšenou hladinu ABA a JA.

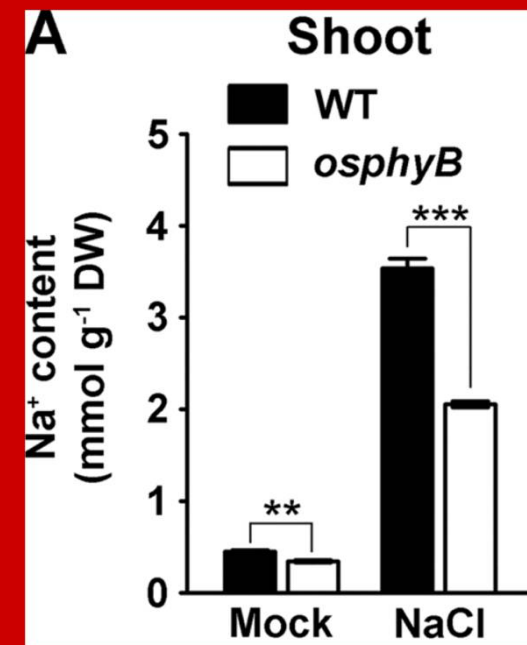


PhyA a B negativně regulují toleranci rostlin tabáku k zasolení prostřednictvím rostlinných hormonů ABA a kyseliny jasmonové.



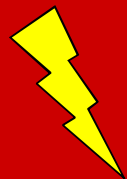
Mutant rýže ve *PhyB* ukazuje zvýšenou toleranci k zasolení. Při zasolení současně akumuluje nižší množství Na^+ v buňkách.

PhyB negativně reguluje toleranci rostlin rýže k zasolení.



Rajče

Nízký R:FR (0,8)



phyB1



Prolin

Chlorofyl

Fotosyntéza

Superoxid dismutáza

Peroxidáza

Kataláza



Superoxid (O_2^-)

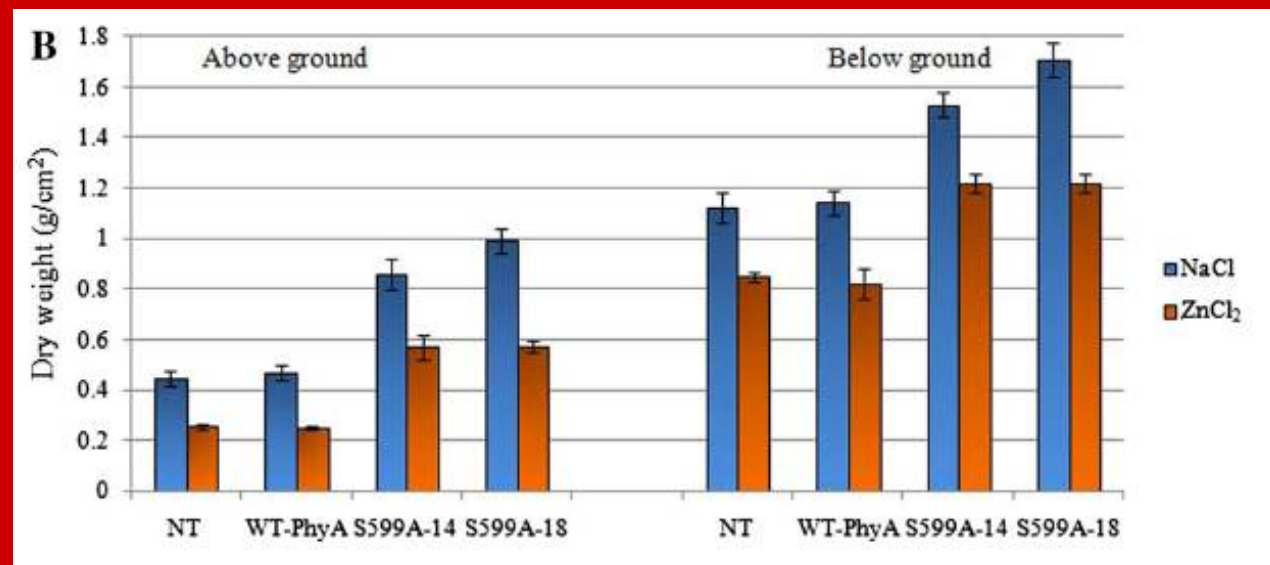
H_2O_2



Tolerance k zasolení

Světlo o nízkém R:FR zvyšuje toleranci rostlin rajčete k zasolení

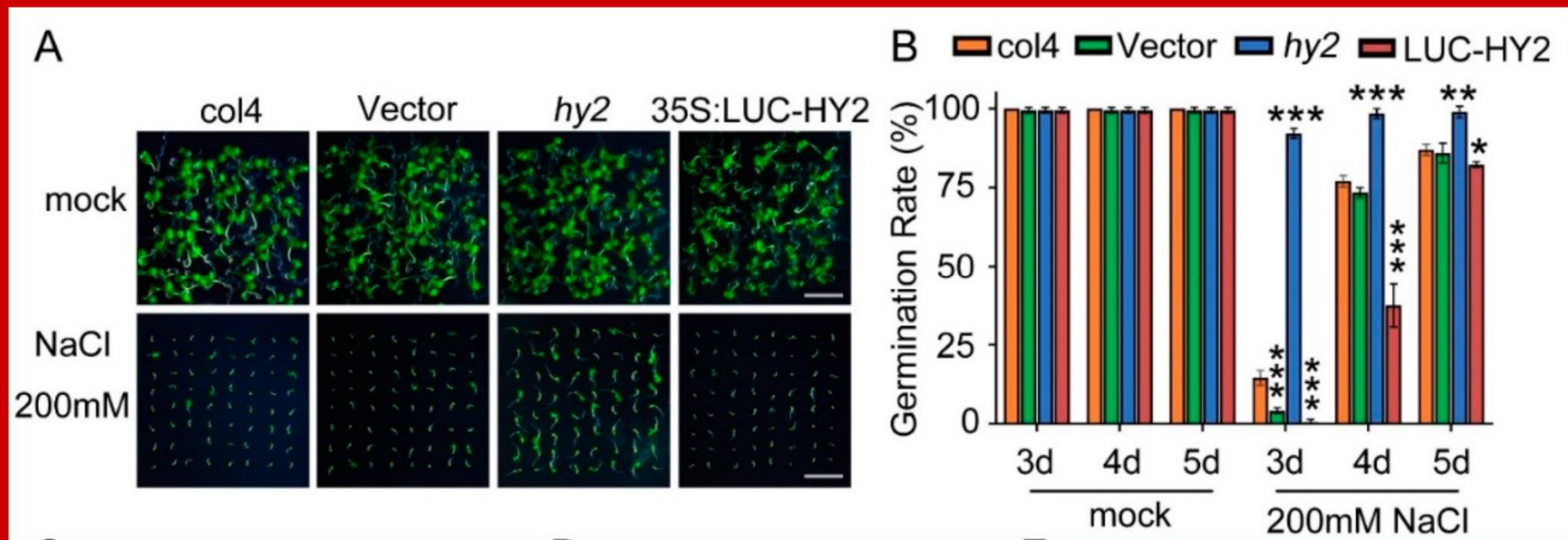
NT – kontrolní rostlina

WT-PhyA – *Agrostis* mutant overexpremující ovesný WT PhyAS599A-14 – *Zoysia* mutant exprimující hyperaktivní ovesný S599A-PhyAS599A-18 – *Zoysia* mutant exprimující hyperaktivní ovesný S599A-PhyA

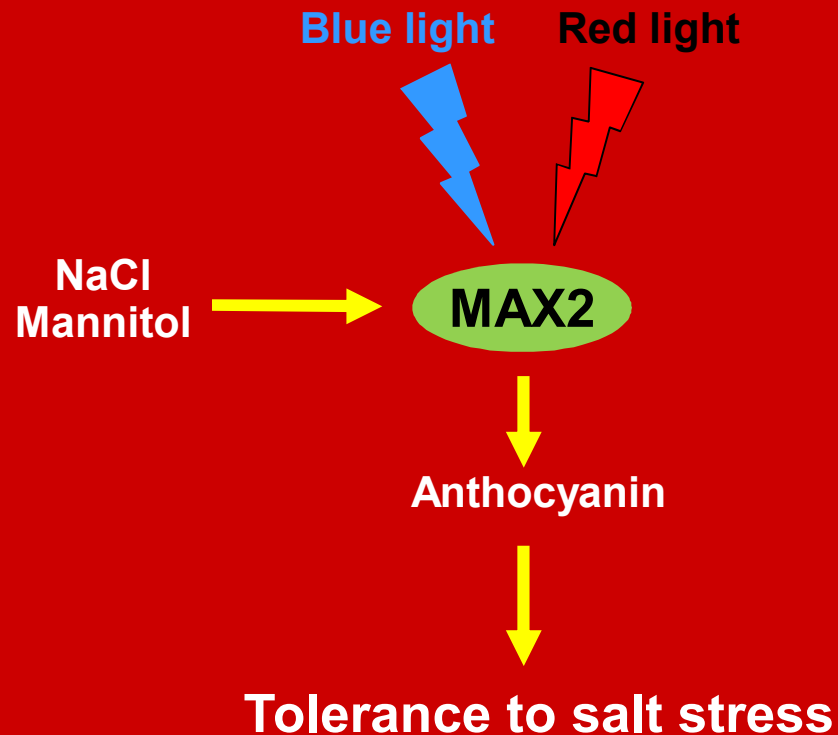
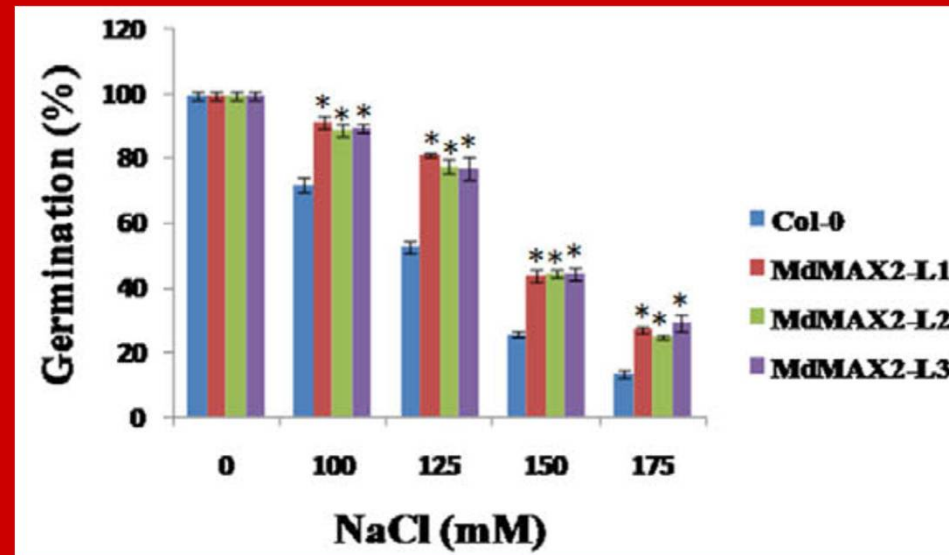
PhyA zvyšuje toleranci trávy *Zoysia japonica* k zasolení.

Phytochromobilin (P Φ B) – barvivo (tetrapyrrol) připojený k proteinu, se kterým tvoří fytochrom. Enzym P Φ B syntáza je kódován genem *HY2*.

Mutant *hy2* s defektem v genu *HY2* je necitlivý k zasolení, kdežto rostliny overexprimující *HY2* jsou hypersensitivní k zasolení.



Výsledky naznačují, že fytochromy u *Arabidopsis* snižují toleranci klíčení semen k zasolení.

Klíčení semen rostlin *Arabidopsis* overexprimujících MdMAX2

MdMAX2 = More Axillary Growth2 (F-box protein izolovaný z jabloně)

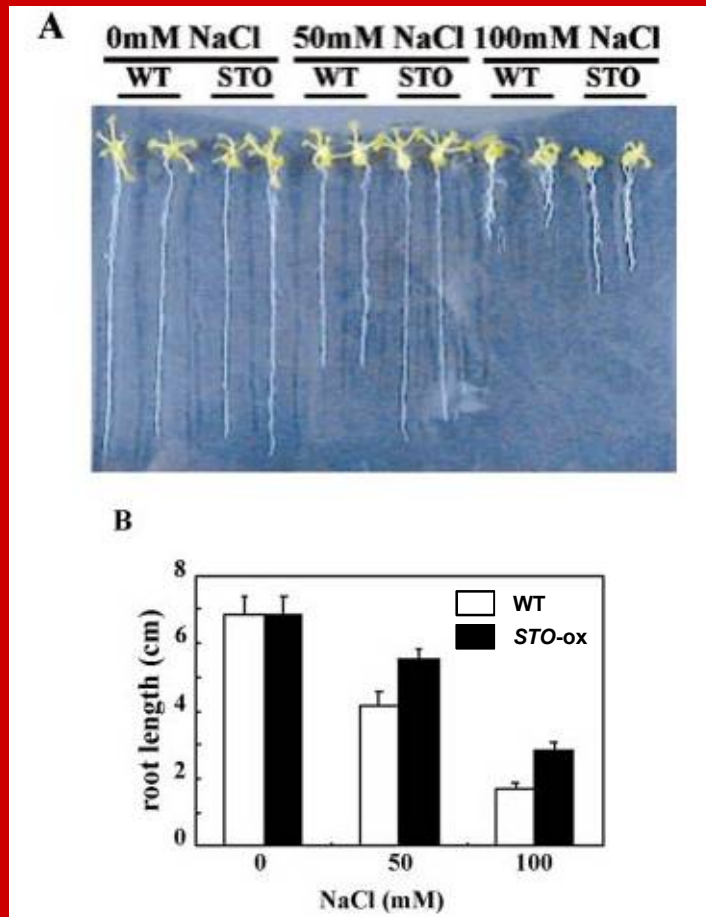
F-box protein MAX2 hraje pozitivní úlohu v toleranci rostlin k zasolení.
Expresse MAX2 je stimulována světlem.

Zapojení elementů HY5 a COP1

16

Nagaoka S and Takano T (2003) J Exp Botany 54: 2231-2237

Arabidopsis



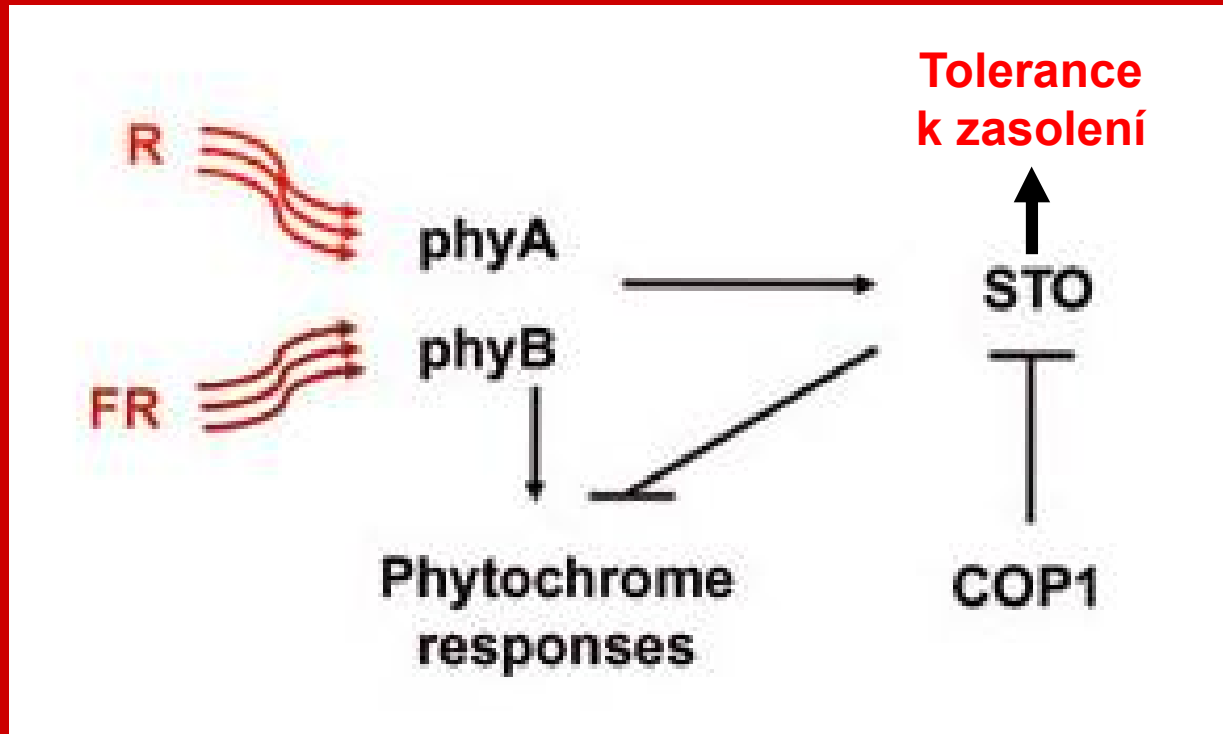
STO = Salt Tolerance, B-box typ Zn finger protein (BBX); podobně jako SOS3 reguluje poměr Na^+/K^+ v buňce

STO (STO-ox) = rostliny *Arabidopsis* overexprimující protein STO jsou tolerantní k NaCl

Indorf M et al. (2007) Plant J 51: 563-574

Protein STO je negativní regulátor fytochromové signalizace

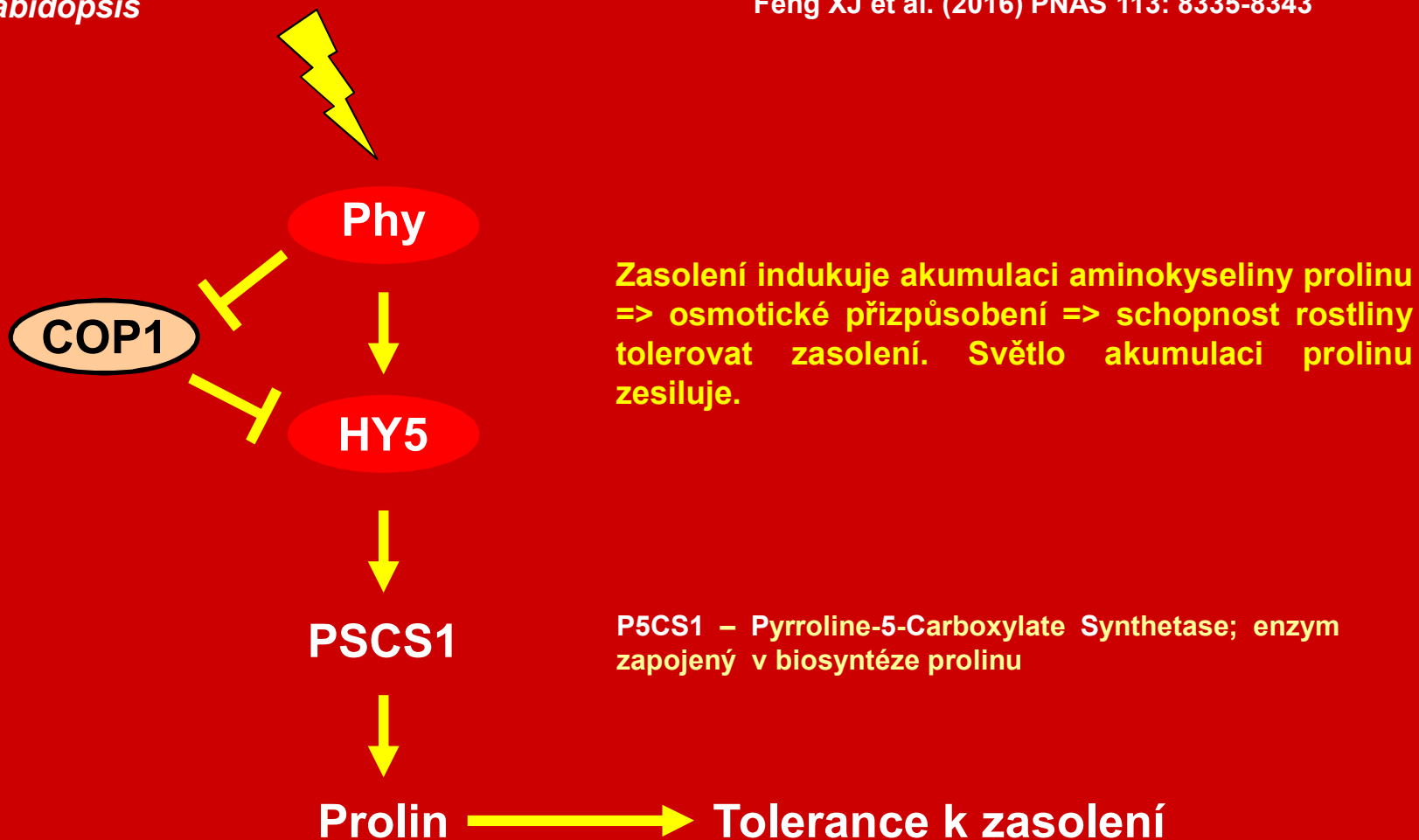
Protein STO je inhibován E3-ubiquitin ligázou COP1



STO = Salt Tolerance
(BBX24)

COP1 = COnstitutive
Photomorphogenic **1**

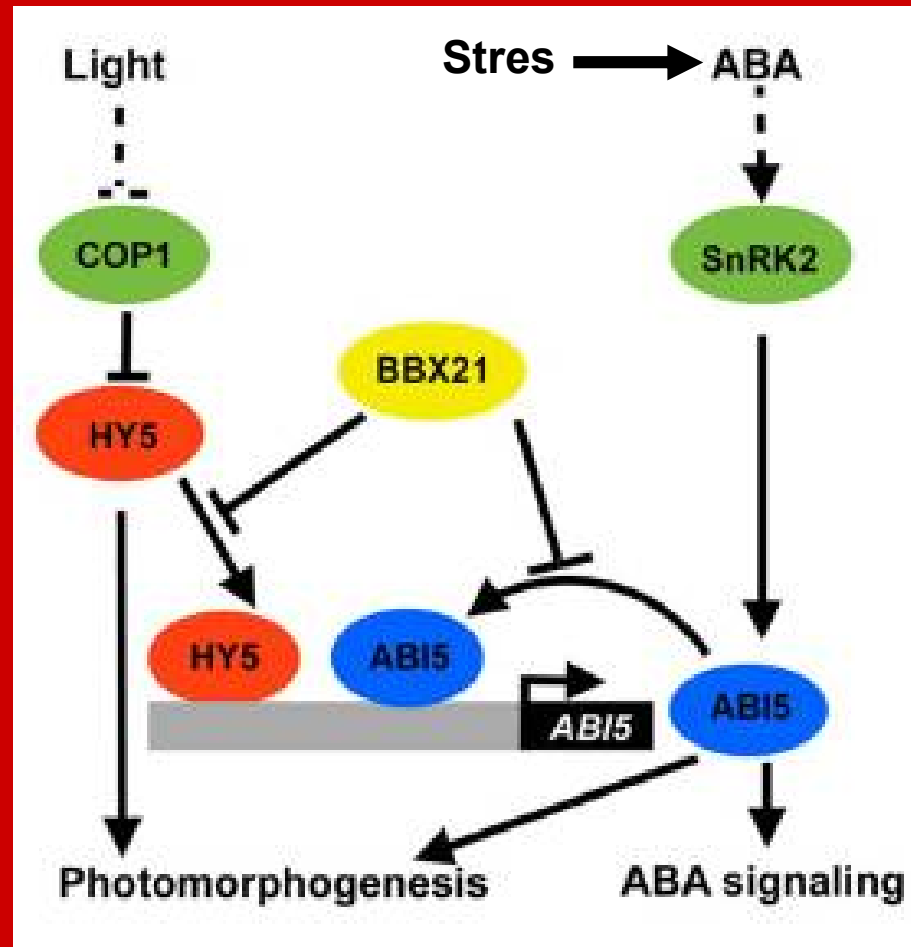
PhyA a B prostřednictvím proteinu STO zvyšuje toleranci k zasolení. STO funguje jako negativní regulátor fotomorfogeneze.



Světlo prostřednictvím fytochromů a HY5 zvyšuje toleranci rostlin *Arabidopsis* k zasolení.

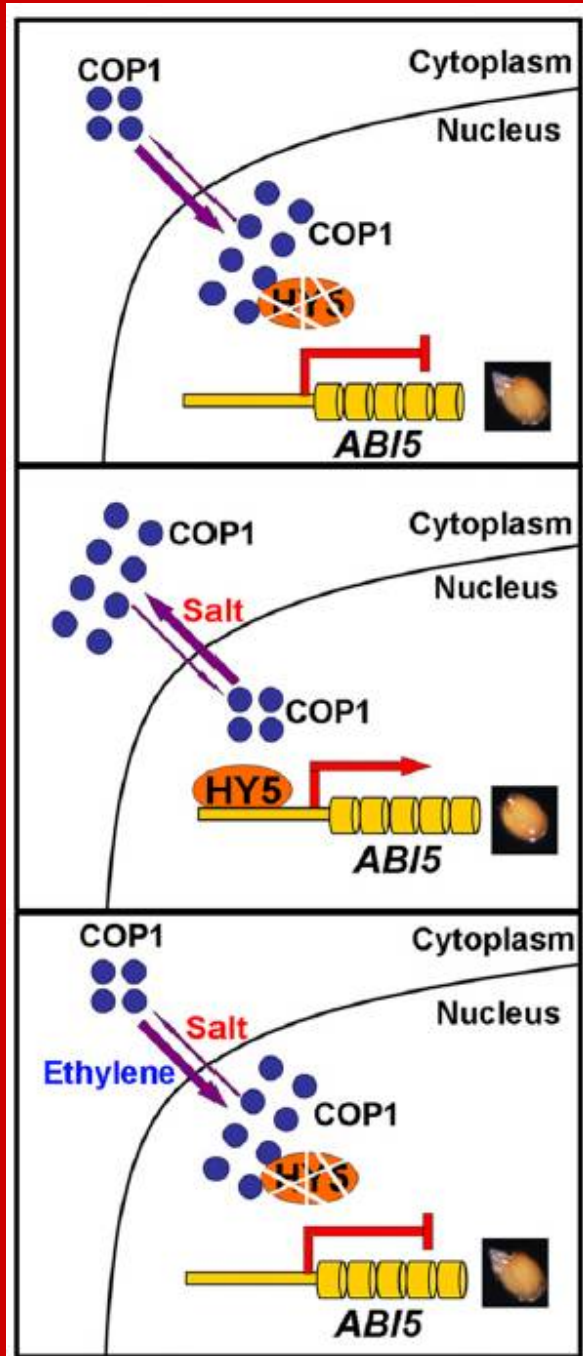
Xu D et al. (2014) PLOS Genetics 10: e1004197

Chen H et al. (2008) PNAS 105: 4495–4500



Vliv COP1 na toleranci rostlin k zasolení je zprostředkován hormonem ABA.

Yu Y et al. (2016) Plant Physiology 170: 23402350



NaCl podporuje přesun COP1 do cytoplazmy.

COP1 nemůže v jádře degradovat HY5.

HY5 stimuluje expresi ABI5 a spuštění ABA signalizace.

Inhibice klíčení

Klíčení semen *cop1-4* je více citlivé k NaCl

Funkční COP1 zvyšuje toleranci k zasolení.

Kim et al. (2016) ukázali, že COP1 kontroluje reakce rostlin *Arabidopsis* k zasolení prostřednictvím E3 SUMO (Small Ubiquitin-related MOdifier) ligázy AtSIZ1.

AtSIZ1 knock-out mutant ukazoval zvýšenou citlivost k zasolení (Yoo et al. 2006, Catala et al. 2007, Miura et al. 2007, 2011)

AtSIZ1-over-exprimující transgenní rostliny ukazují zvýšenou toleranci k zasolení (Miura and Nozawa 2014)



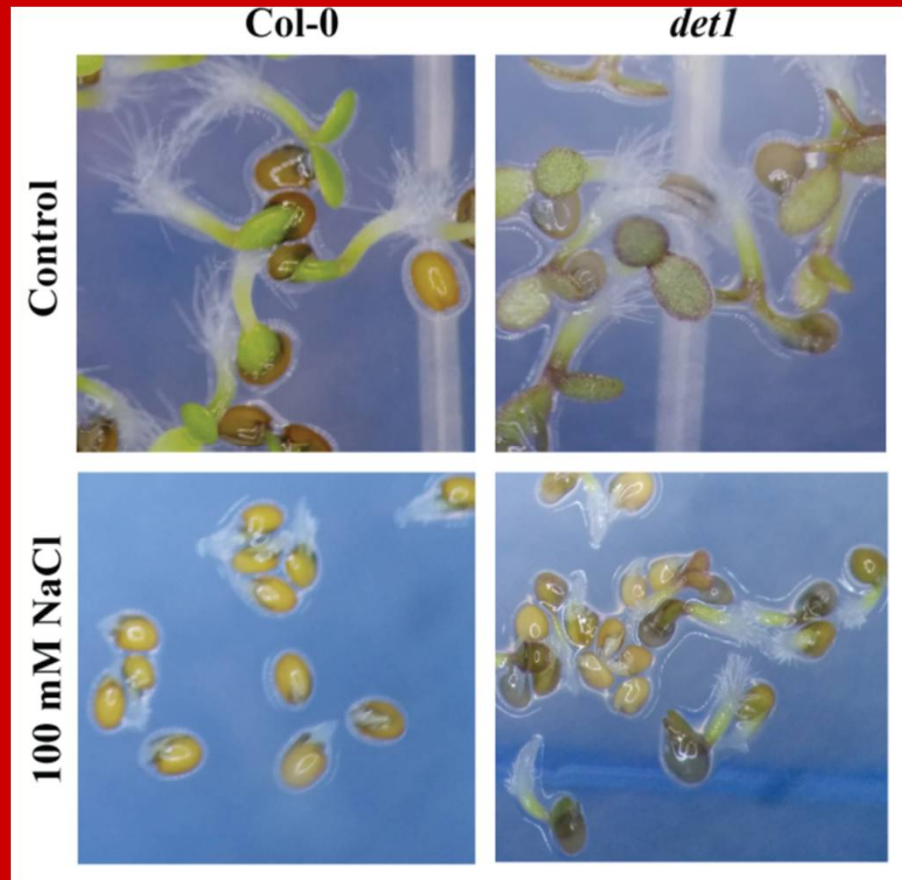
Funkční E3 ubiquitin ligáza COP1 snižuje toleranci rostlin k zasolení tím, že degraduje ubiquitinací E3 SUMO ligázu AtSIZ1, která jinak zvyšuje toleranci ke stresům.



Lze tedy předpokládat, že světlo může u *Arabidopsis* degradací COP1 zvyšovat toleranci rostlin ke stresům.

Arabidopsis

Fernando VCD et al. (2018) Plant Molecular Biology 97: 149-163

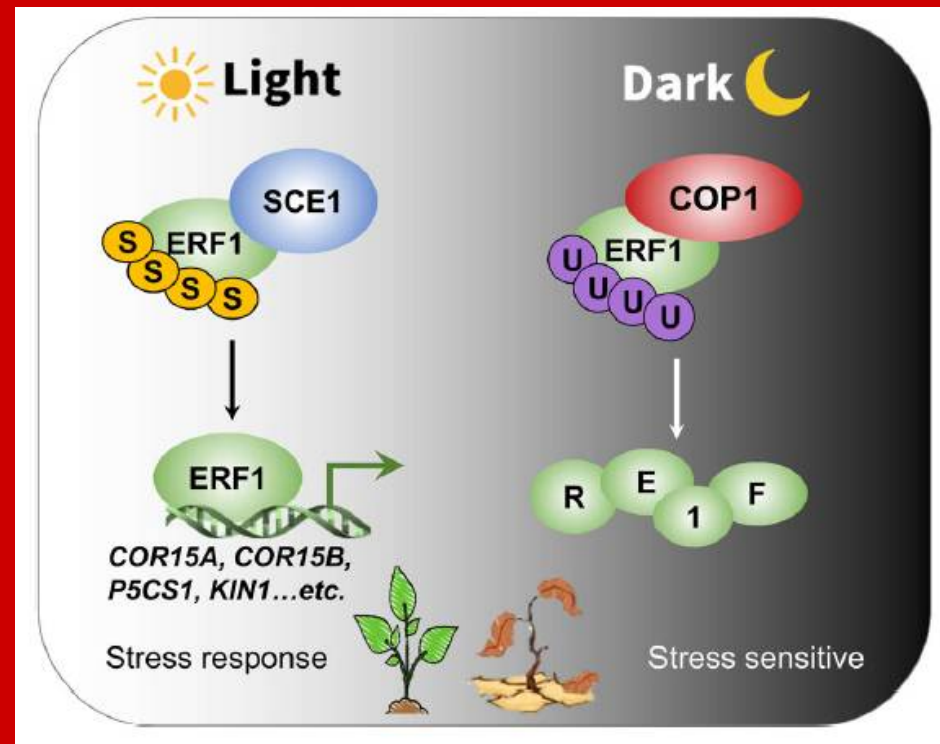


Klíčení semen mutanta *det1* (homolog ke *cop1*) ukazuje toleranci k zasolení (a osmotickému stresu).

Výsledky potvrzují, že protein DET1 (COP1) u *Arabidopsis* snižuje toleranci k zasolení (a osmotickému stresu).

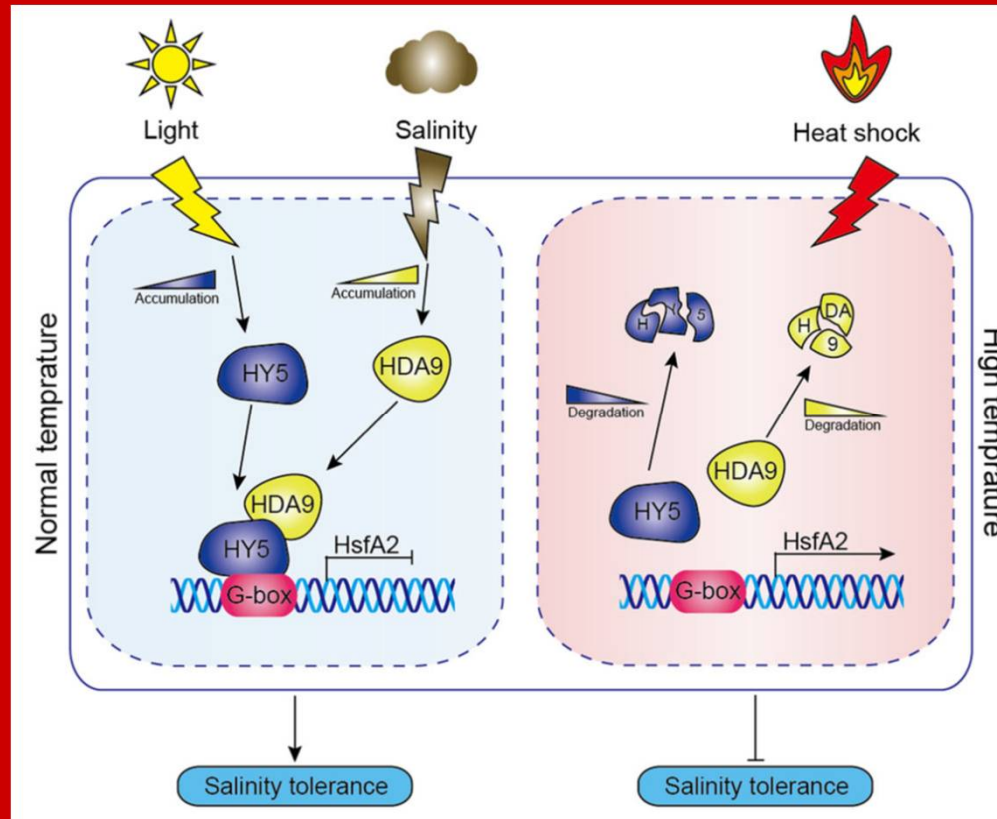
Světlo: Hromadění SCE1 (Sumo-Conjugating Enzyme 1) v jádře => interakce s ERF1 (Ethylene-Responsive Faktor 1) => světlem indukovaná sumoylaci proteinu ERF1 (tedy stabilizace) => vazba sumoylovaná formy ERF1 na promotorovou oblast cílových genů reagujících na stres => aktivace exprese genů => podpora stresové reakce.

Tma: Hromadění COP1 v jádře => interakce s ERF1 => ubiquitinace ERF1 => degradace prostřednictvím proteazomové dráhy 26S => absence exprese genů aktivovaných stresem => intolerance (citlivost ke) stresu.



Světlo prostřednictvím degradace COP1 a aktivace ethylénové signalizace (ERF1) zvyšuje toleranci rostlin *Arabidopsis* k zasolení.

Mutant *hy5-215* ukazuje overexpresi HsfA2 spojenou se zvýšenou citlivostí k zasolení.



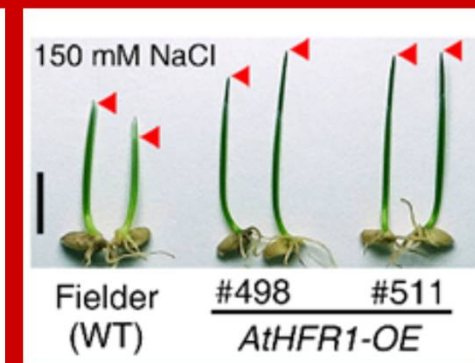
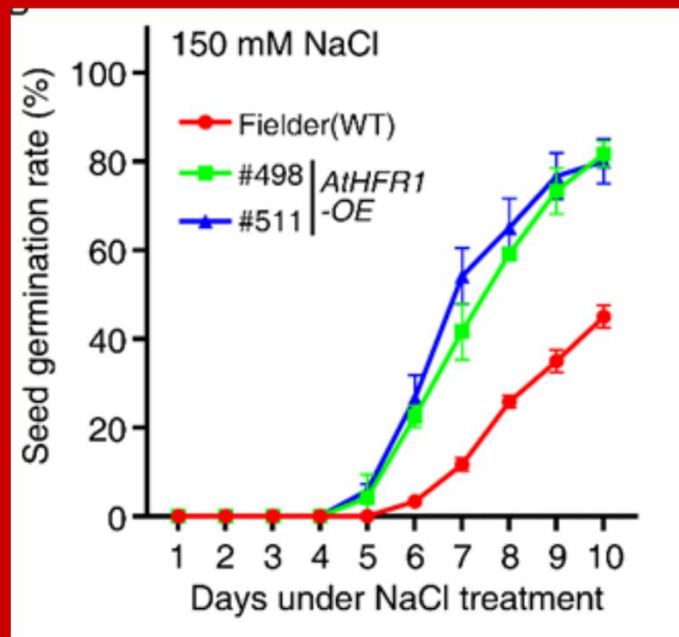
HDA9 – Histone DeAcetylase 9

HsfA2 – small Heat-Shock Protein (HSP)

Výsledky potvrzují pozitivní zapojení HY5 v toleranci rostlin *Arabidopsis* k zasolení, a to prostřednictvím blokády exprese HSP deacetylací histonů.

Sun G et al. (2022) Int J Mol Sci 23: Art.no. 12057

Overexprese transkripčního faktoru AtHFR1 vede ke zvýšené toleranci semen i růstu rostlin pšenice k zasolení.

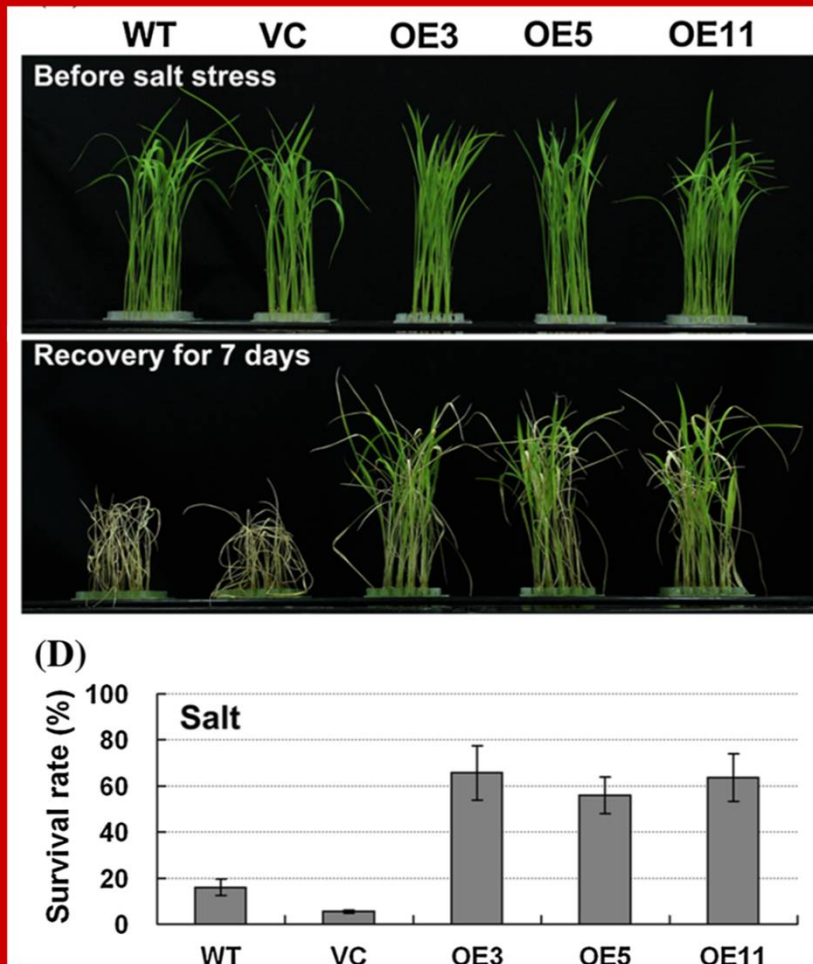


AtHFR1 – Long Hypocotyl in Far Red 1 = fotomorfogenní transkripční faktor

AtHFR1 je exprimován na světle prostřednictvím fytochromů.

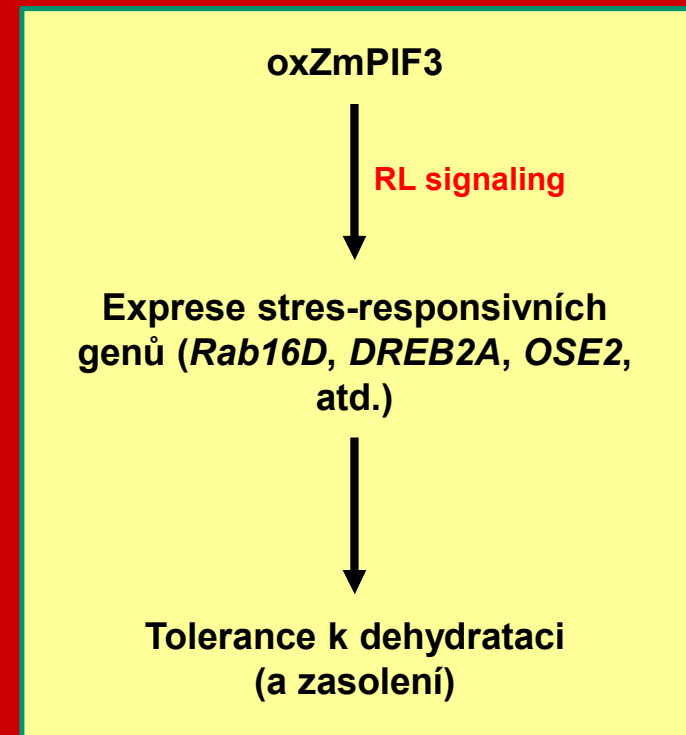
Podobně jako transkripční faktor HY5, tak i fotomorfogenní transkripční faktor AtHFR1 indukuje toleranci rostlin k zasolení.

PIF3 – transkripční faktor; pozitivní regulátor fotomorfogeneze; interaguje s fytochromy



Rostliny rýže overexprimující kukuřičný PIF3 ukazuje toleranci k zasolení.

Rýže

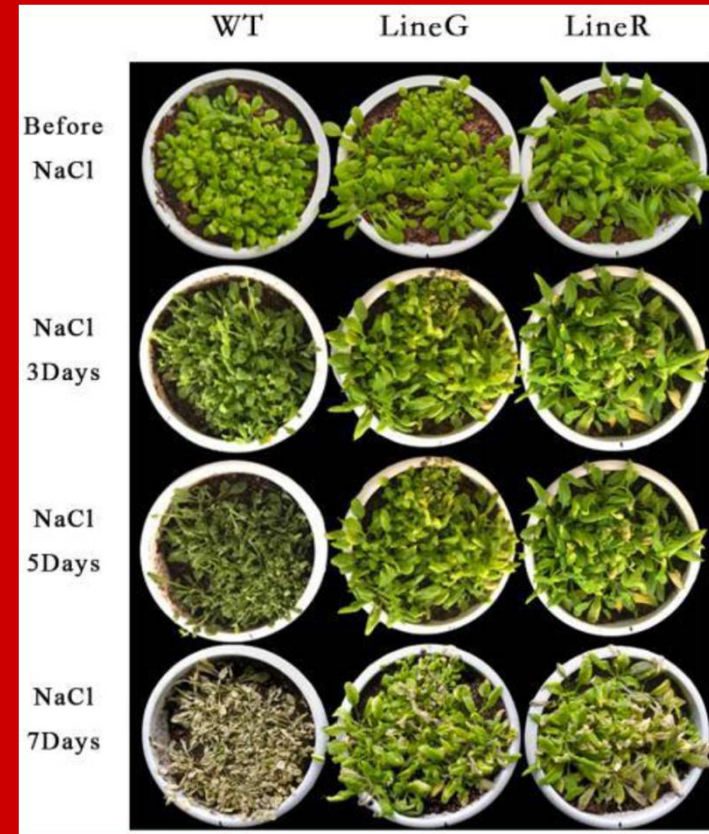
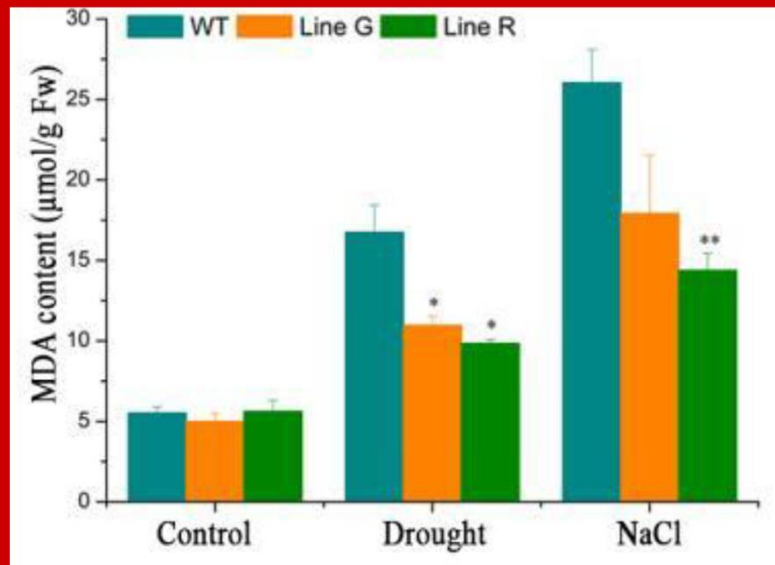


Gao Y et al. (2015) Plant Molecular Biology 87: 413-428

Červené světlo prostřednictvím PIF3 zvyšuje toleranci k zasolení.

Rostliny *Arabidopsis* overexprimující MfPIF8 (linie G a R) ukazují toleranci k zasolení.

Myrothamnus flabellifolius – africká rostlina odolná k suchu



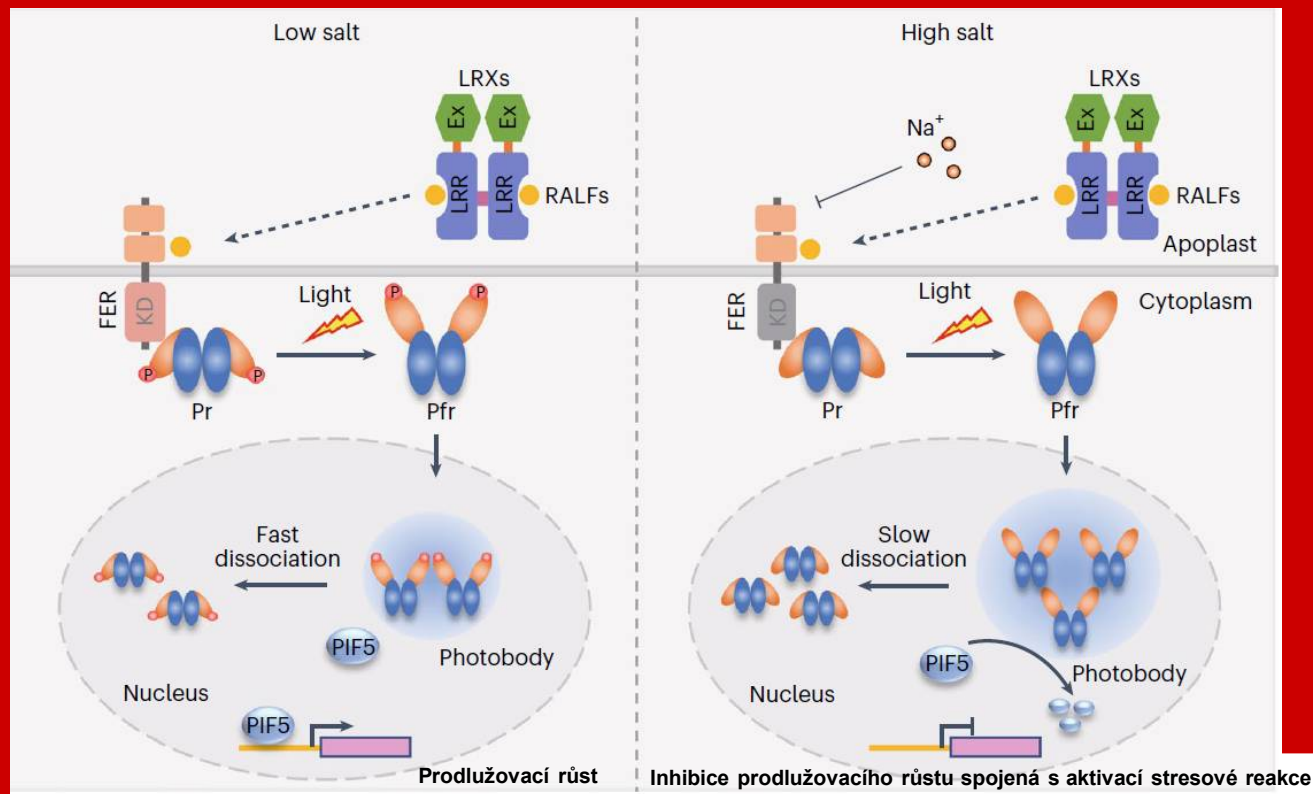
Rostliny *Arabidopsis* overexprimující PIF8 (linie G a R) mají sníženou hladinu MDA.

PIF8 – transkripční faktor; pozitivní regulátor fotomorfogeneze prostřednictvím PhyB, negativní regulátor fotomorfogeneze prostřednictvím PhyA (Oh et al. 2020; Plant Cell 32: 186-205)

Aktivní MfPIF8 zvyšuje toleranci rostlin k zasolení, a to pravděpodobně prostřednictvím signální dráhy PhyB.

Nízké zasolení: FER-zprostředkovaná fosforylaci phyB => disociace fotobody (fotovezikul) => snížení množství phyB v jádře => „zůstává na živu PIF5“, který indukuje expresi genů zapojených v růstu rostlin (tedy v etiolizaci).

Silné zasolení: Inhibice aktivity FER kinázy stresem (Na^+) => nedochází k fosforylaci PhyB => zvýšení stability fotovezikul a zvýšení množství proteinu phyB v jádře. PhyB podporuje degradaci PIF => snížení množství PIF5 => snížení růstu rostlin (de-etiolizace) a doprovázené aktivací stresové reakce.

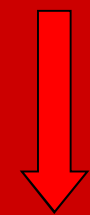
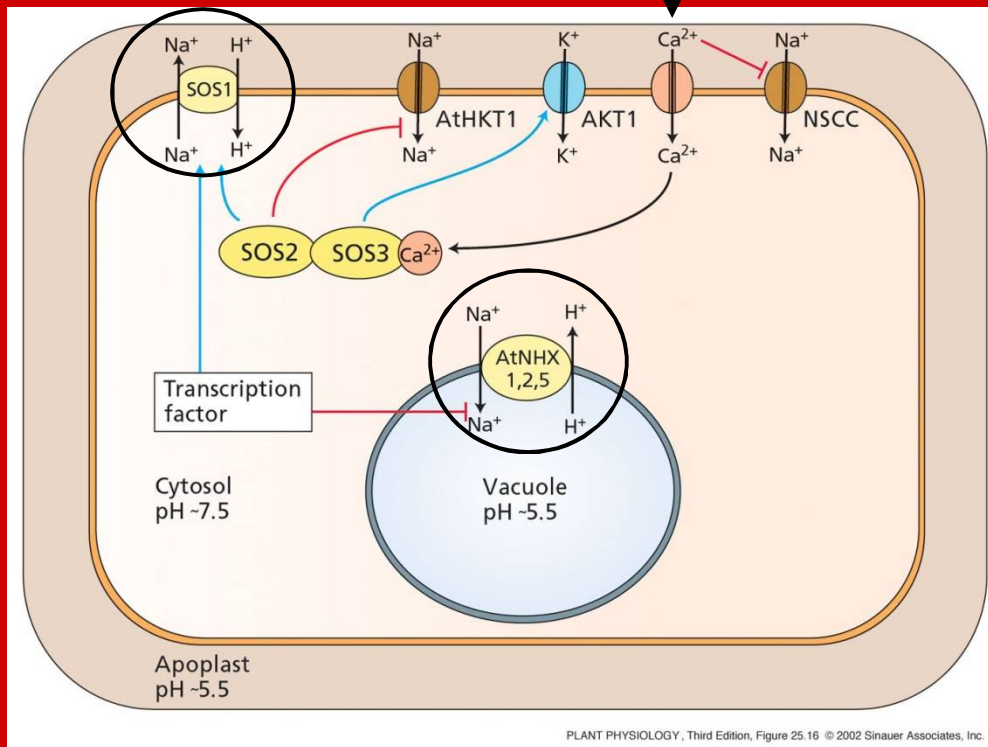


FER – FERONIA – kináza zapojená v celé řadě vývojových procesů u rostlin

Dynamická regulace akumulace PhyB v jádře je pro rostliny prospěšná pro vyvážení růstu a stresové reakce.

H⁺-ATPáza iniciuje rozdíl pH a membránový potenciál přes plazmatickou membránu a tonoplast. Zajišťuje sílu (H⁺ elektrochemický potenciál) pro sekundární transport iontů. Aktivita H⁺ pumpy se zvyšuje salinitou a indukovanou expresi genů.

Zasolení



Buňka má sílu bránit se nadměrnému zasolení tím, že transportuje nadbytečný Na⁺ z buňky ven a do vakuoly



SOS1 Na⁺-H⁺ antiporter

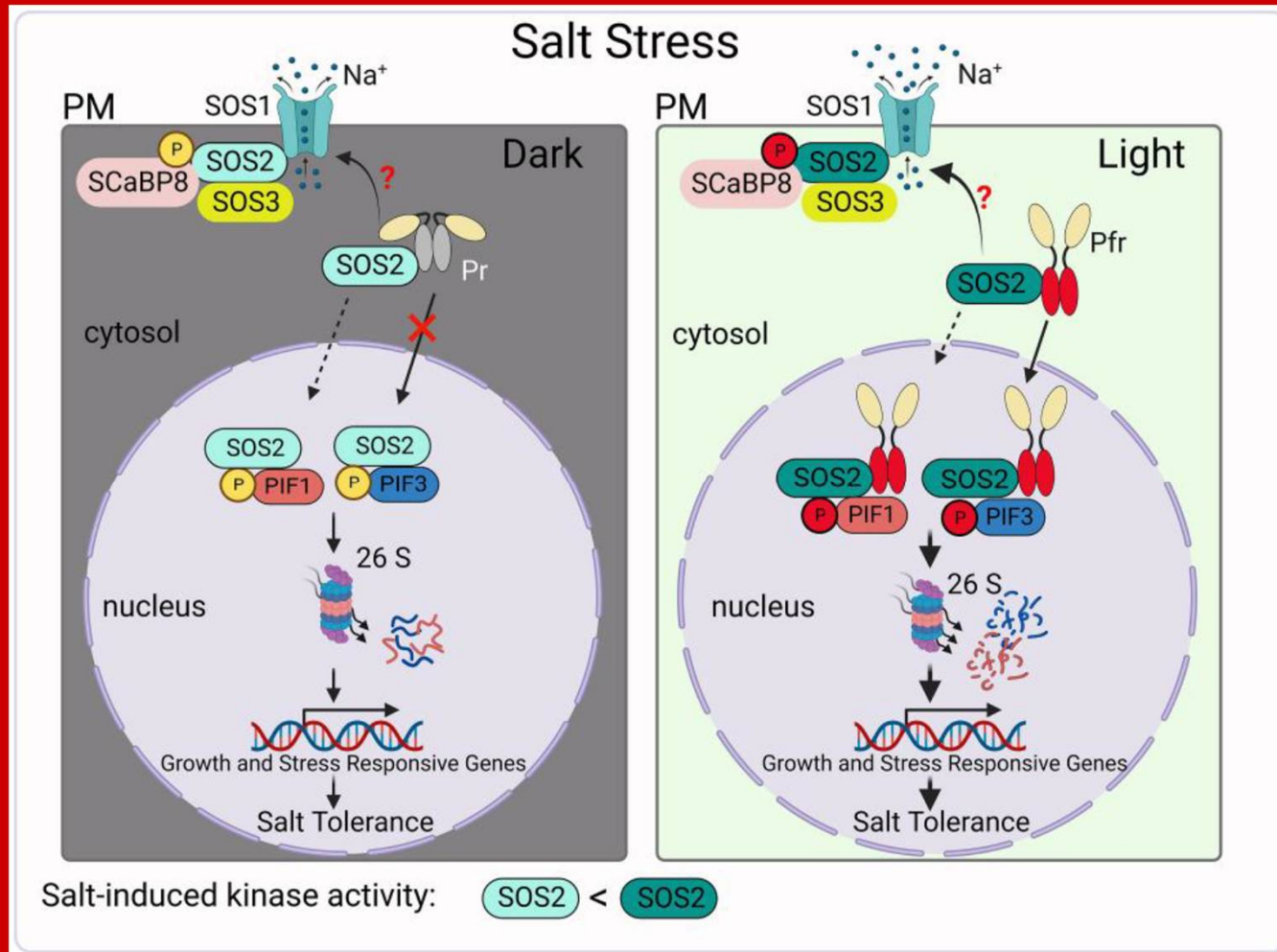
SOS1 - regulován produkty SOS2, SOS3

SOS2 - serine/threonine kináza aktivovaná Ca²⁺ přes SOS3

SOS3 - protein fosfatáza regulována Ca²⁺

Vakuolární kompartmentace Na⁺ je zprostředkována Na⁺- H⁺ antiportem AtNHX1.

PLANT PHYSIOLOGY, Third Edition, Figure 25.16 © 2002 Sinauer Associates, Inc.

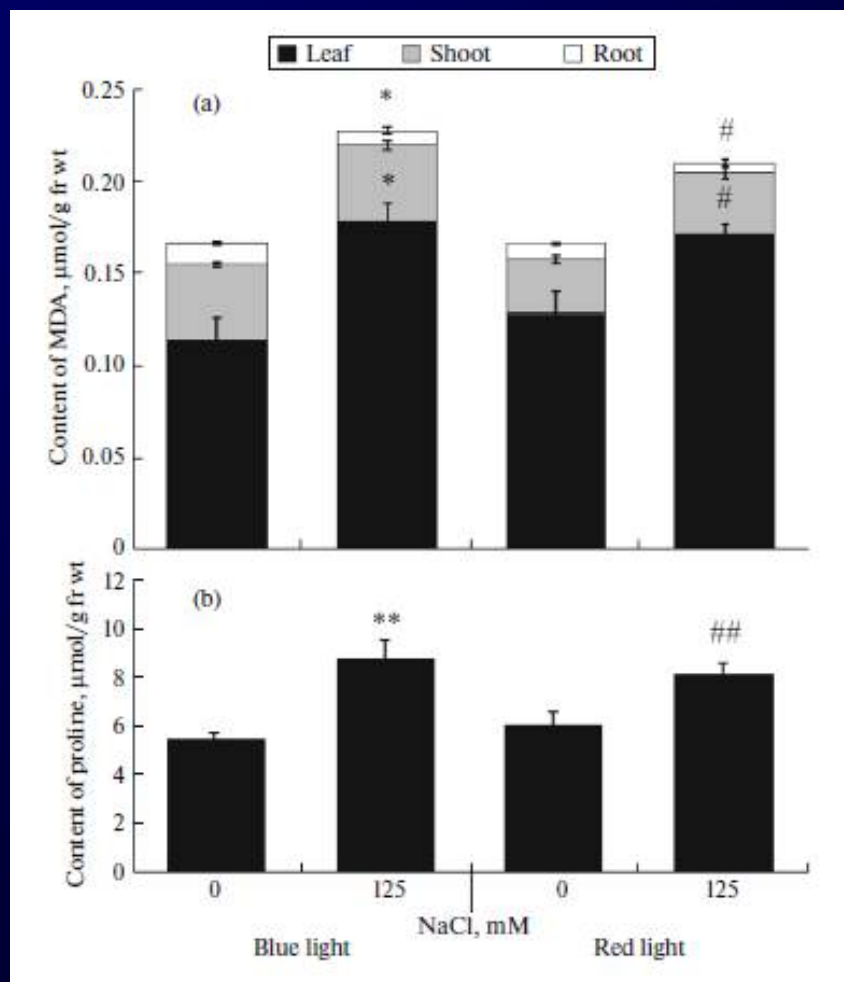


Tma: Kinázová aktivita SOS2 je stimulována stresem zasolením. Stresem aktivovaná kináza SOS2 interaguje s PIF1 a 3 => pouze mírná fosforylace PIF1 a 3 => část PIF1 a 3 je funkčních => částečná blokáda stresových reakcí => pouze mírná tolerance rostlin ke stresu.

Světlo: Kinázová aktivita SOS2 stimulována stresem zasolením. Světlem aktivované fytychromy vstupují do jádra, interagují s SOS2 a zesilují kinázovou aktivitu SOS2 => silná fosforylace PIF1 a 3 => PIF1 a 3 jsou nefunkční => výrazné uvolnění stresových reakcí => zesílená tolerance rostlin ke stresu.

Světlo prostřednictvím fytychromů pozitivně ovlivňuje toleranci rostlin *Arabidopsis* k zasolení aktivací SOS2 kinázy a následným rozpadem PIF1 a PIF3.





Brambor

MDA = malondialdehyd ($\text{CH}_2(\text{CHO})_2$)

MDA vzniká peroxidací polyneenasycených mastných kyselin => určuje intenzitu oxidativního stresu a strukturní integritu membrány

Prolin = aminokyselina; osmoprotektan

NE špatný pokus i interpretace

Modré (a červené) světlo zvyšují akumulaci prolinu a MDA v rostlinách bramboru a tím zvyšují toleranci rostlin k zasolení.

Fotosyntéza a stress

Modré (a červené) světlo zmírňuje dopady zasolení na fotosyntetické parametry rostlin jahodníku (rostliny citlivé k zasolení).

Fluorescence chlorofylu

