

FOST

2024

1

Fotomorfogeneze a stres

aneb

světlo – regulátor odpovědí rostlin k abiotickým stresům



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

- 1) Vliv světla na schopnost rostlin tolerovat chladový stress
- 2) **Světlo a citlivost rostlin k suchu**
- 3) **Schopnost světla ovlivňovat toleranci rostlin k zasolení**
- 4) **Světlo a tolerance rostlin k osmotickému stresu**

**Růst ve tmě
(etiolizovaný růst, skotomorfogeneze)**



„Skoto“ = tma

**Růst na světle
(fotomorfogeneze)**

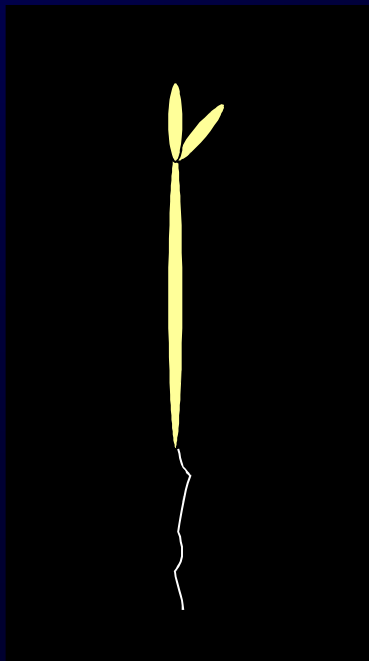


Fotomorfogeneze

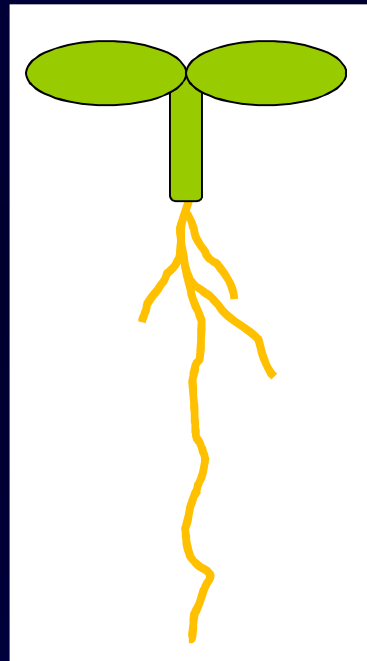
Proces, při kterém světlo jako signál změní vývoj rostliny tak, aby mohla pro svůj další růst využít světlo jako energii.

(Světlo je zdrojem informace pro adaptaci růstu a vývoje k prostředí)

Tma



Světlo



Základní fotomorfogenické reakce:

- inhibice prodlužování
- stimulace syntézy chlorofylu
- stimulace růstu listu

Při fotomorfogenezi je světlo zachycováno pigmenty, které jsou součástí **fotoreceptorů**:

- **červeného světla: fytochromy A až E (phytochromes)**

- **modrého světla a UV-A: kryptochromy, fototropiny (cryptochromes, phototropins) a LOV-domains/F-box proteiny:**
 - ZTL (ZEITLUPE, německy „zpomalený pohyb“)
 - FKF1 (FLAVIN BINDING, KELC REPEAT, F-BOX PROTEIN 1)
 - LKP2 (LOV KELCH PROTEIN 2)

- **UV-B: UVR8 (UV RESISTANCE LOCUS 8)**

Stresové faktory působící na rostliny:

Stres = vnější faktor, který vykonává vliv nevýhodný pro rostlinu

Biotické – vyvolané jinými organizmy

**Abiotické – vznikají vlivem přemíry či deficitu fyzikálních
či chemických vlivů**

- přebytek vody či sucho
- vysoká a nízká teplota
- mnoho či málo světla
- zasolení

Rychle působící (minuty): tepelný stres

**Pomalu působící (dny až měsíce) : nedostatek vody v půdě,
nedostatek minerálních látek**

**Pochopení mechanismů adaptace, aklimatizace a fyziologických procesů
fungujících při stresech je důležité v zemědělství a ekologii.**

Tolerance ke stresu = schopnost rostliny překonat pro ni nepříznivé podmínky

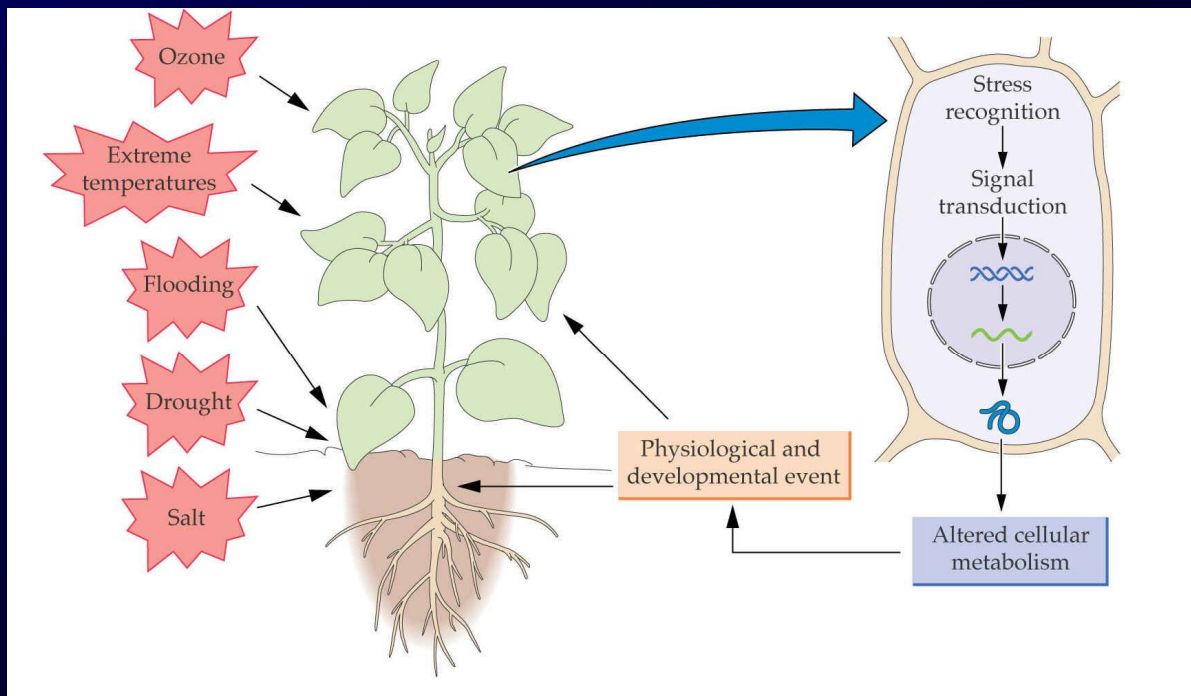
Pojmy tolerance a rezistence se často používají jako ekvivalenty – tolerance je správnější

Aklimatizace – zvýšení tolerance rostliny ke stresu jako výsledek postupného vystavení stresovým podmínkám

Adaptace – geneticky determinovaná hladina tolerance získaná během selekce v průběhu mnoha generací

Stresy → změna exprese genů a buněčného metabolismu

Změny v buněčném cyklu a buněčném dělení, změny v endomembránovém systému a vakuolizaci buněk, změny v architektuře buněčné stěny.

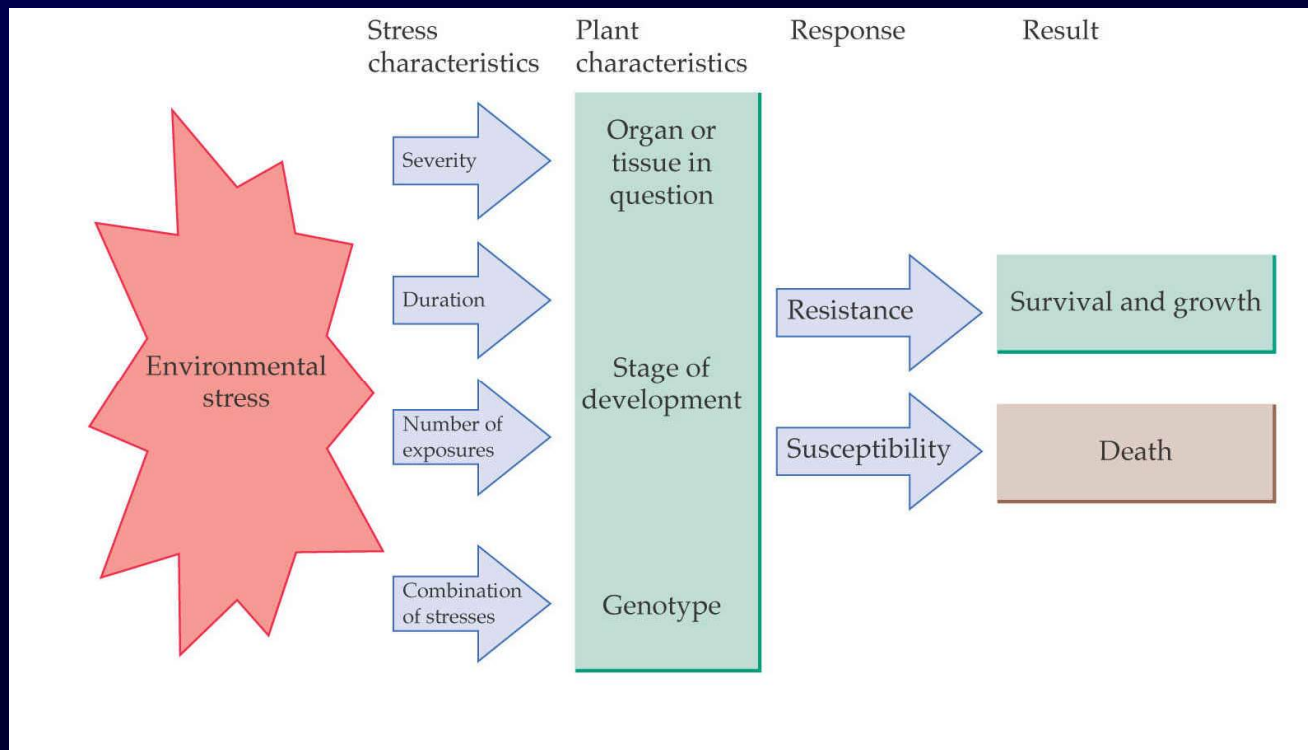


Změny v expresi genů zahrnují indukci signálních drah. V nich jsou zapojeny:

- hormony (ABA, JA, etylén, ...)
- sekundární přenašeče (Ca^{2+})

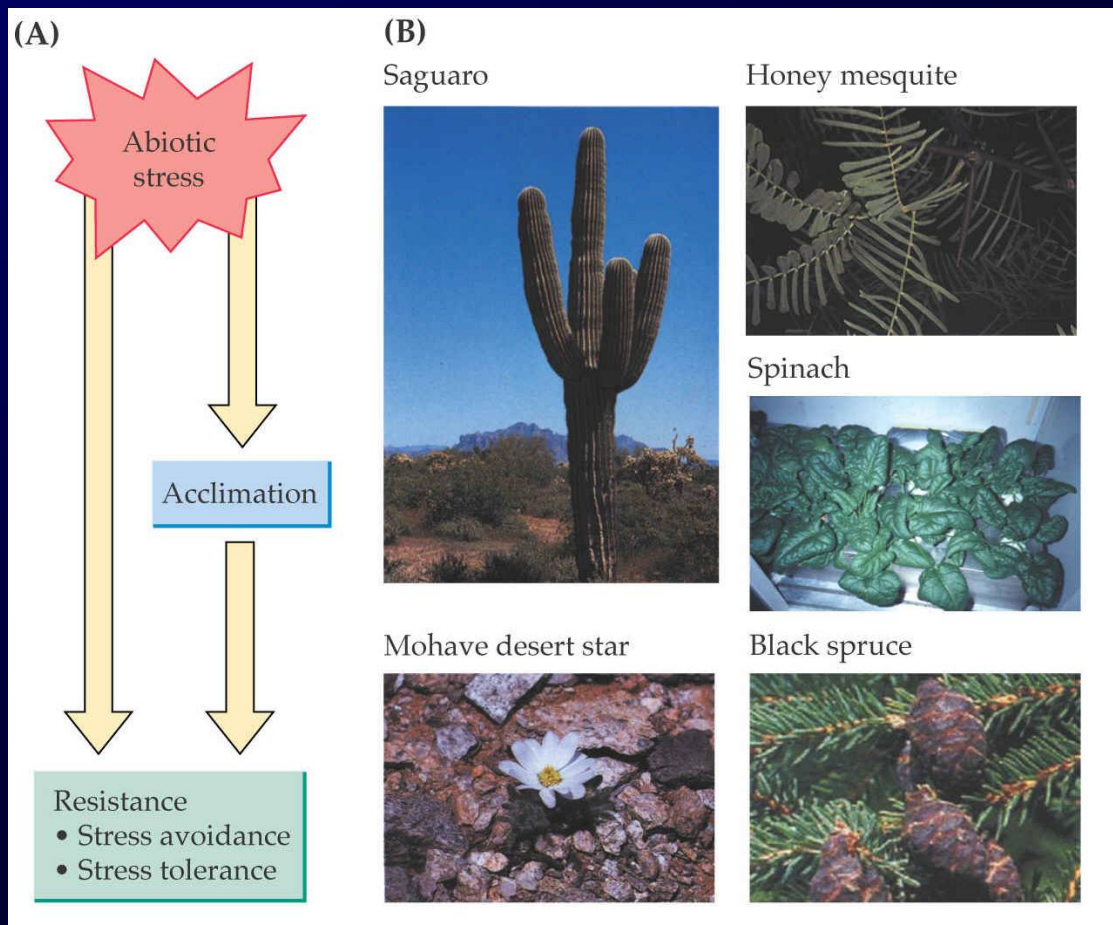
Schopnost rostlin tolerovat stres závisí na:

- intenzitě stresu
- délce působení stresu
- rychlost příchodu stresu
- orgánu rostliny



Ztráty na zemědělské produkci způsobené abiotickými stresy: 65 – 80%

Mechanizmy rezistence










↓
Znalost mechanismů rezistence

↓
Aplikace biotechnologických metod

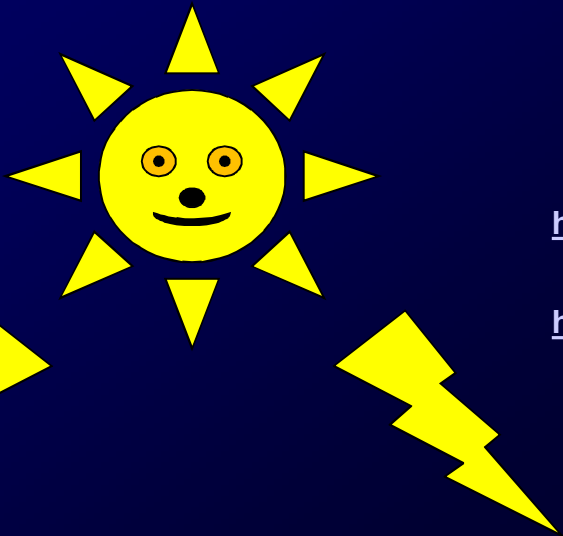
- časování životního cyklu
- hluboké kořeny
- vývoj stomat, trnů

Sedm schopností rostliny adaptovat se na abiotický stress

Seven Capacities to adapt under Abiotic Stress	ASSET MANAGEMENT 	SUPPLY CHAIN 	SHAPE SHIFTING 	COMMUNICATION 	ENERGY 	REPAIR 	SELECTIVE UPTAKE 
DROUGHT	Decreased leaf area to reduce transpiration	Sustained movement of sugars from sources to sinks	Altered leaf morphology and root development	Shoot to root signalling of water status	Maximising photosynthesis versus respiration	Replacement of ROS damaged proteins and phospholipids	
SALINITY	Reduced spatial pattern of cell division and expansion	Exclusion of Na from phloem to protect growing tissues	Altered root systems to supply fresh water and nutrients	Root signals reduce shoot growth and water loss	Increased ATP provision for Na exclusion and sequestration	Replacement of ROS damaged proteins and phospholipids	Excluding 95% of the salt from water taken up by roots
HEAT OR COLD		Induction of cold tolerant pathways of phloem loading	Maintenance of pollen fertility	Cold and heat perception for respiratory acclimation	Changed rate of ATP and NAD(P)H generation as metabolism slows	Replacement of aggregated proteins	
FLOODING	Lateral root proliferation near the soil surface		Changes in root anatomy to allow oxygen to reach root tips	Hormonal changes in ethylene biosynthesis	Alternatives to oxygen-dependent metabolism	Recovery of oxygen dependent processes post-anoxia	Exclusion of reduced Mn, Fe and S in soils
NUTRIENT	Investment into roots to explore the soil profile	Maintenance of sugar transport by P signalling		N, P and S signalling pathways	Storage of photosynthate while nutrients limit growth		Soil nutrient scavenging by selective transporters

Update 2023

Munns R, Millar AH (2023) Journal of Experimental Botany 74: 4308-4323



<https://www.youtube.com/watch?v=iFCdAgeMGOA>

<https://www.youtube.com/watch?v=eDA8rmUP5ZM>

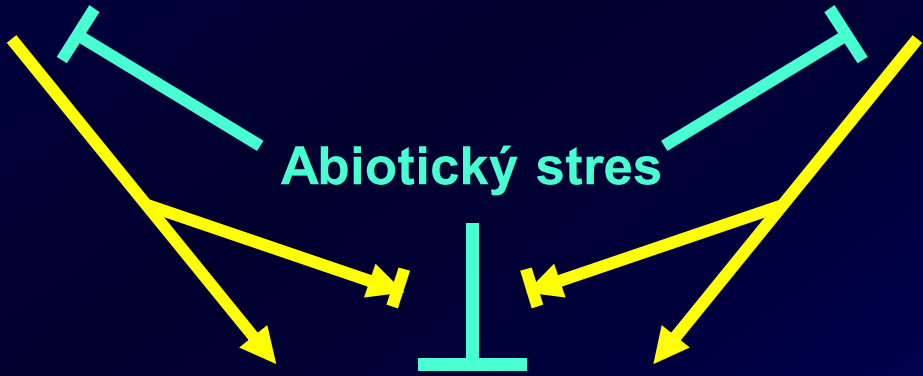


Fotosyntéza

Fotomorfogeneze

Abiotický stres

Růst a vývoj



Tma



Světlo



Historie - 1997

13



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*

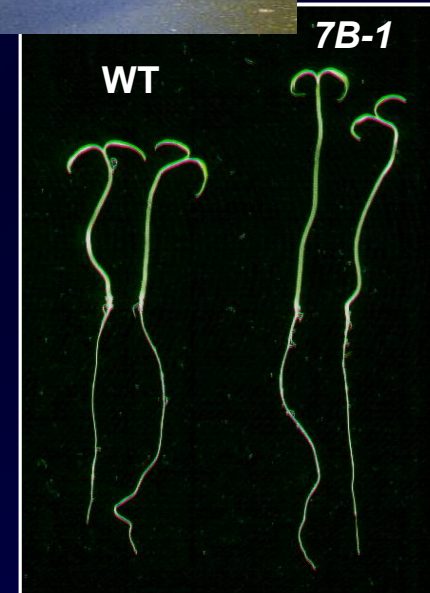
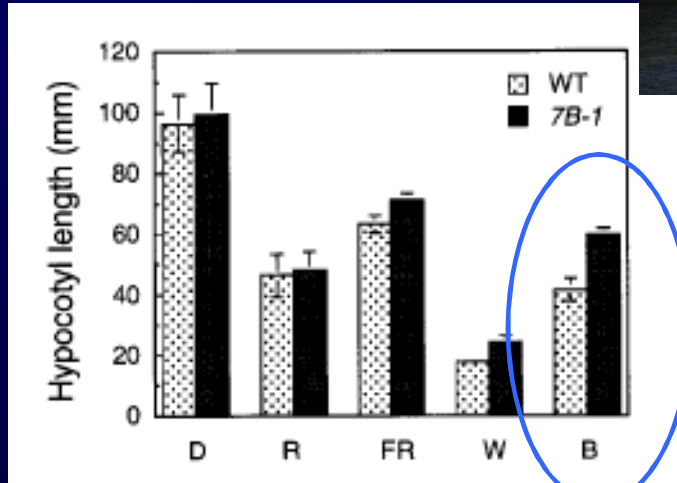


***7B-1* - mutace v signální dráze světla?**

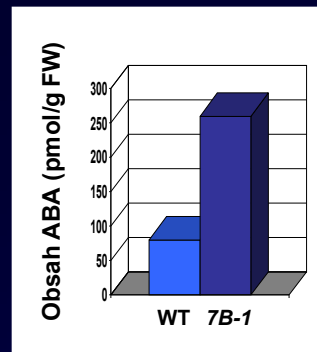
Fellner M et al. (2001) J Exp Botany 52: 725-738

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

Růstové reakce 7B-1 ke světlu různých vlnových délek



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



Rostliny rostoucí *in vitro* na modrém světle

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

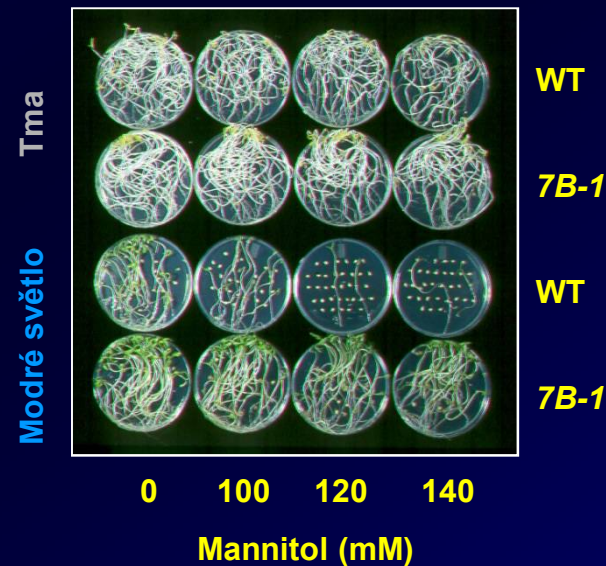
7B-1 akumuluje vysoké množství ABA.

Jaké jsou reakce **7B-1** ke stresovým faktorům?



7B-1 je tolerantní k:

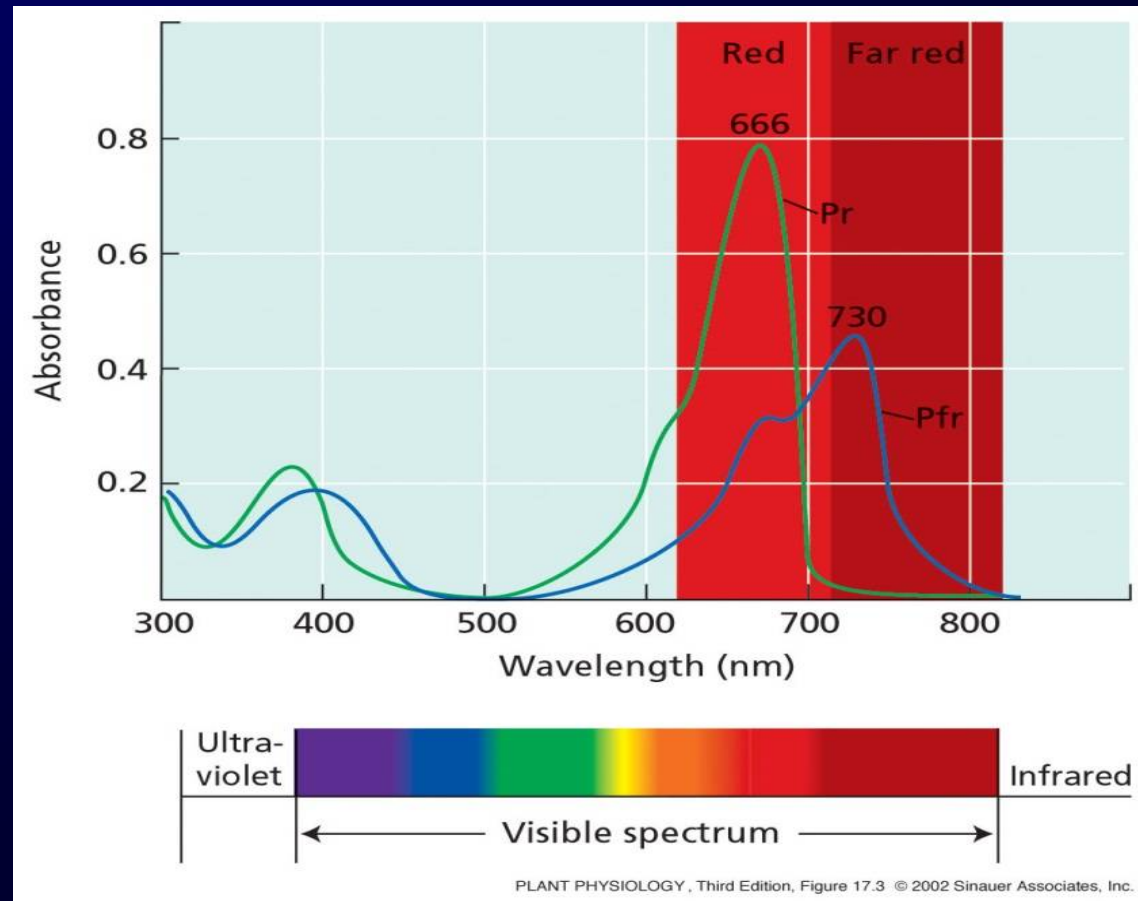
- zasolení
- osmotickém stresu



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

Modré světlo zvyšuje citlivost klíčení semen rajčete k inhibičním účinkům zasolení a osmotického stresu.

Absopční spektrum fytochromů



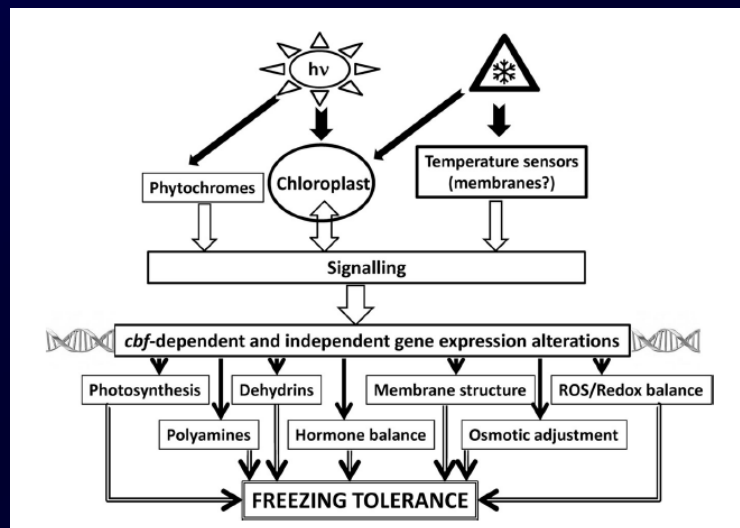
Fytochromy absorbují nejen světlo červené, ale i modré.

1) Vliv světla na schopnost rostlin tolerovat chladový stres

Účinky modrého světla na chladový stres bez specifikace fotoreceptorů

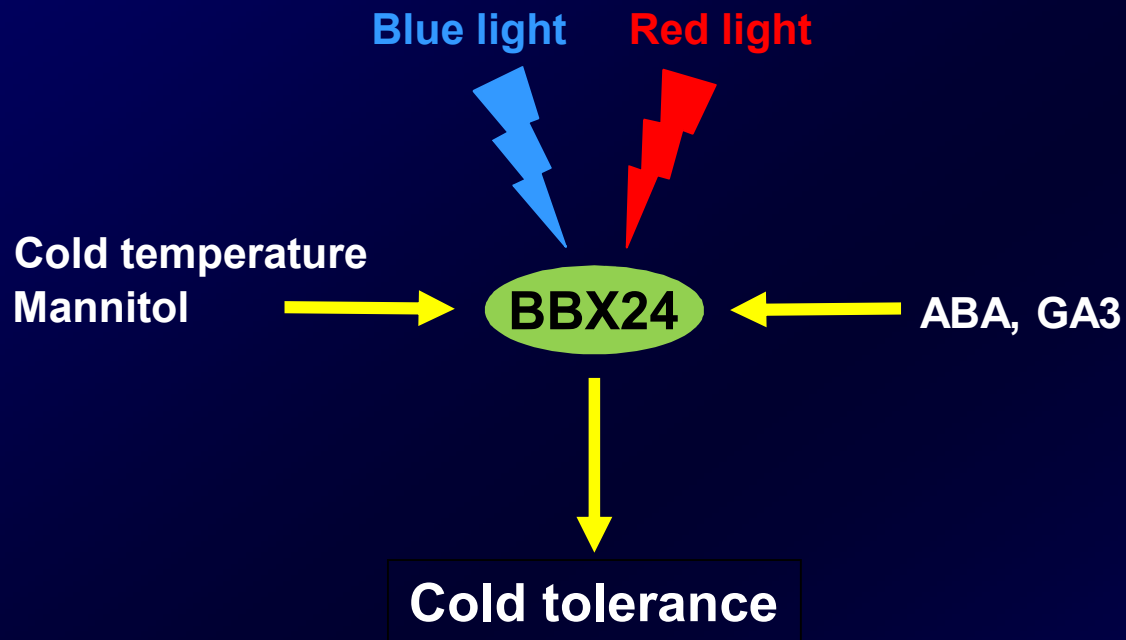
Crosatti C et al. (1999) Plant Physiology 119: 671-680

BL indukuje expresi *COR15b* spojených s otužováním rostlin k nízkým teplotám. Ale není jasné prostřednictvím, kterých fotoreceptorů.

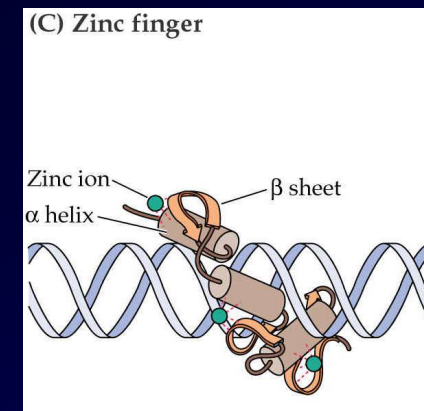


Janda T et al. (2014) Plant Growth Regulation 33:460–469

Imtiaz M et al. (2015) Plant Molecular Biology 89: 1-19

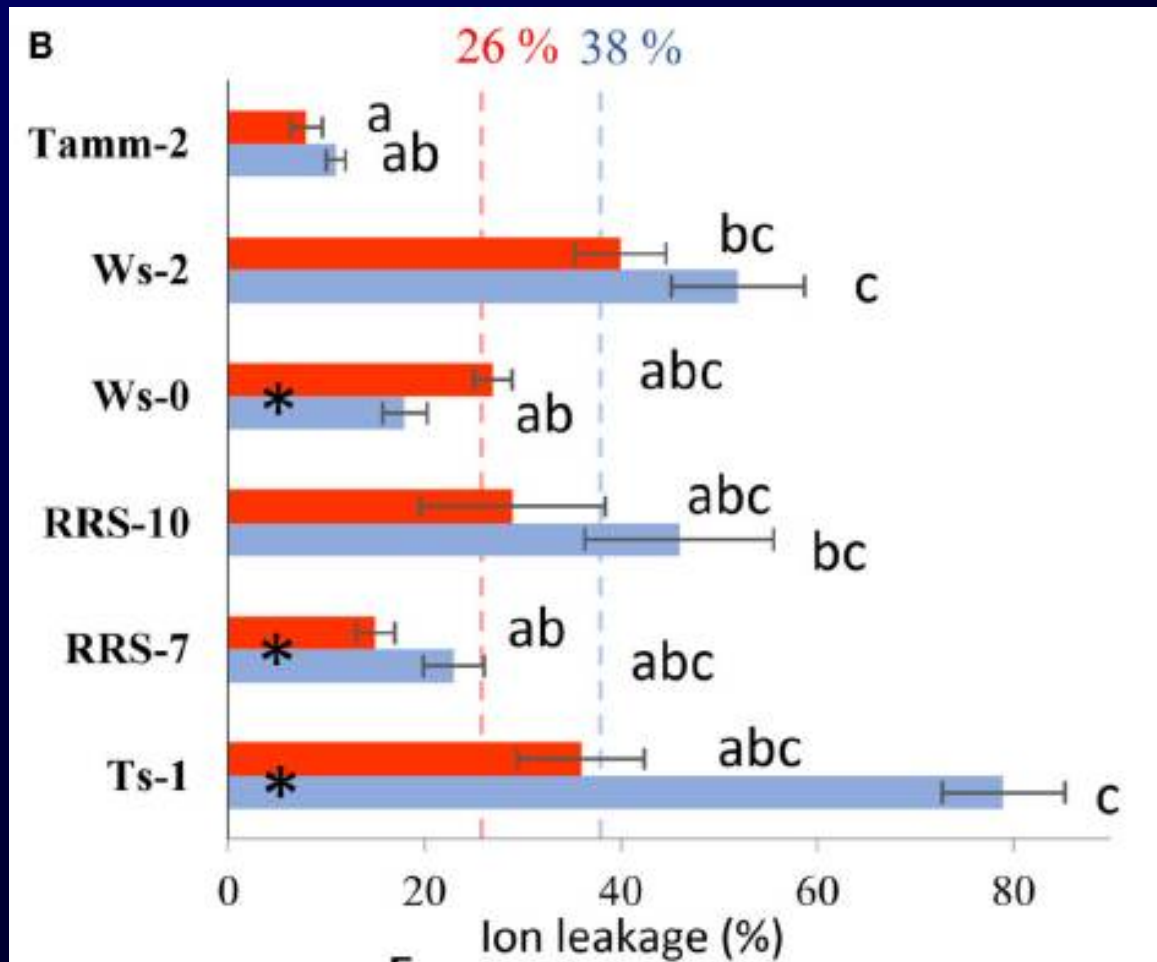


BBX = **B-Box** protein; skupina zinc-finger transkripčních faktorů



BBX24 hraje důležitou úlohu v regulaci tolerance rostlin k nízké teplotě.

Únik iontů při vystavení rostlin 7 dní teplotě +4 °C na BL nebo RL



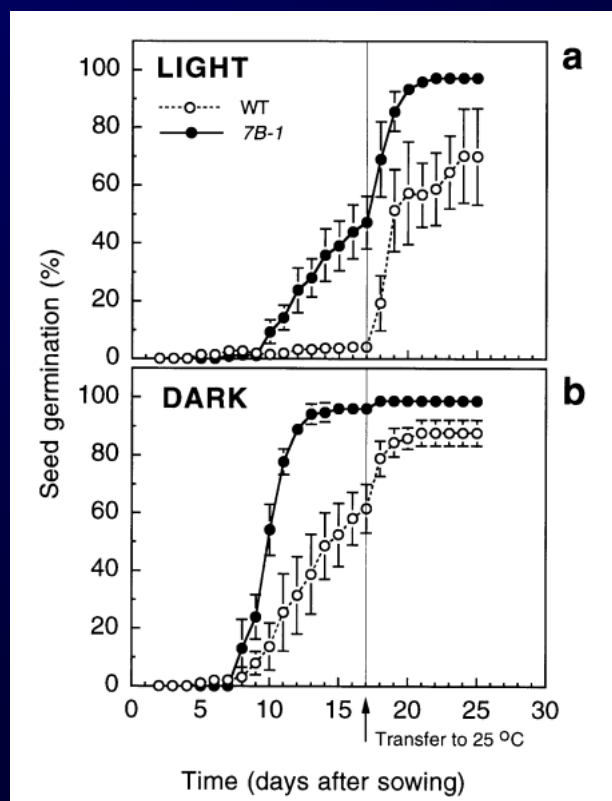
4 °C B20 4 °C R20

Na modrém světle je únik iontů z buněk vyšší než na světle červeném.



Modré světlo zvyšuje citlivost rostlin k chladu.

Účinky modrého světla na odpovědi rostlin k chladovému stresu prostřednictvím kryptochromů a fototropinů

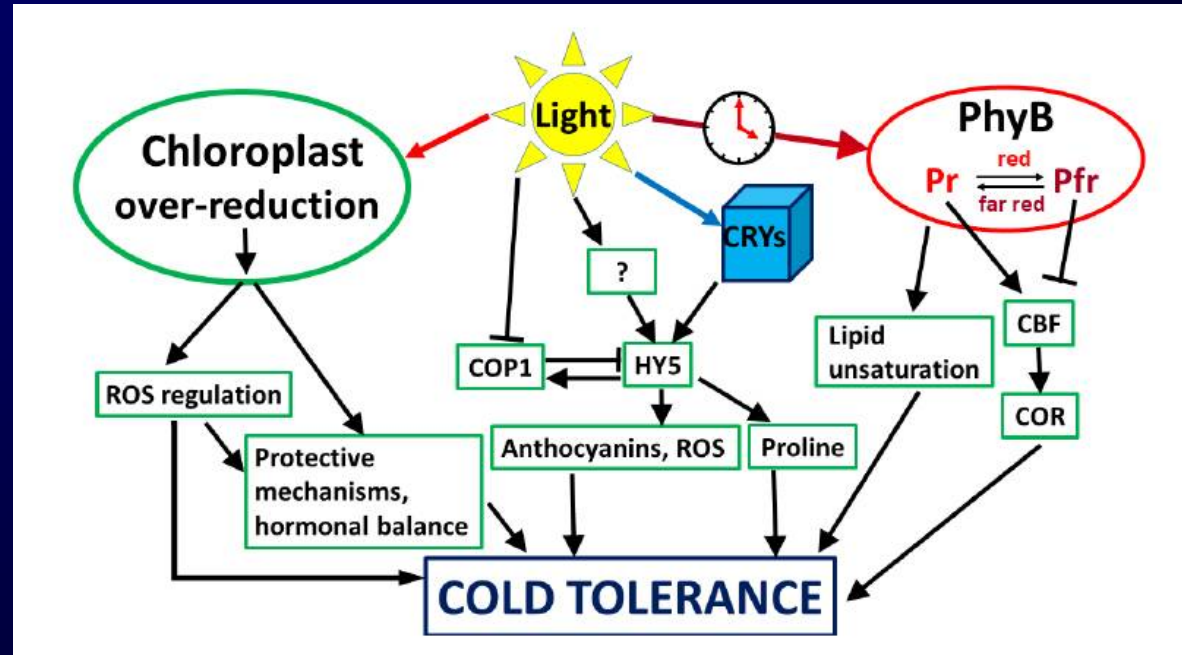


Vliv nízké teploty 16/13°C (světlo/tma) na klíčení semen WT a mutantu 7B-1 na světle a ve tmě.

Semena mutant rajčete 7B-1 s defektem ve fototropinové signalizaci ukazují toleranci k chladu



Hypotéza: Fototropiny zvyšují citlivost rostlin k chladovému stresu (abiotickým stresům).



Phee B-K et al. (2007) Mol Cells 23: 154-160

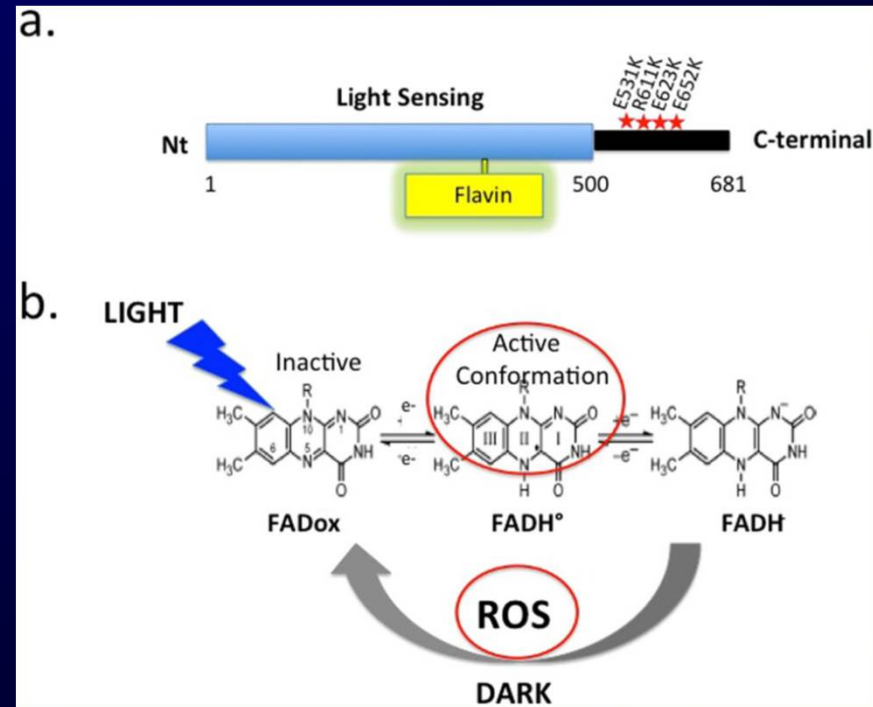
Janda T et al. (2021) Int. J. Mol. Sci. 22, 8602, 1-17

Catalá R et al. (2011) PNAS 108: 16475-16480

Proteomické a expresní analýzy mutanta *hy4* (= *cry1*) vedly k identifikaci komponent, které jsou zapojeny v signálních drahách abiotických stresů.



Krytochromy sdílí transkripční faktory společné s těmi, které jsou zapojeny v chladové aklimatizaci a toleranci (např. HY5) => vliv světla na toleranci k chladovému stresu může být zprostředkován krytochromy.



Consentino L et al. (2015) *New Phytologist* 206: 1450-1462

Jourdan N et al. (2015) *Plant Signaling & Behavior* 10: 8, e1042647

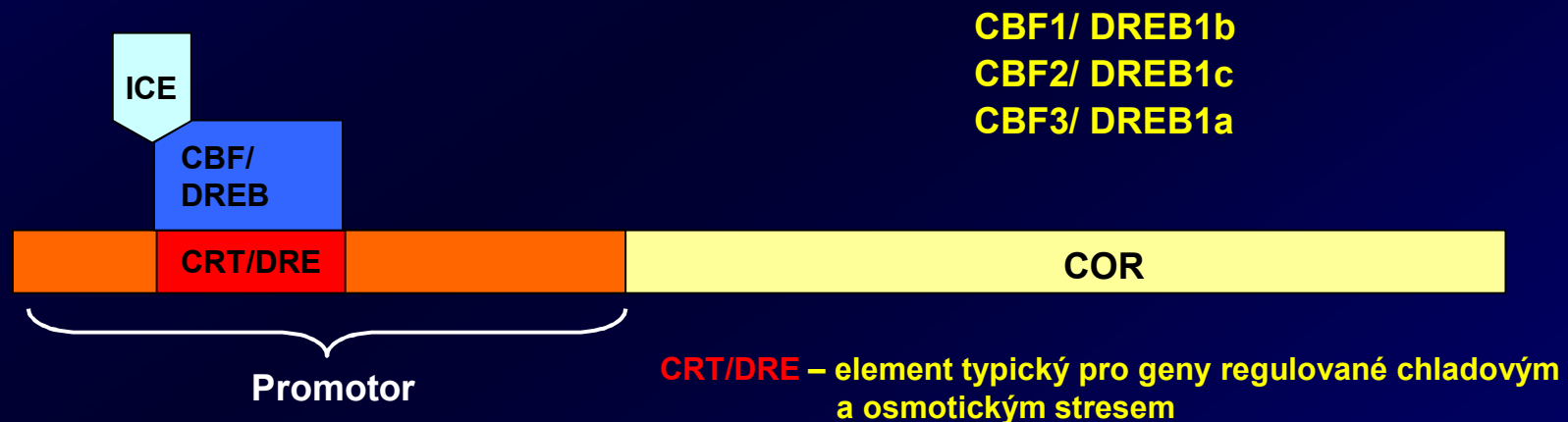
El-Esawi M et al. (2017) *Scientific report* 7: 13875, 1-9

Modré světlo prostřednictvím CRY indukuje tvorbu reaktivních kyslíkových radikálů (ROS). ROS indukují geny zapojené v obraně proti patogenům, biotickým i abiotickým stresům.

Transkripční faktory regulující expresi genů indukovaných chladem

~ 100 genů indukovaných chladovým stresem; jejich exprese je aktivována transkripčními faktory CBF (C-repeat Binding Factors) (DREB – Dehydration Responsive Element Binding factors)

CBF1 obsahuje 60ti aminokys. DNA-binding doménu; konstitutivní exprese CBF1 => zvýšená exprese COR (COLD Regulated) transkriptů => tolerance k mrazu



CBF1/DREB1b – kontrolován transkripčními faktory ICE (Inducer of CBF Expression)

Přerostová S et al. (2021) International Journal of Molecular Sciences 22, 2736: 2-20

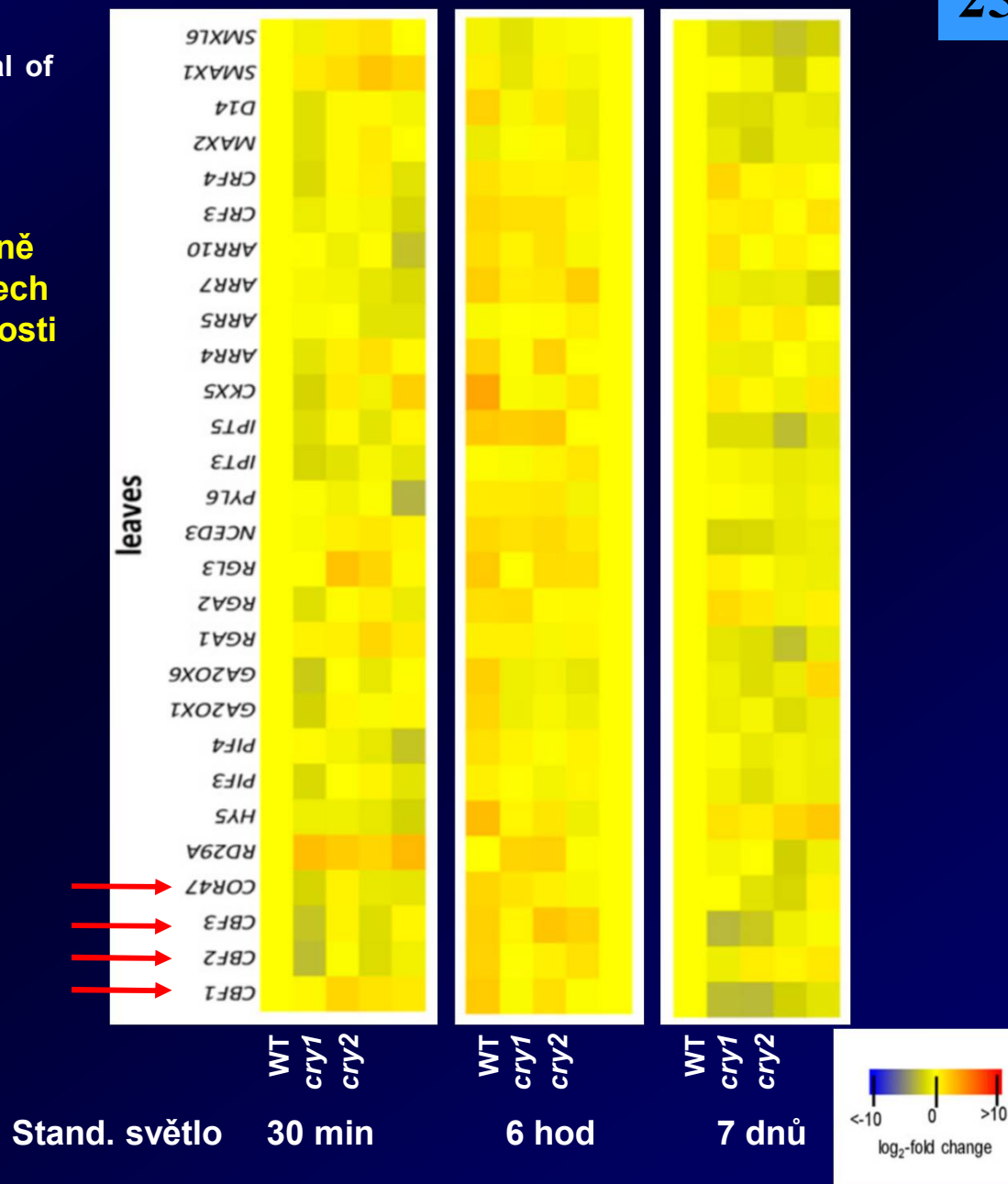
Expresní analýza vybraných genů, včetně stresových genů (např. *CBF*, *COR*) v listech *Arabidopsis* mutantů *cry1* a *cry2* v závislosti na světelných podmínkách



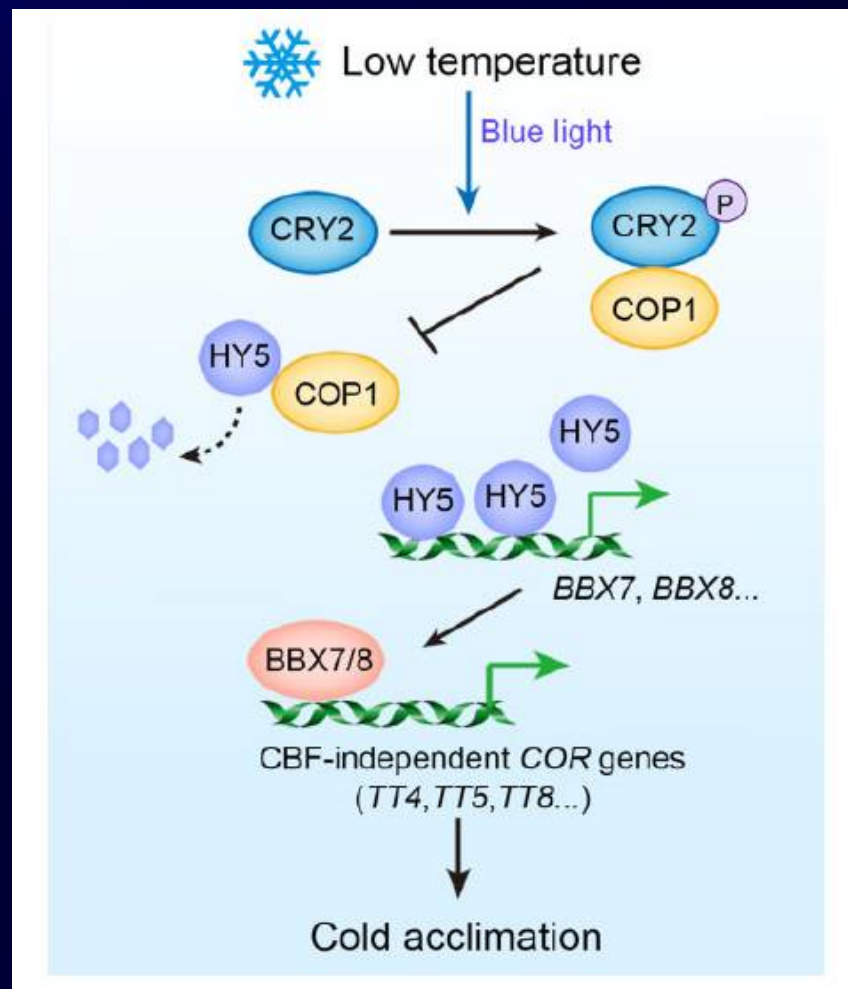
Změna exprese genů *CBF 1 – 3* a *COR47* v mutantech *cry1* a *cry2*



Krytochromy hrají úlohu v toleranci rostlin k chladovému stresu.



Vliv teploty na světelnou signalizaci - samostatná problematika. Nebudeme se jí zabývat, protože je to velice široká oblast rostlinné fyziologie.



Pracovní model CRY2–COP–HY5–BBX7/8–COR chladové signální dráhy. Při chladovém stresu je fosforylovaný CRY2 (indukovaný modrým světlem) stabilizován a interaguje s COP1 a soutěží s HY5, čímž inhibuje degradaci HY5. BBX7 a BBX8 fungují jako přímé HY5 cíle pro pozitivní regulaci mrazové tolerance modulací exprese sady genů COR, včetně genů pro biosyntézu antokyanů, hlavně nezávisle na dráze CBF.

Li Y et al. (2021) Plant Cell 33: 3555-3573

Zapojení fytochromů v odpovědích rostlin na chladový stres

Pionýrské práce z roku 1972 a 1974 odhalily, že fytochromy ovlivňují proces chladové aklimatizace u rostlin *Cornus stolonifera*.

Williams BJ et al. (1972) *Plant Physiology* 50: 262-265

McKenzie JS et al. (1974) *Plant Physiology* 53: 783-789

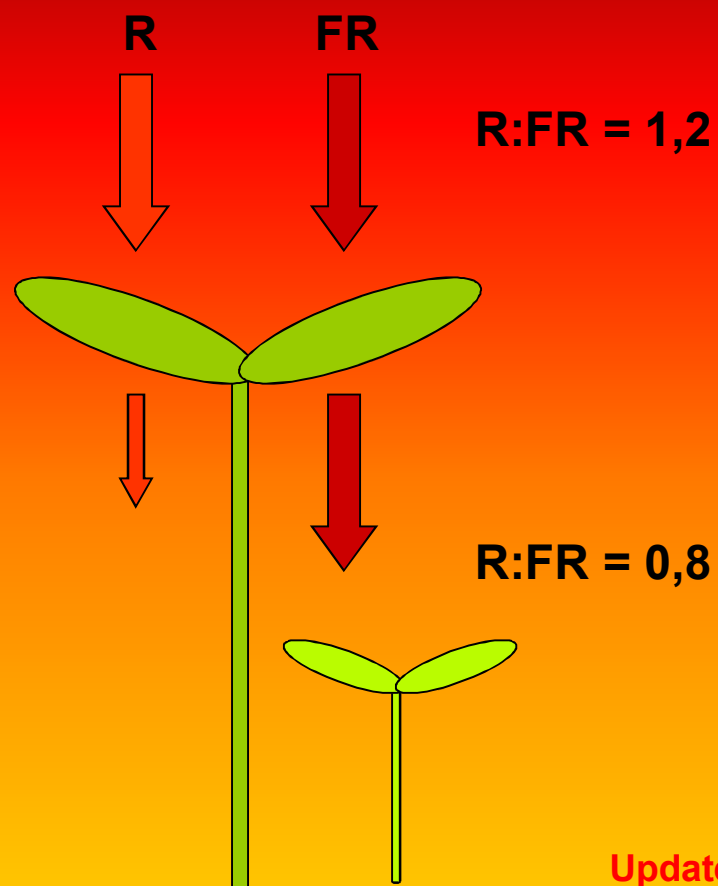
Svída výběžkatá



Crosatti C et al. (1999) *Plant Physiology* 119: 671-680

RL a BL indukuje expresi *COR15b* spojených s otužováním rostlin ječmene k nízkým teplotám prostřednictvím fytochromů a fotoreceptorů modrého světla.

Shade avoidance (únik ze stínu) = reakce rostlin k zastínění



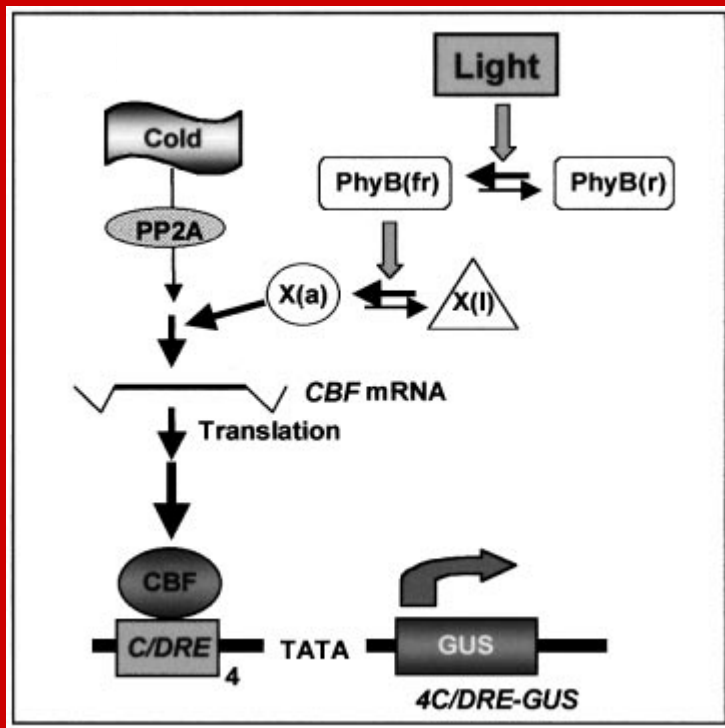
Shade-avoidance reakce

- prodlužování
- redukce velikosti listů
- úbytek chlorofylu
- redukce tvorby sec. výhonů

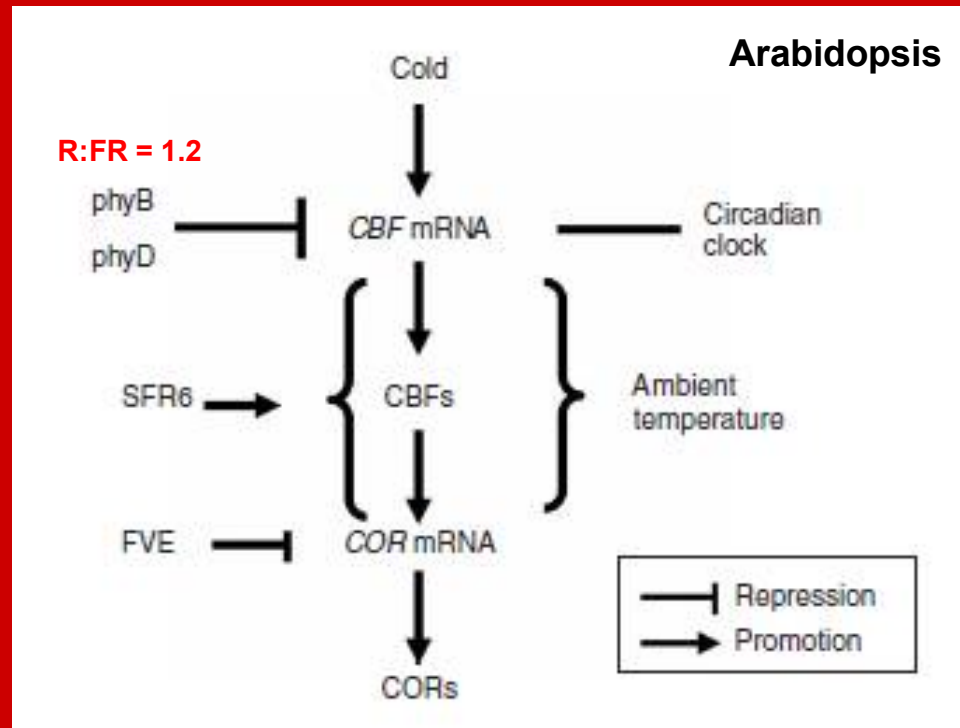
Update 2020

Romero-Montepaone S et al. (2020) Plant Cell Environ 43: 1625-1363

Zvýšená teplota prostředí zvyšuje reakci rostlin k zastínění.



Kim H-J et al. (2002) Plant J 29: 693-704

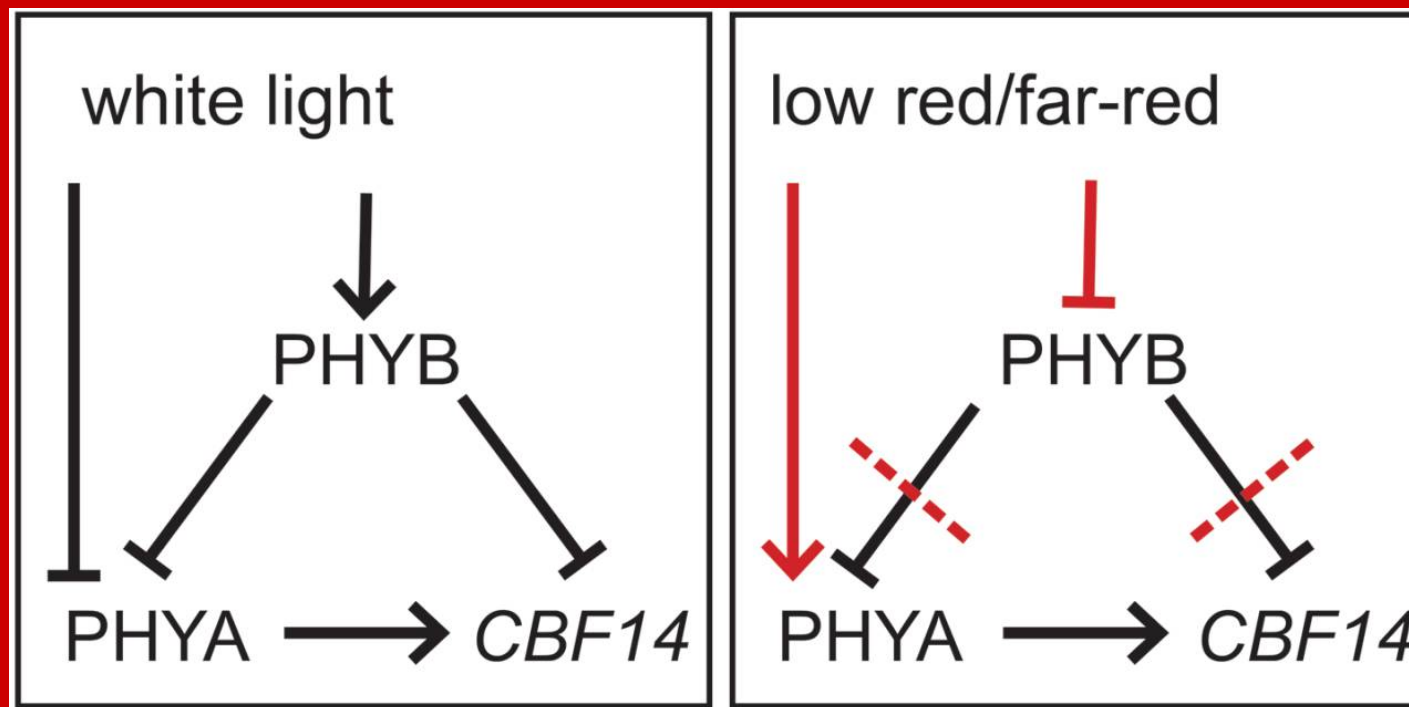


Franklin KA, Whitelam GC (2007) Nature Genetics 39: 1410-1413

Červené světlo prostřednictvím PhyB a PhyD indukuje toleranci k mrazu. Poprvé byl objeven vliv R:FR: **vysoký (normální) R:FR (1,2) snižuje toleranci k chladu.**

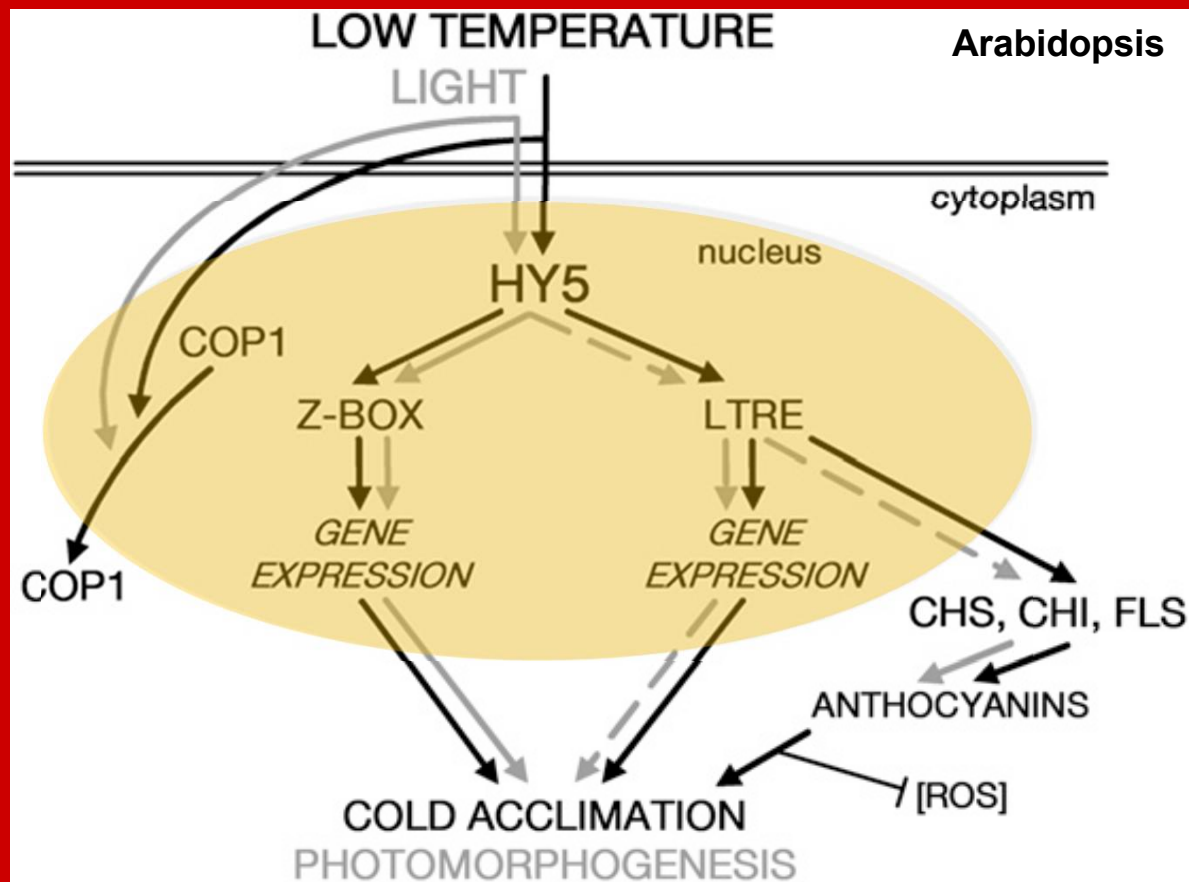
COR = COld Regulated) CBF = C-Repeat Binding Factor

Ječmen, pšenice

Novák A et al. (2016) *Journal of Experimental Botany* 67: 1285-1295

Aktivní forma PhyA zvyšuje expresi genu *CBF14* a tím toleranci rostlin ječmene a pšenice k chladu. Opět závisí na R:FR – při nízkém poměru přebírá funkci PhyA.

Zapojení elementů HY5 a COP1



HY5 = Elongated HYpocotyl 5

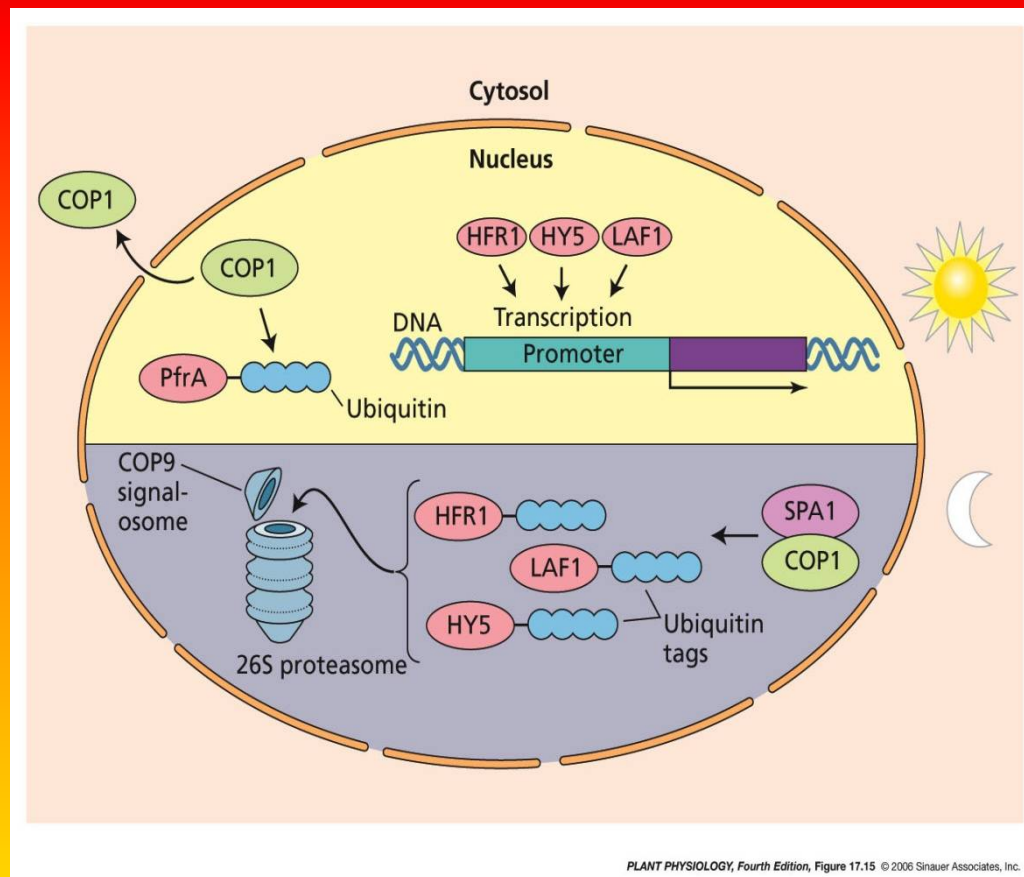
COP1 = COnstitutive
Photomorphogenic **1**

Catalá R et al. (2011) PNAS 108: 16475-16480

Červené světlo indukuje chladovou aklimatizaci prostřednictvím signální dráhy HY5 a COP1.

Regulace genové exprese fytochromem A

- 1) Přímou PfrA
- 2) Prostřednictvím PIF3
- 3) Prostřednictvím COP1



Aktivita COP1 ve tmě je zvyšována SUMOylací prostřednictvím E2 sumo konjugačního enzymu SCE1 a E3 ligázy SIZ1.

Regulace exprese prostřednictvím COP1:

Světlo:

Transport COP1 z jádra do cytoplazmy předáním ubiquitin proteinu PfrA



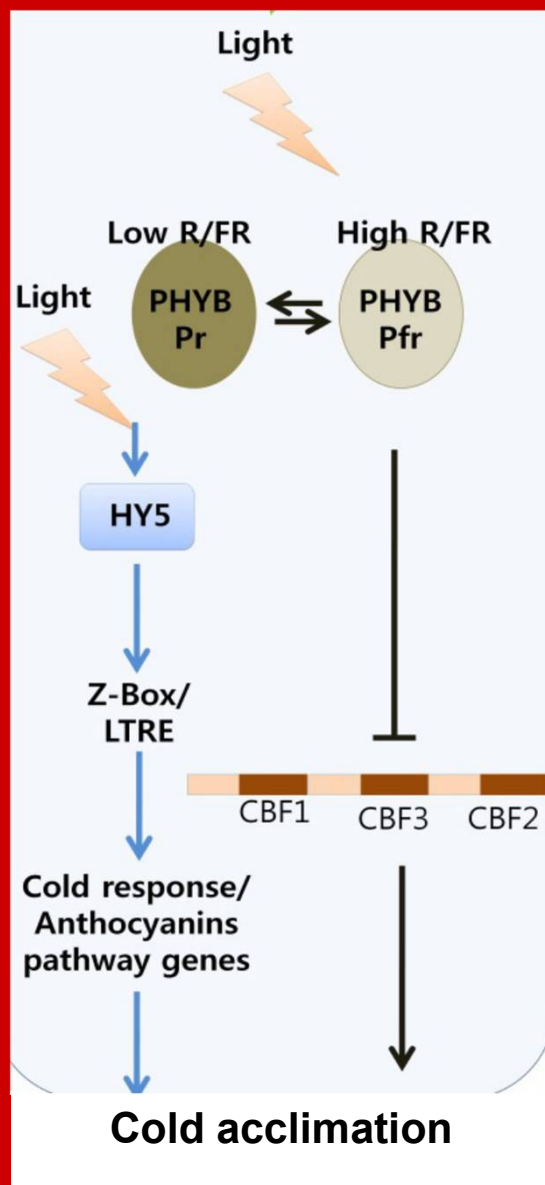
Obnovení exprese fotomorfogenních genů odblokováním transkripčních faktorů (HY5, HFR1, LAF1,...)

Tma:

Akumulace COP1 v jádře



Represe exprese fotomorfogenních genů díky ubiquitinaci transkripčních faktorů (HY5, HFR1, LAF1,...)



Maibam P et al. (2013) Int J Mol Sci 14: 11527-11543 (review)

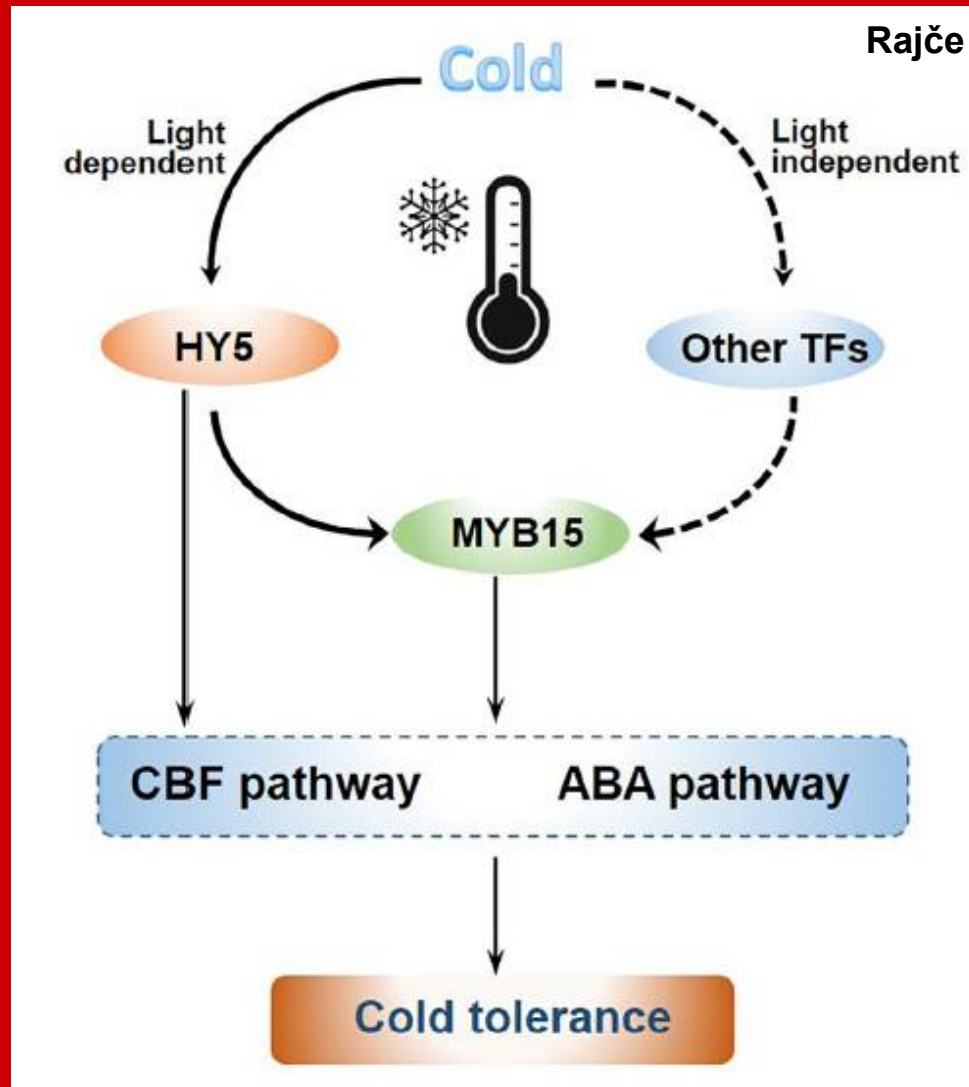
HY5 = Elongated **HY**pocotyl **5**

CBF = **C**-Repeat **B**inding **F**actor

Světlo prostřednictvím HY5 a Z-Box/LTRE indukuje biosyntézu antokyanů a chladovou aklimatizaci.

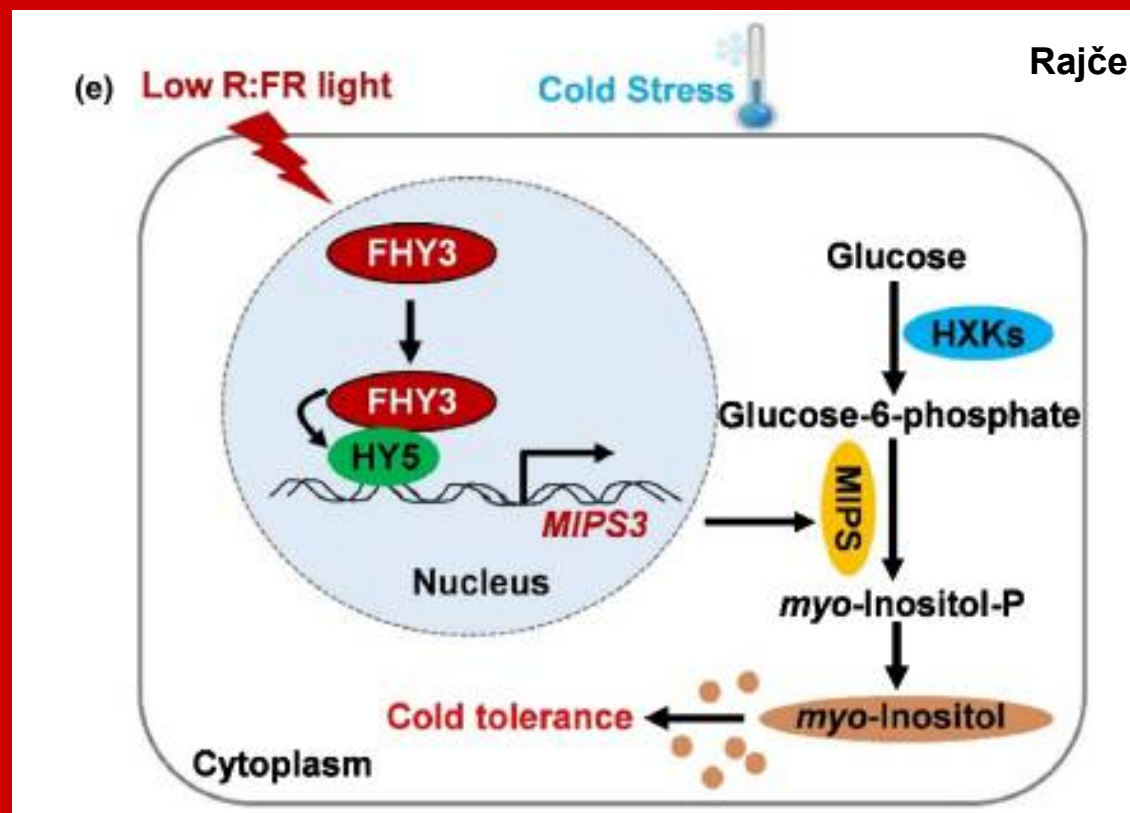
Vysoký R:FR vede k potlačení exprese genů CBF a tím k redukci chladové aklimatizace.

12/12 hrs = světlo/tma
(= kratší fotoperioda)



MYB – transkripční faktor (Avian MYeloBlastosis virus)

Wang F et al. (2022) New Phytologist 233: 2127-2143



FHY3 = Far-red elongated HYpokotyl 3

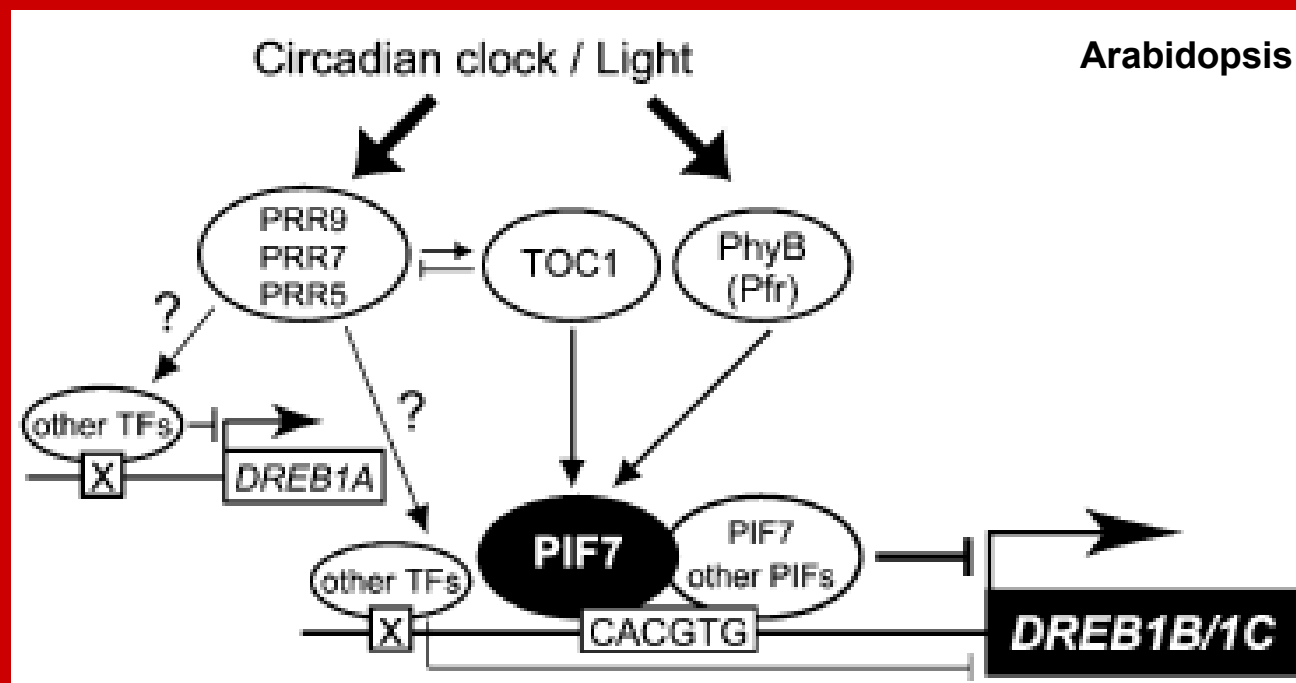
Transkripční faktor zapojený ve světelné signalizaci PhyA

MIPS = Myo-Inositol-1-Phosphate Synthase 3

Inositol (= cyklický hexitol) se v buňce účastní celé řady procesů, mezi které patří i osmotické přizpůsobení a zhášení volných radikálů.

Zapojení elementů PIF

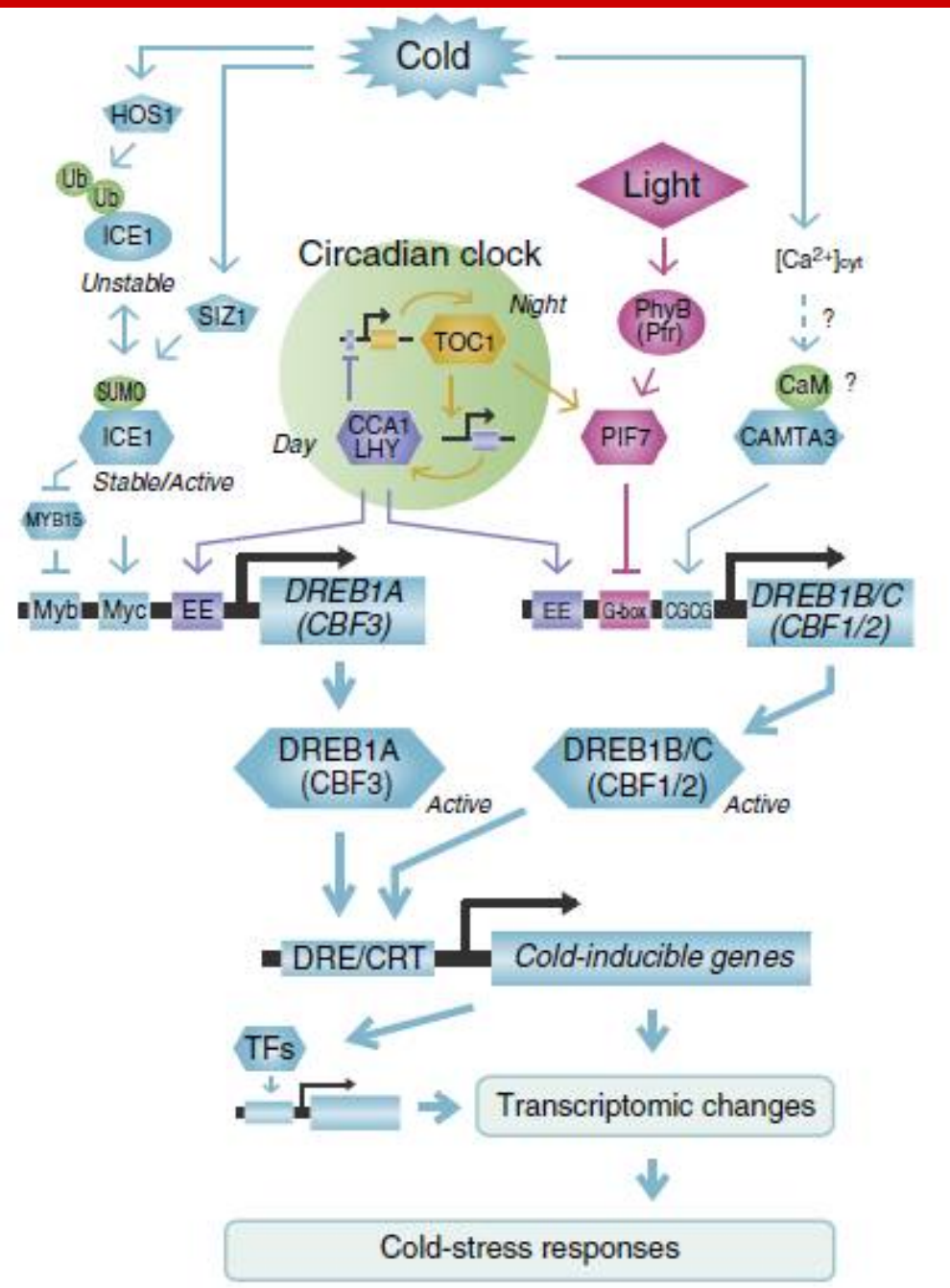
Kidokoro S et al. (2009) *Plant Physiology* 151: 2046-2057



**PIF7 = Phytochrome
Interacting Factor 7**

Transkripční faktory PIF regulují růst v reakci na různé vnitřní a vnější podněty. Jsou proto regulovány řadou různých faktorů a mechanismů (např. světlo).

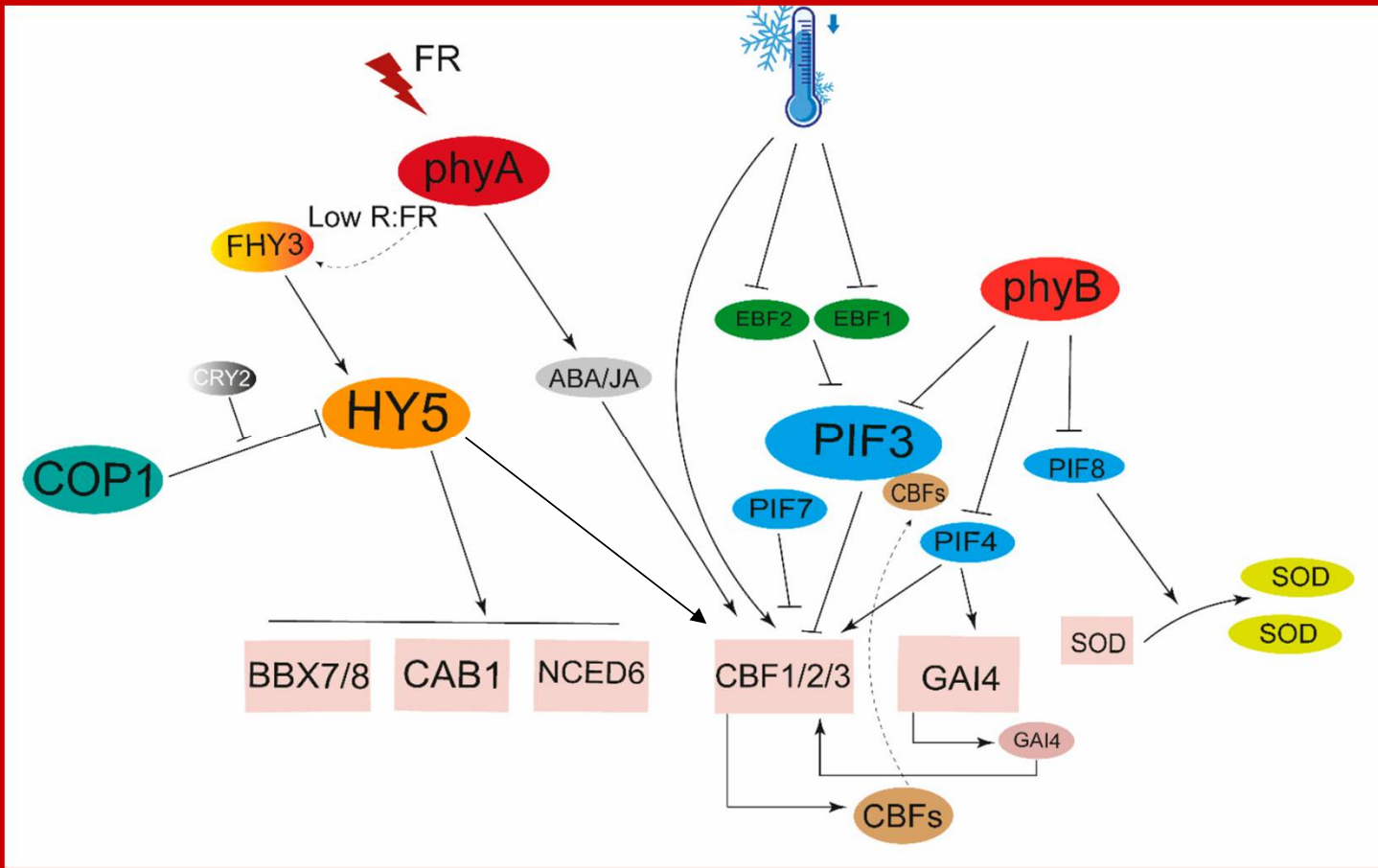
Světlo (normální R:FR) prostřednictvím PhyB a PIF7 potlačuje schopnost rostliny tolerovat nízké teploty.



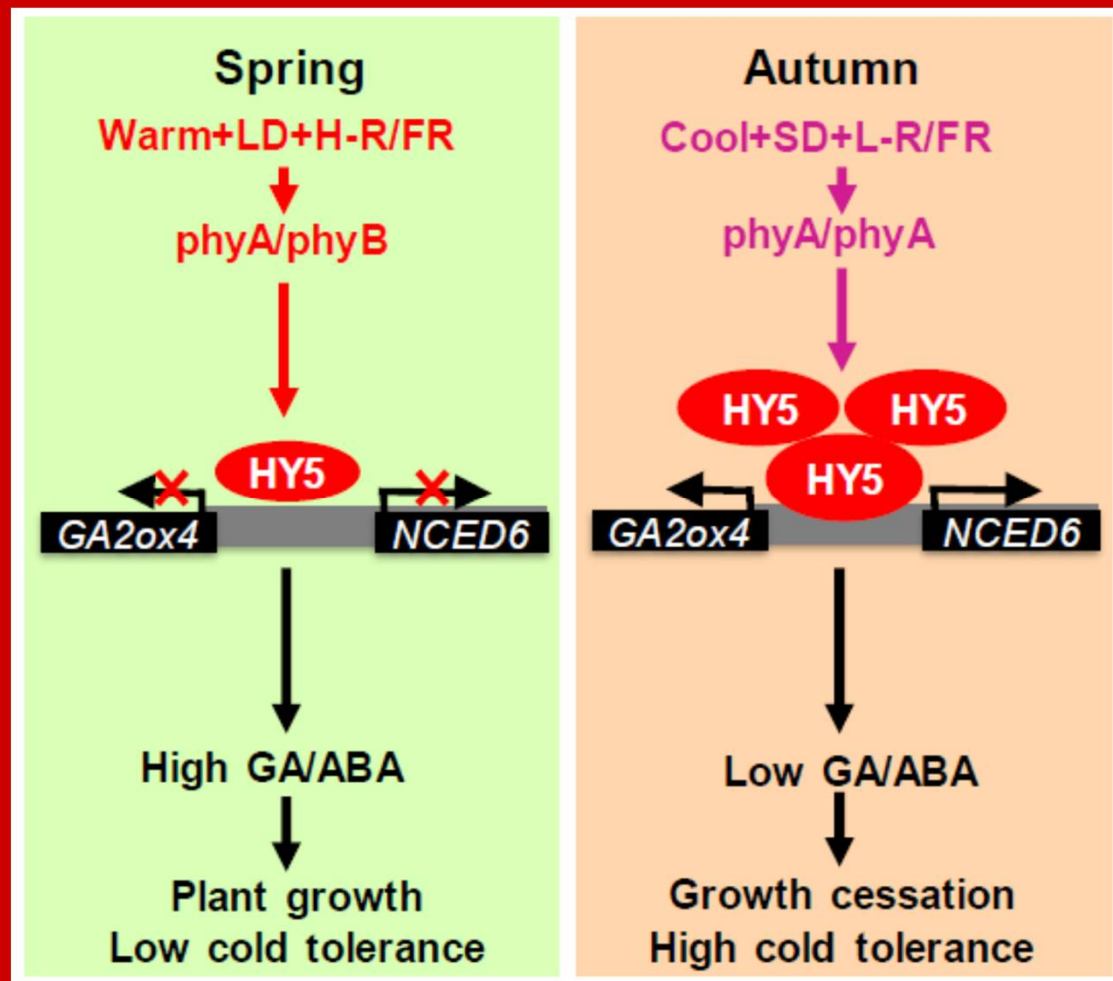
Světlo prostřednictvím PhyB a PIF7 potlačuje schopnost rostliny tolerovat nízké teploty.

Mizoi J et al. (2012) *Biochimica et Biophysica Acta* 1819: 86-96

Shrnutí mechanismů vlivu světla na toleranci rostlin k chladu prostřednictvím fotoreceptorů Phy A a PhyB a transkripčních faktorů HY5 a PIF



Fotoreceptory jako termosenzory



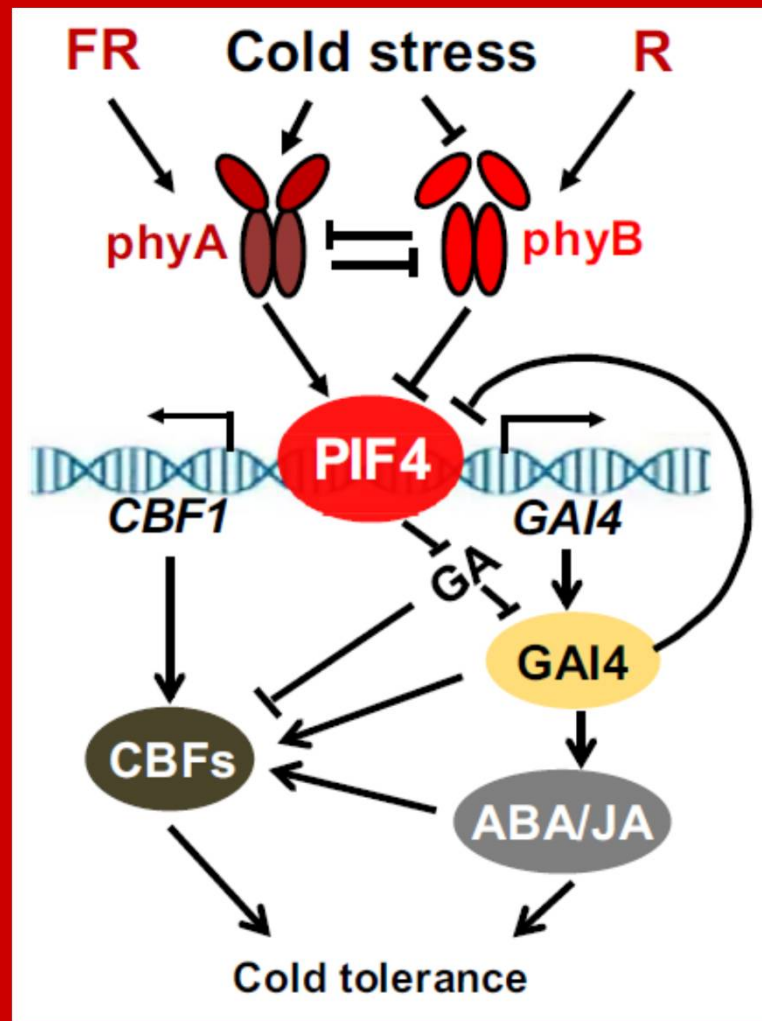
Wang F et al. (2019) Plant Physiol 179: 749-760

Snížený poměr R:FR spolu se snižováním teploty a zkracováním dne (podzim) vede prostřednictvím HY5 ke zvýšené toleranci rostlin rajčete k chladu.

PIF4 = **P**hytochrome **I**nteracting **F**actor **4**

CBF = **C**-Repeat **B**inding **F**actor

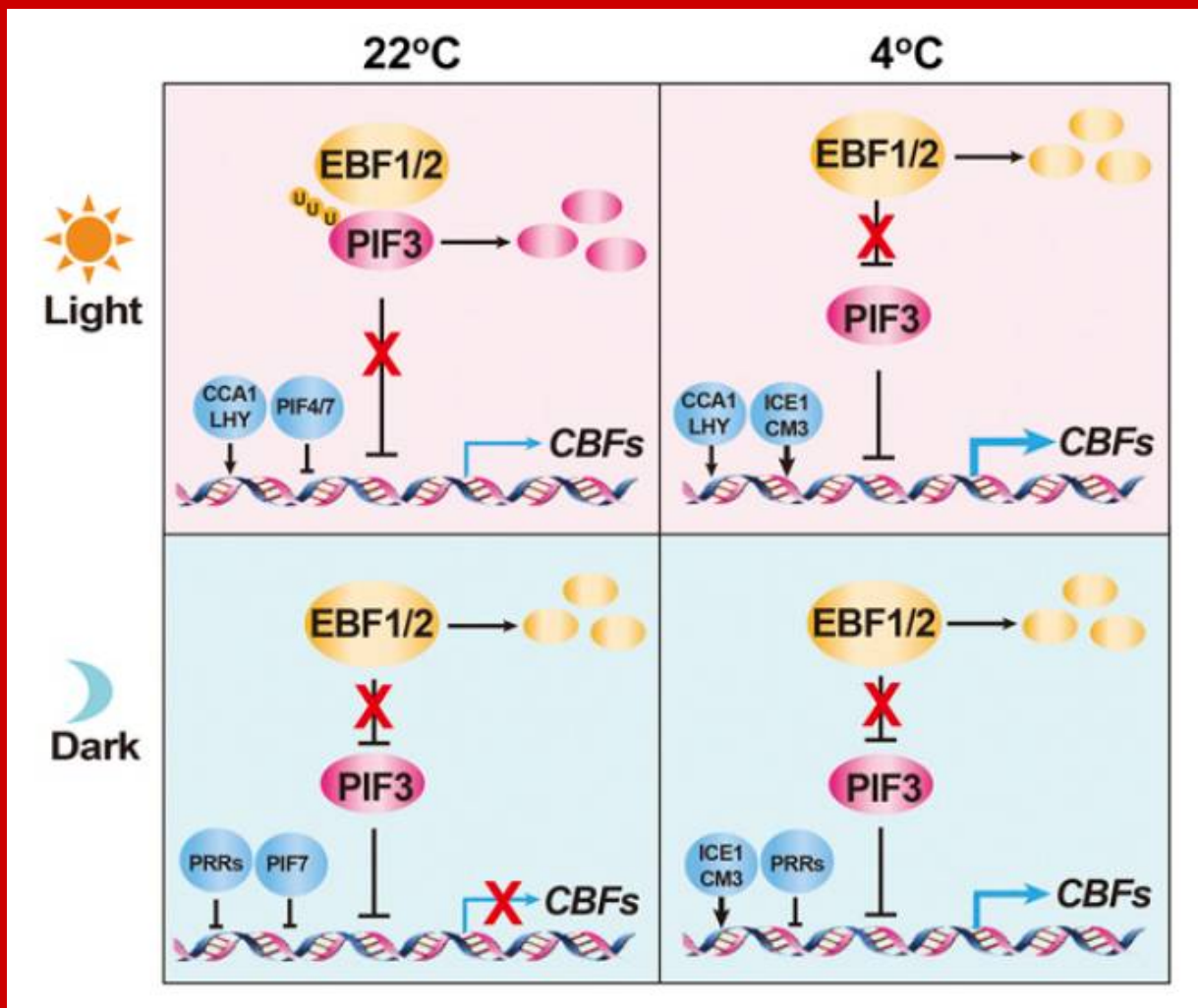
GAI = **GA**-Insensitive4 (DELLA protein)



Wang F et al. (2019) Plant Biotechnol J, October 4: 1-15

Snížený R:FR zvyšuje toleranci rostlin rajčat k chladovému stresu prostřednictvím PIF4.

Jiang B et al. (2017) PNAS 114: 6695-6702



PIF3 = Phytochrome Interacting Factor 3