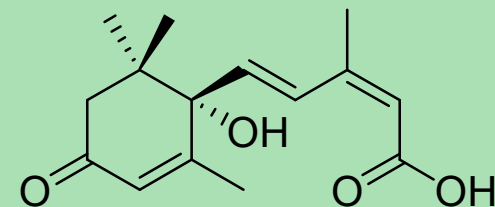


5) Úloha kyseliny abscisové (ABA) ve vývoji a růstu rostlin. Receptory a signální dráhy kyseliny abscisové.

- a) ABA - historie
- b) Biosyntéza a metabolismus ABA
- c) Fyziologické funkce ABA
- d) Transport ABA
- e) Signální dráhy ABA



Update 2024

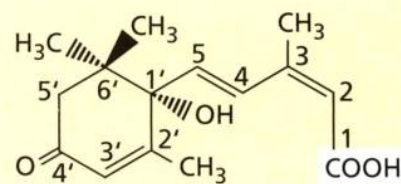
Mo W et al. (2024) *Frontiers in Plant Science*, 21 November 2024,
doi: [10.3389/fpls.2024.1437184](https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1437184)

Poslední review o úloze ABA v růstu a vývoji rostlin

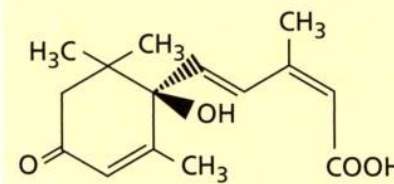
Martin Fellner

Laboratoř růstových regulátorů
PřF UP v Olomouci a ÚEB AVČR

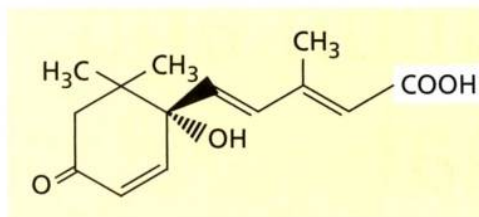
- Kyselina abscisová (ABA) (dříve zvaná abscisin II nebo dormin) je inhibiční fytohormon. Zpomaluje růst rostlin, připravuje rostlinu na období vegetačního klidu. Strukturně patří mezi seskviterpeny.
- ABA má řadu isomerů – aktivní a přírodní je pouze *S*-(*cis*)-forma



(*S*)-*cis*-ABA
(naturally occurring
active form)



(*R*)-*cis*-ABA
(inactive in stomatal closure)



(*S*)-2-*trans*-ABA (inactive, but
interconvertible with active
cis form)

a) ABA - historie

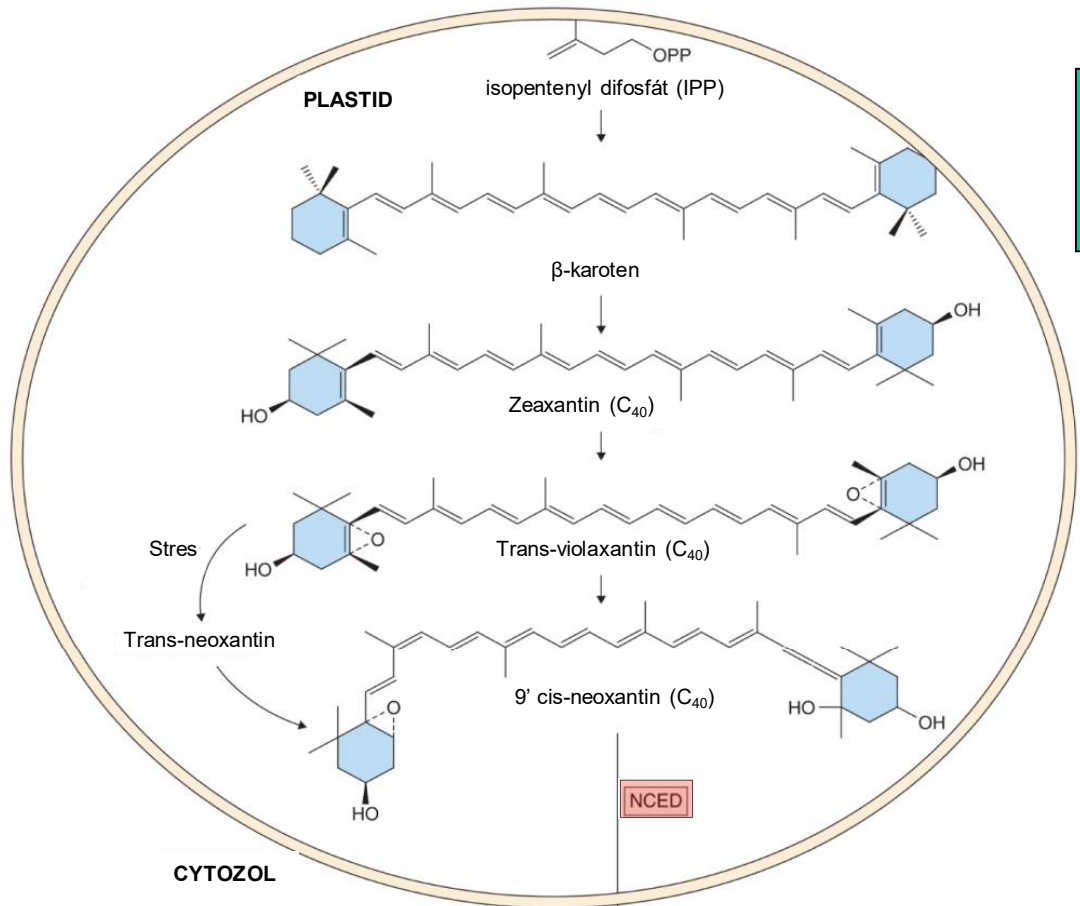
1963 - Frederick Addicott – hledání látek odpovědných za opadávání plodů bavlníku - *abscisin I* a *abscisin II* (dnes ABA)

Ve stejné době:

Philip Wareing – studium procesů spojených s vegetačním klidem u dřevin; látka pojmenovaná *dormin* (od pojmu *dormance*, období vegetačního klidu u pupenů)

Van Stevenincke – studium opadávání květů a lusků vlčího bobu

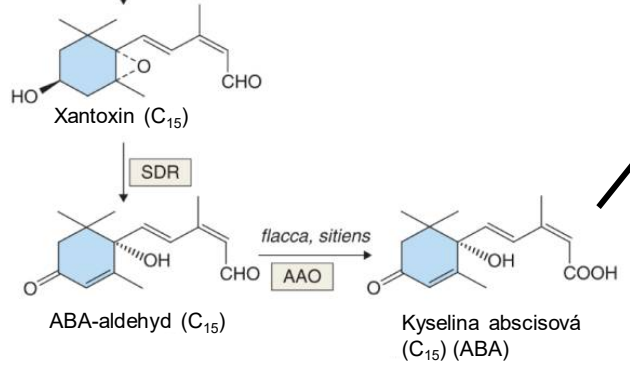
b) Biosyntéza a metabolismus ABA



NCED - 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase

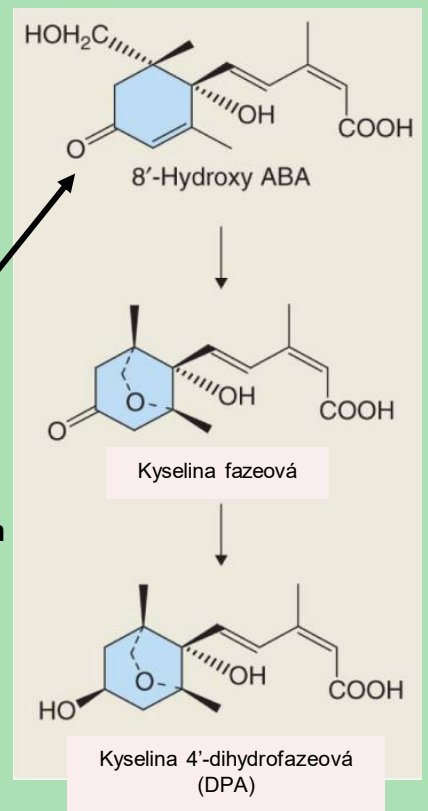
SDR – short chain dehydrogenáza/reduktáza

AAO – ABA oxidáza



Inaktivace ABA oxidativními procesy

Enzym CYP707A (cytochrom P450)



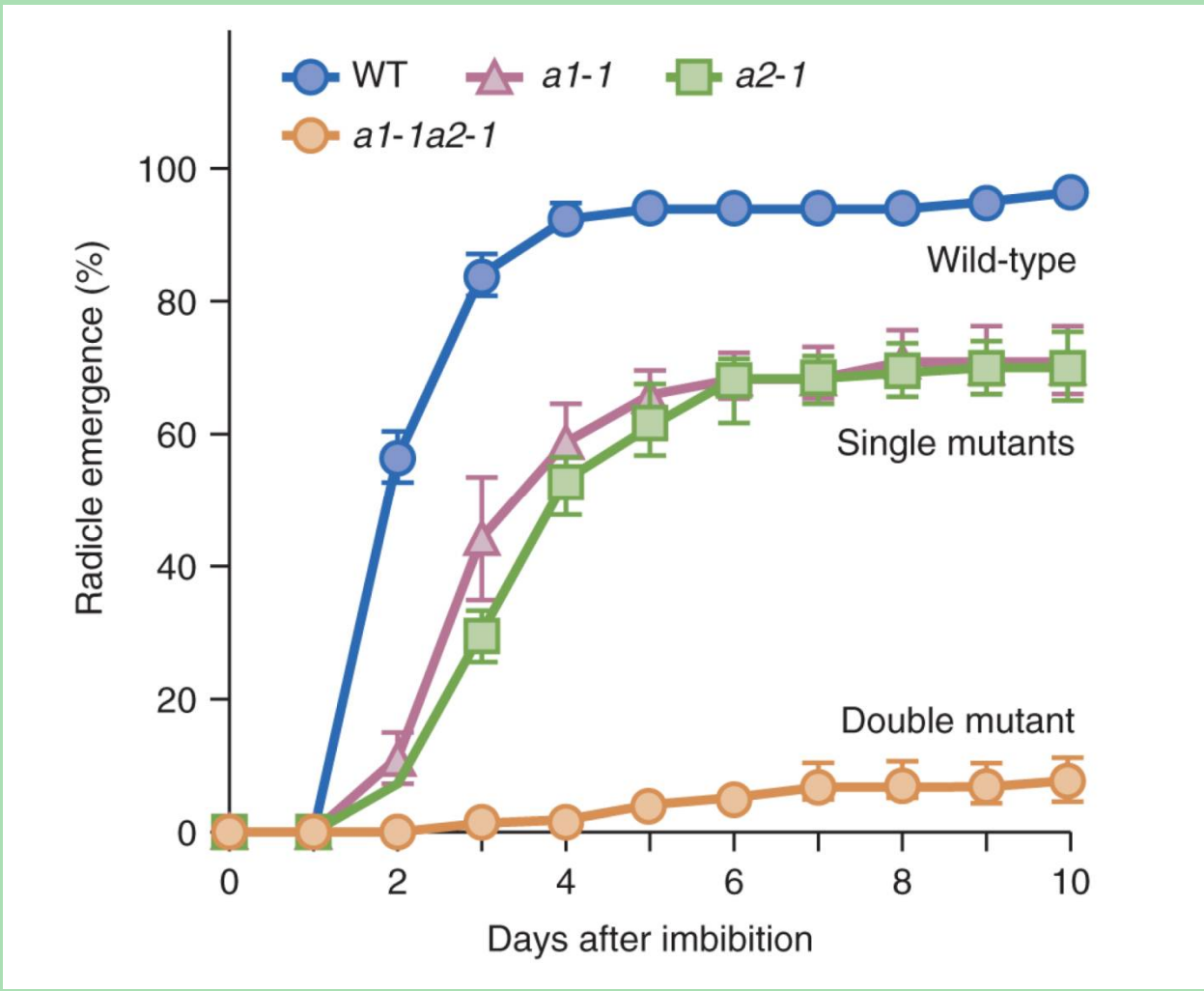
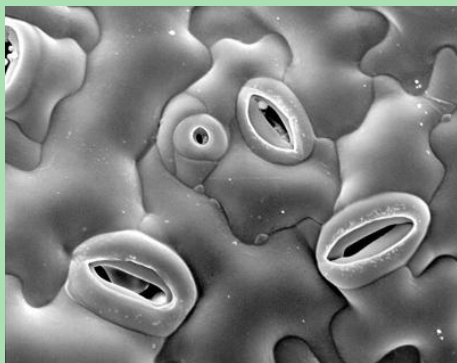


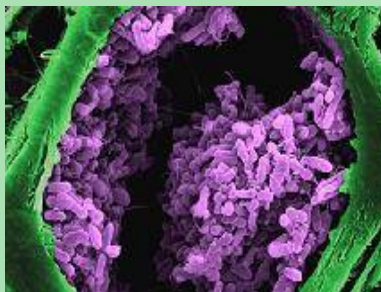
Figure 10.35

Mutations in the abscisic acid (ABA) 8'-hydroxylase gene *CYP707A* lead to an accumulation of active ABA, hence reduced germination of *Arabidopsis* seeds. All seeds of wild-type (WT) plants germinate by 4 days but single (*a1-1*, *a2-1*) and double (*a1-1a2-1*) mutants show decreasing levels of germination.

c) Fyziologické funkce ABA



Regulace otevírání
průduchů



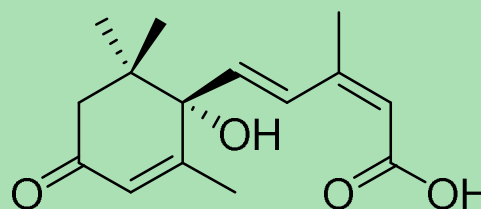
Biotické stresy



Dormance semen



Klíčení semen



Abiotické stresy



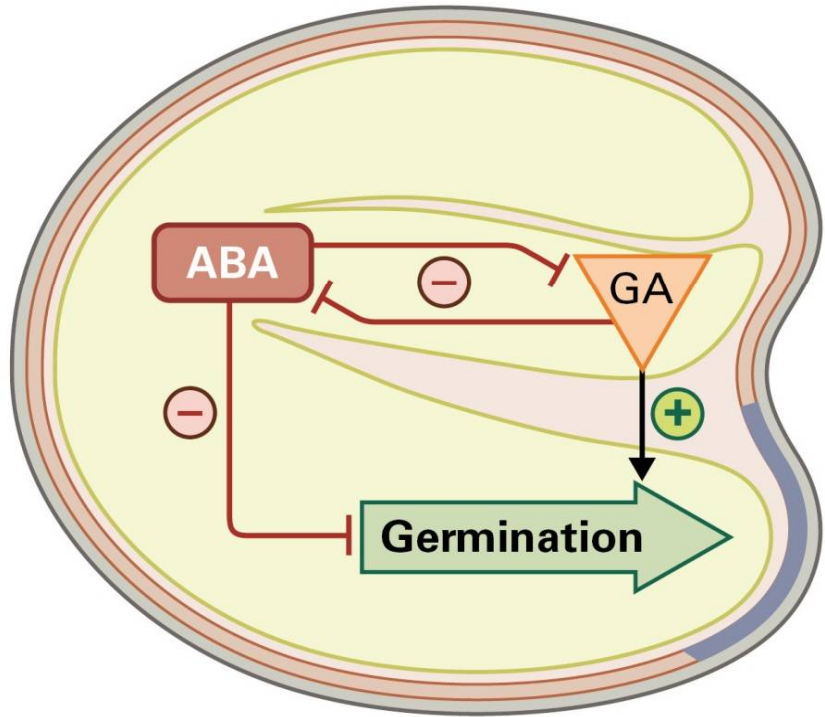
Růst a vývoj

ABA inhibuje předčasné klíčení - viviparii

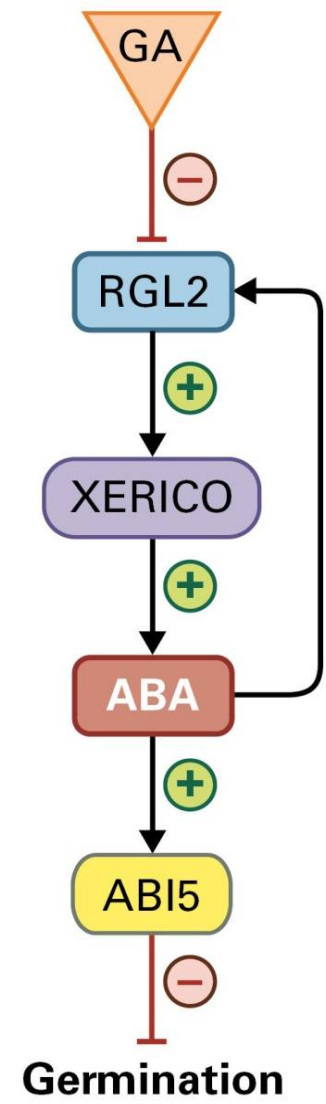


Prokázáno u ABA-deficientních mutantů (*vp2*, *vp5*, *vp7*, *vp9*, *vp14*) dochází k parciální obnově fenotypu po aplikaci ABA.

ABA reguluje akumulaci zásobních proteinů a proteinů zodpovědných za vysušení semen (proteiny LEA – late-embryogenesis-abundant)



Box. 18.3



Biochemistry & Molecular Biology of Plants, Second Edition. Edited by Bob B. Buchanan, Wilhelm Gruissem, and Russell L. Jones.
© 2015 John Wiley & Sons, Ltd. Published 2015 by John Wiley & Sons, Ltd.
Companion website: www.wiley.com/go/buchanan/biochem

Dormance semen

Klid (dormance) semen je způsoben zejména přítomností ABA v semenných obalech.

2 typy semenné dormance:

a) embryo dormance – řízena ABA z děloh (líška, jasan, broskev), po odstranění kotyledonů normální růst

b) obalem řízená dormance – rostliny z aridních oblastí se silným obalem (vojtěška)

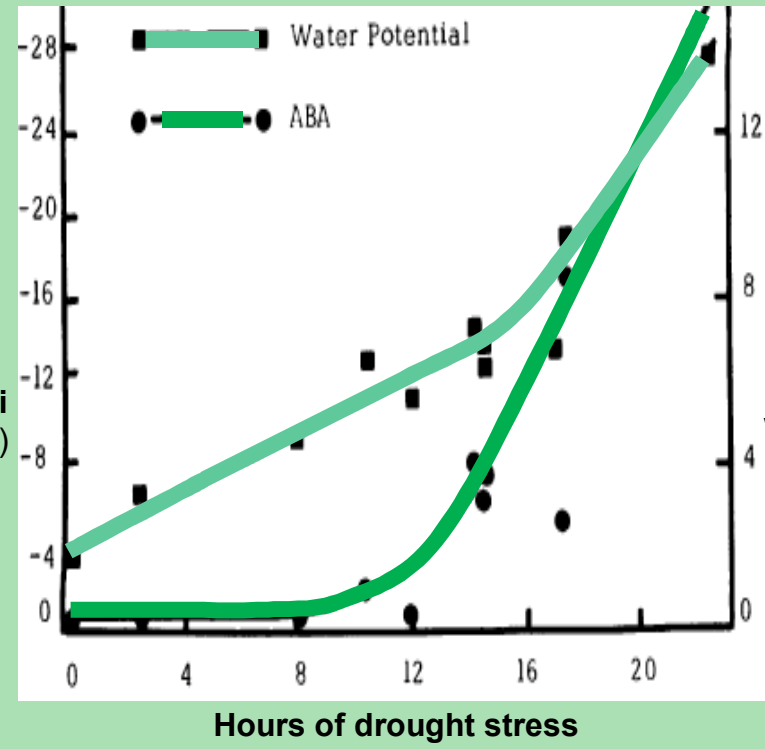
Pokud jsou semena dormantní a suchá, vydrží životná velmi dlouhou dobu.



Syntéza ABA je silně indukována, pokud je rostlina vystavena stresovým faktorům.



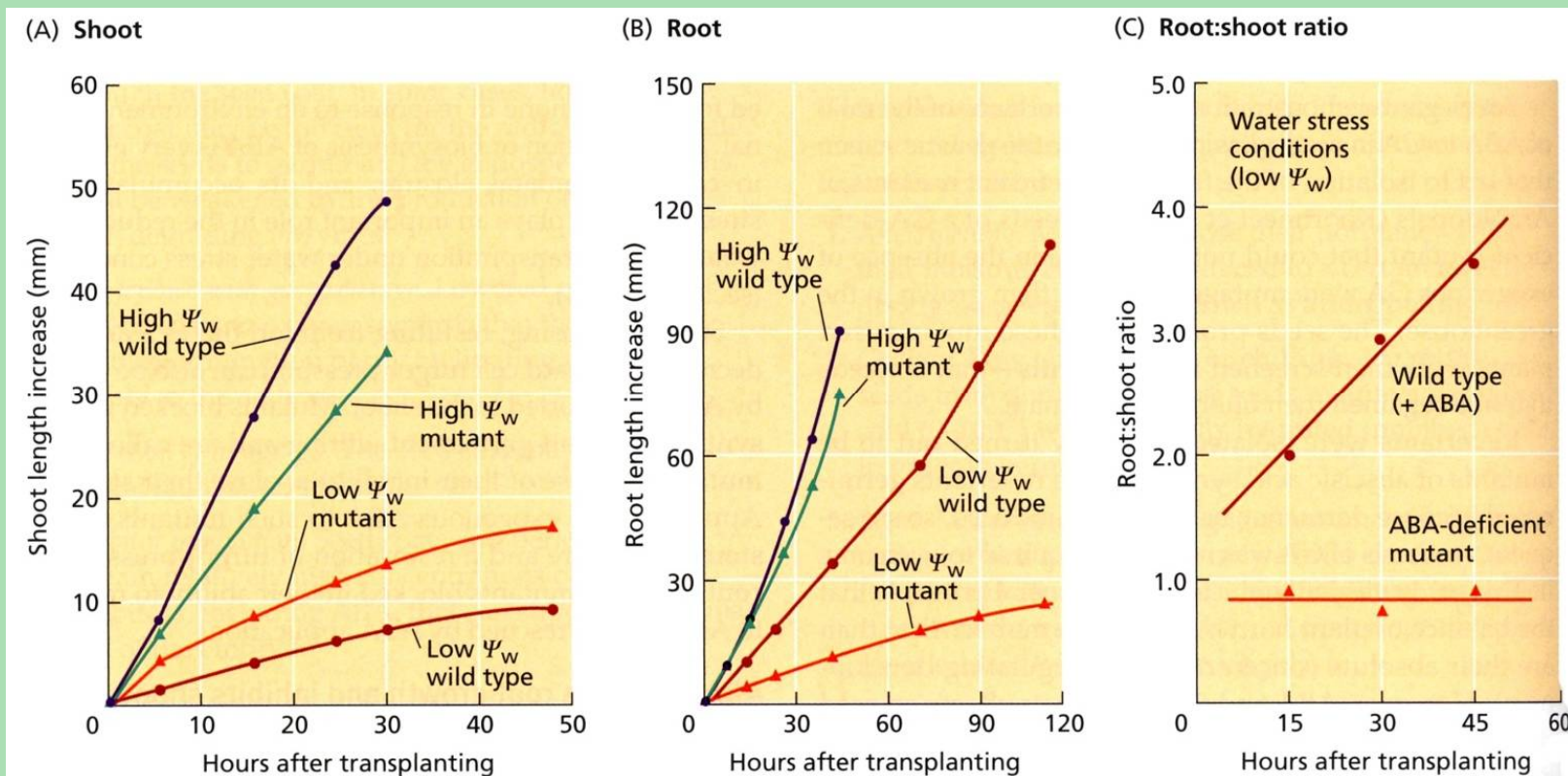
Leaf water potential (atm)



[ABA] µg/g dry weight

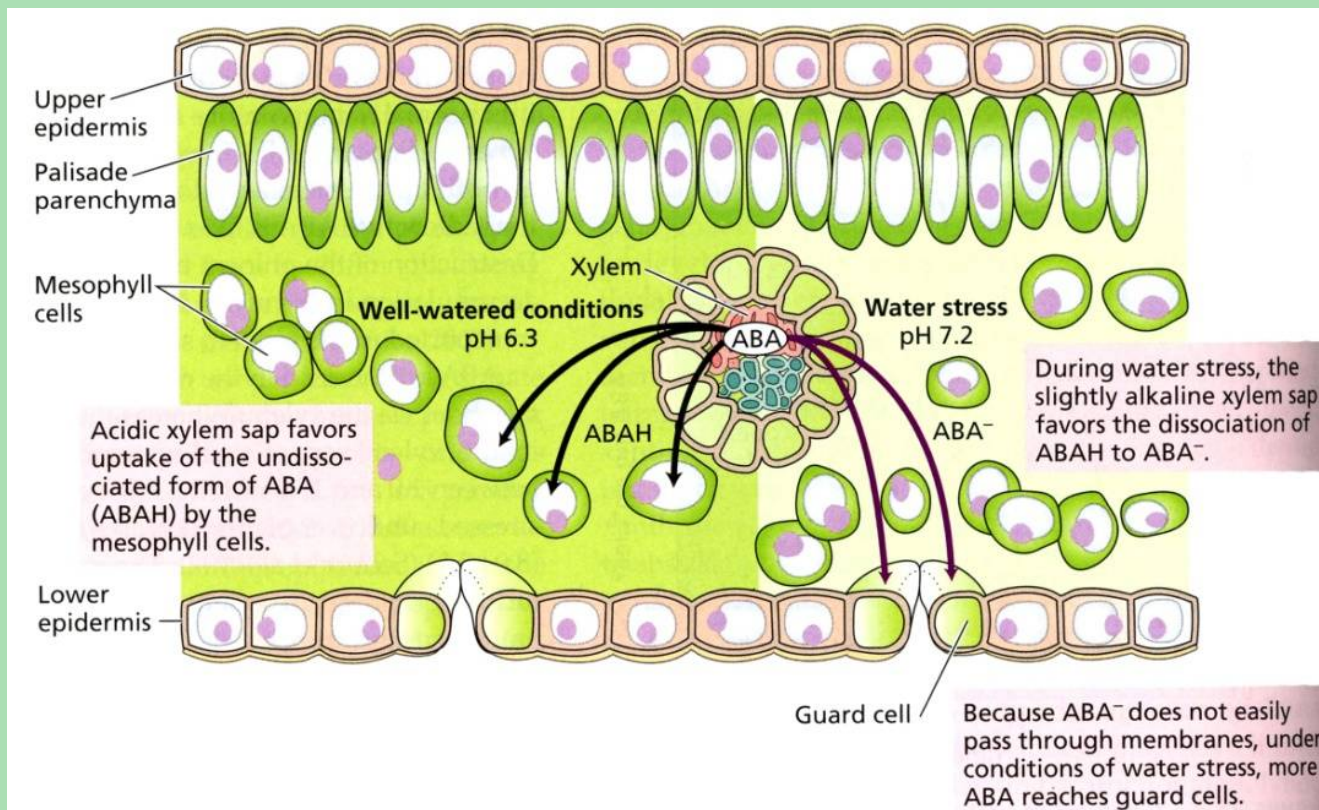
Hladina ABA se zvyšuje při suchu částečně zvýšením její biosyntézy.

Při nízkém vodním potenciálu (ψ_w ; nedostatek vody) ABA stimuluje růst kořenů a inhibuje růst výhonů



Při nedostatku vody – inhibice tvorby ethylenu v kořenech

ABA uzavírá průduchy (stomata) v závislosti na vodním stresu

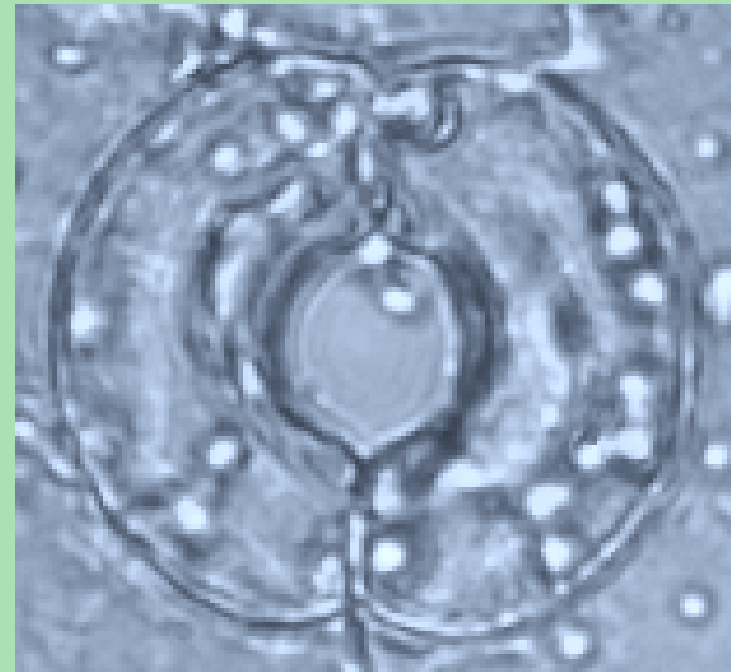


Zavodněné rostliny: pH xylémového roztoku se pohybuje kolem 6.3 => pohlcování ABA mezofylovými buňkami, protože ABA se nachází v nedisociované (protonované) podobě ABAH.

Vodní stres: pH xylémového roztoku roste na 7.2 => stresem indukovaná alkalizace apoplastu upřednostňuje tvorbu disociované formy ABA, ABA⁻. Dehydratace současně vede k okyselení cytozolu => ABA⁻ se dostává do mezofylových buněk špatně => více ABA⁻ se dostává ke svěracím buňkám, kde se váže na membránový receptor.

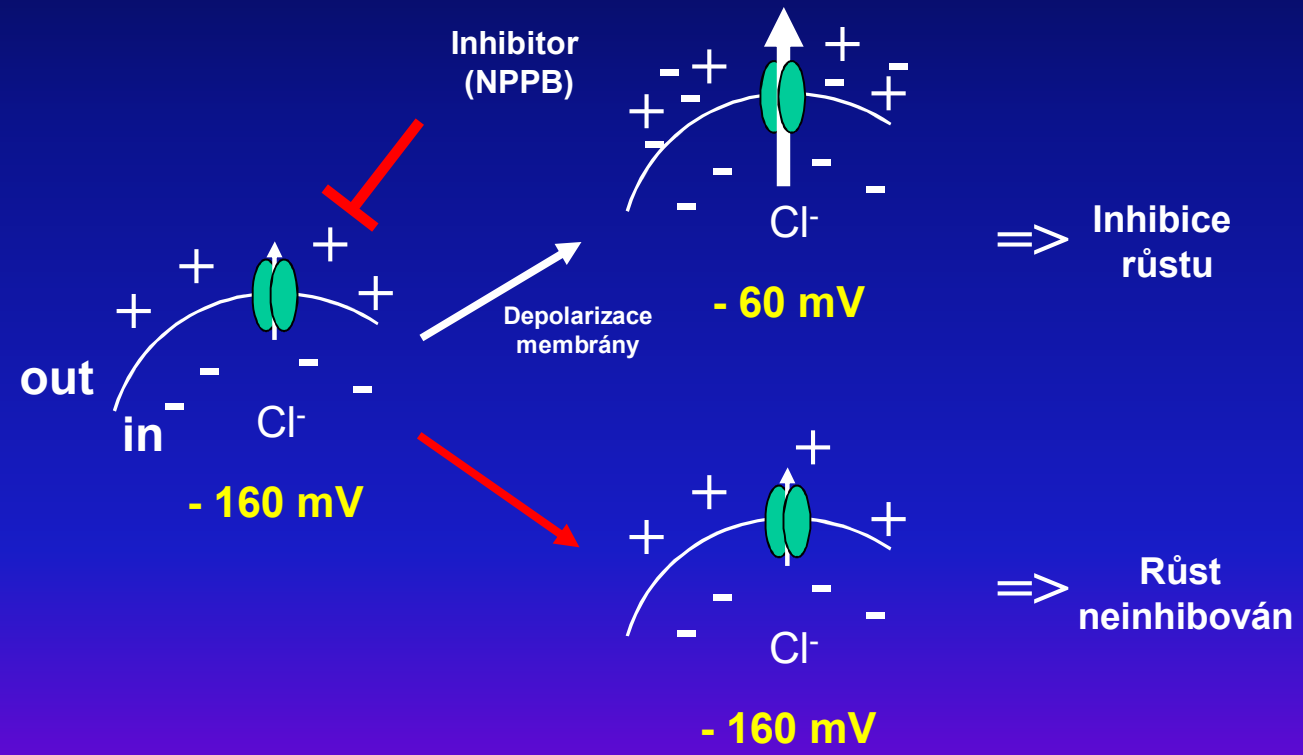
ABA reguluje stomatální štěrbinu změnou objemu svěracích buněk

Páry svěracích buněk kontrolují otevření rostlinného póru zvaného průduch.



Svěrací buňky kontrolují otevírání a zavírání průduchů a tím regulují výměnu plynů: jemná regulace velikosti průduchů je nutné k zajištění příjmu CO_2 pro fotosyntézu a k zabránění nadbytečné ztráty vody.

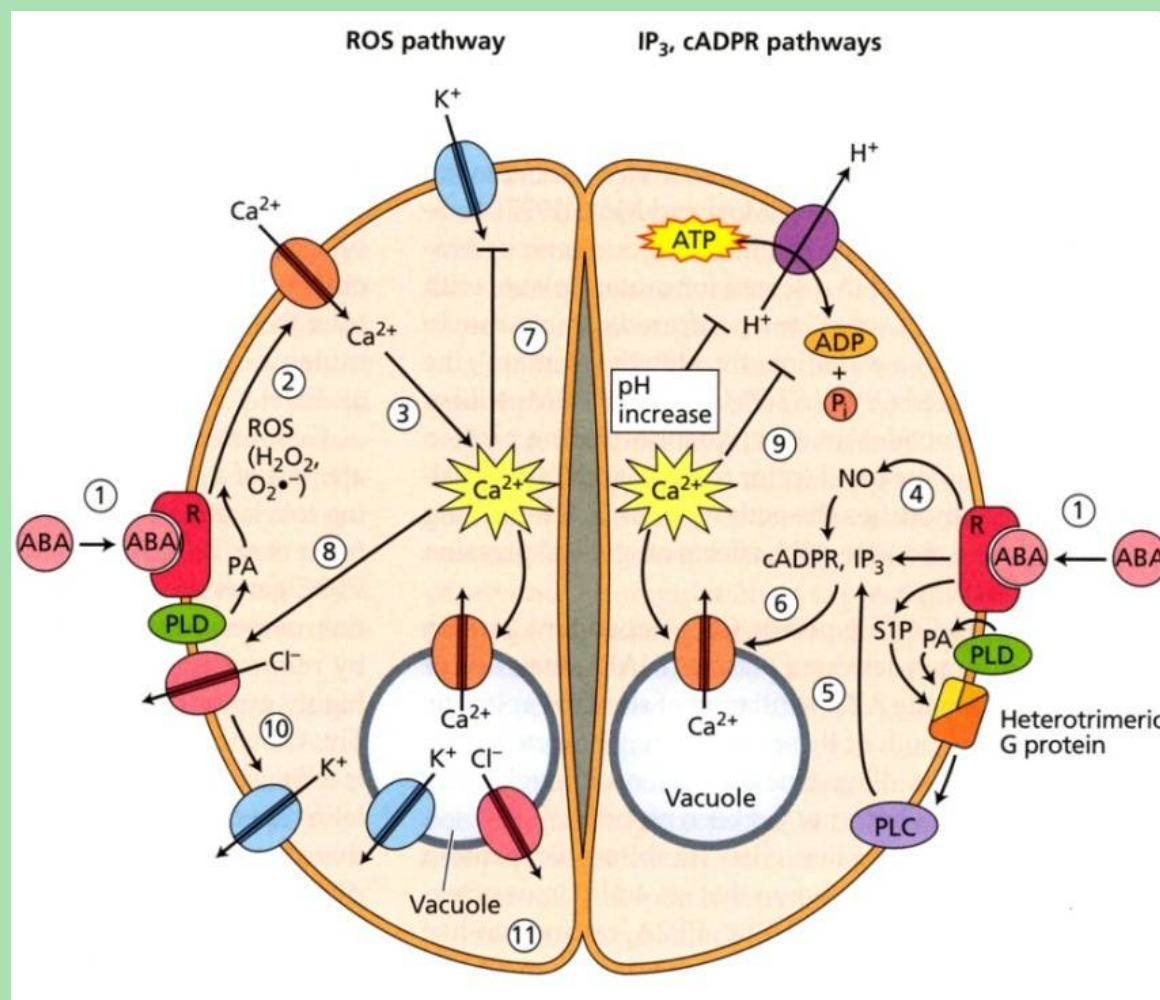
Depolarizace plazmatické membrány



Mechanismus působení ABA ve svěracích buňkách

Vodní stres:

1. ABA se váže na receptor.
2. Vazba ABA indukuje proud Ca^{2+} do buňky.
3. Zvyšuje se intracelulární konc. Ca^{2+} a indukuje se dále proud Ca^{2+} z vakuoly.
4. ABA stimuluje indukci NO a cADPR.
5. ABA zvyšuje hladinu IP_3 prostřednictvím G proteinu.
6. IP_3 stimuluje proud Ca^{2+} z vakuoly.
7. Vysoká hladina Ca^{2+} blokuje proud K^+ do buňky.
8. Vysoká hladina Ca^{2+} stimuluje proud Cl^- z buňky a způsobuje **depolarizaci** membrány.
9. Vysoká hladina Ca^{2+} blokuje protonovou pumpu, zesiluje se **depolarizace**.
10. Depolarizace membrány aktivuje proud K^+ z buňky.
11. K^+ a Cl^- proudí z vakuoly do cytosolu.



ROS - Reactive oxygen species

IP_3 - Inositol-triphosphate

cADPR – cyclic ADP-ribose

NO – nitric oxide (oxid dusnatý)

PLC – phospholipase C)

PLD – phospholipase D)

PA – phosphatidic acid)

d) Transport ABA

ABCG25 – ABA efflux transportér } transportují ABA z místa syntézy (endospermu)
 ABCG31 – ABA efflux transportér }

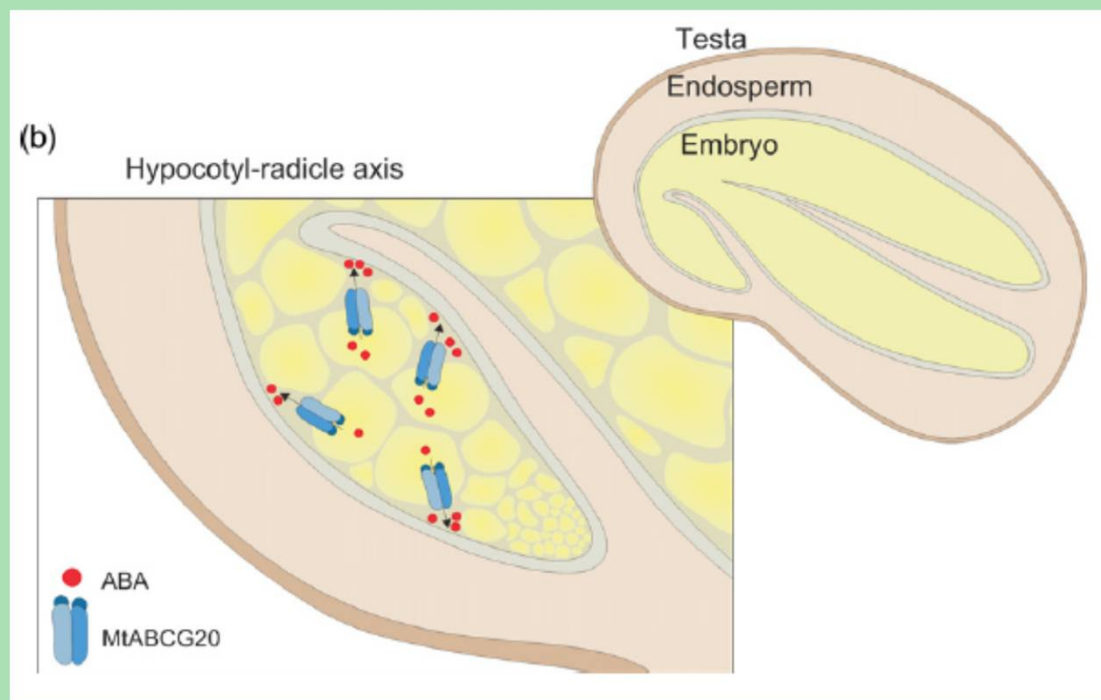
ABCG30 a ABCG40 – ABA influx transportér; transportují ABA do pletiv embrya

ABCG40 – ABA influx transportér; specificky transportuje ABA do svěracích buněk

ABCG20 – ABA efflux transportér

↓
 Transport ABA ze zóny přechodu
 hypokotyl-kořen

↓
 Usnadnění klíčení



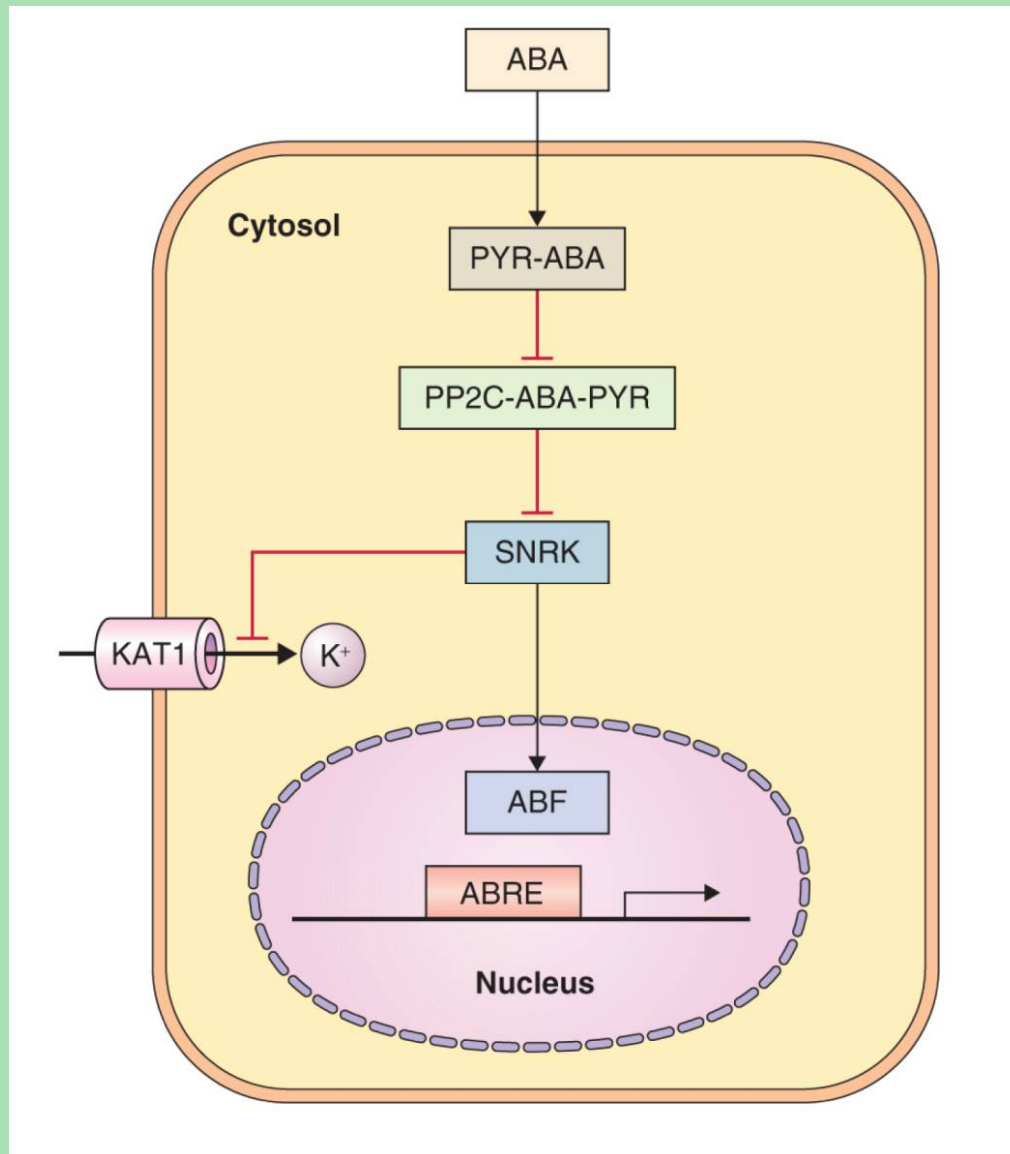
Update 2022

Daszkowska-Golec (2022) TIPS: DOI: [10.1016/j.tplants.2022.02.006](https://doi.org/10.1016/j.tplants.2022.02.006)

Review o ABA transportérech a jejich diverzitě

e) Signální dráhy ABA

18



ABA receptory:

PYrabactin Resistance 1 (PYR1)
(homology **PYL = PYR-Like**).

Vazba ABA k PYR1 vede k inhibici fosfatáz typu 2C (**PhosPhatase type 2C, PP2C = negativní regulátory ABA signalizace, co-receptor**)

Terčem proteinů PP2C je skupina proteinů zvaných SNF1-podobná protein kináza 2 (**SNF1-Related protein Kinase 2, SNRK2 = pozitivní regulátory ABA signalizace**).

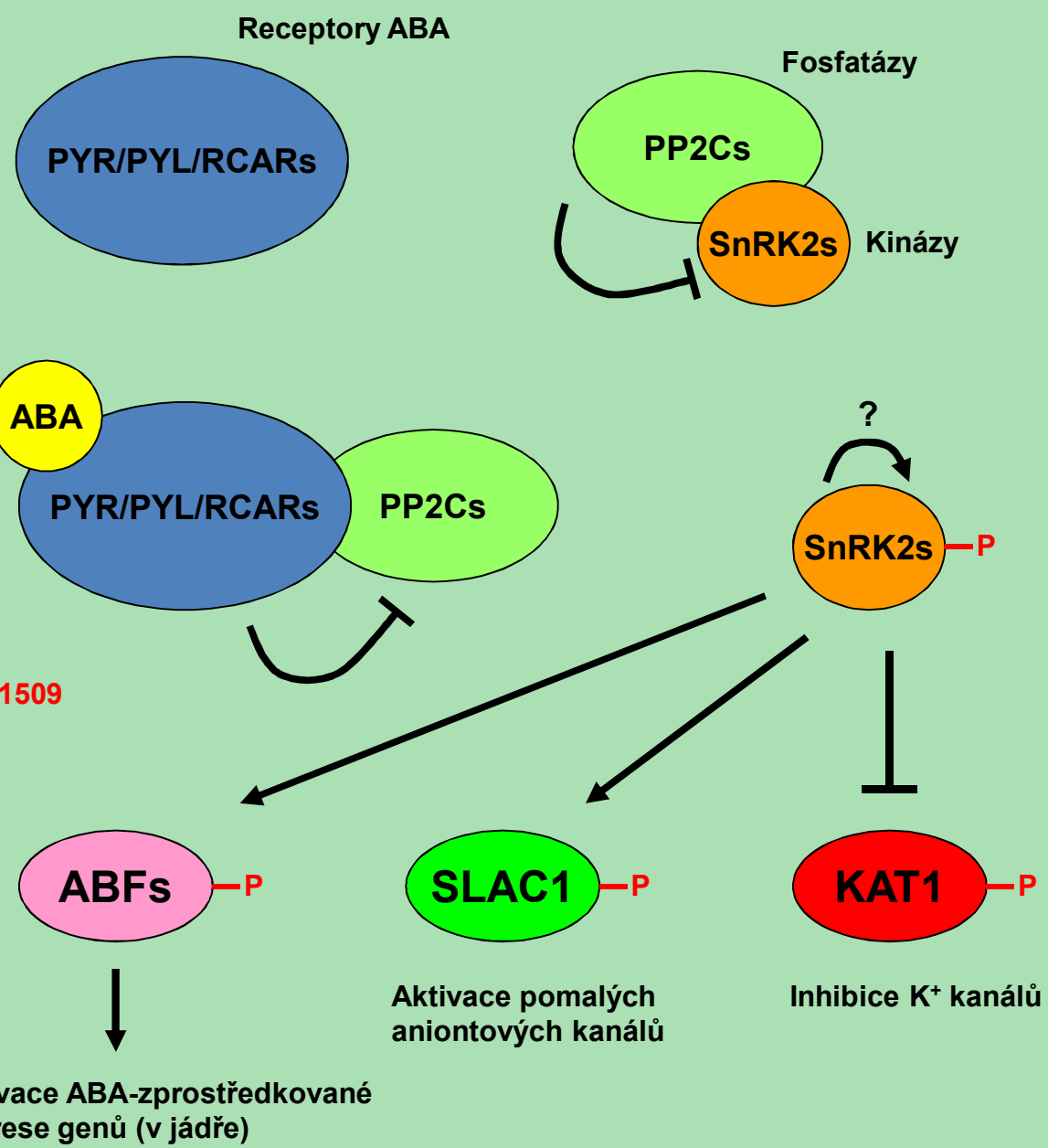
Absence ABA: Fosfatáza PP2C (ABI1, ABI2) je aktivní a defosforyluje SNRK2. SNRK2 kináza je tak inaktivována.

Přítomnost ABA: Fosfatáza PP2C je inhibována a SNRK kinázy jsou aktivní.

PYR = PYrabactin Resistance
PYL = PYR-Like
RCARs = Regulatory Component
of ABA Receptors

- ABA

+ ABA



Update 2024

Li C et al. (2024) *New Phytologist* 241: 1492-1509

Existují kinázy, které v přítomnosti ABA inhibují SnRK2. To naznačuje, že by mohly existovat fosfatázy schopné v přítomnosti ABA defosforylovat SnRK2 a tím zvyšovat jejich aktivitu = nový mechanismus regulace ABA signalizace.

Objev ABA receptorů v roce 2009

Nezávisle na sobě dvě skupiny:

Skupina Erwina Grilla - Technische Universität München
(Ma Y et al. 2009, Science 324: 1064 – 1068)



Erwin Grill



Sean Cutler

**Skupina Seana Cutlera - University of California
Riverside**
(Park SY et al. 2009, Science 324: 1068 – 1071)

Elementy signální dráhy u *Arabidopsis thaliana*:

Receptory: **PYR1, PYL1 - PYL3 = 4 dimerické**
 PYL4 – PYL13 = 10 monomerických

Vysoce konzervativní malé proteiny se 159 až 211 aminokyselinami.

Kromě PYL13 jsou schopné všechny aktivovat ABA signální reakce => téměř všechny fungují jako ABA receptory.

Sah SK et al. (2016) *Front Plant Sci* 7: Article 571

PYR1, PYL1, PYL2, PYL4 = exprimované ve svěracích buňkách; zavírání průduchů

PYL5 = nejvíce exprimované při zrání semen

PYL8 a **PYL9** = exprimované v primárních a laterálních kořenech; inhibice růstu primárních kořenů, stimulace růstu laterálních kořenů

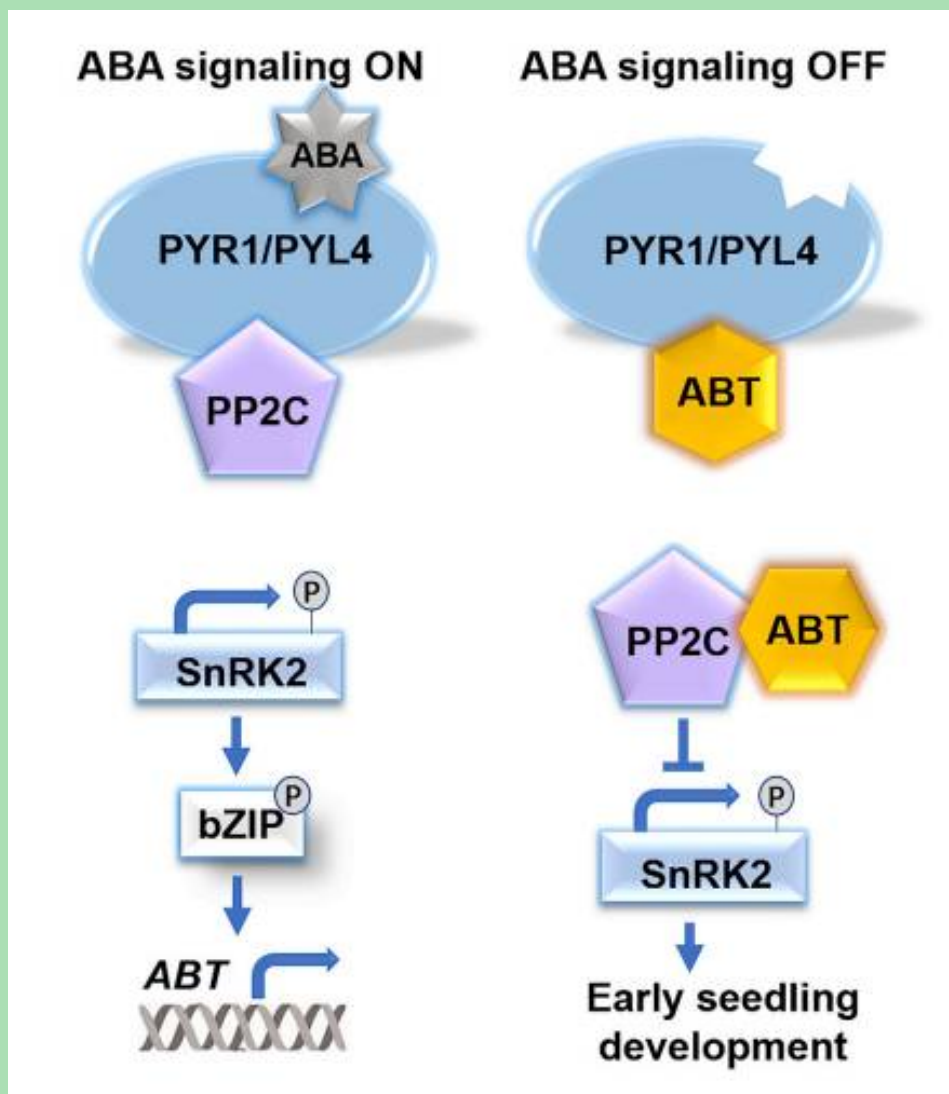
Xing L SK et al. (2016) *Sci Reports* 6: 27177

Sun S et al. (2017) *Plant Signal Behav* 12: 12(11):e1214793

Negativní regulátory = fosfatázy typu PP2C: **PP2C1 – PP2C9**

Pozitivní regulátory = kinázy typu SnRK2: **SnRK2.1 – SnRK2.10**

Zastavení ABA signalizace při absenci ABA



+ ABA – zapnutá signalizace

Exprese genu *ABT* a akumulace proteinu ABT = ABA Signaling Terminator (WD40 protein)

Pokles či absence ABA

Akumulovaný protein ABT se váže k receptoru PYR1/PYL4 a přerušuje vazbu receptoru k PP2C. ABT se váže i k PP2C.



PP2C zabraňuje fosforylaci SnRK2 => SnRK2 neaktivní.



Zastavení ABA signalizace

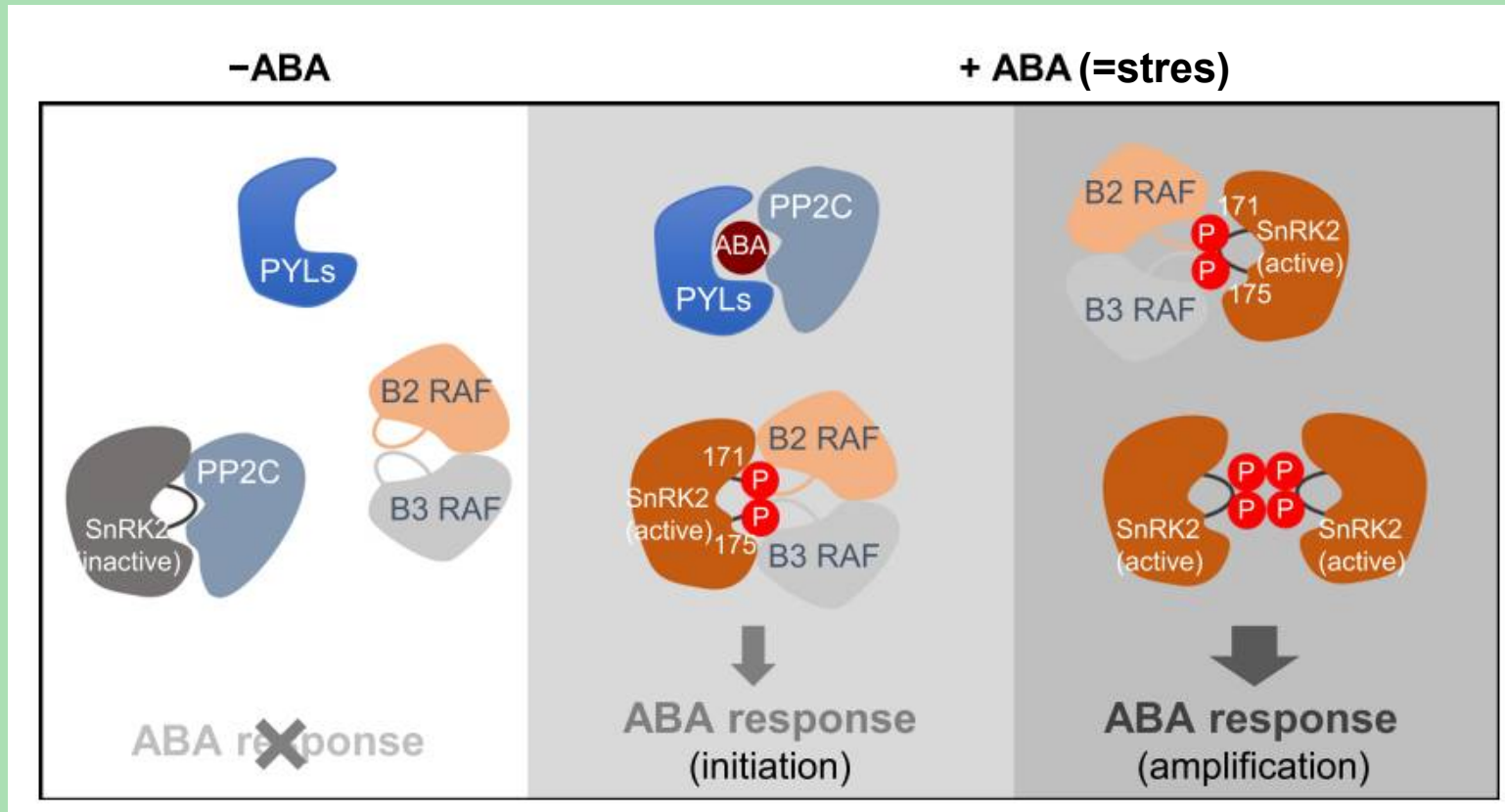
Update 2020

Wang Z et al. (2020) *Molecular Plant* 13: 1284-1297

Iniciace a amplifikace aktivity SnRK2

Update 2021

Lin Z et al. (2021) Nature Communications 12: art. no. 2456



PP2C se váže k protein kináze SnRK2, inhibuje ji a tak chrání před transfosforylací aktivovanými proteiny RAF (Raf-like protein kinázy).

Receptor PYL se váže k fosfatáze PP2C a inhibuje ji. SnRK2 je uvolněna a je rychle aktivována proteiny RAF. Stres rovněž aktivuje proteiny RAF neznámým mechanismem.

Aktivovaná SnRK2 rychle fosforyluje další SnRK2 proteiny a zesiluje tak jejich aktivaci. Následně fosforyluje následující substráty, které zprostředkují stresové reakce.

Mechanismus degradace PP2CA

Update 2019

Belda-Palazon B et al. (2019) Plant J 98: 813-825

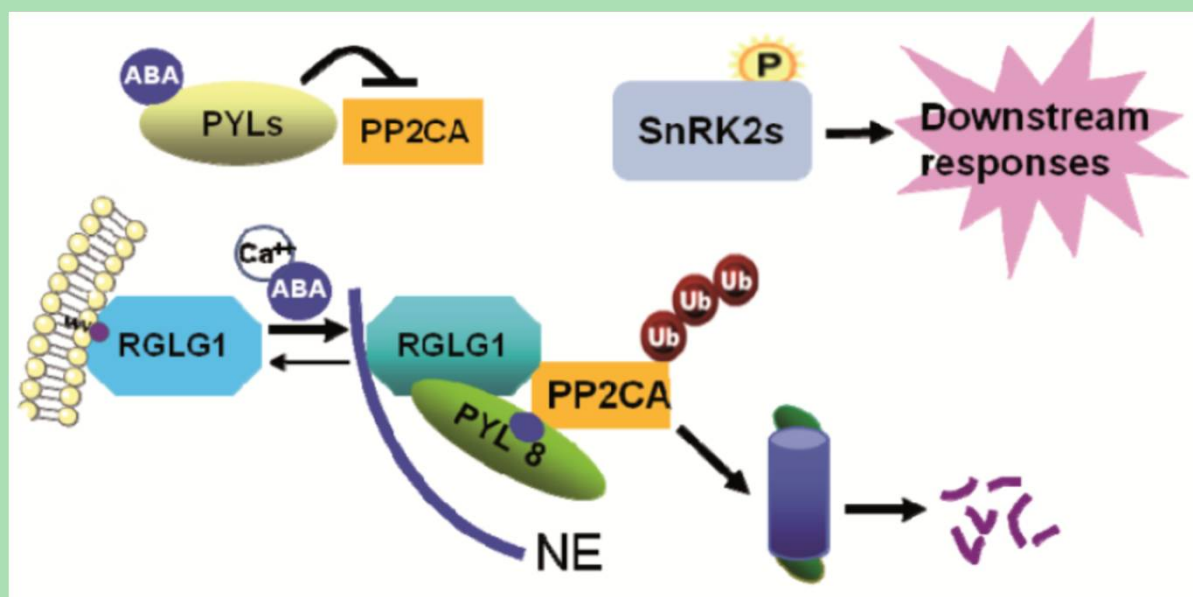
ABA stimuluje degradaci PP2CA prostřednictvím RGLG1 E3 ubiquitin ligázy.

RGLG1 – výskyt na plazmatické membráně

PP2CA – výskyt v jádře

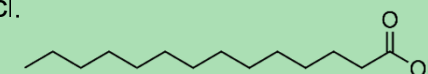


Jak ABA stimuluje interakci RGLG1 s PP2CA?

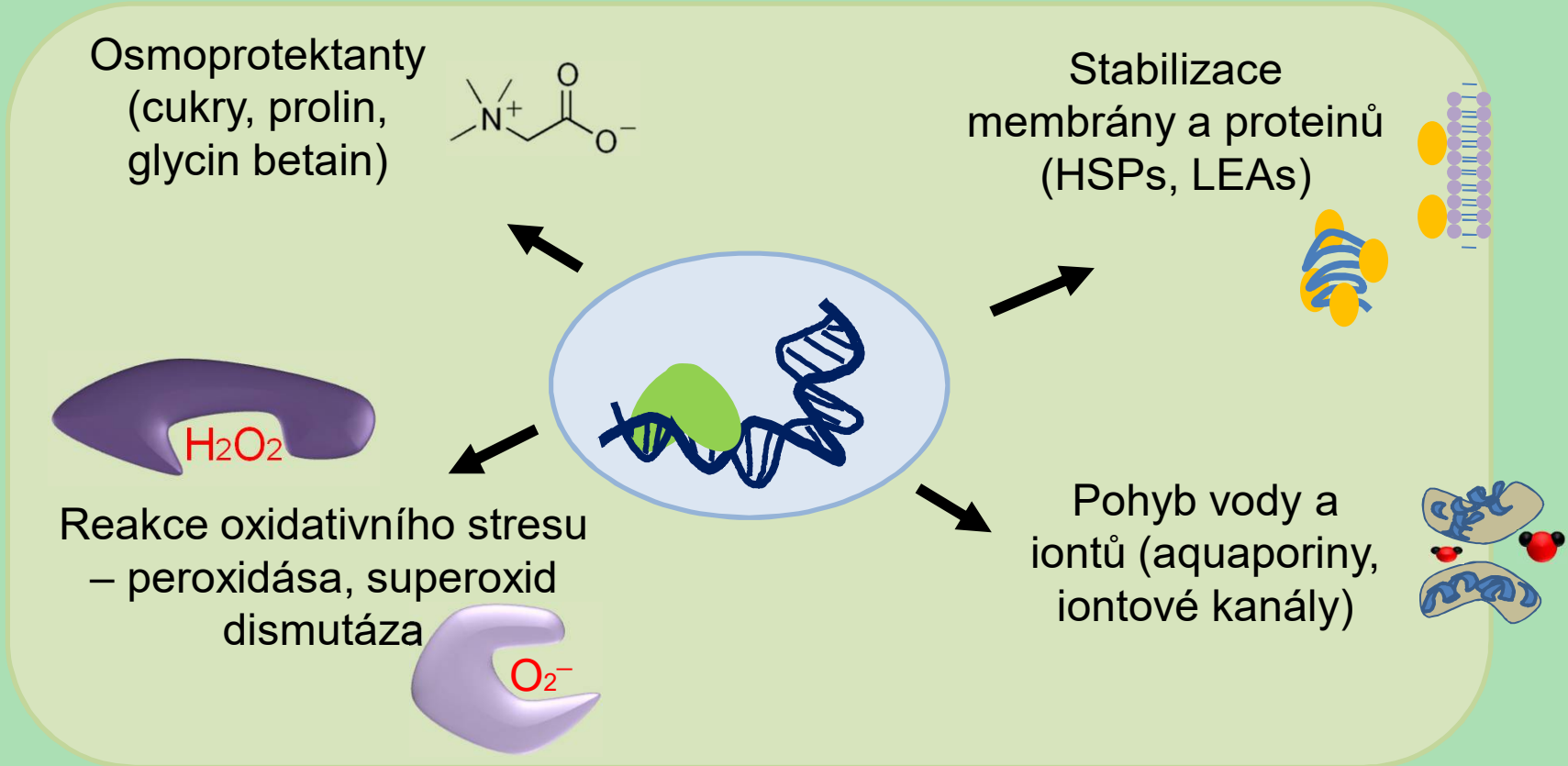


ABA inhibuje myristoylaci RGLG1 => RGLG1 se odpoutává od PM a přesunuje se do jádra (NE), interaguje s ABA receptorem a usnadňuje tvorbu komplexu RGLG1-PP2CA-PYL8. PP2CA je ubiquitinována.

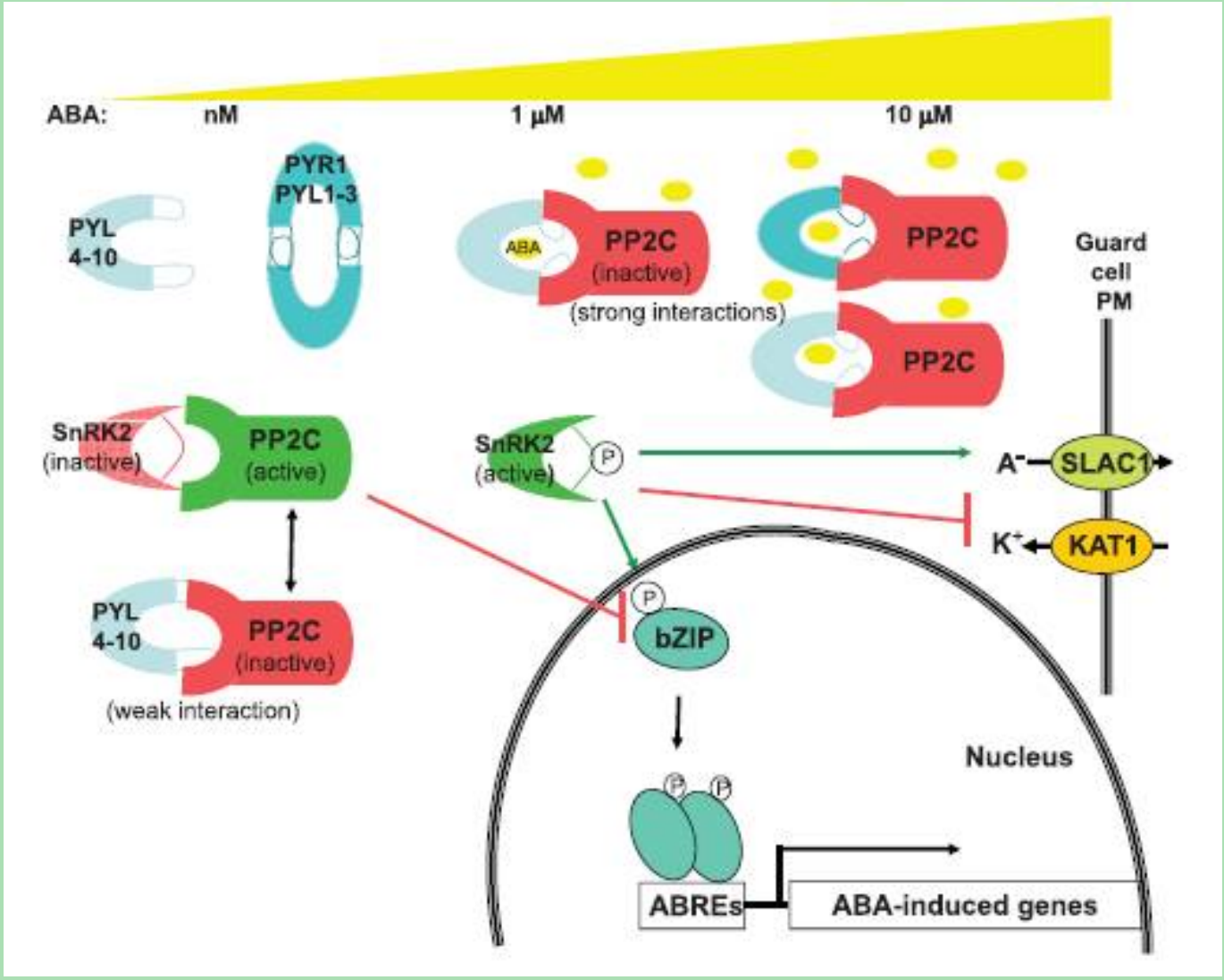
Myristoylace – lipidová modifikace proteinu – kovalentní připojení myristoylové skupiny k N-terminálnímu konci (ke glycinovému residuu) proteinu – umožňuje protein-protein nebo protein-lipid interakci.



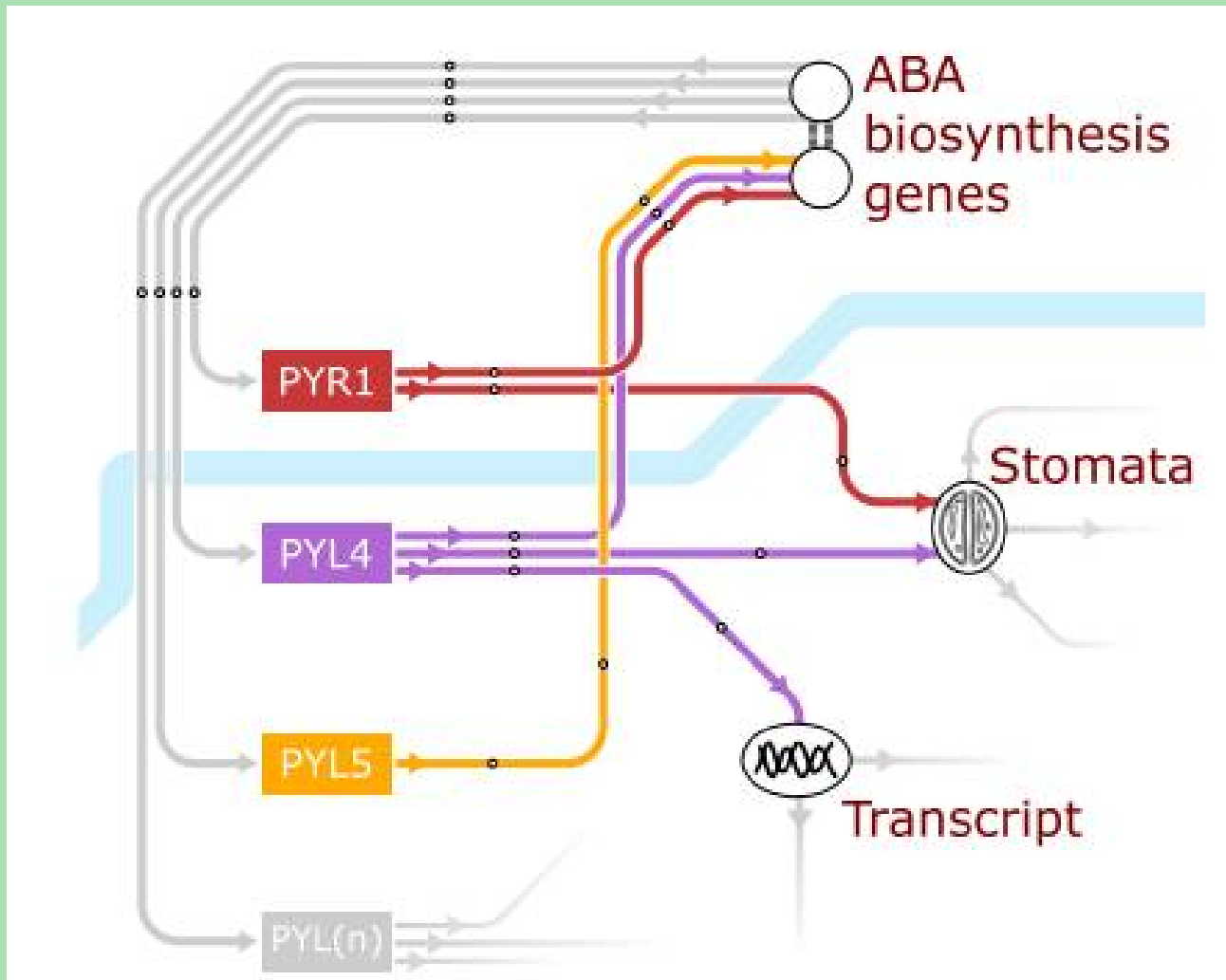
ABA indukuje stres-responsivní geny



Vliv koncentrace ABA na signální dráhu ABA



Receptory ABA mají specifické funkce.

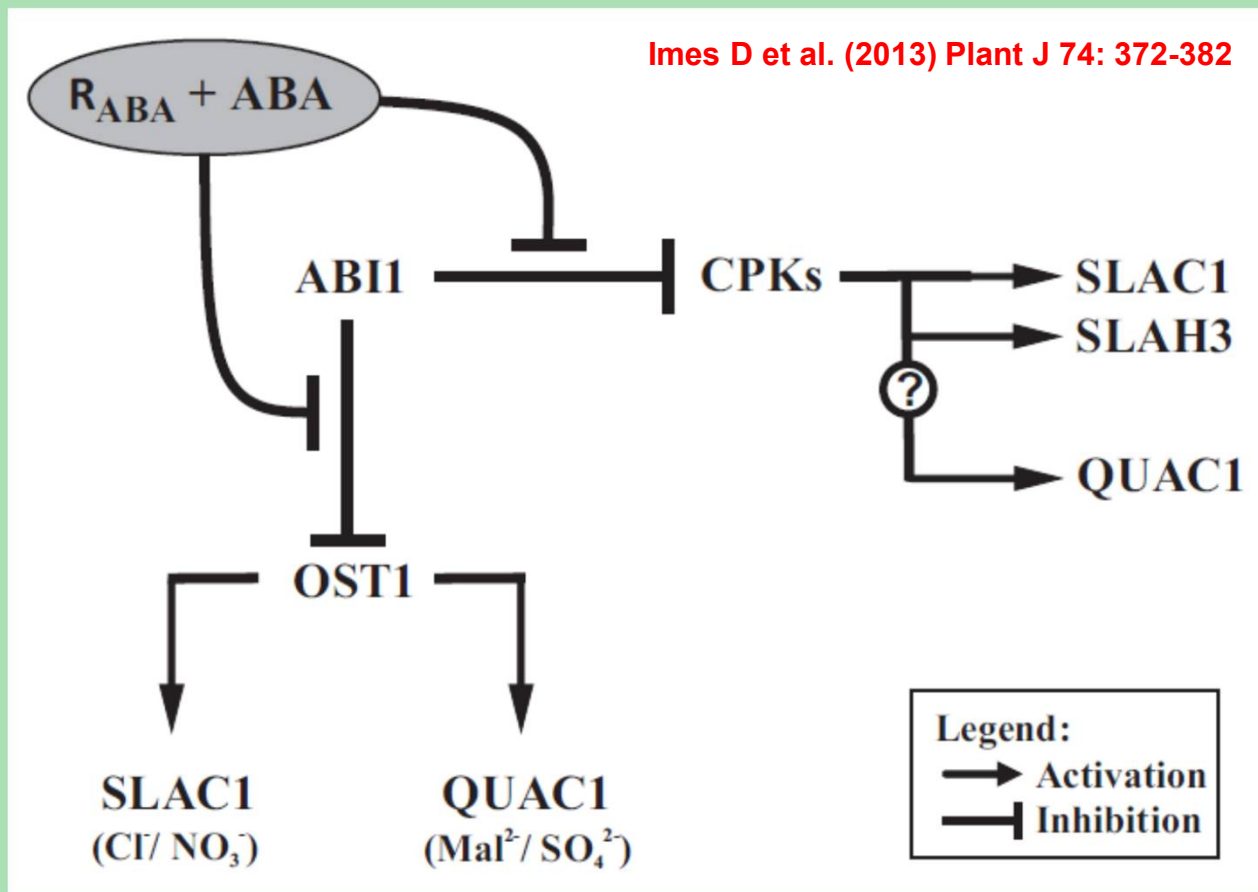
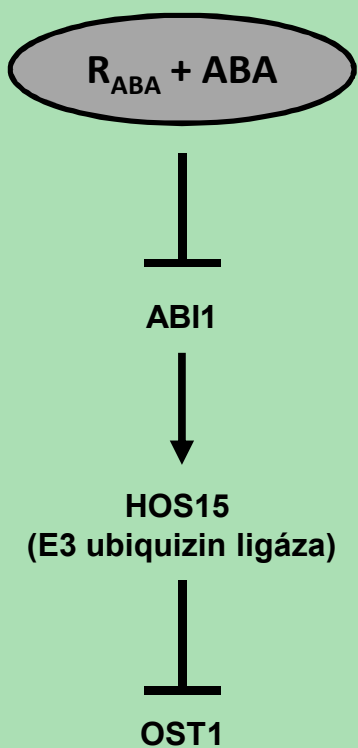


Update 2024
Při-Tal O et al. (2024) *New Phytologist* 241: 703-714

Úloha ABA signalizace v uzavírání průduchů – propojení Ca^{2+} - nezávislé a Ca^{2+} - závislé dráhy

Update 2019

Ali A et al. (2019)
Molecular Plant 12: 1447-1462



R_{ABA} – ABA receptory (RCAR/PYR/PYL)

ABI1 – PP2CA fosfatáza

OST1 – SnRK kináza

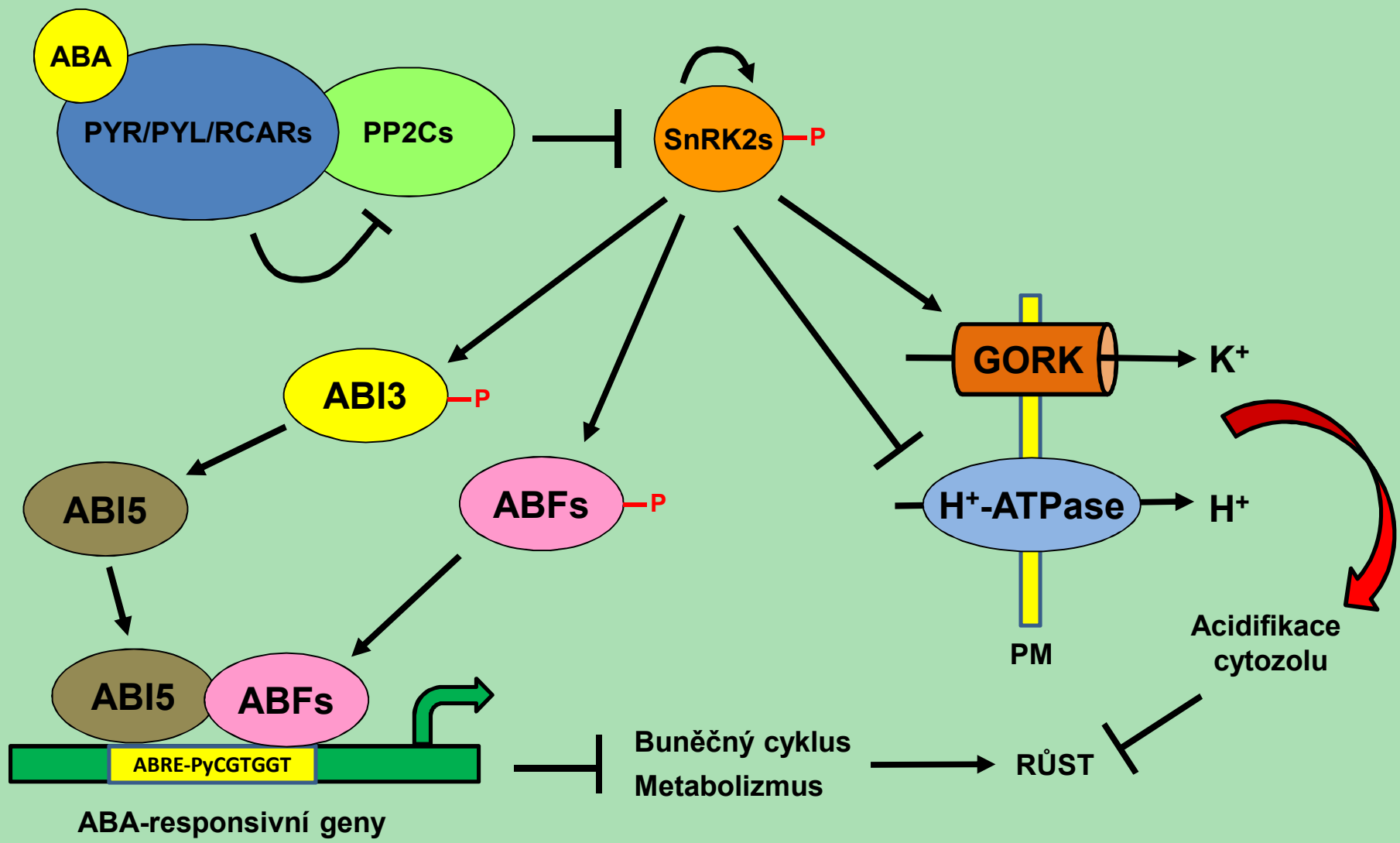
CPKs – Ca^{2+} dependentní protein SnRK kinázy

SLAC1 – aniontové kanály (Cl^- , NO_3^-)

QUAC1 – aniontové kanály (Mal^{2-} , SO_4^{2-})

SLAH3 – aniontové kanály (Mal^{2-} , SO_4^{2-})

Mechanismus inhibice rústu vlivem ABA



Update 2015
Planes MD et al. (2015) J Exp Bot 66: 813-825

Nový aspekt regulace ABA signalizace – fosforylace ABA receptoru a ABA transportéru

Update 2021
Zhang L et al. (2021) Molecular Plant 14: 633–646

Normální podmínky (- ABA)

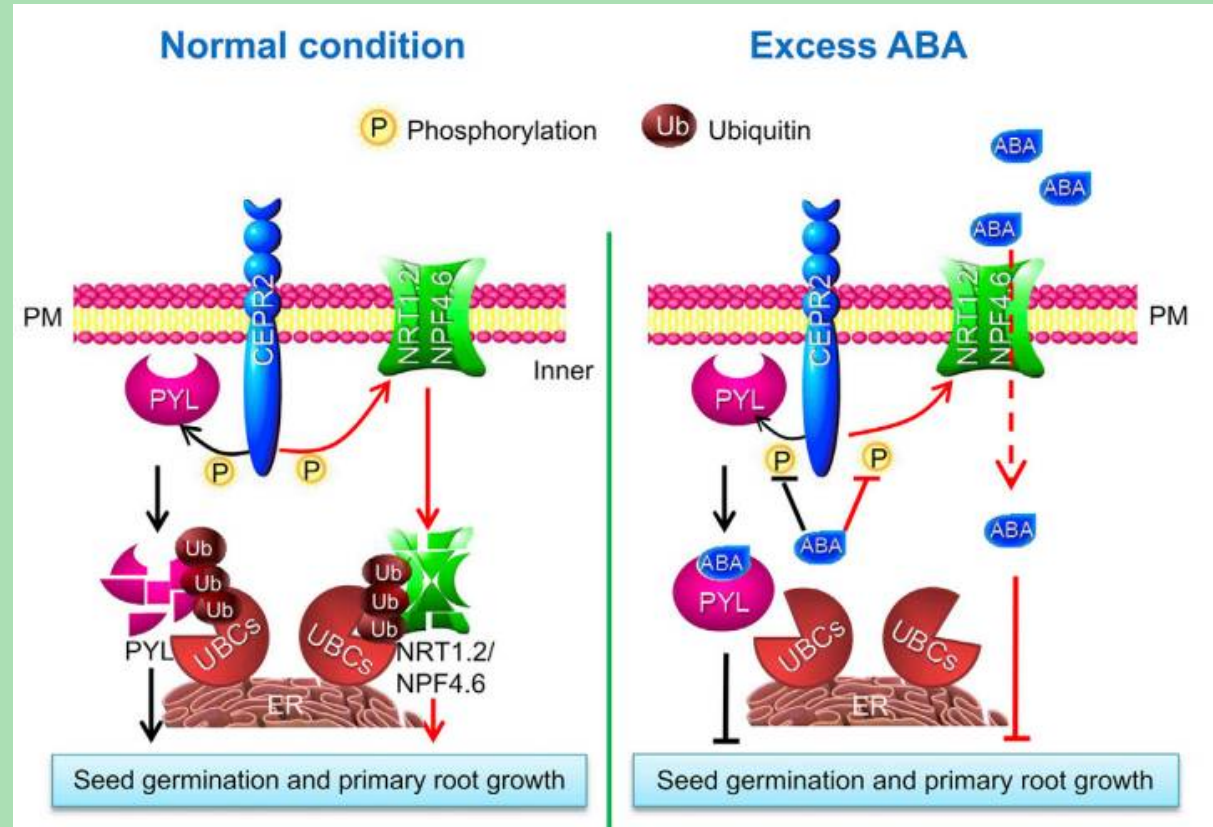
CEPR2 (C-Terminally Encoded Peptide Receptor 2) fosforyluje receptor PYL i ABA transportér NRT1.2/NPF4.6.



Ubiquitinace vlivem UBCs a degradace ve 26S proteazomu.

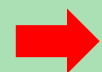


Klíčení semen a růst kořene



Stresové podmínky (+ ABA)

Stabilizace transportéru NRT1.2/NPF4.6 vlivem ABA. Inhibice fosforylace receptoru PYL i transportéru vlivem ABA.



Stimulace transportéru a import ABA do buňky. Vazba ABA na receptor PYL.

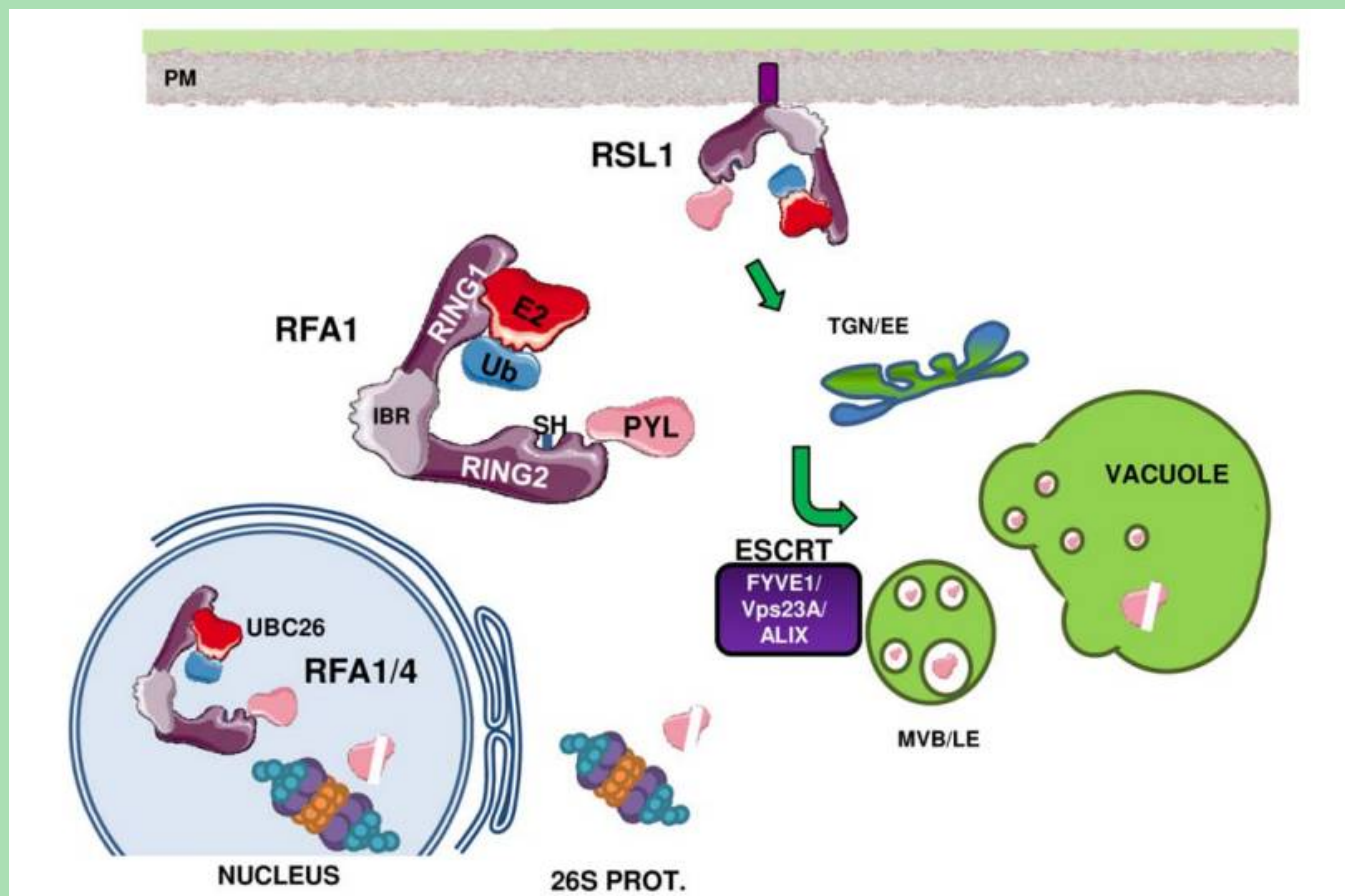


Spuštění ABA signalizace

Regulace množství ABA receptorů – regulace citlivosti k ABA

Update 2020

Fernandez MA et al. (2020) *Plant Physiol* 182: 1723-1742



Rozpad ABA receptorů je regulován několika typy E3 ubiquitin ligáz: **RSL1** je zaměřena na ABA receptory na plazmatické membráně, **RFA1** cílí na nukleární a cytozolické ABA. **RFA4** specificky cílí na nukleární ABA receptory.

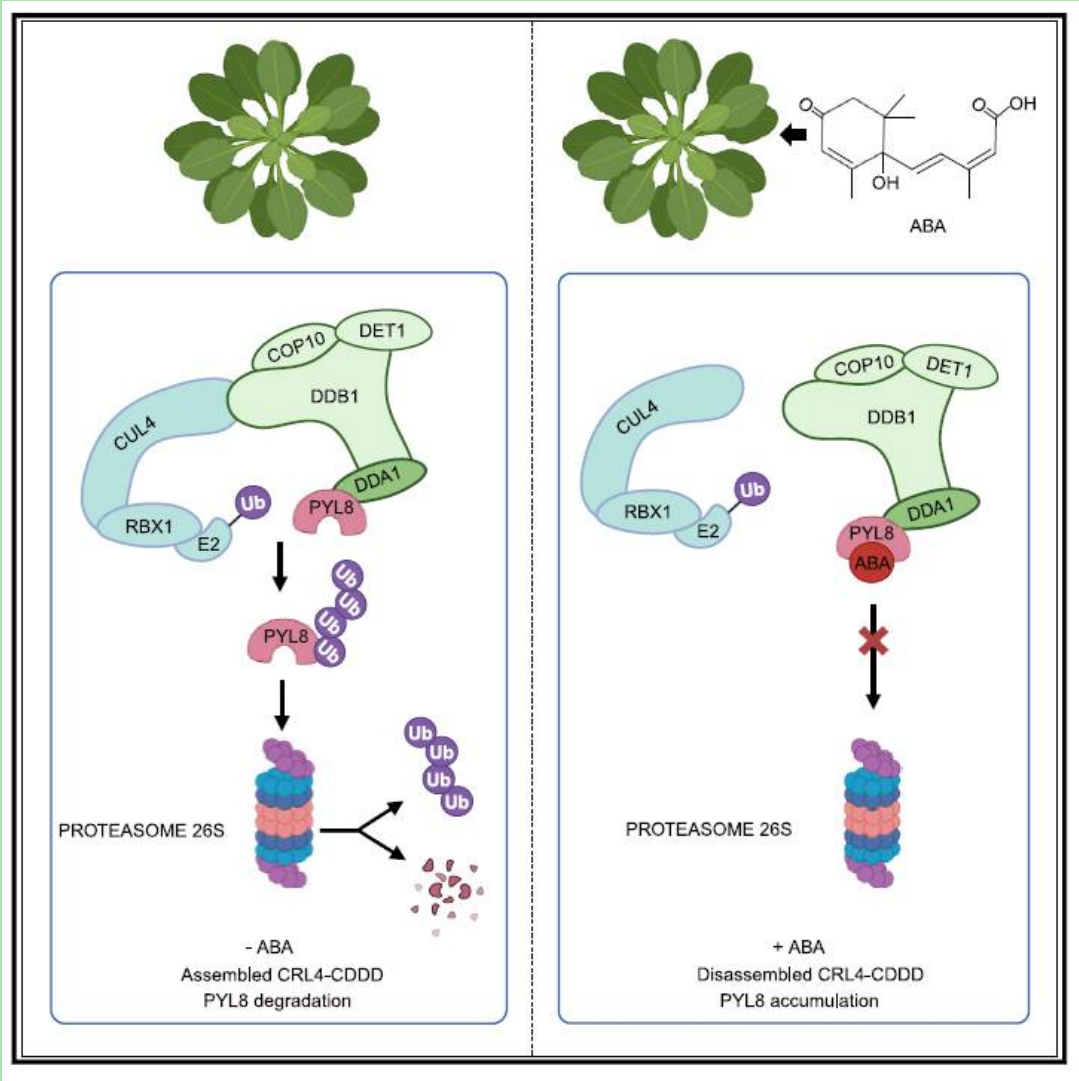
ABA zmírňuje degradaci prominentního receptoru PYL8

ABA zprostředkuje demontáž a inhibici evolučně konzervované E3 ubiquitin ligázy CRL4-CDDD

↓
Stabilizace PYL8
↓
Reakce ke stresům

CRL4 = CUL4+RBX1

CDDD = COP10+DDB1+DET1+DDA1



Update 2024

Martínez C et al. (2024) Cell Reports 43: 114802