

Genomika turionů závitky mnohokořenné odhaluje cesty vedoucí k dormanci

Vodní rostliny nejméně z 9 čeledí v subtropickém až subarktickém pásu vytvářejí přezimovací pupeny zvané turiony. Jak přibližuje i dvoudílný seriál v Živě (2024, 1: 9–12 a str. 57–61 tohoto čísla), turiony jsou orgány stonkolistového původu, které vznikají nejčastěji na vzrostných vrcholech prýtlů následkem snížení teploty vody a zkracující se délky dne nebo klesající intenzity světla na konci vegetační sezony, zpravidla na podzim. Jde o kulovité, protáhlé nebo ploché útvary vzniklé mimořádným zkrácením internodií (mezičlánků) se silně pozmeněnými, nejčastěji šupinovitými, zkrácenými listy. Jejich účelem je přežít zimní podmínky v nezamrzlé vodě na dně vodního biotopu, zatímco mateřský prýtl se dříve či později oddělí a uhyne. Na jaře z nich v teplejší vodě podle druhu buď na hladině, nebo u dna rychle vyrůstají nové rostliny, což jim dává fenologický náskok před jednoletými druhy klíčovými ze semen. Turiony jsou dormantní (klidové), zásobní, vegetativní a mírně mrazuvzdorné přezimovací orgány obsahující chlorofyl, které slouží i k šíření těchto druhů na další lokality.

Turiony velmi hojného okřehku závitky mnohokořenné (*Spirodela polyrrhiza*) z čeledi áronovitých (*Araceae*, dříve okřehkovité – *Lemnaceae*) se od ostatních druhů výrazně odlišují morfologicky i fyziologicky – jsou to tuhé, ploché až kulovité orgány široké 2–3 mm, které vznikají někdy už uprostřed léta hlavně následkem sníženého příjmu fosforu z vnějšího prostředí; vliv poklesu teploty je u nich až druhořadý. Mohou obsahovat až 70 % škrobu v sušině. Zaslouhou především Klause-Jürgena Appenrotha z Univerzity v Jeně v Německu byly v posledních 40 letech v mnoha desítkách studií důkladně popsány procesy vedoucí u závitky k tvorbě turionů i jejich klíčení. Závitka se stala velice výhodným modelem výzkumu zejména pro malé rozměry a jednoduché pěstování ve sterilní kultuře *in vitro*, i pro možnost srovnání mnoha geografických populací. Model je výhodný také tím, že přidání inhibičního fytohormonu kyseliny abscisové (ABA) do média k listům závitky (frondům, obr. 4 na str. 57 této Živy) spolehlivě a rychle do týdne vyvolá tvorbu turionů a že proces může být zvrácen přidáním syntetického cytokininu kinetinu, který také sám navozuje klíčení zralých turionů. První transkriptomická studie amerických autorů (Wang a kol. 2014) s využitím tohoto modelu zjistila rozsáhlé změny exprese genů po indukci tvorby turionů závitky přidáním ABA ve srovnání s rostoucími frondy. V turionech celkem 208 genů jevílo více než čtyřikrát zvýšenou expresi ve srovnání s frondy, kdežto 154 genů mělo výrazně sníženou expresi. Práce ukázala, že tvorba turionů u závitky předstávala na genové úrovni velmi komplexní vývojovou změnu srovná-

telnou např. s kvetením. Kvůli metodickým problémům s izolací kvalitní mediátorové RNA (mRNA) z turionů, způsobeným vysokým obsahem škrobu a tříslovin, však byl vysoký podíl chybně složených, a proto neinterpretovatelných transkriptů.

Buntora Pasaribu z Rutgers University v New Jersey v USA se spolupracovníky z různých amerických univerzit navázali na předchozí výzkum transkriptomiky tvorby turionů u závitky s tím rozdílem, že jejich tvorbu vyvolali ekologicky nedostatkem fosfátů v médiu a vypracovali zlepšený protokol izolace kvalitní RNA. U daného genotypu tohoto okřehku autoři zjistili 17 397 transkriptů ve frondech anebo v turionech, z nichž 14 137 (81 % všech) se lišilo expresí navzájem ve frondech a turionech méně než čtyřnásobně – většina genů se exprimuje podobně v rostoucích frondech i v dormantních turionech. Geny s výraznou expresí (více než osminásobnou) v turionech než ve frondech bylo možno rozřadit do čtyř hlavních funkčních skupin: odpovědi na stres, sekundární a lipidový metabolismus, obranné odpovědi a vývoj a klíčení semen.

● Odpověď na stres byla hlavní a nejzastoupenější skupinou silně exprimovaných genů v turionech a zahrnovala různé geny odpovídající na různé abiotické podněty – chemické a fyzikální. Patří k nim např. geny zprostředkávající regulační funkci ABA v turionech. Tato zjištění podporují význam regulačních drah zahrnujících ABA pro vývoj a funkci turionů a svědčí i o podobnosti s analogickými procesy dormance a klíčení semen u suchozemských rostlin. Další aktivované geny zprostředkávají toleranci např. k anoxii (nepřítomnosti kyslíku), chladu a suchu.

● Druhá největší skupina se podílí na sekundárním metabolismu, syntéze fytohormonů, lipidů a jejich metabolismu. Jak lze očekávat ze zvýšeného obsahu antokyanu v turionech závitky mnohokořenné, silně jsou exprimovány geny pro biosyntézu flavonoidů. Zvýšený obsah ABA je výsledkem až stonásobně vyšší hladiny transkriptů pro enzymy její biosyntézy. Výrazně aktivovány jsou také geny pro biosyntézu dvou dalších fytohormonů, kyseliny jasmonové a gibberelové (GA), což naznačuje, že oba rostlinné hormony hrají spolu s ABA významnou úlohu v biologii turionů, a připomíná to jejich roli při klíčení semen. V této kategorii jsou také silně exprimované geny pro hromadění a katabolismus lipidů. Není překvapením, že byly zjištěny i velmi vysoké hladiny transkriptů pro tvorbu i rozklad škrobu, které se jeví být odpovědné za vytvoření velmi vysokého obsahu škrobu ve zralých turionech i jeho následný rozklad a využití při klíčení a růstu turionů.

● Třetí skupina se účastní obranných reakcí na biotické podněty – bakteriální a hou-

bové patogeny i hmyzí herbivory – a podporuje zvýšenou odolnost turionů proti těmto organismům.

● Čtvrtá skupina silně exprimovaných genů v turionech ve srovnání s rostoucími frondy je dobře známa z vývoje (zrání) a klíčení semen. Některé tyto geny regulují odpověď ABA na zrání a embryogenezi semen, jiné regulují signální dráhy pro ABA a GA při klíčení semen u modelových rostlin, tvorbu slizu v osemení nebo dozrávání endospermu. Do této skupiny patří i dvojice genů pro enzymy štěpící mastné kyseliny a triglyceridy a zabezpečující klíčovými turionům dostatek respiračních substrátů a tím i energie.

Naopak v turionech jako klidových orgánech s malou spotřebou energie byla u závitky zjištěna silně snížená hladina transkriptů spojených s dělením buněk, replikací DNA, tvorbou cytoskeletu, dělením mitochondrií a také s transportem iontů (zejména aniontů a nitrátů) a zpevněním buněčných stěn (suberinem). V neposlední řadě byla zaznamenána podstatně nižší exprese všech zástupců dvou jaderných genových rodin zajišťujících fotosyntézu – pro malou subjednotku klíčového enzymu ribulóza-1,5-bisfosfát-karboxylázy/oxygenázy (RubisCo) a proteiny světlosběrné antény (LHC). Odráží to známou skutečnost, že fotosyntéza turionů závitky je i v laboratorních podmínkách velmi nízká.

Epigenetická regulace zprostředkovaná vratnou metylací cytozinu v DNA je jedním z mechanismů zahrnutých ve vývojových přechodech u živočichů i rostlin. Sledováním metylace cytozinu v celém genomu závitky autoři potvrdili průkazné zvýšení metylace téměř ve všech částech genomu na přechodu od frondů k turionům. Avšak průkazná korelace mezi odlišně exprimovanými geny a úrovní metylace prokázána nebyla. Charakter metylace v turionech byl opět podobný jako během dozrávání a nástupu dormance u semen huseničky (*Arabidopsis*). Soudí se, že metylace pomáhá zajistit, aby genom zůstal inaktivní během období dormance, a také brání možnému poškození DNA v dormantních turionech, které mohou být citlivější v tomto klidovém stadiu, kdy jsou enzymy opravující DNA méně aktivní.

Autoři ve své práci prokázali v dormantních turionech závitky na celogenomové úrovni výrazné změny (zvýšení i snížení) exprese tisíců genů, z nichž mnohé lze jednoduše spojovat se známými morfologickými nebo biochemickými charakteristikami turionů, a tím je vysvětlit na genové úrovni. Nápadné podobnosti v genových expresích v turionech a semenech podávají důkaz, že klíčové regulace pro dozrávání a klíčení semen byly u vodních rostlin přeměrovány pro novou funkci ve vývoji a klíčení turionů.

[New Phytologist 2023, 239: 116–131]

Příspěvek vyšel v Bulletinu České společnosti experimentální biologie rostlin (2023, 1: 21–22). Text v Živě byl redakčně upraven.

Citovanou literaturu uvádíme na webové stránce Živy.