

Vodní režim rostlin

- **Vodní stres**

- Vznik vodního deficitu, adaptace k suchu
- Signály a jejich přenos
- Základní procesy ovlivněné vodním deficitem
- Genová exprese
- Tvorba proteinů
- Osmolyty

Vodní stres

- Vzniká při jakékoli nerovnováze ve vodní bilanci rostlin kdy rychlost transpirace (E) je vyšší než rychlost absorpce (A).
- Gradient vodního potenciálu mezi substrátem a nadzemní částí je nezbytný pro transport vody.
- Transport vody ze zásob a do zásob vyrovnává malé odchylky v A a E.
- Přechodný a trvalý vodní deficit
- Rychlost vzniku
- Pro rostlinu je důležité nejenom přežití stresu a co nejmenší poškození během stresu, ale i rychlá obnova všech procesů při rehydrataci
- Ke stresu dochází také při nadbytku vody

Adaptace rostlin na vodní stres

- 1) *vyhýbání se suchu* - celý cyklus v době dostatku vláhy, opadávání listů v době sucha
- 2) *tolerance sucha* (suchovzdornost) - schopnost snášet vysušení a schopnost oddálit vysušení
- a) tolerance sucha při nízkém vodním potenciálu buněk: přežití při minimálním metabolismu: semena, pyl, poikilohydrické rostliny ("resurrection plants")
- b) tolerance sucha při vysokém vodním potenciálu buněk: různá přizpůsobení zajišťující zachování co nejvyššího obsahu vody: regulace výdeje vody (průduchy, kutikula, trichomy, pohyby listů, tvar a velikost listů, celková listová plocha, $C_3 \rightarrow CAM$), regulace příjmu vody (mohutnost a rozložení kořenového systému, osmotické vyrovnávání), odolnost vůči kavitaci cév, zásoby vody (denní změny objemu stonků, kmenů, plodů)
- co nejmenší poškození malým snížením obsahu vody (např. malá citlivost základních metabolických procesů, tvorba „ochranných látek“ jako jsou karotenoidy, osmolyty, stresové proteiny, antioxidanty)

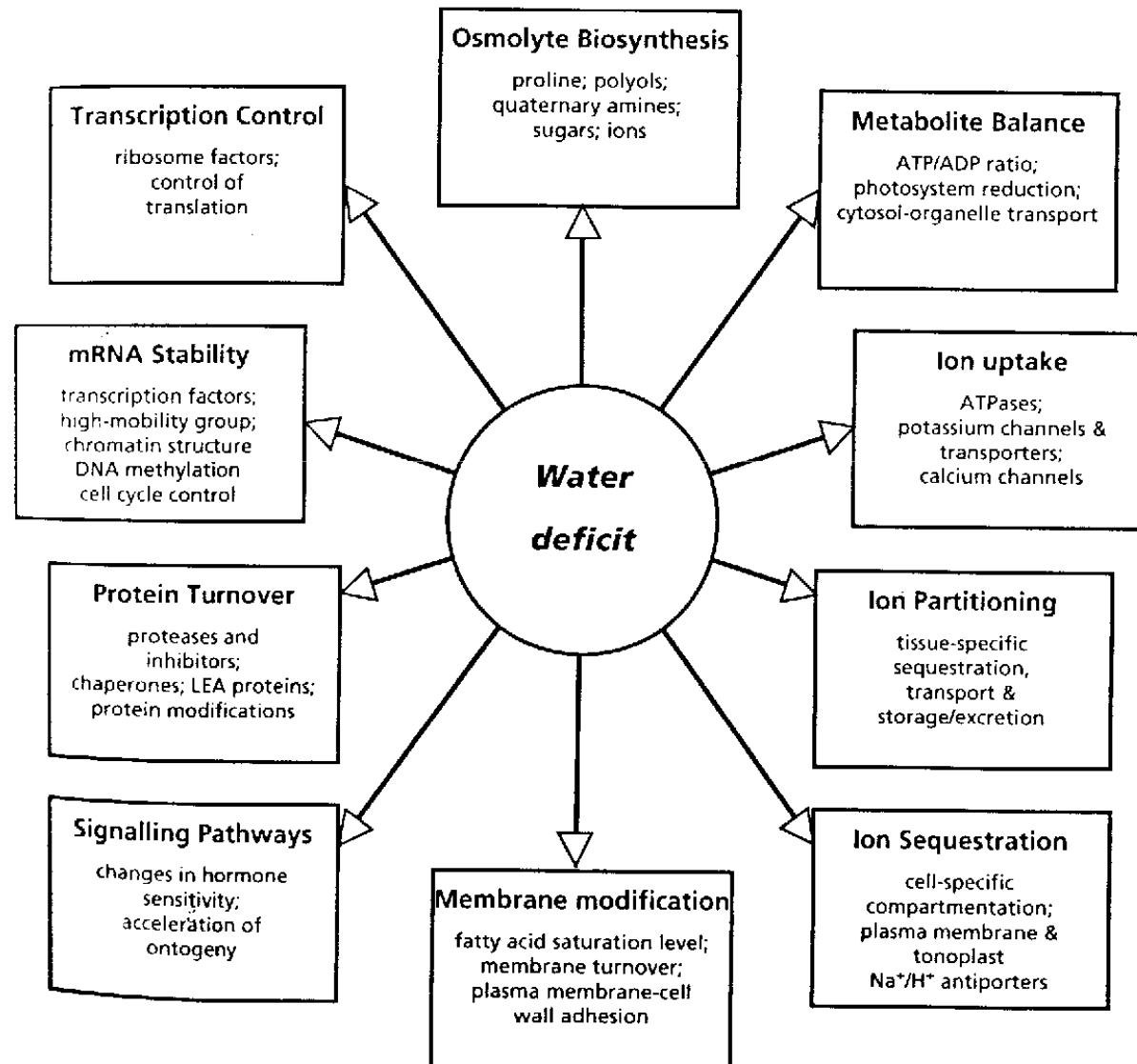
Signály vodního stresu a jejich přenos

- Signálem vodního stresu může být např. snížený obsah vody v buňce, snížený vodní potenciál a jeho komponenty osmotický a tlakový potenciál, zvýšená koncentrace rozpuštěných látek, zmenšený objem buněk, změna napětí na membráně, změna struktury makromolekul v důsledku změny hydratačního obalu, změna v interakci plazmalemy a buněčné stěny
- Receptory vodního deficitu mohou být různé např. pro změnu osmotického potenciálu a pro mechanické změny
- Informace na větší vzdálenost se přenáší jako hydraulické signály nebo jako chemické signály
- Vodní deficit může působit přímo nebo zprostředkovaně

Vodní deficit ovlivňuje téměř všechny pochody v rostlinách a způsobuje např.:

- zpomalení dlouhivého růstu buněk, buněčného dělení a ovlivnění syntézy buněčné stěny
- redukci růstu nadzemních částí rostlin, naopak stimulaci růstu kořenů a tím snížení poměru nadzemní části rostliny ku kořenům
- urychlení stárnutí
- tvorbu stresových proteinů
- hromadění osmoticky aktivních látek v pletivech, především prolinu, glycinbetainu, cukrů a cukerných alkoholů
- tvorbu a odstraňování reaktivních forem kyslíku
- inhibici fotosyntézy, zpomalení translokace asimilátů z listů, redukci respirace
- ovlivnění aktivity enzymů (především pokles aktivity Rubisco, PEPC, a nitrátreduktázy, ale naopak zvýšení aktivity hydroláz a dehydrogenáz)
- změny v biosyntéze a katabolizmu některých fytohormonů vedoucí ke změně jejich obsahu (zejména zvýšení obsahu kyseliny abscisové)
- změny v příjmu a transportu iontů

Vodní deficit



Vodní deficit vznikající v důsledku sucha, zasolení a chladu. Komponenty signální dráhy vedoucí ke změně genové exprese (Xiong *et al.* 2002)

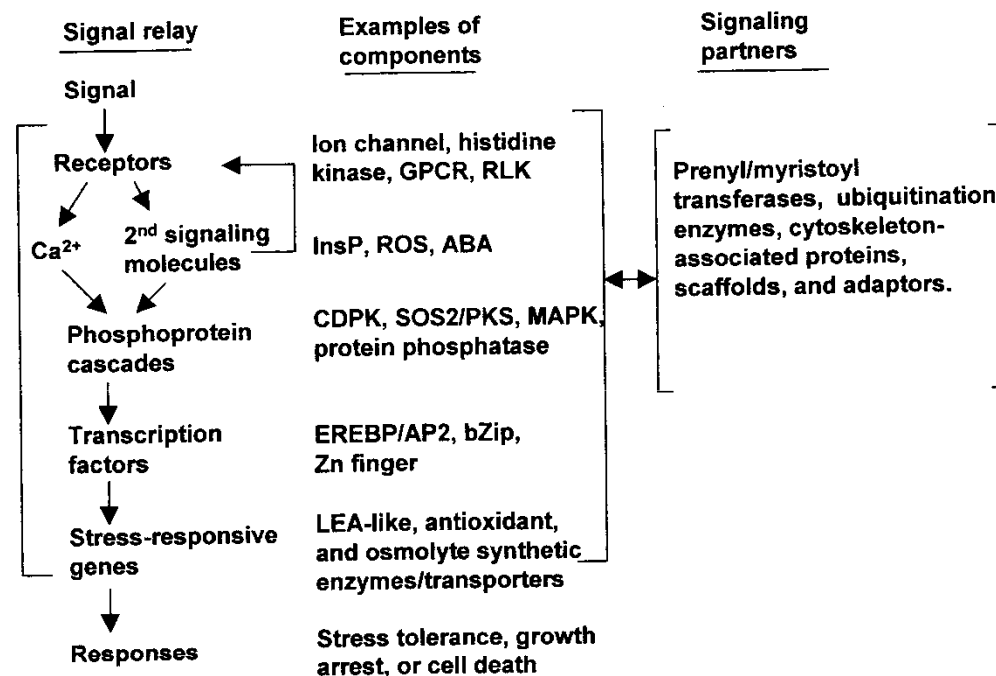


Figure 1. A Generic Pathway for the Transduction of Cold, Drought, and Salt Stress Signals in Plants.

Examples of signaling components in each of the steps are shown (for more detailed information, see Xiong and Zhu, 2001). Secondary signaling molecules can cause receptor-mediated Ca²⁺ release (indicated with a feedback arrow). Examples of signaling partners that modulate the main pathway are also shown. These partners can be regulated by the main pathway. Signaling can also bypass Ca²⁺ or secondary signaling molecules in early signaling steps. GPCR, G-protein coupled receptor; InsP, inositol polyphosphates; RLK, receptor-like kinase. Other abbreviations are given in the text.

Účast ABA v odpovědi rostlin na stres (Nakashima and Yamaguchi-Shinozaki 2006)

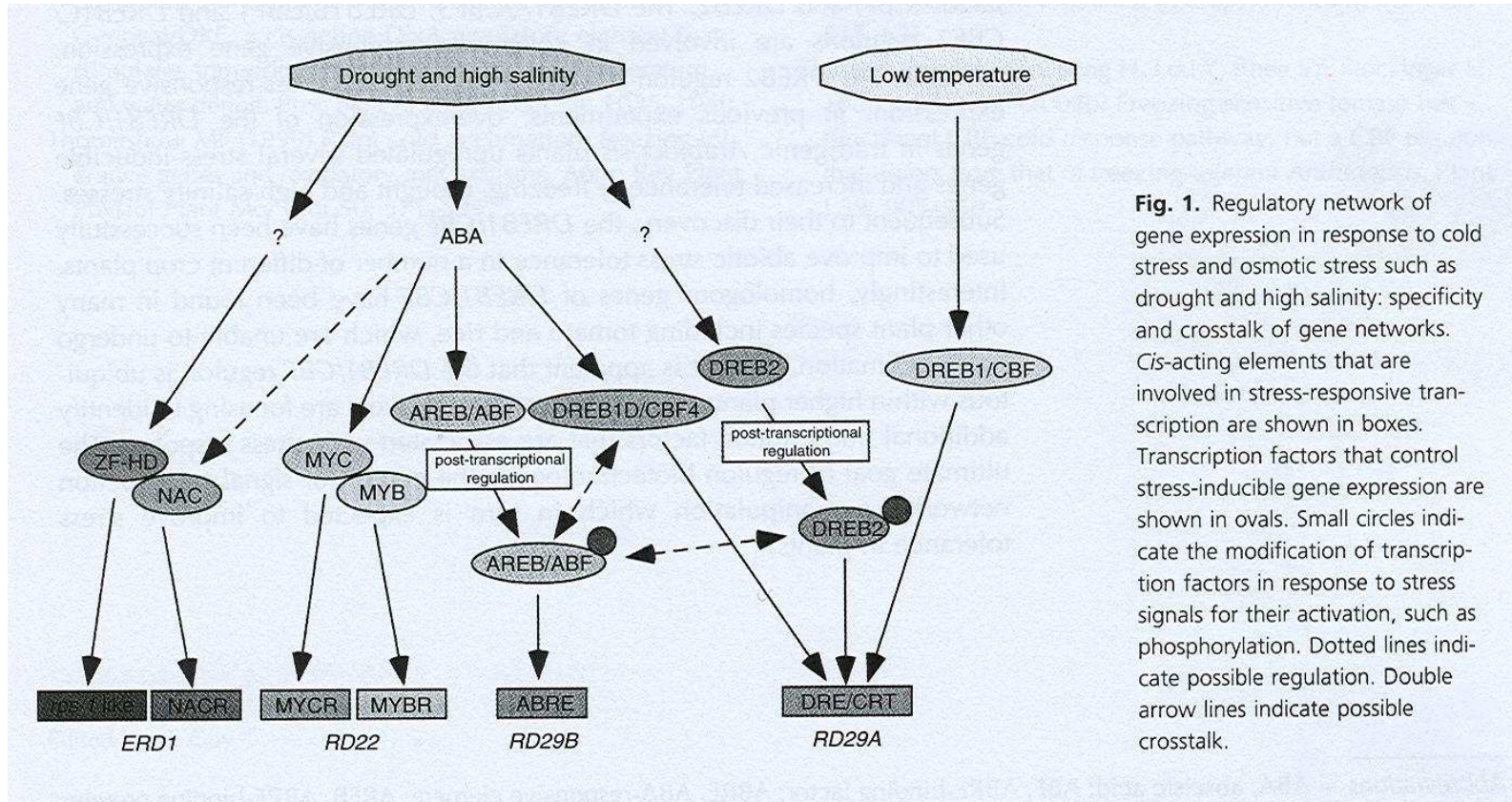


Fig. 1. Regulatory network of gene expression in response to cold stress and osmotic stress such as drought and high salinity: specificity and crosstalk of gene networks. *Cis*-acting elements that are involved in stress-responsive transcription are shown in boxes. Transcription factors that control stress-inducible gene expression are shown in ovals. Small circles indicate the modification of transcription factors in response to stress signals for their activation, such as phosphorylation. Dotted lines indicate possible regulation. Double arrow lines indicate possible crosstalk.

Účast ABA v odpovědi rostlin na stres

(PYL – pyrabactin-like proteins, RCAR – regulatory component of ABA receptor, TRP – tryptophan, ABI1 – negative regulator of ABA action; Raghavendra *et al.* 2011)

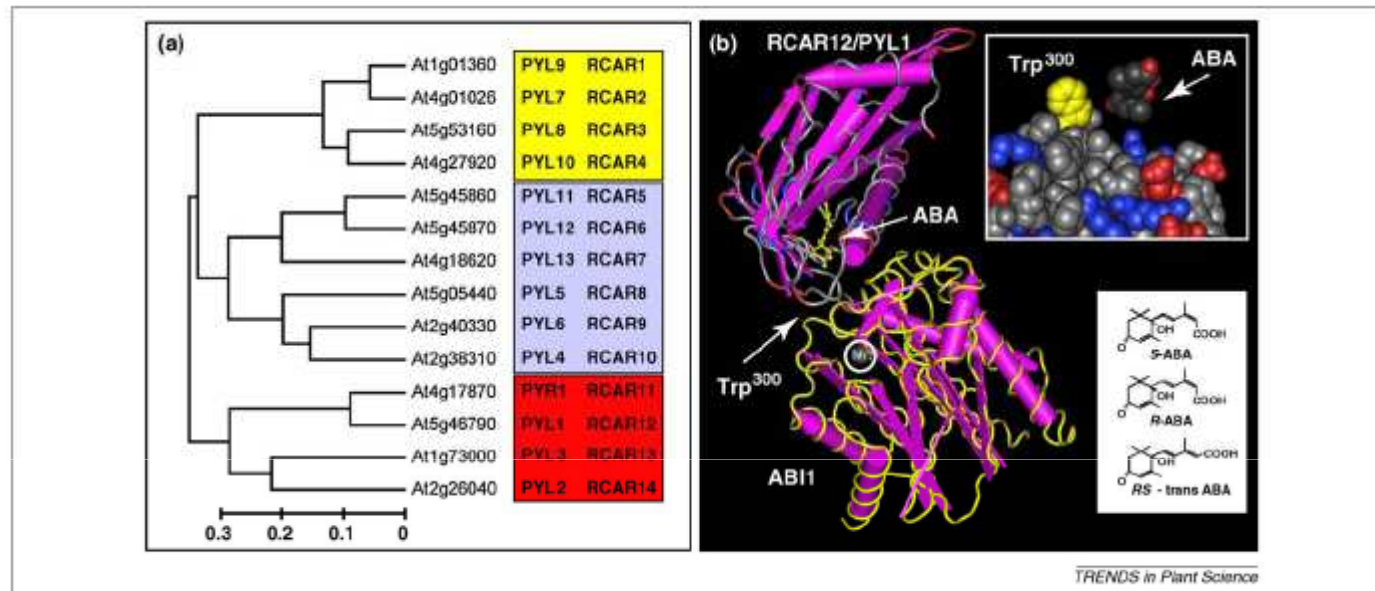


Figure 1. The ABA binding RCAR/PYL1/PYL proteins. (a) Phylogenetic tree of ABA binding proteins from *Arabidopsis*. The proteins can be grouped into three subfamilies I, II and III highlighted in yellow, blue and red, respectively. The RCAR and PYL1/PYL numbering is given as well as the gene numbers. (b) ABA binding by the heteromeric RCAR12/ABI1 complex based on the crystal structure provided in [48]. The ABI1 protein is highlighted by a yellow backbone indicating the peptide linkages. A short and long arrow denotes the RCAR-bound ABA molecule and Trp³⁰⁰ of ABI1, respectively. A white circle highlights a manganese ion bound to the active site of the PP2C. The RCAR protein obstructs the active site of the PP2C thereby inactivating ABI1. The secondary domains of α -helices and β -sheets are presented as pointed cylinders and flat arrows, respectively. Upper inset: space filling presentation of the ABI1 surface in the vicinity of ABA bound to RCAR (RCAR residues are not shown). The Trp³⁰⁰ (indicated in yellow) is close to the ABA molecule (oxygen atoms are shown in red) and interacts with ABA via a water molecule (not shown). Basic and acidic amino acid residues of ABI1 are denoted by blue and red, respectively. Lower inset: chemical structure of the physiologically active (*S*)-ABA as well as of the ABA isomers (*R*)-ABA, in which the orientation of the OH group in space is opposite to the orientation it holds in (*S*)-ABA, and (*R,S*)-trans-ABA.

Účast ABA v odpovědi rostlin na stres (Raghavendra *et al.* 2011)

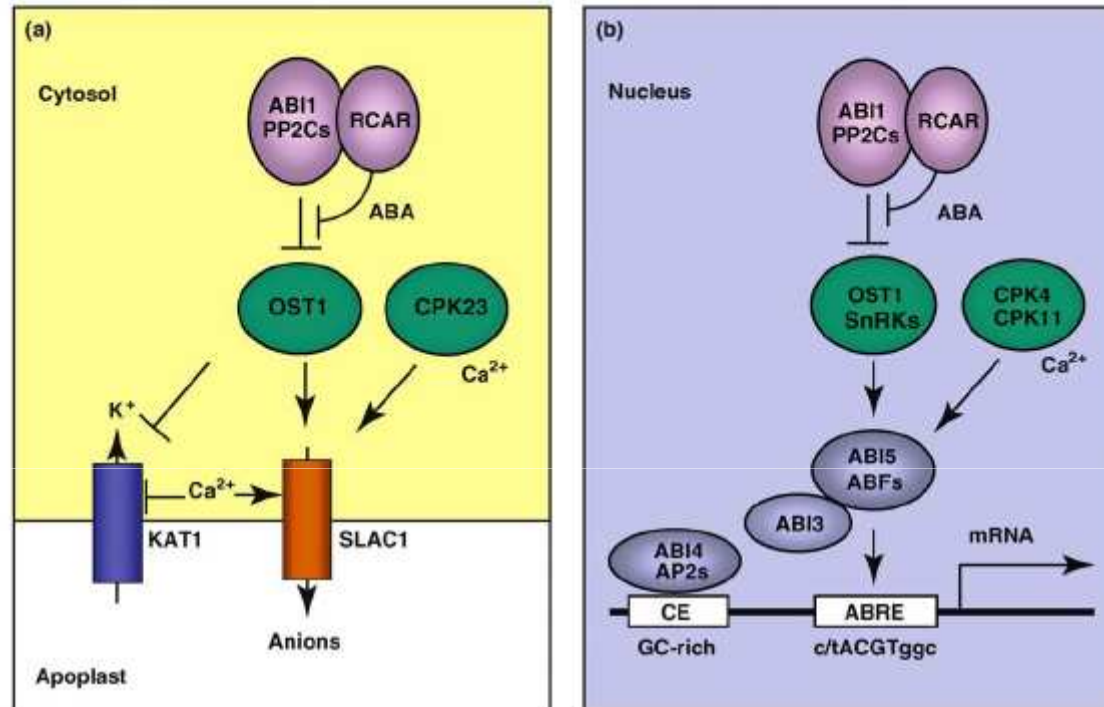
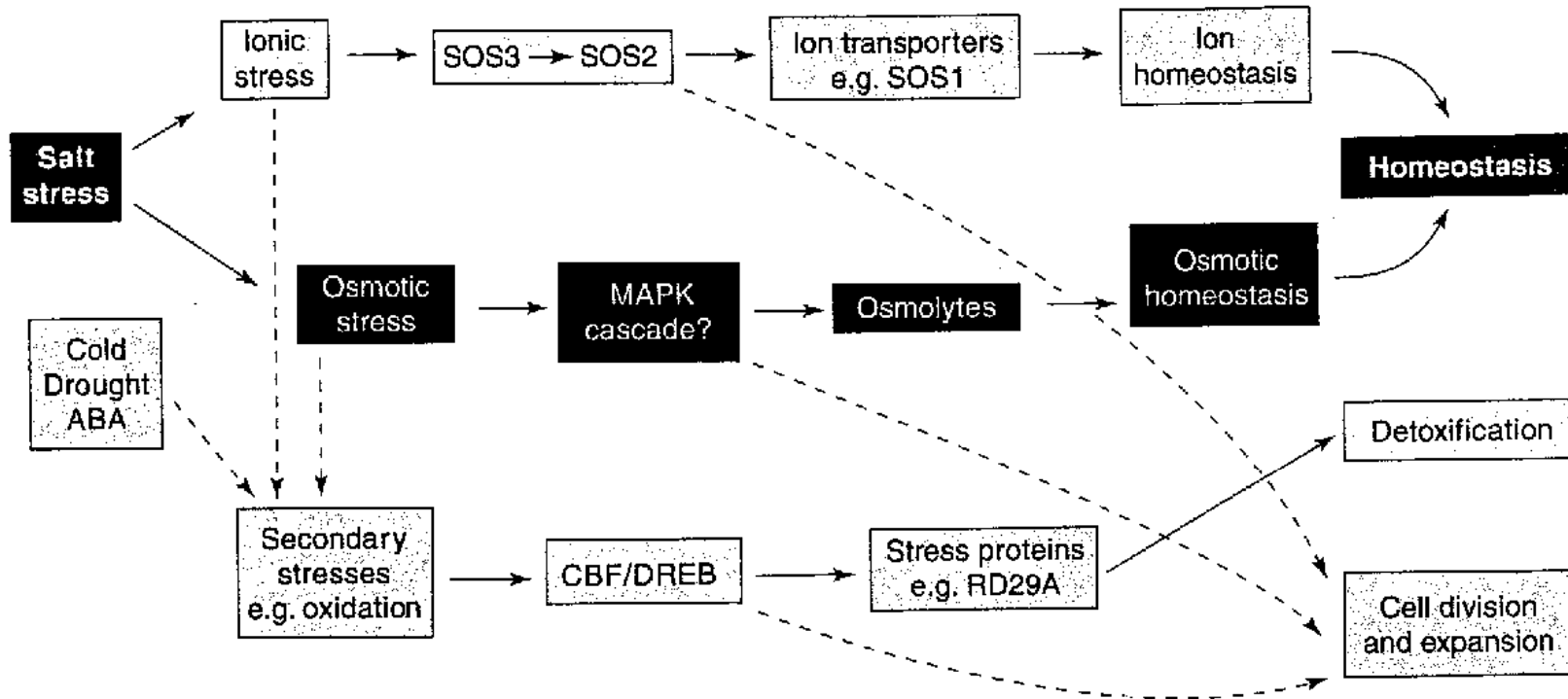


Figure 2. ABA signalling to ion channels and to the nucleus. The ABA receptor is formed by the heteromeric complex of a PP2C such as ABI1 and an ABA-binding RCAR member (both highlighted in pink). The receptor complex controls ABA signalling and is present in (a) the cytosol and (b) the nucleus. The phosphatase activity of the PP2C inhibits the action of the protein kinases (presented in green) OST1 and related SnRKs, and possibly of Ca²⁺-dependent CPKs such as CPK23. In the presence of ABA, the phosphatase activity of the receptor is blocked. As a consequence, the protein kinases are released from inhibition and directly phosphorylate and regulate key targets of the ABA signalling pathway. In guard cells, key targets are the ion channels SLAC1 and KAT1, which are activated and inhibited by OST1 action, respectively. In the nucleus, key targets are the basic leucine zipper transcription factor ABI5 and related ABFs. Phosphorylated ABFs bind as dimers to the ABA-responsive cis-element (ABRE, see Glossary) and, in concert with other transcriptional regulators, provide the ABA-responsive transcription (components are presented in steel blue). ABI3 binds to ABI5 and enhances its action, whereas ABI4 and related AP2-type transcription factors target a GC-rich coupling element (CE) for optimal regulation of ABA-dependent gene expression.

Zasolení: osmotický stres a iontově specifický stres



Změny v expresi genů v důsledku sucha, zasolení a chladu (Seki *et al.* 2002)

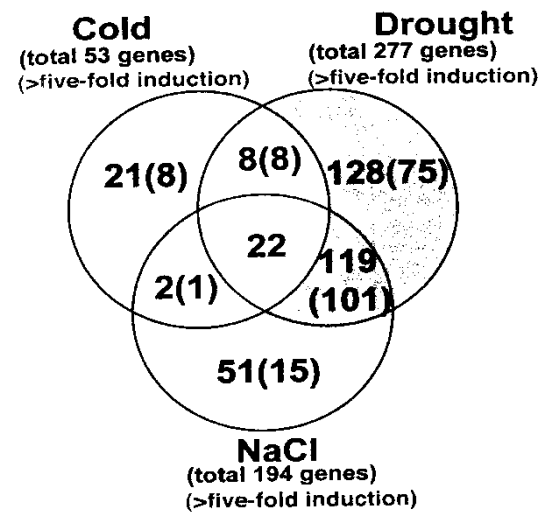


Figure 1. Classification of the drought, cold or high-salinity stress-inducible genes identified on the basis of microarray analyses. In total, 277 drought-inducible, 53 cold-inducible and 194 high-salinity stress-inducible genes were identified by cDNA microarray analysis. The drought, cold or high-salinity stress-inducible genes identified were grouped into the following seven groups: (1) highly cold-stress-inducible; (2) highly drought-stress-inducible; (3) highly high-salinity-stress-inducible; (4) drought, cold and high-salinity stress-inducible; (5) genes that were highly induced by drought and high-salinity stress; (6) genes that were highly induced by drought and cold stress; (7) genes that were highly induced by cold and high-salinity stress. The number of genes whose expression ratio is more than fivefold for each stress treatment and less than fivefold for the other stress treatments is indicated. Numbers in parentheses represent the number of genes whose expression ratio is more than fivefold for each stress treatment and less than threefold for the other stress treatments. A list of the genes is available as supplementary material (Tables S1 and S2).

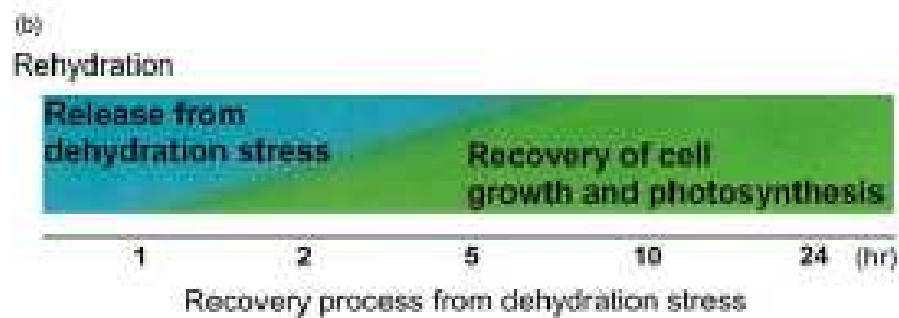
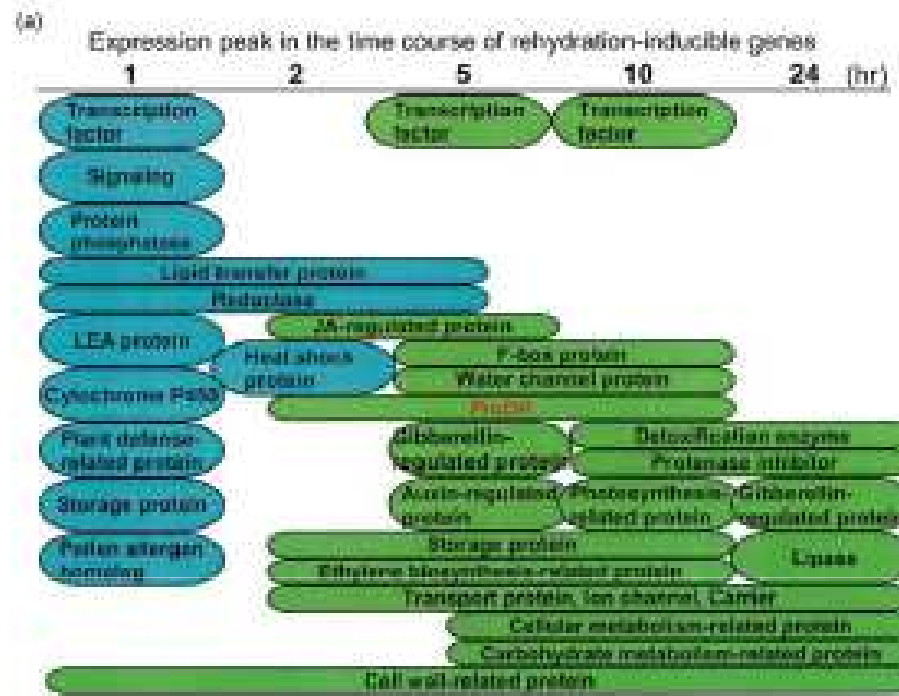
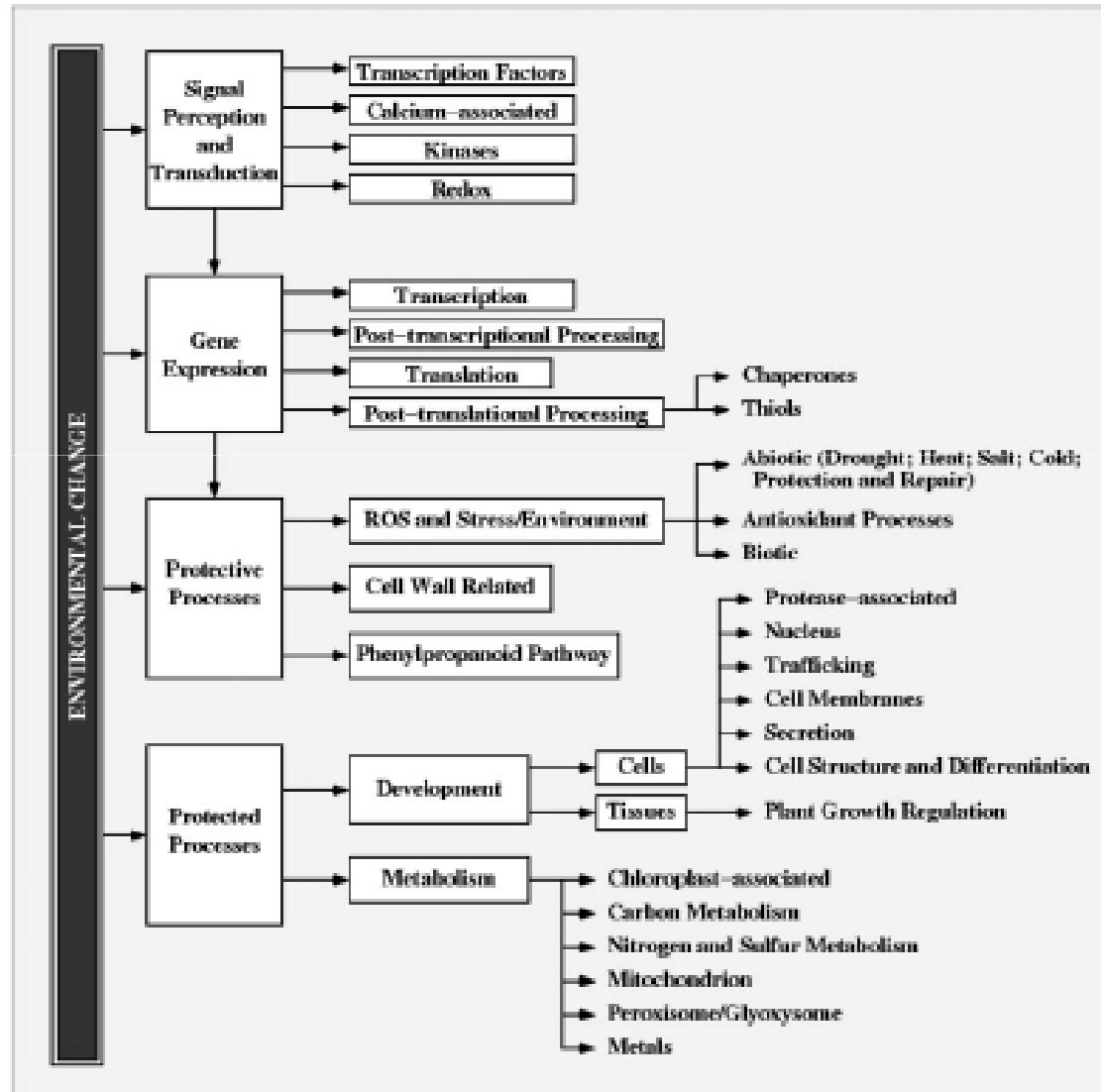


Figure 7. Diagrammatic summary of time course of changes in expression peak of the rehydration-inducible genes whose expression levels are increased during the rehydration process in *Arabidopsis*.

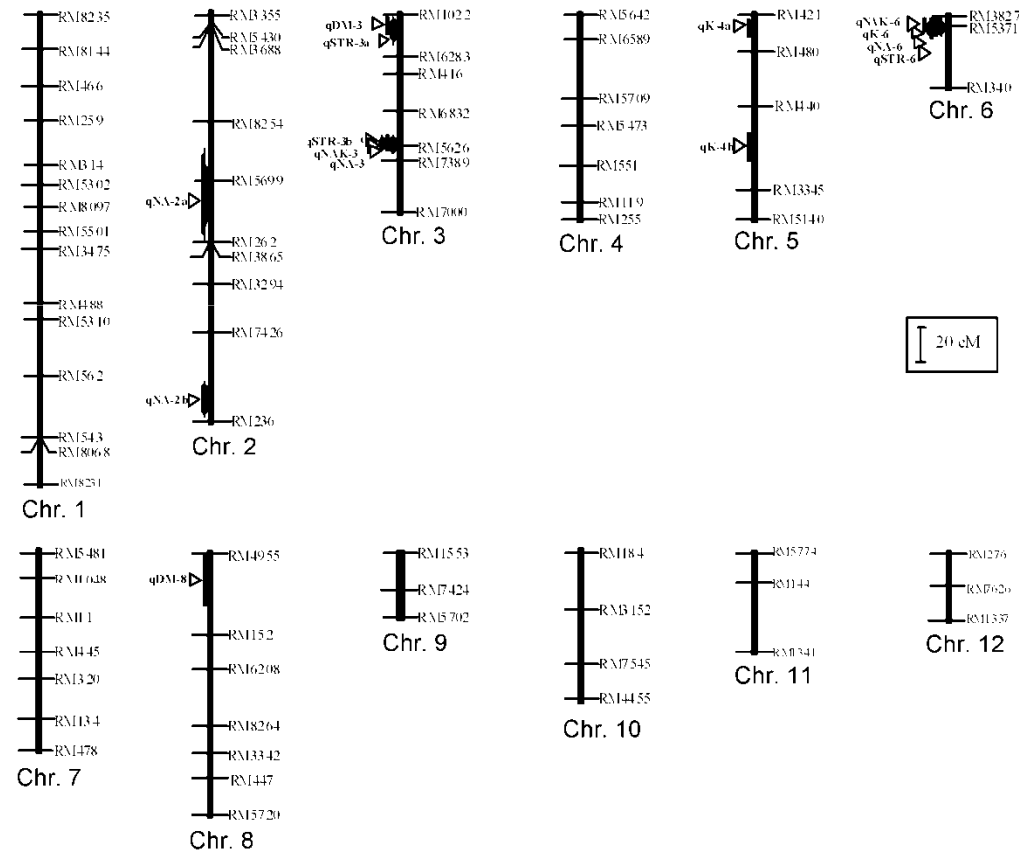
(a) The functional categories of the rehydration-inducible genes identified are shown with the passage of time (0, 2, 5, 10, and 24 h after rehydration treatment). The rehydration-inducible genes were also classified into two groups: (i) genes (blue) whose gene expression was rapid and reached a maximum at 1 or 2 h after rehydration treatments; and (ii) genes (green) whose gene expression increased after rehydration treatment and reached a maximum at 5, 10, or 24 h.

(b) The recovery from dehydration includes two steps. In the early process of rehydration from dehydration, rapidly expressed genes are thought to function in the release of cells from dehydration stress. In the later slow recovery process from dehydration, rehydration-inducible gene products may function in cell growth and photosynthesis.

Vodní deficit indukuje změny genové exprese vedoucí k přizpůsobení rostlin
 (Watkinson *et al.* 2003)



Genetic linkage map showing the location of quantitative trait loci (QTLs) for standard tolerance ranking (STR) under salt stress in rice hybrid seedlings. The markers are signed *on the right side* of the chromosomes. *On the left*, the QTLs detected by composite interval mapping analysis are indicated. Abbreviations for the QTLs: qNA - Na⁺ content, qK - K⁺ content, qNA/K - Na⁺/ K⁺ ratio and qDM - dry matter of shoot. (Sabouri *et al.* 2009)



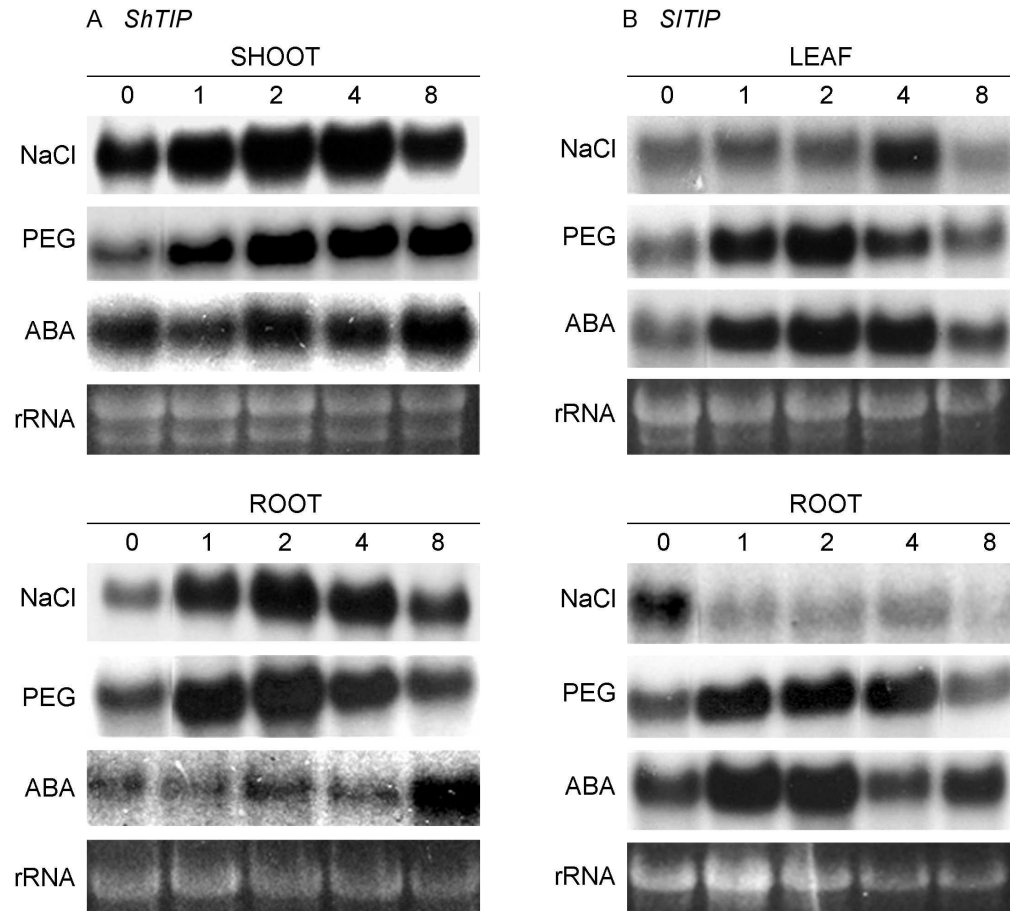
Vodní stres a syntéza proteinů

1) Inhibice syntézy některých proteinů

2) Zvýšení syntézy jiných proteinů a syntéza specifických stresových proteinů

- A) proteiny zapojené v regulaci přenosu signálu a genové exprese, které pravděpodobně fungují při odezvě na stres (regulační proteiny), např. transkripční faktory (MYC, MYB), proteinkinázy (MAPK), enzymy metabolismu fosfolipidů (fosfolipáza c, d)
- B) proteiny působící při toleranci stresu. Jsou to různé membránové proteiny (proteiny vodních a iontových kanálů), ochranné faktory makromolekul (chaperony, LEA proteiny), syntázy osmoprotektantů, stresové proteiny lokalizované v chloroplastech, specifické inhibitory proteolytické aktivity která vede k programované buněčné smrti, antioxidanty, antioxidační enzymy, proteiny účastnící se reparačních mechanismů

Změny v expresi genů TIP proteinů *ShTIP* a *SITIP* (Ermawati *et al.* 2009)



The effects of NaCl, PEG or ABA on the expression of *ShTIP* (A) and *SITIP* (B) in the roots and shoots or leaves of *Salicornia* and *Arabidopsis*. Four-week-old seedlings of *Salicornia* and *Arabidopsis* were treated with 0.3 M NaCl, 15 % PEG or 100 μ M ABA for the 0 to 8 d. Total RNA was extracted from the roots and shoots of *Salicornia* and the roots and leaves of *Arabidopsis*. Aliquots (15 μ g) of total RNA were subjected to Northern blot analyses. The lower panel shows ethidium bromide stained rRNA to determine the loading of equal amounts of RNA.

Osmotické vyrovnávání

Osmotické vyrovnávání (“osmotic adjustment”) - při snižování vodního potenciálu dochází k snižování osmotického potenciálu příjmem iontů (hlavně do vakuoly) nebo produkcí či transportem osmoticky aktivních organických látek (v cytoplazmě) a nikoli ke snižování tlakového potenciálu.

Elastické vyrovnávání (“elastic adjustment”) - tlakový potenciál zůstává zachován díky změně elasticity buněčných stěn.

Nejdůležitější osmolyty: prolin, glycinbetain, cukerné alkoholy (glycerol, manitol, sorbitol, pinitol), cukry (sacharóza, trehalóza, fruktany), polyaminy (spermin, spermidin, putrescin)

Význam nejen jako osmotika, ale též pro stabilizaci proteinů a membrán, vyrovnávání redox potenciálu, iontovou rovnováhu, odstraňování ROS (např. přebytečný NADPH⁺ je spotřebován v cyklu syntézy prolinu), zdroj C a N pro obnovu

U různých druhů rostlin různé osmolyty, množství určitého osmolytu nemusí být v přímé souvislosti s tolerancí vůči suchu.

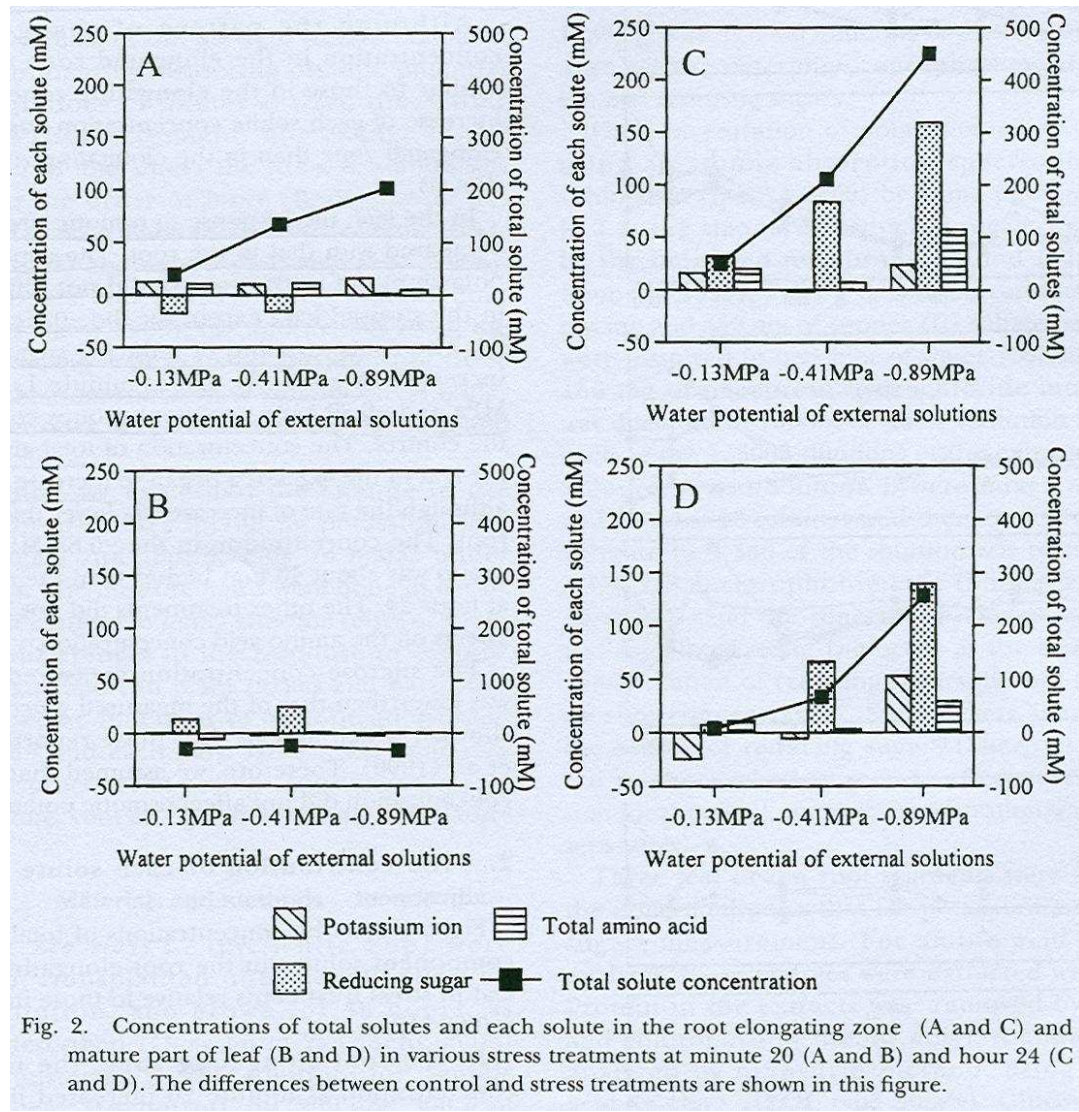


Fig. 2. Concentrations of total solutes and each solute in the root elongating zone (A and C) and mature part of leaf (B and D) in various stress treatments at minute 20 (A and B) and hour 24 (C and D). The differences between control and stress treatments are shown in this figure.

Syntéza a degradace prolinu a možné regulace

L-Glu - L-glutamát, GSA - γ -glutamyl semialdehyd, P5C - Δ -pyrolin-5-carboxylová kyselina, P5CS - P5C syntetáza, P5CR - P5C reduktáza, ProDH - prolin dehydrogenáza, L-Pro - prolin

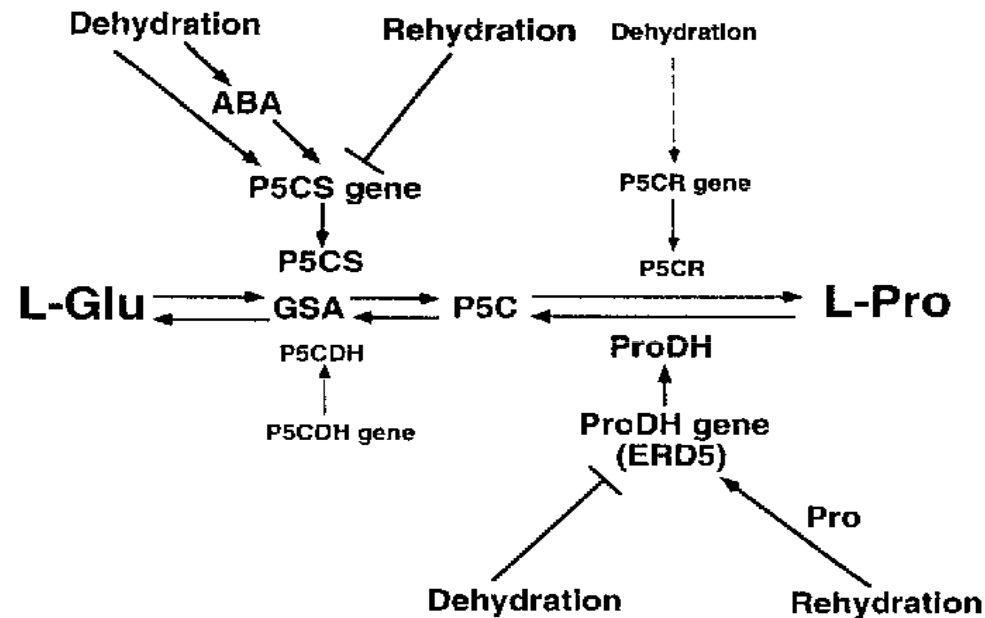
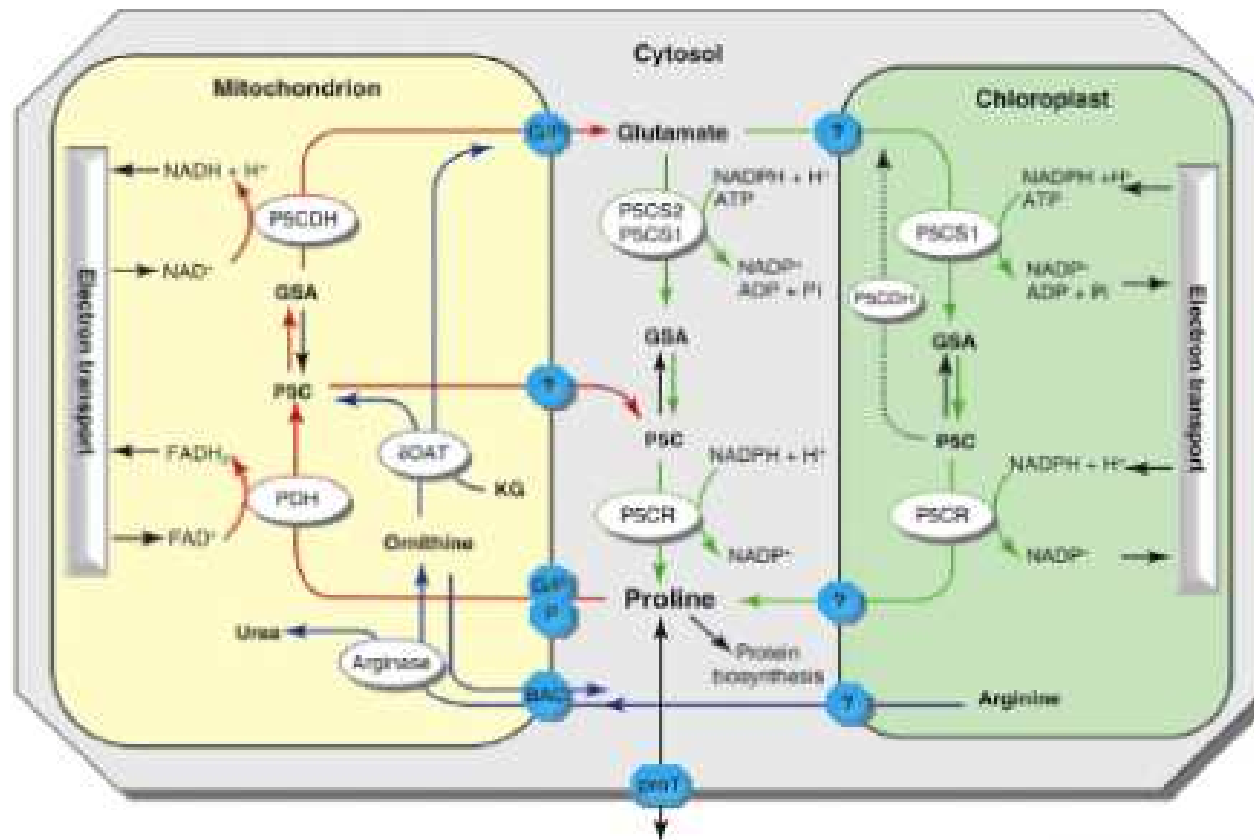


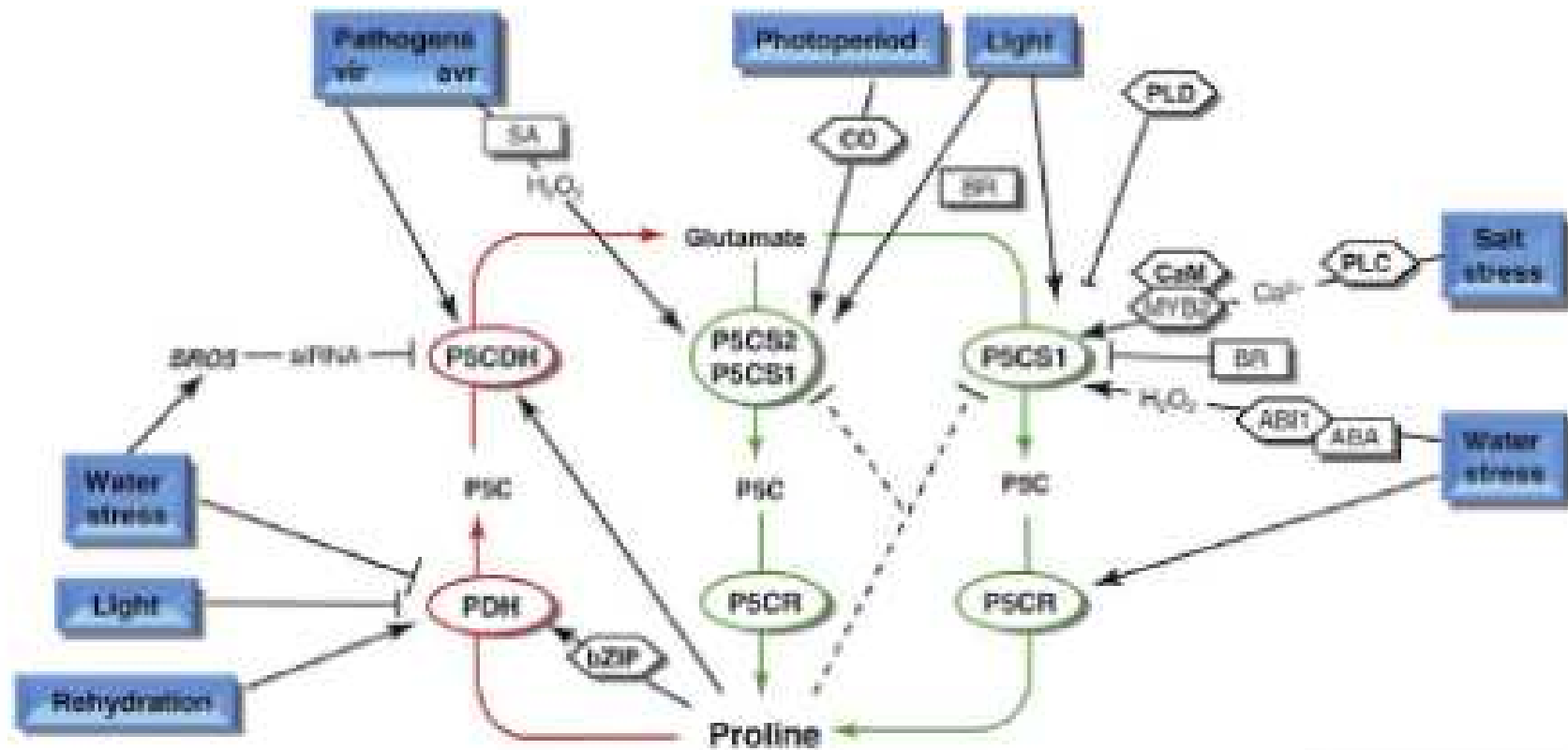
Figure 5. Regulation of genes for P5CS and proline dehydrogenase under dehydration and rehydration conditions in Arabidopsis. The *P5CS* gene is induced by dehydration and ABA, but repressed by rehydration. In contrast, the *ERD5* gene encoding proline dehydrogenase (ProDH) is induced by rehydration, but repressed by dehydration. The *ERD5* gene is induced by proline during rehydration.

Model syntézy a degradace prolinu (Szabados and Savouré 2010)

GSA - γ -glutamyl semialdehyd, P5C - Δ -pyrolin-5-carboxylová kyselina, P5CS - P5C syntetáza, P5CR - P5C reduktáza, PDH - prolin dehydrogenáza



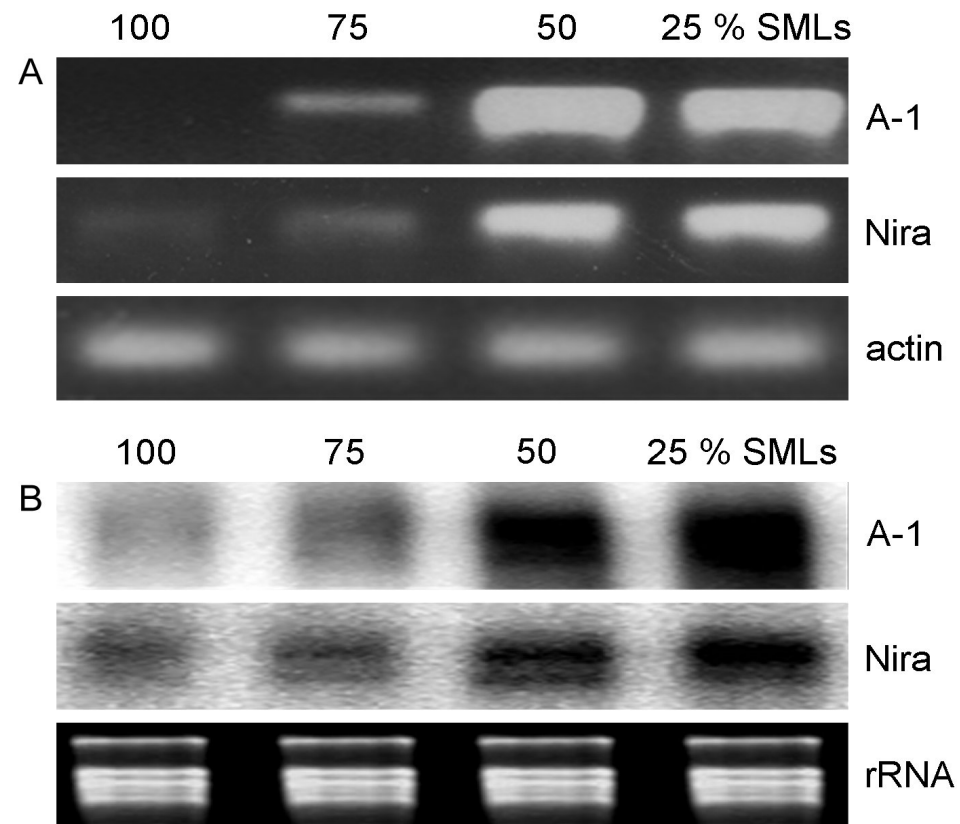
Model regulate metabolismu prolinu (Szabados and Saviouré 2010)



Zvýšení exprese genu *Ctp5cs* indukované vodním stresem u *Carthamus tinctorius*.

A - exprese *Ctp5cs* při různé vlhkosti půdy. B - Northern blot.

(Thippeswamy *et al.* 2010)



Syntéza a degradace prolinu při zasolení a následné regeneraci

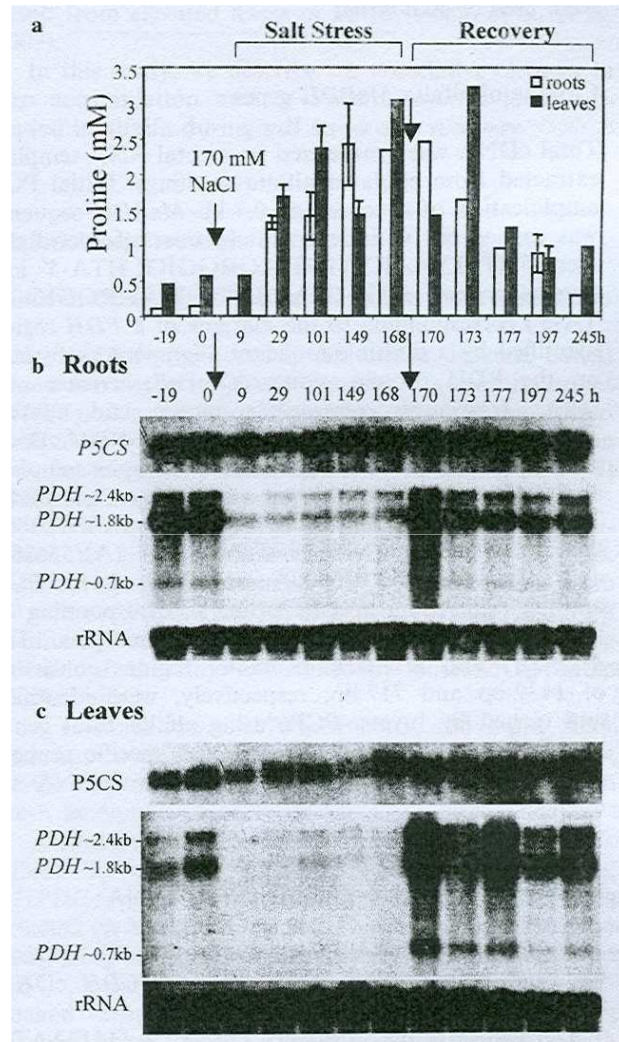


Fig. 1 Estimation of proline content, *MsP5CS* and *MsPDH* transcript levels during salt stress and recovery. Three-week-old hydroponically grown alfalfa plants were exposed to 170 mM NaCl for 7 days and thereafter recovered in a fresh medium. **a** Pro content in roots (*open boxes*) and leaves (*grey boxes*). *Bars* indicate standard deviation of three replicates. **b** and **c** Northern blot analyses of *MsP5CS* and *MsPDH* steady state transcript levels during stress and recovery in roots (**b**) and leaves (**c**). The 2.6 kb full-length *MsPDH1* gene and 2.6 kb *MsP5CS1* cDNA were used as probes that recognize either the two *MsPDHs* or two *MsP5CS* genes, respectively. A tomato 26S ribosomal DNA fragment was used as a control probe for normalizing RNA loading

Syntéza glycinebetainu a akumulace ostatních osmoprotektantů

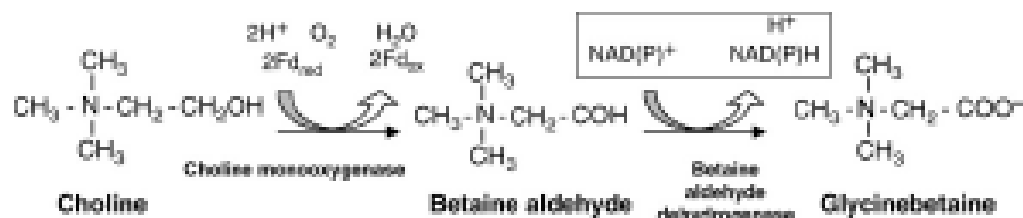


Fig. 1. Biosynthetic pathway of glycine betaine in higher plants.

- Syntéza glycinbetainu ve stromatu chloroplastů oxidací cholinu ve dvou krocích (přes nestabilní meziproduct betainaldehyd)
- Akumulace mono- a di-sacharidů, inhibice tvorby škrobu z nově vytvořených fotosyntátů nebo rozkladem stávajícího škrobu, inhibice využití cukrů v respiraci
- Cukry – nejen jako osmotikum, ale též součást systému regulace genové exprese

Stresem indukovaná syntéza prolinu a glycinbetainu a její závislost na vápníku

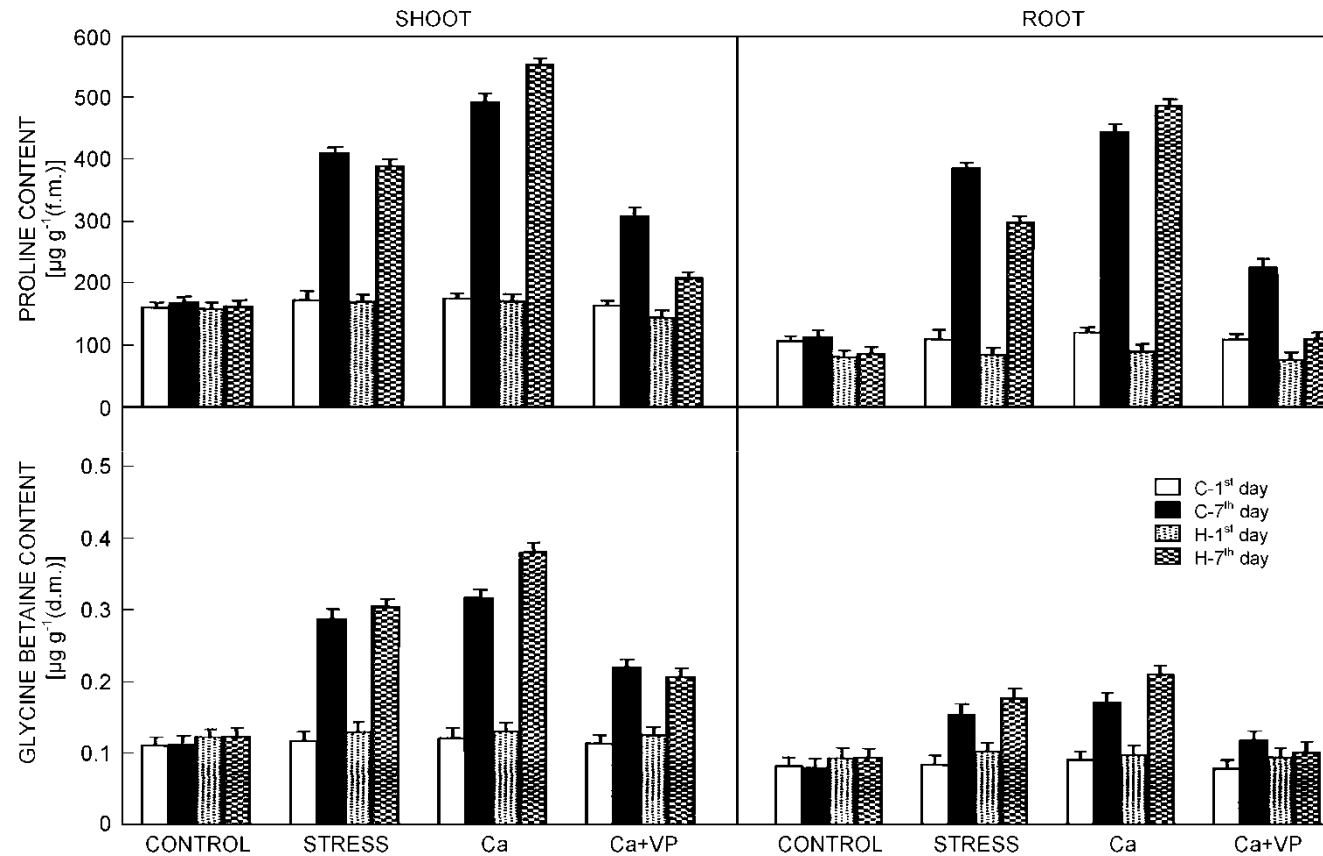


Fig. 1. Effect of water stress, 1 mM calcium chloride (Ca) and 0.5 mM calcium channel blocker verapamil (VP) on proline and glycine betaine content in shoots and roots at 1st and 7th day of stress in C306 (C) and HD2329 (H) wheat genotypes. 15-d-old plants were subjected to PEG-6000 of -1.0 MPa for 7 d and the observations were recorded during stress period. Means \pm SE of three different samples are represented by vertical bars. (Nayyar 2003)