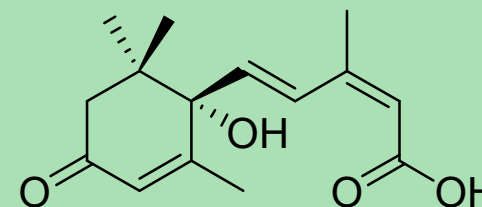


## 5) Úloha kyseliny abscisové (ABA) ve vývoji a růstu rostlin. Receptory a signální dráhy kyseliny abscisové.

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



Update 2022

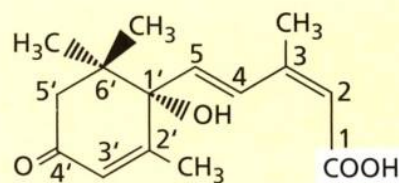
Kishor et al. (2022) TIPS: DOI: [10.1016/j.tplants.2022.08.013](https://doi.org/10.1016/j.tplants.2022.08.013)

Poslední review o úloze ABA v růstu a vývoji rostlin

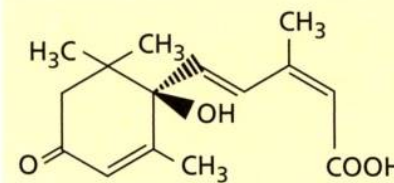
Martin Fellner

Laboratoř růstových regulátorů  
PřF UP v Olomouci a ÚEB AVČR

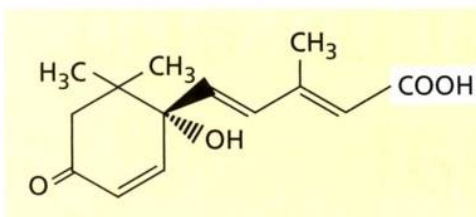
- Kyselina abscisová (ABA) (dříve zvaná abscisin II nebo dormin) je inhibiční fytohormon. Zpomaluje růst rostlin, připravuje rostlinu na období vegetačního klidu. Strukturně patří mezi seskviterpeny.
- ABA má řadu isomerů – aktivní a přírodní je pouze *S*-(*cis*)-forma



**(*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

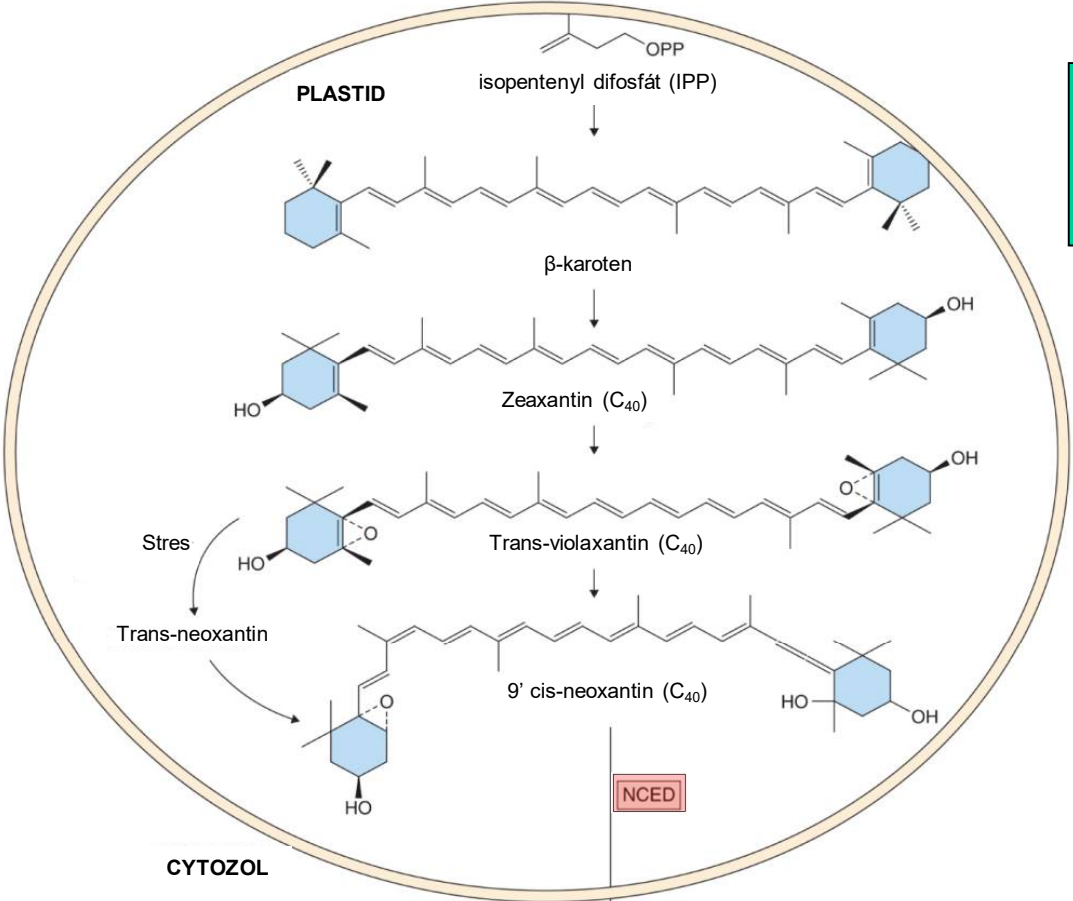
**1963 - Frederick Addicott – hledání látek odpovědných za opadávání plodů bavlníku - *abscisin I* a *abscisin II* (dnes ABA)**

**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**

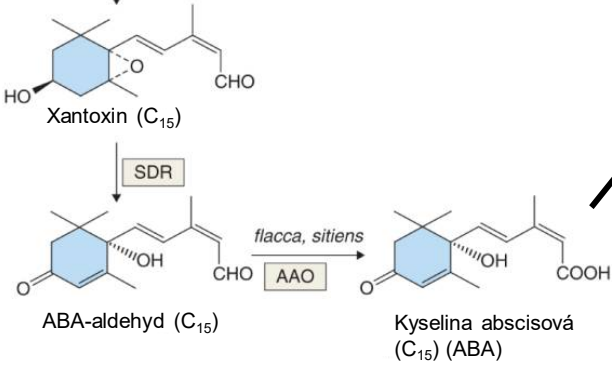
## b) Biosyntéza a metabolismus ABA



**NCED - 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase**

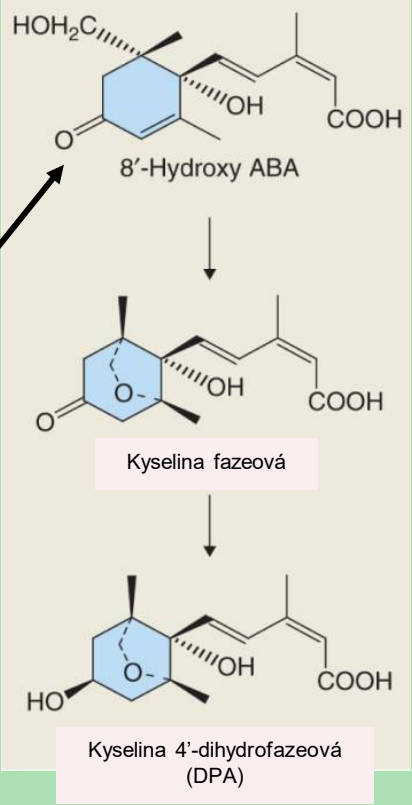
**SDR** – short chain dehydrogenáza/reduktáza

**AAO** – ABA oxidáza



**Inaktivace ABA oxidativními procesy**

**Enzym CYP707A (cytochrom P450)**



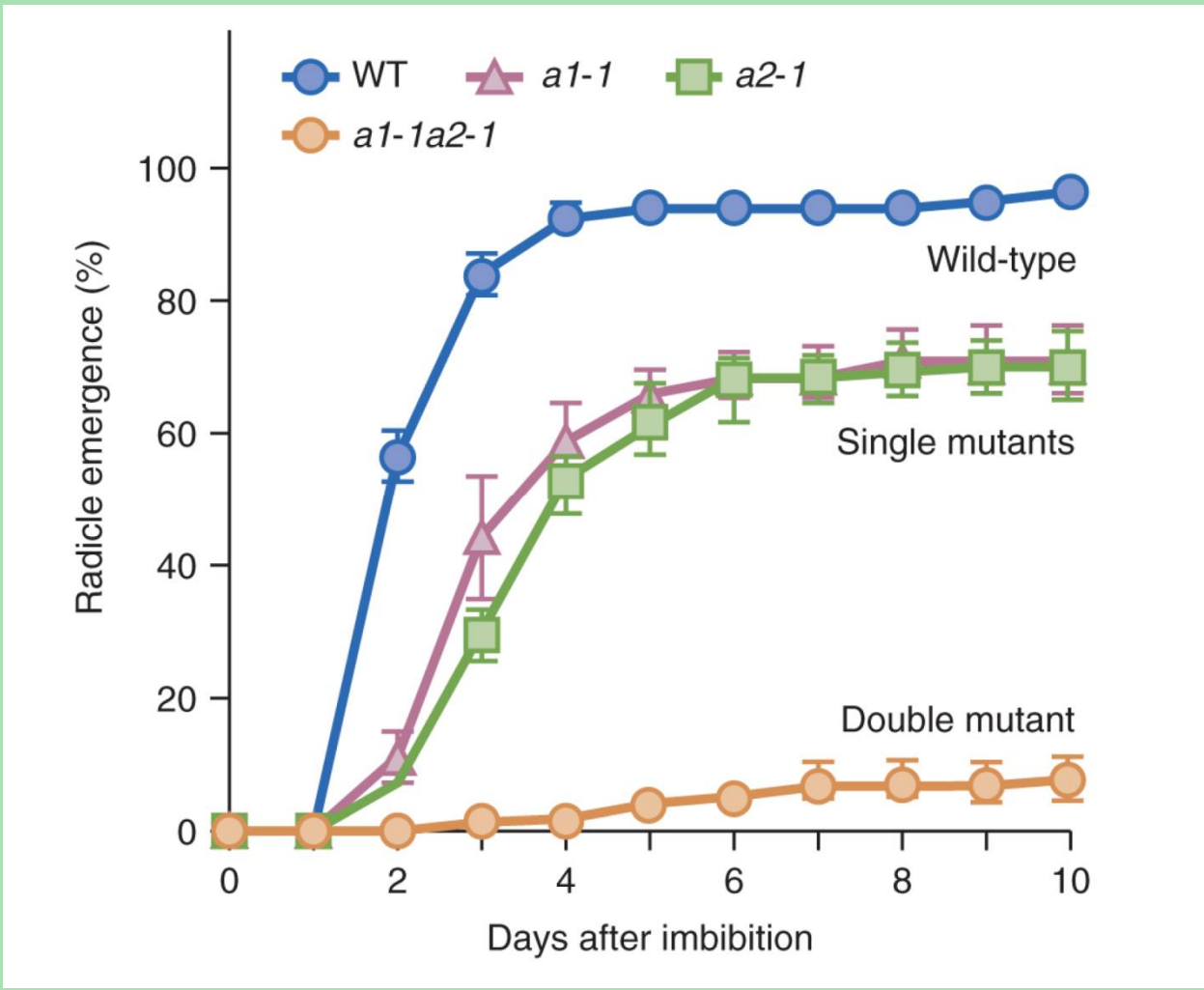
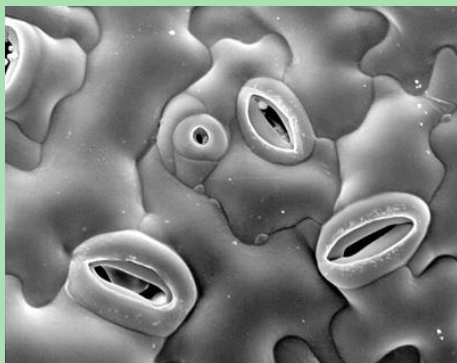


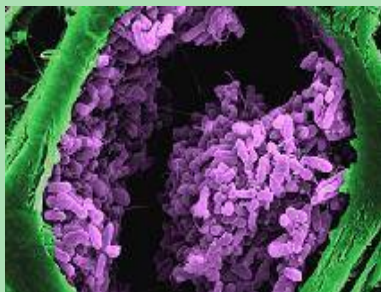
Figure 10.35

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



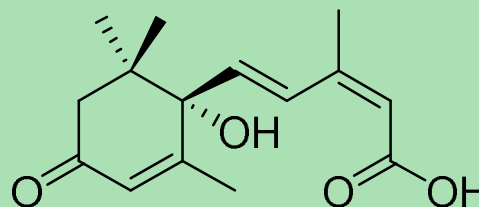
Biotické stresy



Dormance semen



Klíčení semen



Abiotické stresy



Růst a vývoj

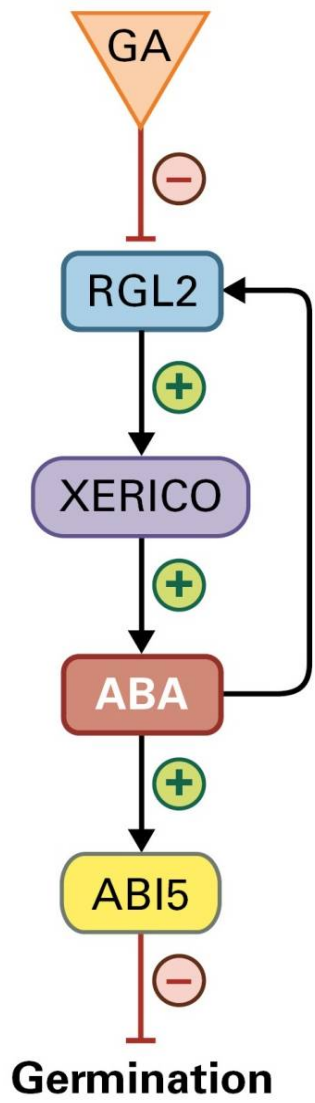
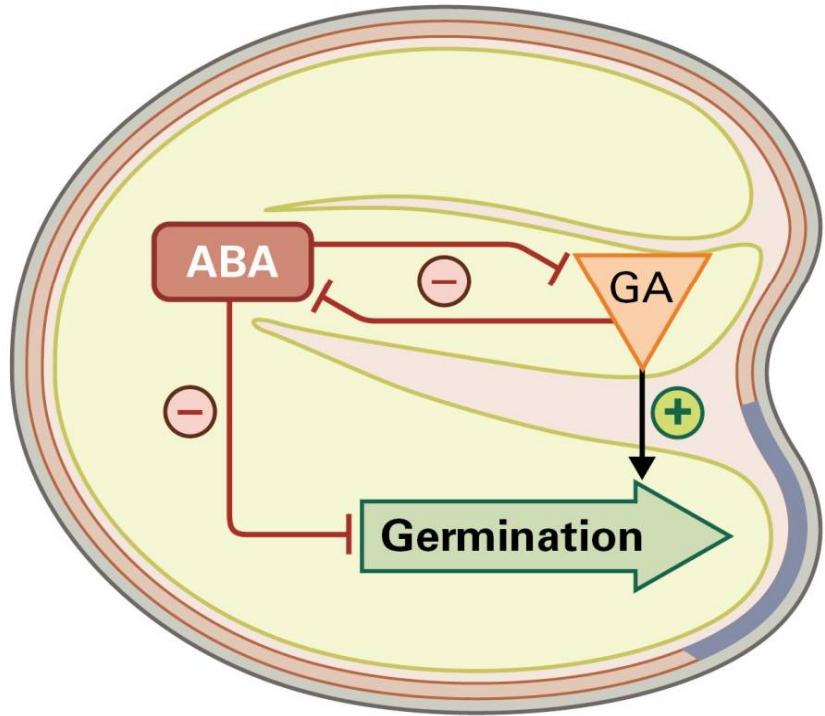


## ABA inhibuje předčasné klíčení - viviparii



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**



## **Dormance semen**

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

**2 typy semenné dormance:**

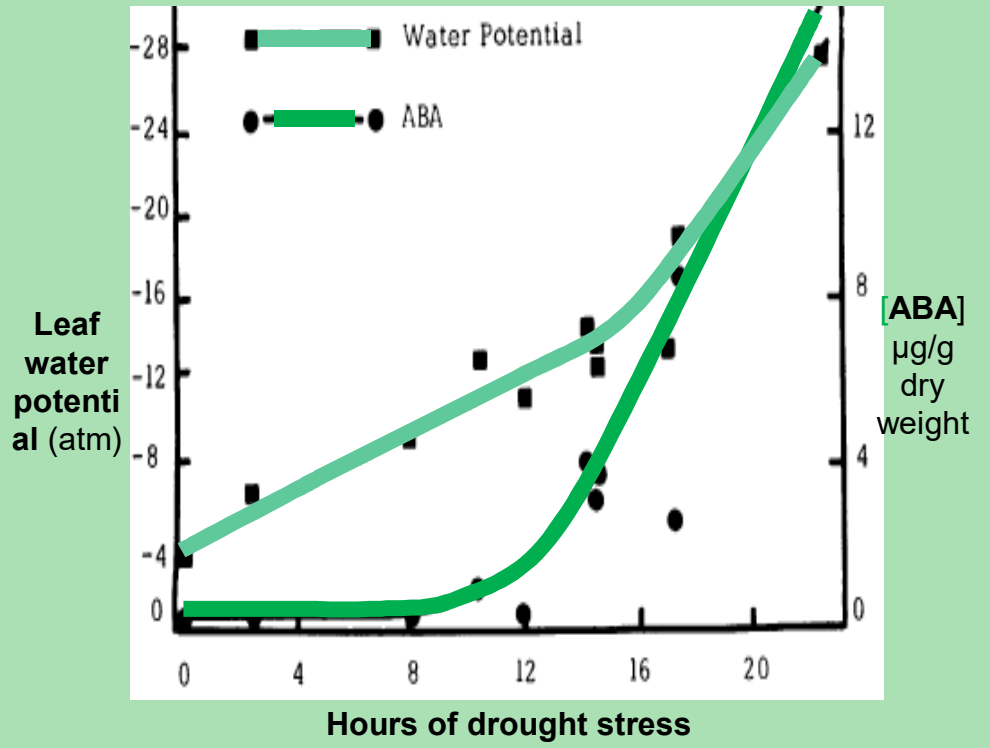
**a) embryo dormance – řízena ABA z děloh (líška, jasan, broskev), po odstranění kotyledonů normální růst**

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

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

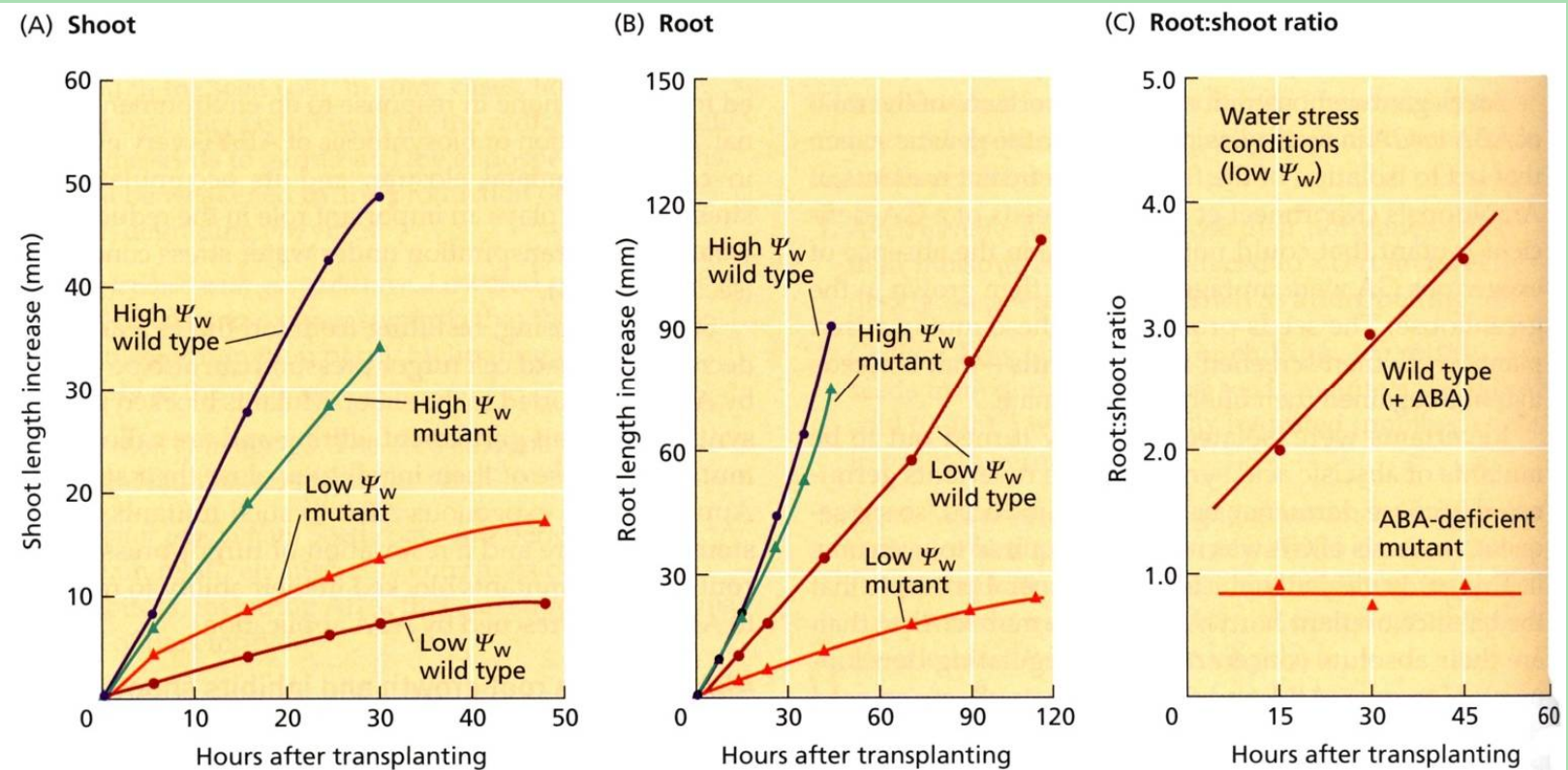


Syntéza ABA je silně indukována, pokud je rostlina vystavena stresovým faktorům.



Hladina ABA se zvyšuje při suchu částečně zvýšením její biosyntézy.

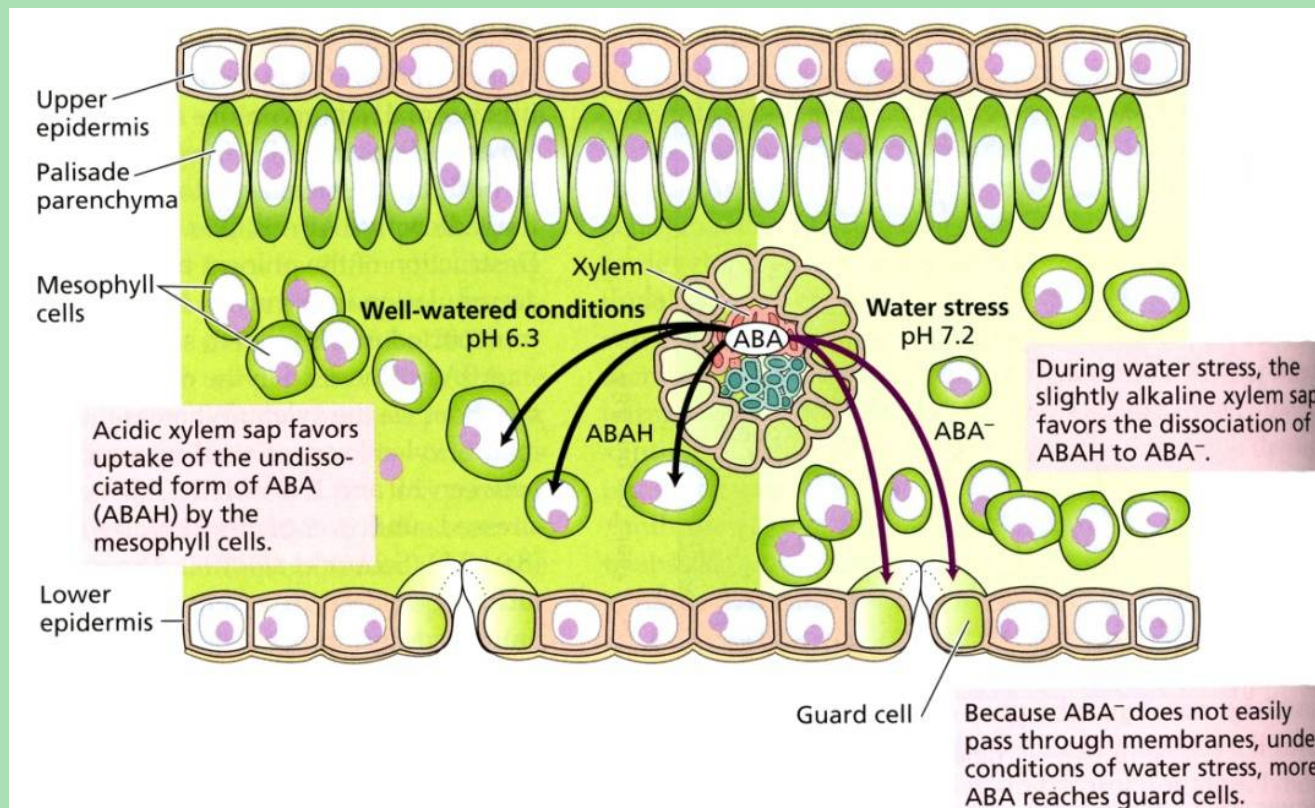
# Při nízkém vodním potenciálu ( $\psi_w$ ; nedostatek vody) ABA stimuluje růst kořenů a inhibuje růst výhonů



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<sup>-</sup>. Dehydratace současně vede k okyselení cytozolu => ABA<sup>-</sup> se dostává do mezofylových buněk špatně => více ABA<sup>-</sup> se dostává ke svěracím buňkám, kde se váže na membránový receptor.

## ABA reguluje stomatální štěrbinu změnou objemu svěřacích buněk

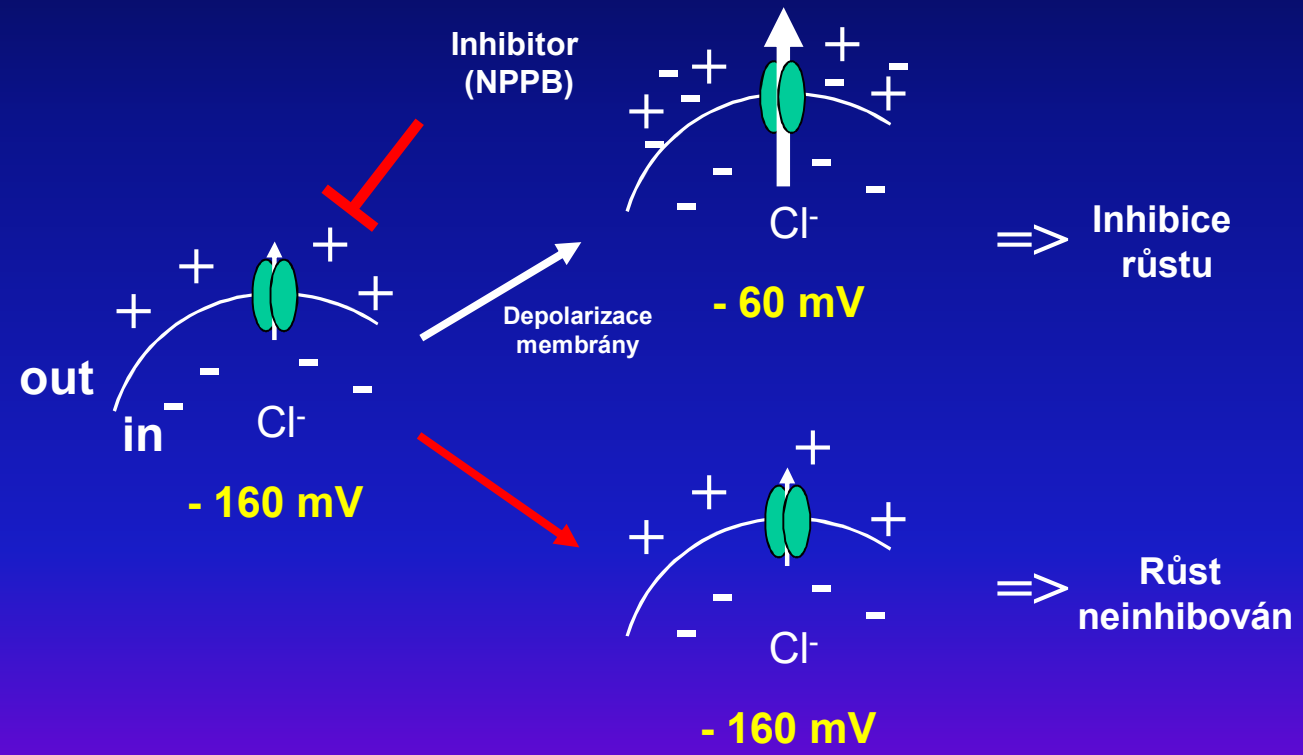
Páry svěřacích buněk kontrolují otevření rostlinného póru zvaného průduch.



Svěrací buňky kontrolují otevírání a zavírání průduchů a tím regulují výměnu plynů: jemná regulace velikosti průduchů je nutné k zajištění příjmu  $\text{CO}_2$  pro fotosyntézu a k zabránění nadbytečné ztráty vody.



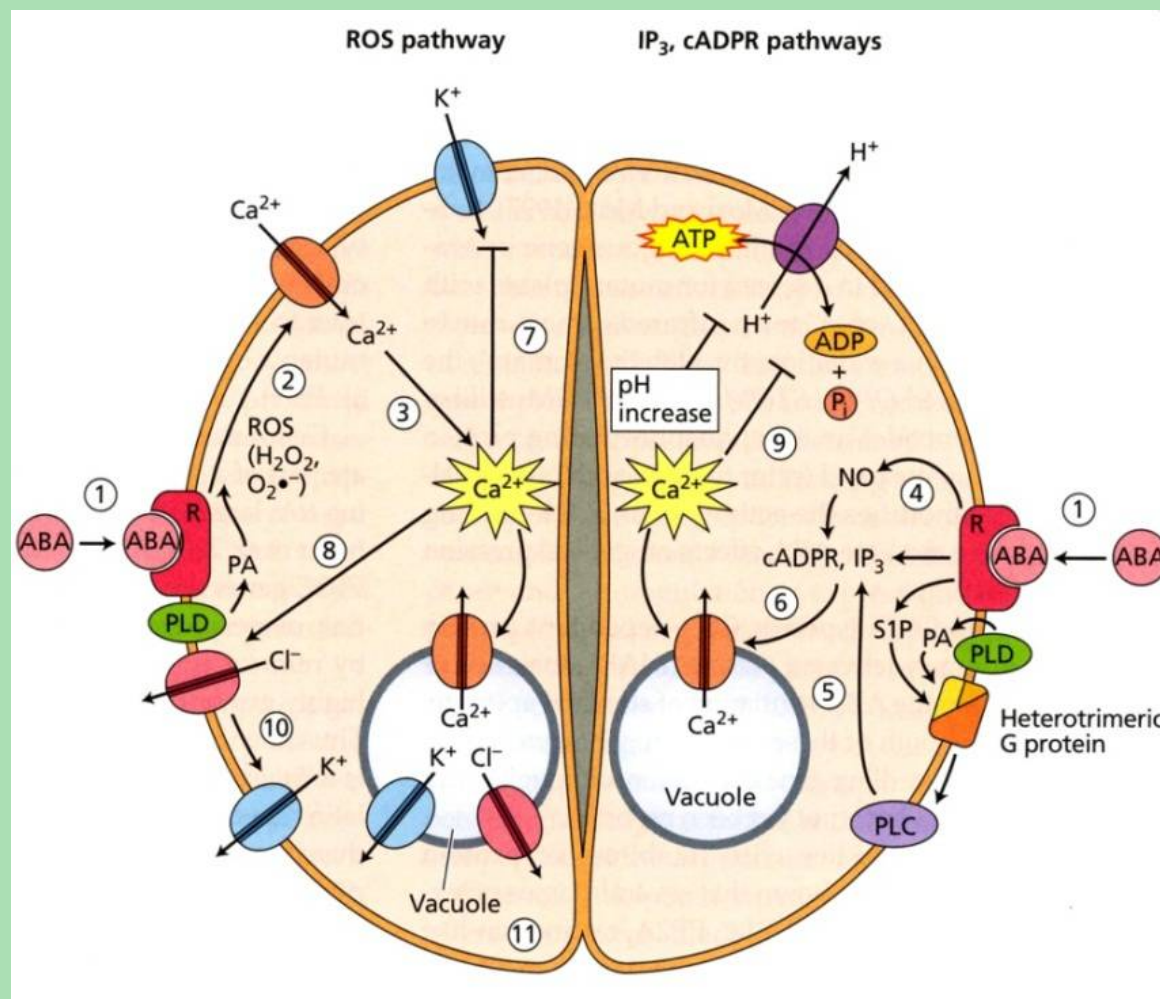
# Depolarizace plazmatické membrány



## Mechanismus působení ABA ve svěracích buňkách

### Vodní stres:

1. ABA se váže na receptor.
2. Vazba ABA indukuje proud  $\text{Ca}^{2+}$  do buňky.
3. Zvyšuje se intracelulární konc.  $\text{Ca}^{2+}$  a indukuje se dále proud  $\text{Ca}^{2+}$  z vakuoly.
4. ABA stimuluje indukci NO a cADPR.
5. ABA zvyšuje hladinu  $\text{IP}_3$  prostřednictvím G proteinu.
6.  $\text{IP}_3$  stimuluje proud  $\text{Ca}^{2+}$  z vakuoly.
7. Vysoká hladina  $\text{Ca}^{2+}$  blokuje proud  $\text{K}^+$  do buňky.
8. Vysoká hladina  $\text{Ca}^{2+}$  stimuluje proud  $\text{Cl}^-$  z buňky a způsobuje **depolarizaci** membrány.
9. Vysoká hladina  $\text{Ca}^{2+}$  blokuje protonovou pumpu, zesiluje se **depolarizace**.
10. Depolarizace membrány aktivuje proud  $\text{K}^+$  z buňky.
11.  $\text{K}^+$  a  $\text{Cl}^-$  proudí z vakuoly do cytosolu.



ROS - Reactive oxygen species

$\text{IP}_3$  - 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  
 ABCG31 – ABA efflux transportér } transportují ABA z místa syntézy (endospermu)

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

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

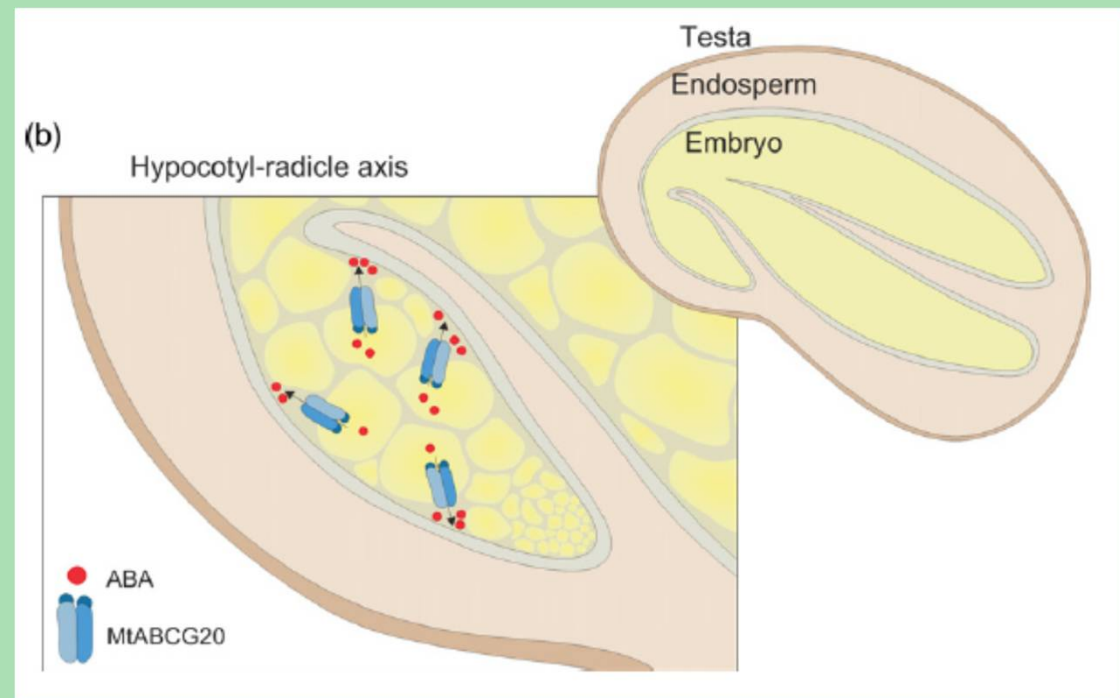
ABCG20 – ABA efflux transportér



Transport ABA ze zóny přechodu  
 hypokotyl-kořen



Usnadnění klíčení



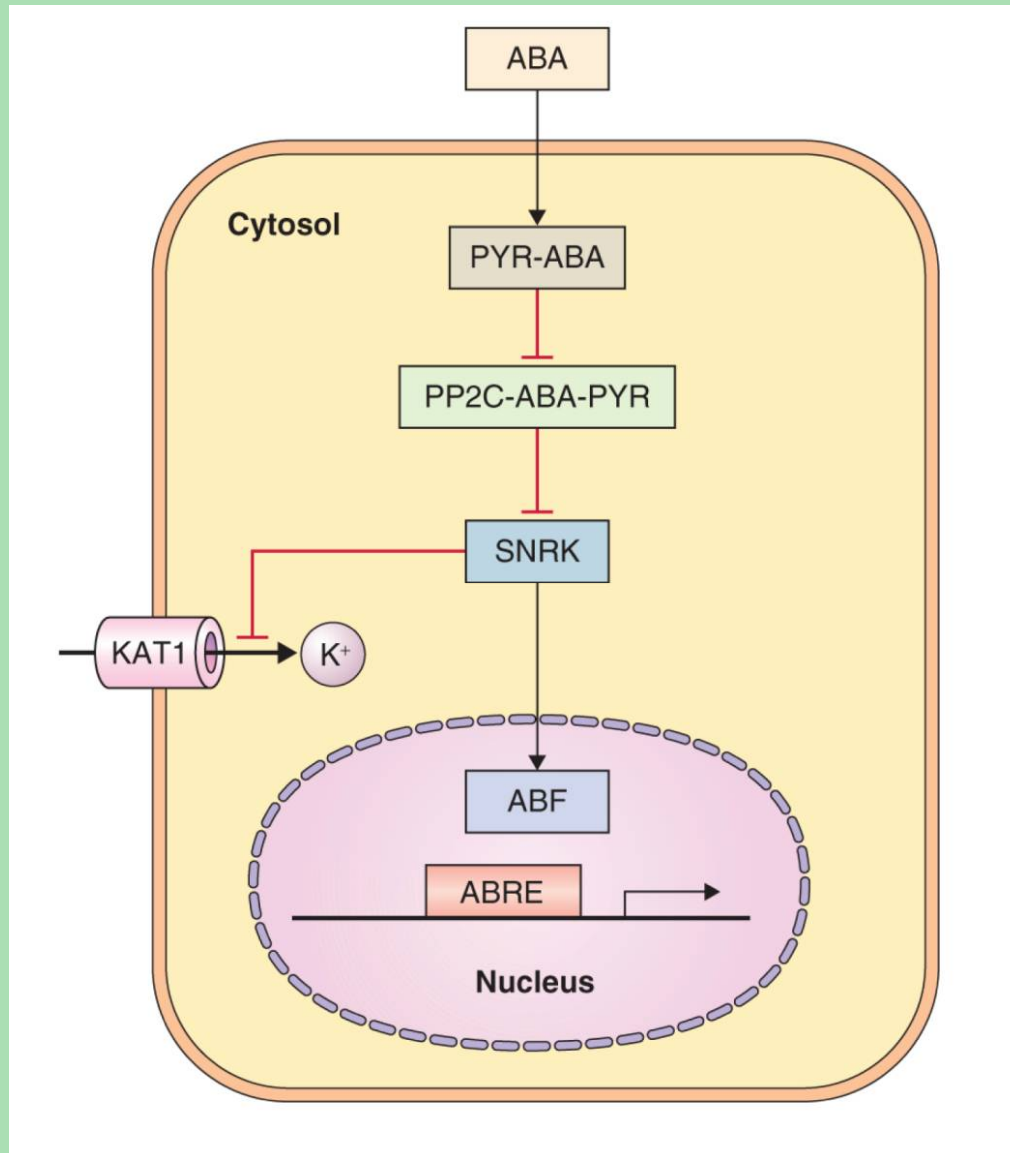
Update 2022

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**)

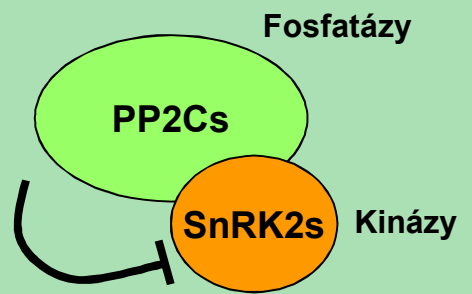
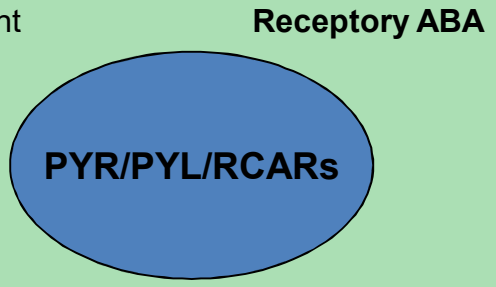
Terčem proteinů PP2C je skupina proteinů zvaných SNF1-podobná protein kináza 2 (**SNF1-Related protein Kinase 2, SNRK2 = pozitivní regulátory ABA signalizace**).

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

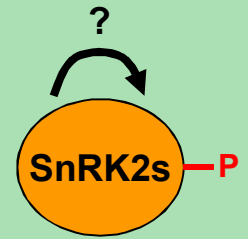
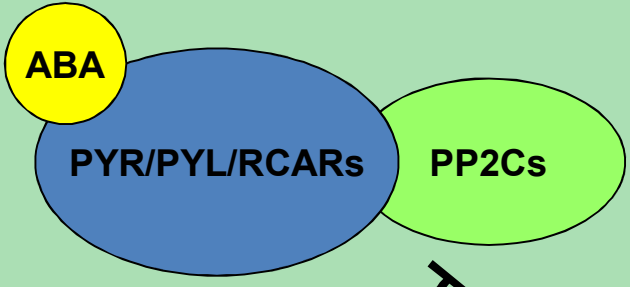
**Přítomnost ABA:** Fosfatáza PP2C je inhibována a SNRK kinázy jsou aktivní.

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

- ABA



+ ABA



Aktivace ABA-zprostředkované exprese genů (v jádře)

Aktivace pomalých aniontových kanálů

Inhibice K<sup>+</sup> kanálů

## 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

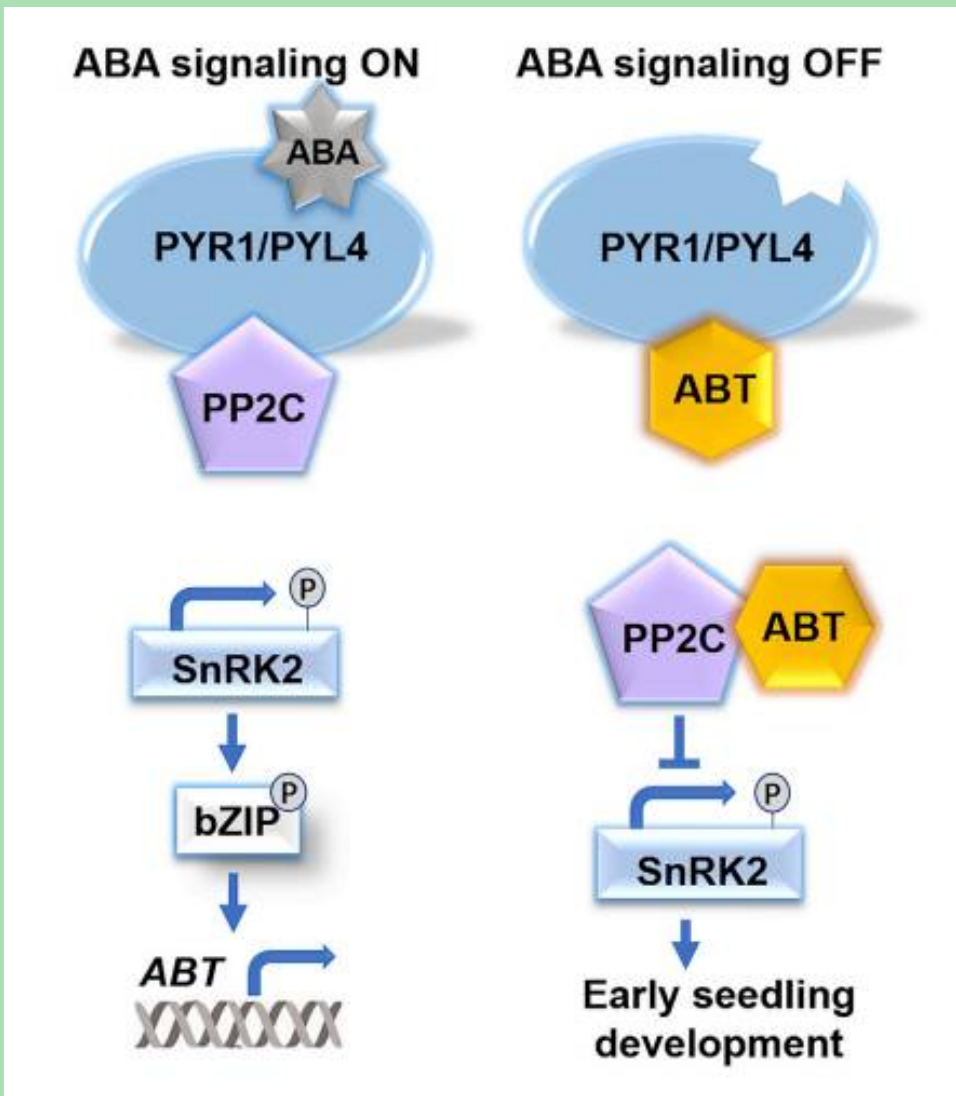
Xing L SK et al. (2016) *Sci Reports* 6: 27177

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

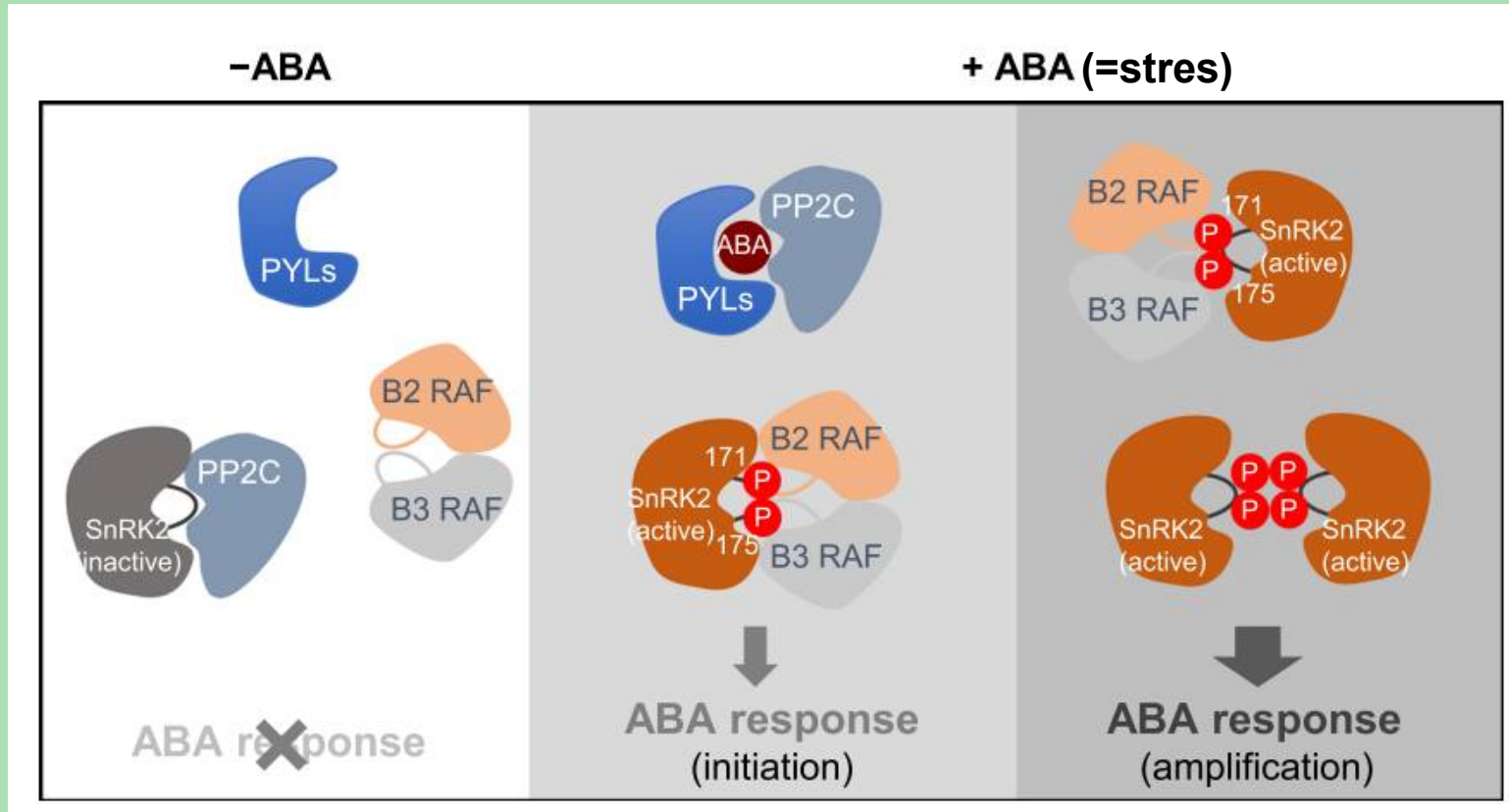
Update 2020

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

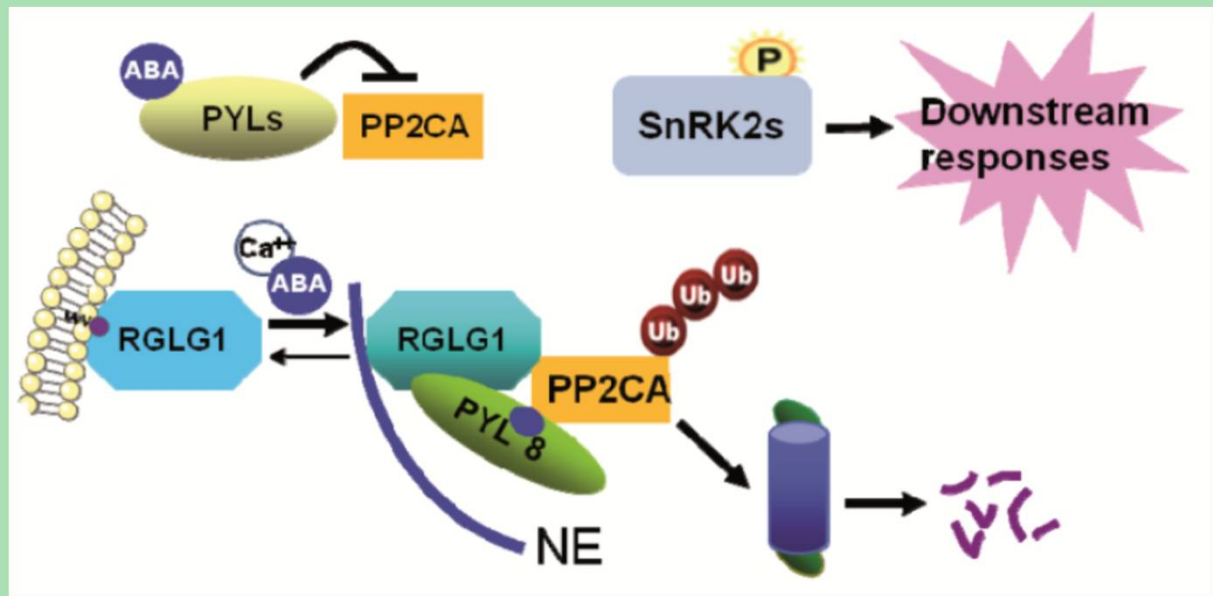
ABA stimuluje degradaci PP2CA prostřednictvím RGLG1 E3 ubiquitin ligázy.

RGLG1 – výskyt na plazmatické membráně

PP2CA – výskyt v jádře

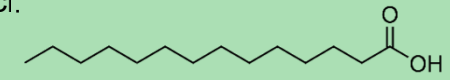


Jak ABA stimuluje interakci RGLG1 s PP2CA?

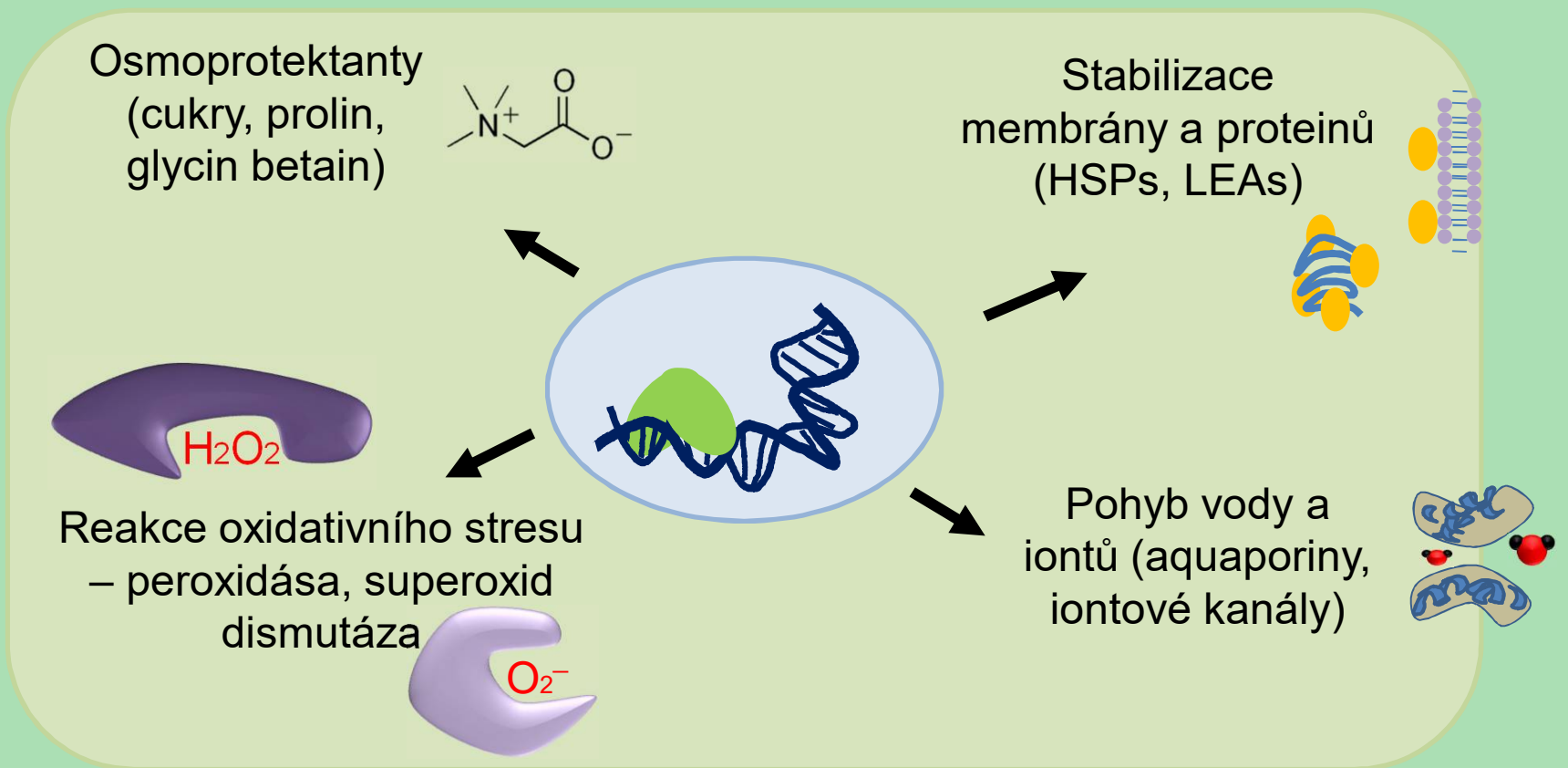


ABA inhibuje myristoylaci RGLG1 => RGLG1 se odpoutává od PM a přesunuje se do jádra (NE), interaguje s ABA receptorem a usnadňuje tvorbu komplexu RGLG1-PP2CA-PYL8. PP2CA je ubiquitinována.

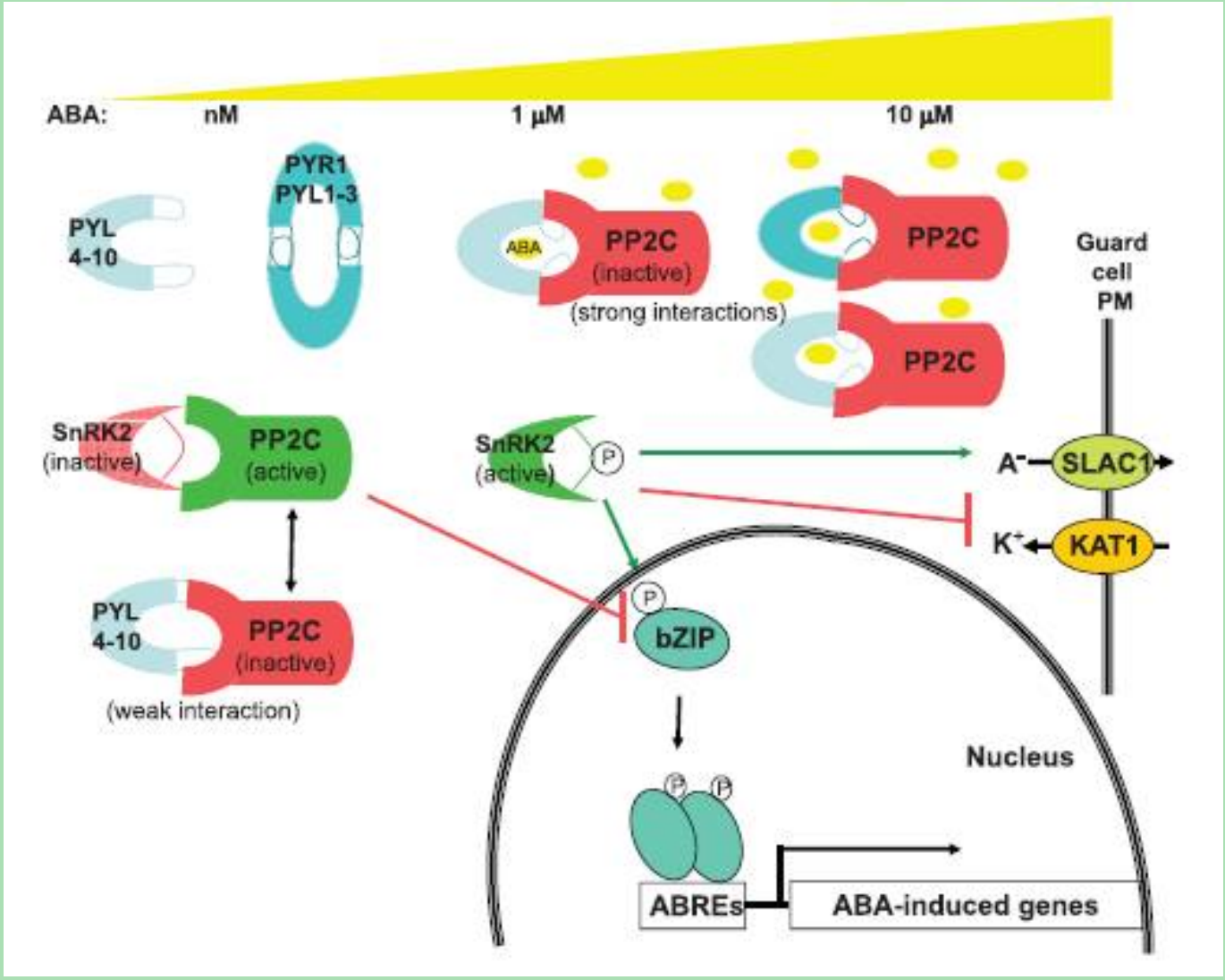
**Myristoylace** – lipidová modifikace proteinu – kovalentní připojení myristoylové skupiny k N-terminálnímu konci (ke glycinovému residuu) proteinu – umožňuje protein-protein nebo protein-lipid interakci.



# ABA indukuje stres-responsivní geny



# Vliv koncentrace ABA na signální dráhu ABA

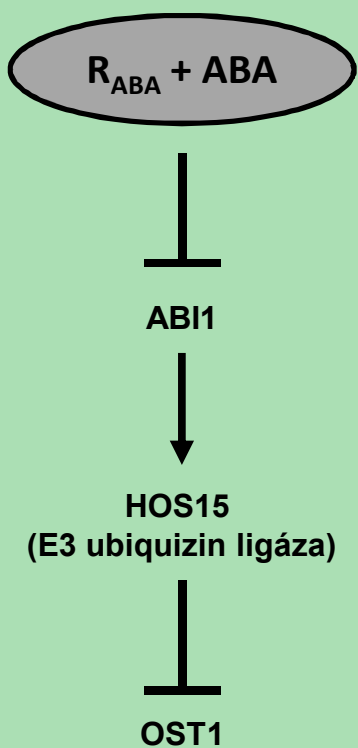




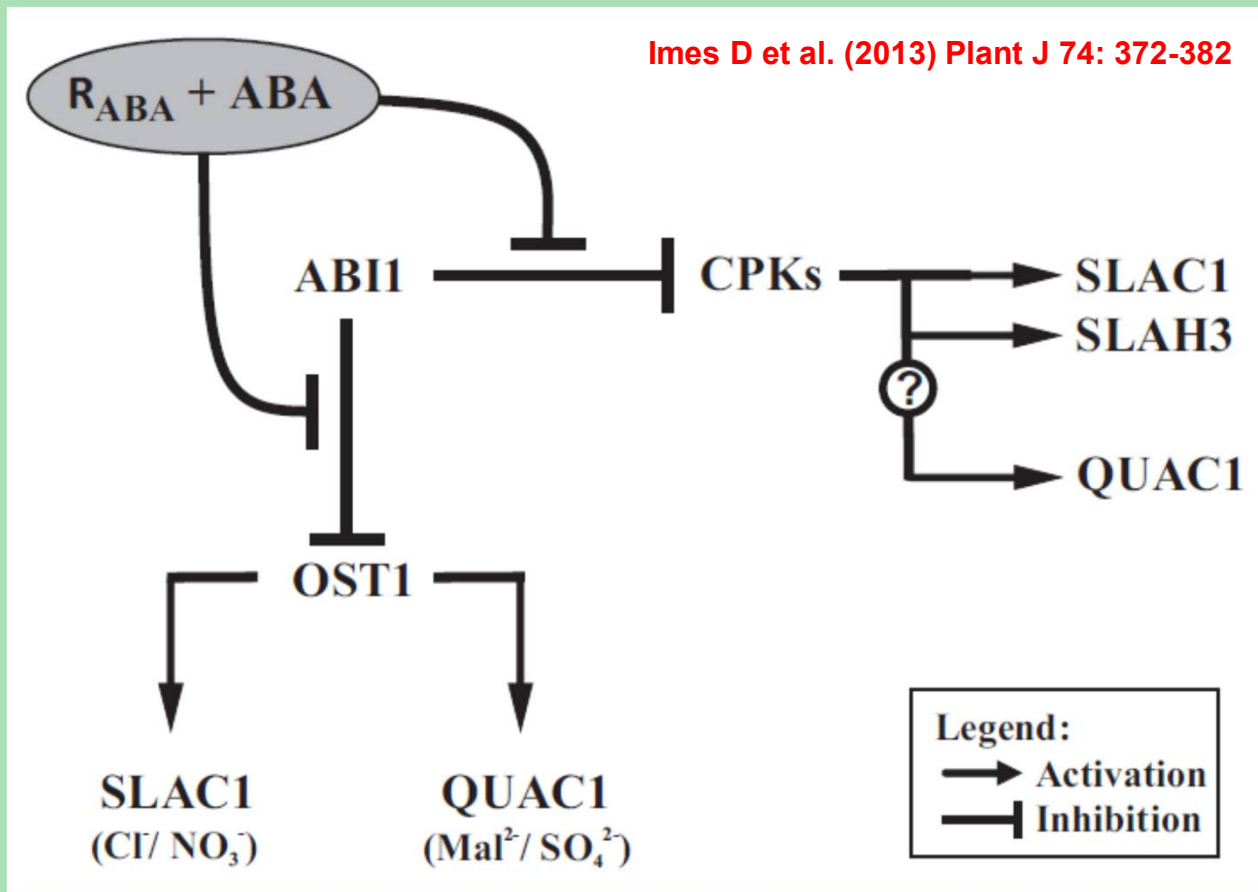
# Úloha ABA signalizace v uzavírání průduchů – propojení Ca<sup>2+</sup>- nezávislé a Ca<sup>2+</sup>- závislé dráhy

Update 2019

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



Imes D et al. (2013) Plant J 74: 372-382



R<sub>ABA</sub> – ABA receptory (RCAR/PYR/PYL)

ABI1 – PP2CA fosfatáza

OST1 – SnRK kináza

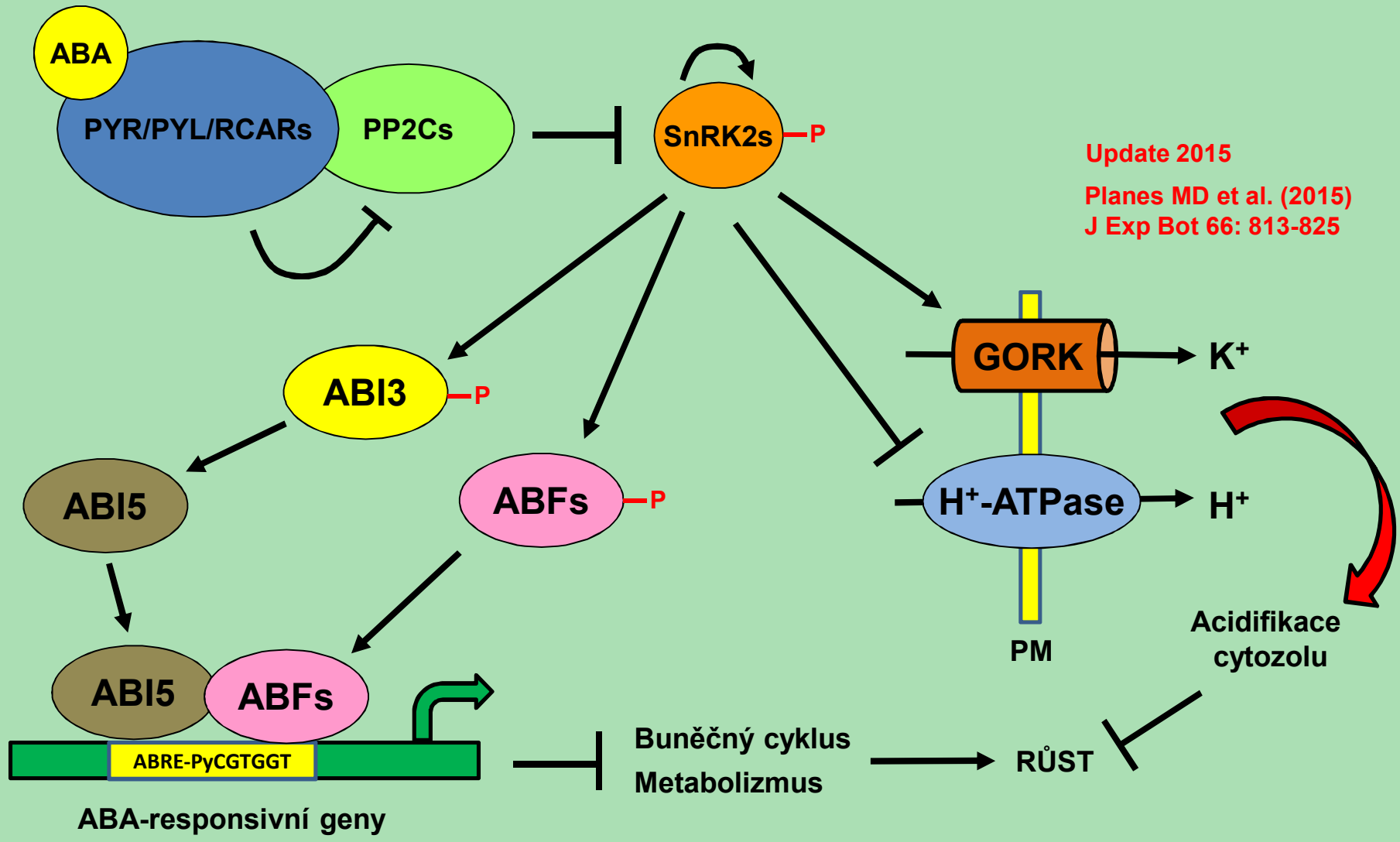
CPKs – Ca<sup>2+</sup> dependentní protein SnRK kinázy

SLAC1 – aniontové kanály (Cl<sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)

QUAC1 – aniontové kanály (Mal<sup>2-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>)

SLAH3 – aniontové kanály (Mal<sup>2-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>)

### Mechanismus inhibice rústu vlivem ABA



ABA-responsivní geny

Buněčný cyklus  
Metabolizmus

RÚST

# 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)

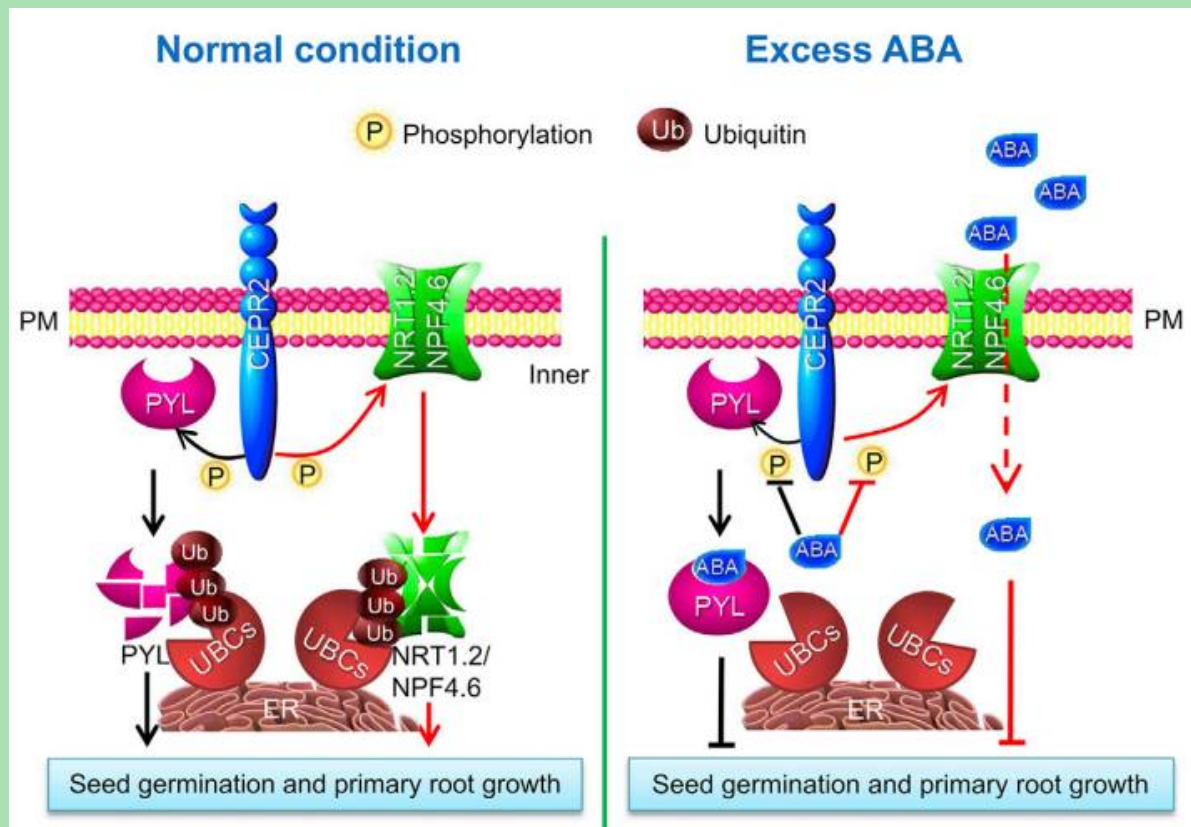
CEPR2 (C-Terminally Encoded Peptide Receptor 2) fosforyluje receptor PYL i ABA transportér NRT1.2/NPF4.6.



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.

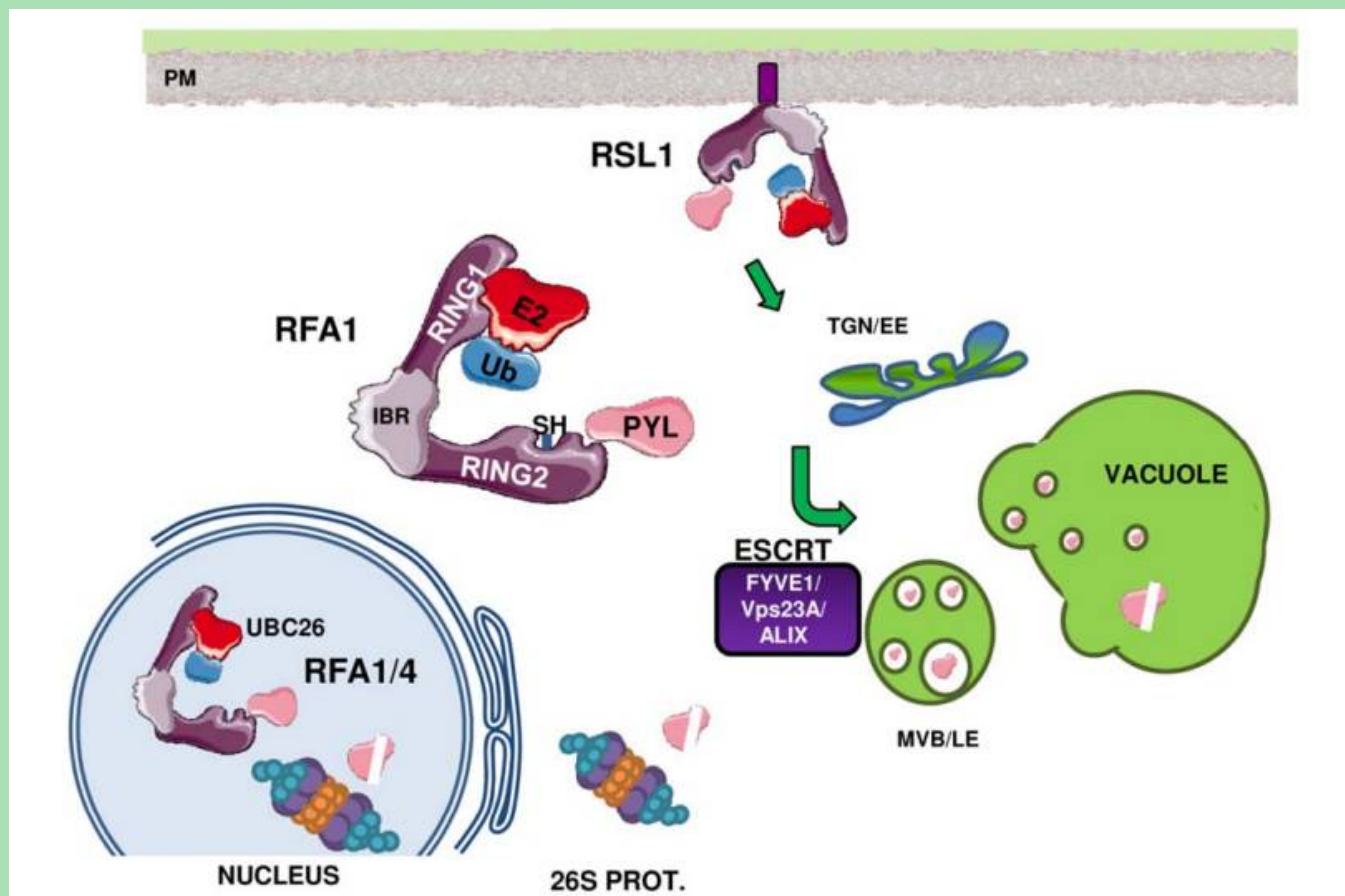


Spuštění ABA signalizace

## 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.