



Jak pomocí cytometrie odhalit, k čemu jsou rostlinám holocentrické chromosomy

Petr Bureš, František Zedek, Jakub Šmerda, Pavel Veselý & Klára Plačková

Ústav botaniky a zoologie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Brno



MUNI

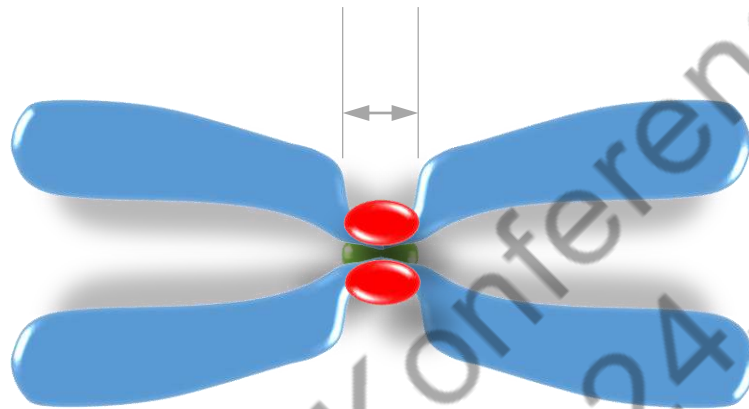


Monocentrické

Holocentrické

Dvě strukturní alternativy u eukaryot

Kinetocho omezený na malou oblast = centromeru



Kinetocho pokrývající většinu „hřbetního“ povrchu chromosomů



Monocentrické

V anafázi
buněčného
dělení

záření

Acentrický
fragment
ztracen

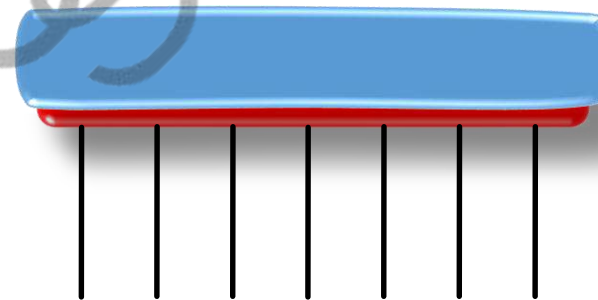
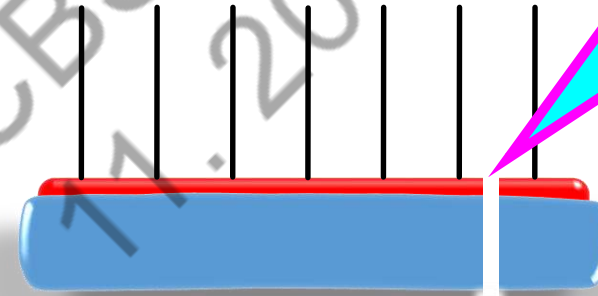
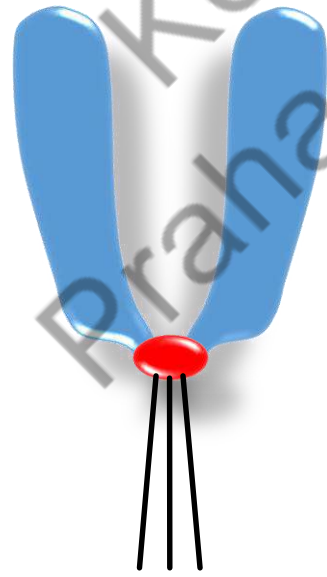
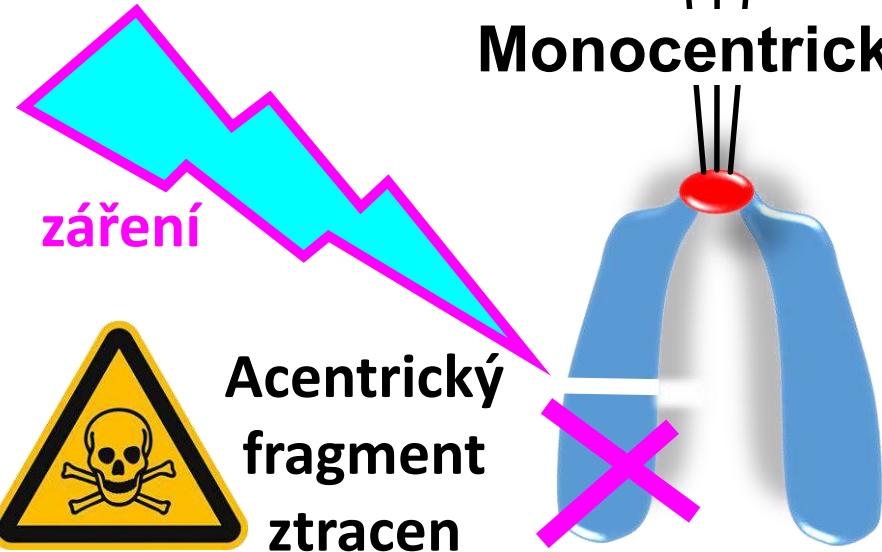
Mikrotubuly táhnou za malý
kinetochor, „vlající“ ramena
tažena pasivně

Holocentrické

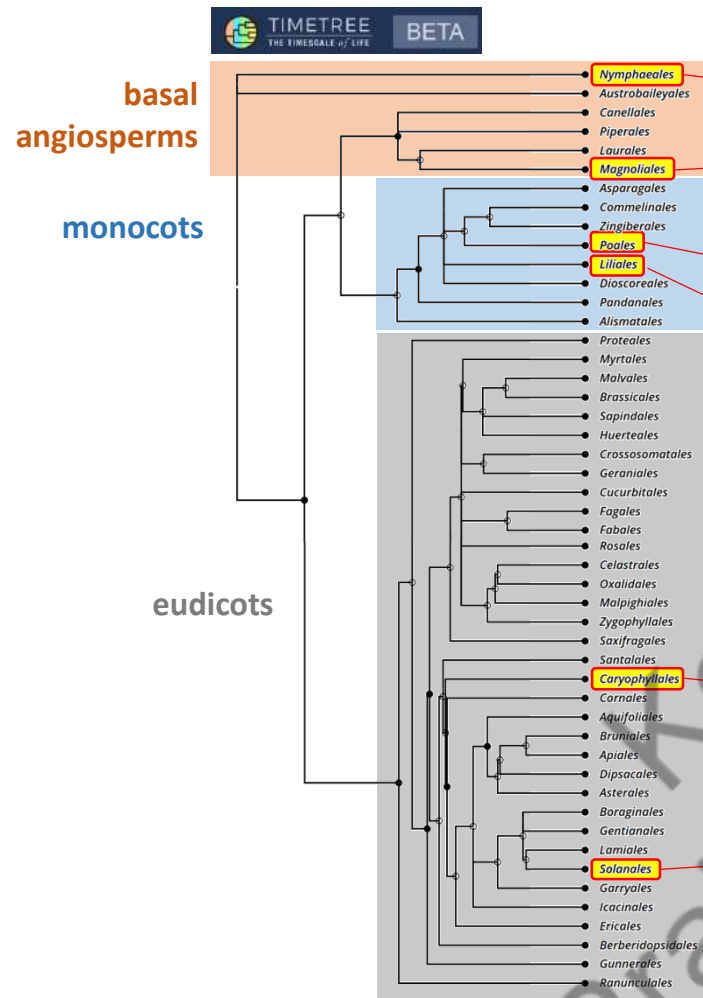
záření

Fragment s
kinetochorem
zachován

„Vyztužené“ chromatidy se
rozestupují paralelně, jsou
„zapřaženy“ v celé své délce



Holocentrické chromosomy u rostlin (a živočichů)



Trithuria
Hydatellaceae
10 spp.



Myristica
Myristicaceae
180 spp.



Juncaceae
430 spp.



Cyperaceae
5430 spp.



Thurniaceae
4 spp.



Drosera
Droseraceae
110 spp.

Chionographis
Melanthiaceae
6 spp.



Cuscuta
Convolvulaceae
subgen. *Cuscuta*,
subgen. *Grammica*
60 spp.



charophycean green algae class *Zygnematophyceae* 4100 spp.

scorpions of family
Buthidae 800 spp.



spider families of
Dysderidae & Segestriidae 600 spp.



Odonata = order of dragonflies 5 500 spp.



Myriapoda = subphylum of centipedes; and millipedes 8 000 spp.



Lepidoptera = order of butterflies 165 000 spp.



Trichoptera = order of sedgeflies 8 000 spp.



Auchenorrhyncha = suborder of cicads 30 000 spp.



Heteroptera = suborder of bugs 50 000 spp.



Phthiraptera = order of lice 4 000 spp.



Sternorrhyncha = suborder of scale insects and aphids 12 000 spp.



Nematoda = phylum of roundworms 20 000 spp.



Onychophora = archaic primitive phylum of velvet worms of wet tropics 80 spp.



Holocentrické chromosomy u rostlin (a živočichů)

Holocentrismus vzniká opakovaně a nezávisle

Když ale něco vzniká v evoluci opakovaně,
mělo by to být k něčemu dobré ...

K čemu je dobrý chromosomální
holocentrismus?



Monocentrické

Holocentrické

V anafázi

Mohlo by to souviset se zářením ...

Výbuchy supernov?

Změny polarity zemského magnetismu?

Sopečné erupce?



Co terrestrializace?

záření

Fragment s
kinetochorem
zachován



VIEWPOINT

Holocentric chromosomes: from tolerance to fragmentation to colonization of the land

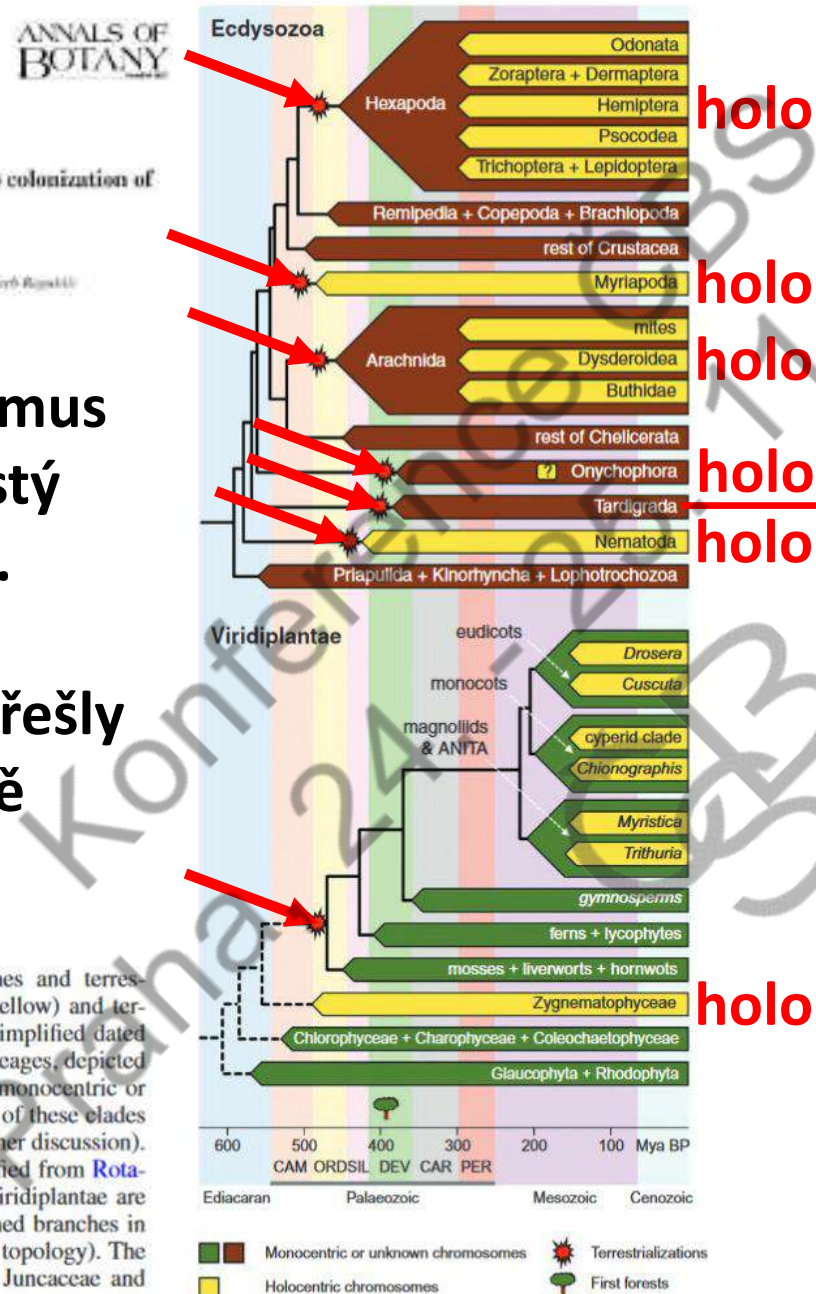
František Zedek* and Petr Boreš

*Department of Botany and Zoology, Masaryk University, Botanika 2, 601 27 Brno, Czech Republic
For correspondence: E-mail: fzedek@uni.brno.cz

Přestože je holocentrismus chromosomů méně častý než monocentrismus ...

... mezi liniemi, které přešly z vody na souš nápadně převažuje!

FIG. 2. Phylogenetic distribution of holocentric chromosomes and terrestrialization events. The distribution of holocentric lineages (yellow) and terrestrialization events (red sparks) in eukaryotes is shown on simplified dated phylogenies of Viridiplantae and Ecdysozoa. The remaining lineages, depicted in green in Viridiplantae and brown in Ecdysozoa, are either monocentric or with unknown chromosomal structure, and the ancestral states of these clades can be either monocentric or holocentric (see main text for further discussion). The tree for Ecdysozoa and terrestrialization events was modified from Rota-Stabelli *et al.* (2013). The tree topology and node ages for Viridiplantae are based on Wickett *et al.* (2014) and Kumar *et al.* (2017). Dashed branches in the Viridiplantae tree indicate uncertainty in node ages (not in topology). The cyperid clade in Viridiplantae includes families Cyperaceae, Juncaceae and Thurniaceae.



Hypotéza: Holocentricki přežívali při terestrializaci lépe než monocentricki?

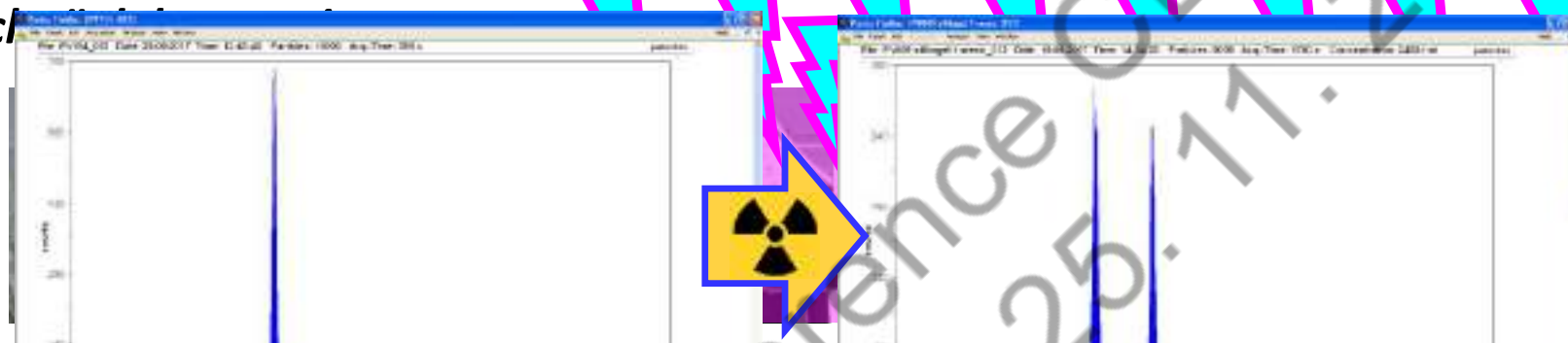
Dalo by se to testovat?

Co to zkusit cytometricky?

Flow-cytometrická detekce holocentrismu

Monocentrický druh

Kalanchoe



Gamma rays (150 Gray)

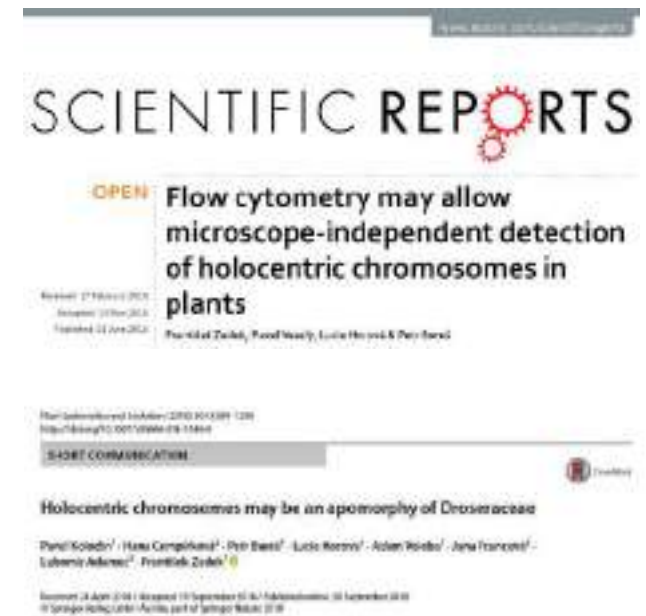
Ozářeným monocentrikům se zastaví dělení v G2 fázi

Holocentrický druh

Luzula



Holocentrici se i po ozáření dělí vesele dál

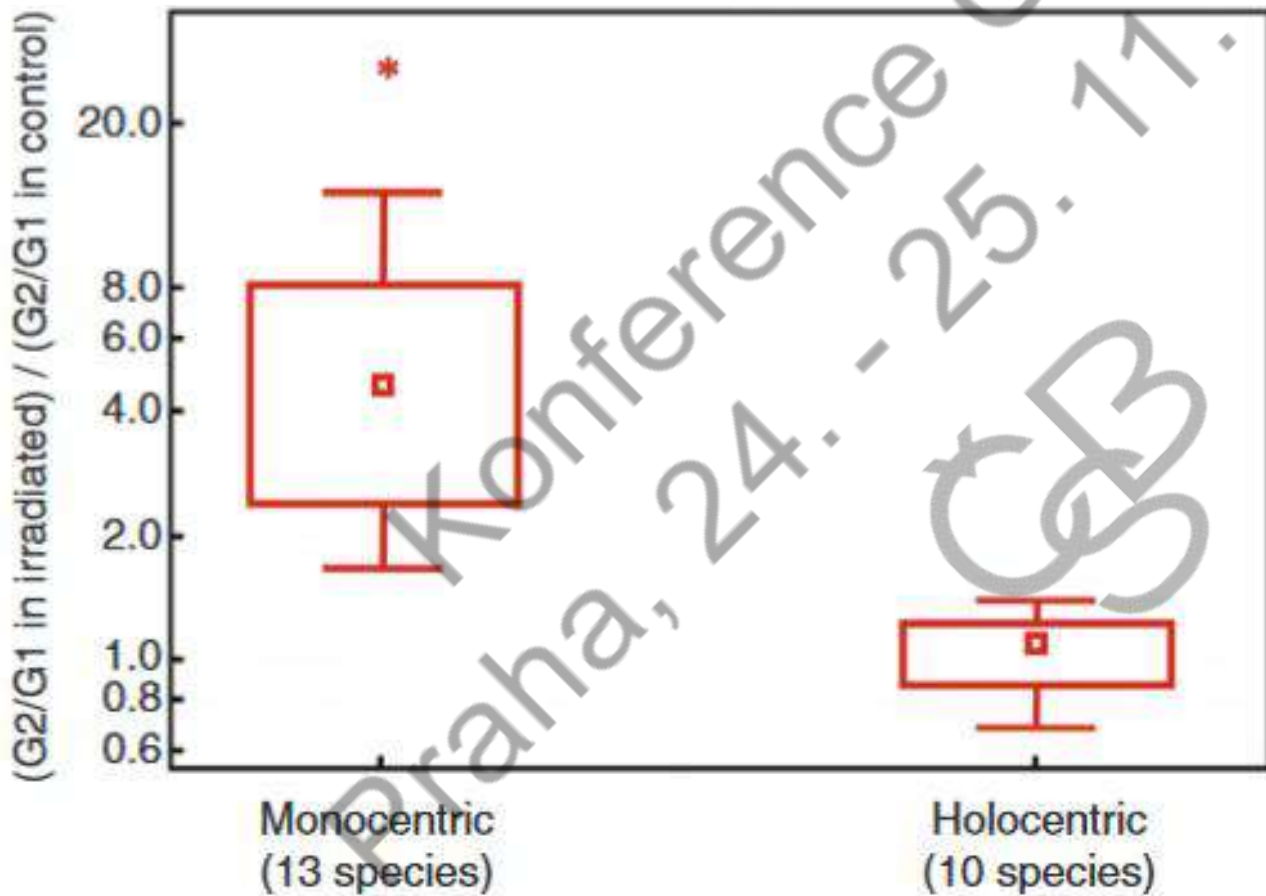


Flow-cytometrická detekce holocentrismu

Monocentrické

Holocentrické

Nárůst podílu tetraploidních buněk



13 druhů / 11 čeledí

10 druhů / 4 čeledi



OPEN

Flow cytometry may allow microscope-independent detection of holocentric chromosomes in plants

Received: 27 March 2018

Accepted: 17 May 2018

Published: 22 June 2018

Parasitica Zedler, Food Security, Lucie Hovová & Petr Borek

Plant Genomes and Evolution (2018) 2018:123

<https://doi.org/10.1007/s10120-018-1184-9>

SHORT COMMUNICATION

Holocentric chromosomes may be an apomorphy of Desmodiaceae

Pavel Kolařík¹, Hana Čepková¹, Petr Borek², Lucie Hovová¹, Adam Wörbs³, Jana Francová¹, Lubomír Janda¹, František Zedler⁴

Received: 18 April 2018 / Accepted: 10 September 2018 / Published online: 22 September 2018
© Springer Nature GmbH 2018, part of Springer Nature 2018





rostliny lesního podrostu

rostliny lesního podrostu

Pokus 1: Les-neles

UV-B záření



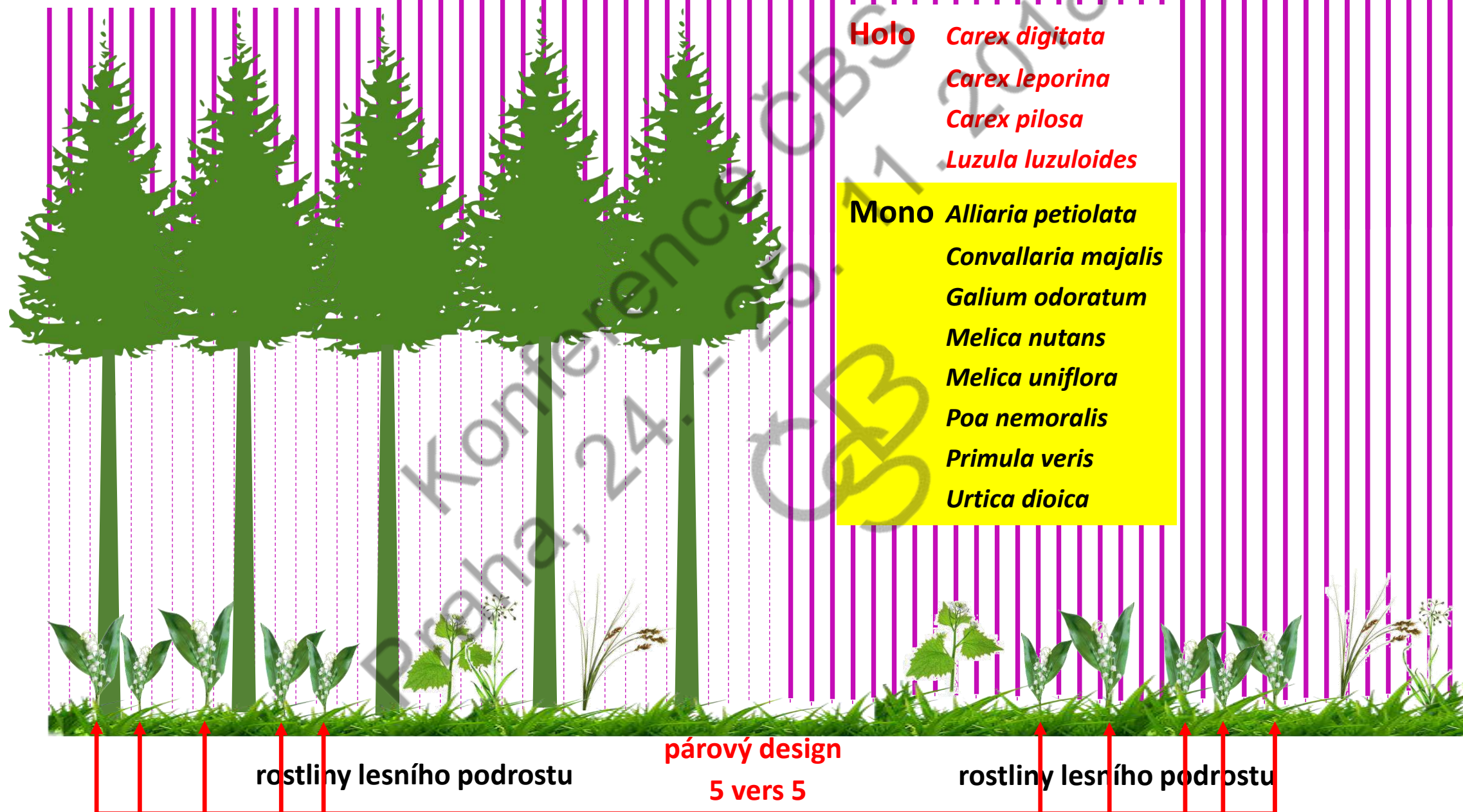
Deforestation --- z hlediska nárůstu UV-B záření analogie přechodu z vody na souš

rostliny lesního podrostu

rostliny lesního podrostu **na pasece**

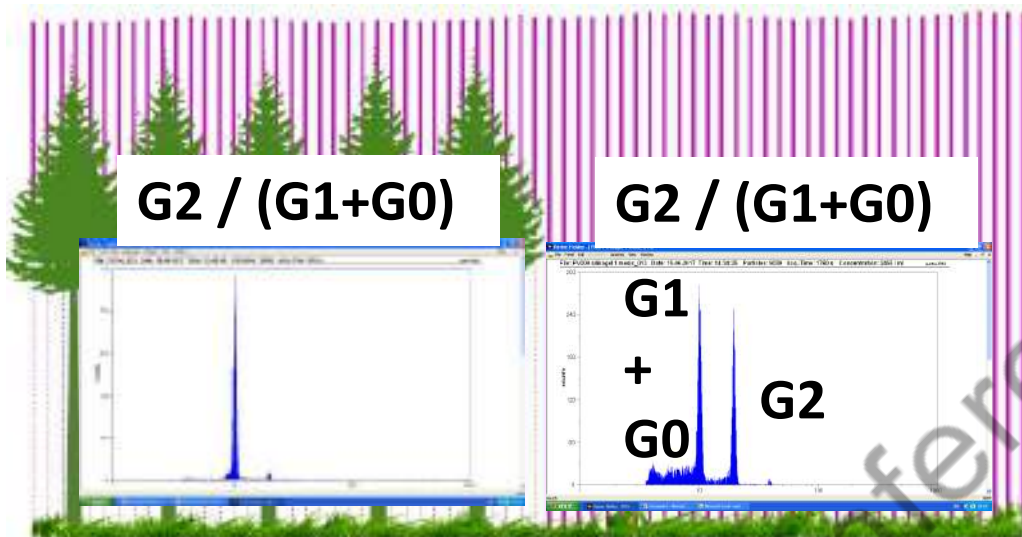


Pokus 1: Les-neles



Pokus 1: Les-neles

Pro každý druh na každé lokalitě



5x v sousedním lese

5x na pasece

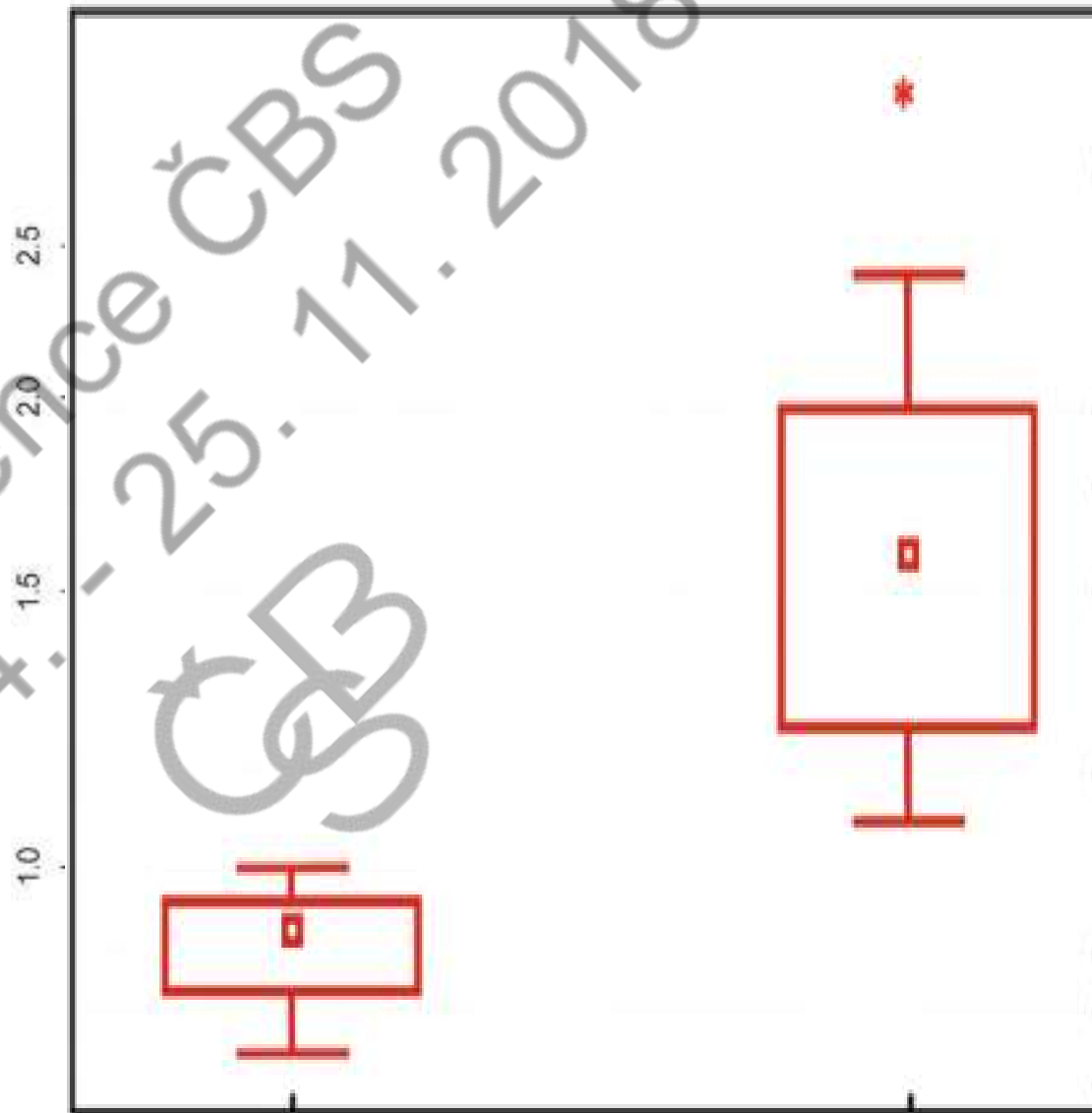
Nakonec jsme pro každý druh nárůsty

$G2 / (G1+G0)$ na pasece

$G2 / (G1+G0)$ v sousedním lese

zprůměrovali a porovnali jsme ...

Podobá se to sice patternu který jsme viděli u gama záření, nicméně

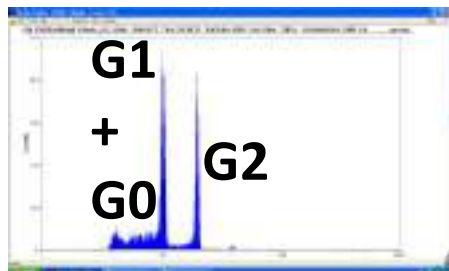


Holocentriky s monocentriky

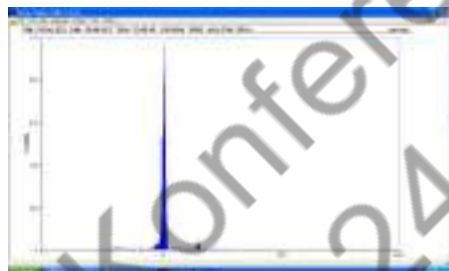
Pokus 1: Les-neles

Pro každý druh na každé lokalitě
spočítán nárůst poměru

$G2 / (G1+G0)$
na pasece



oproti tomuto
poměru, naměřeném
 $G2 / (G1+G0)$
v sousedním lese



Nakonec jsme pro každý druh nárůsty

$G2 / (G1+G0)$ na pasece

$G2 / (G1+G0)$ v sousedním lese

zprůměrovali a porovnali jsme ...

Podobá se to sice patternu který jsme viděli u gama záření,

nicméně

rozdíl mezi

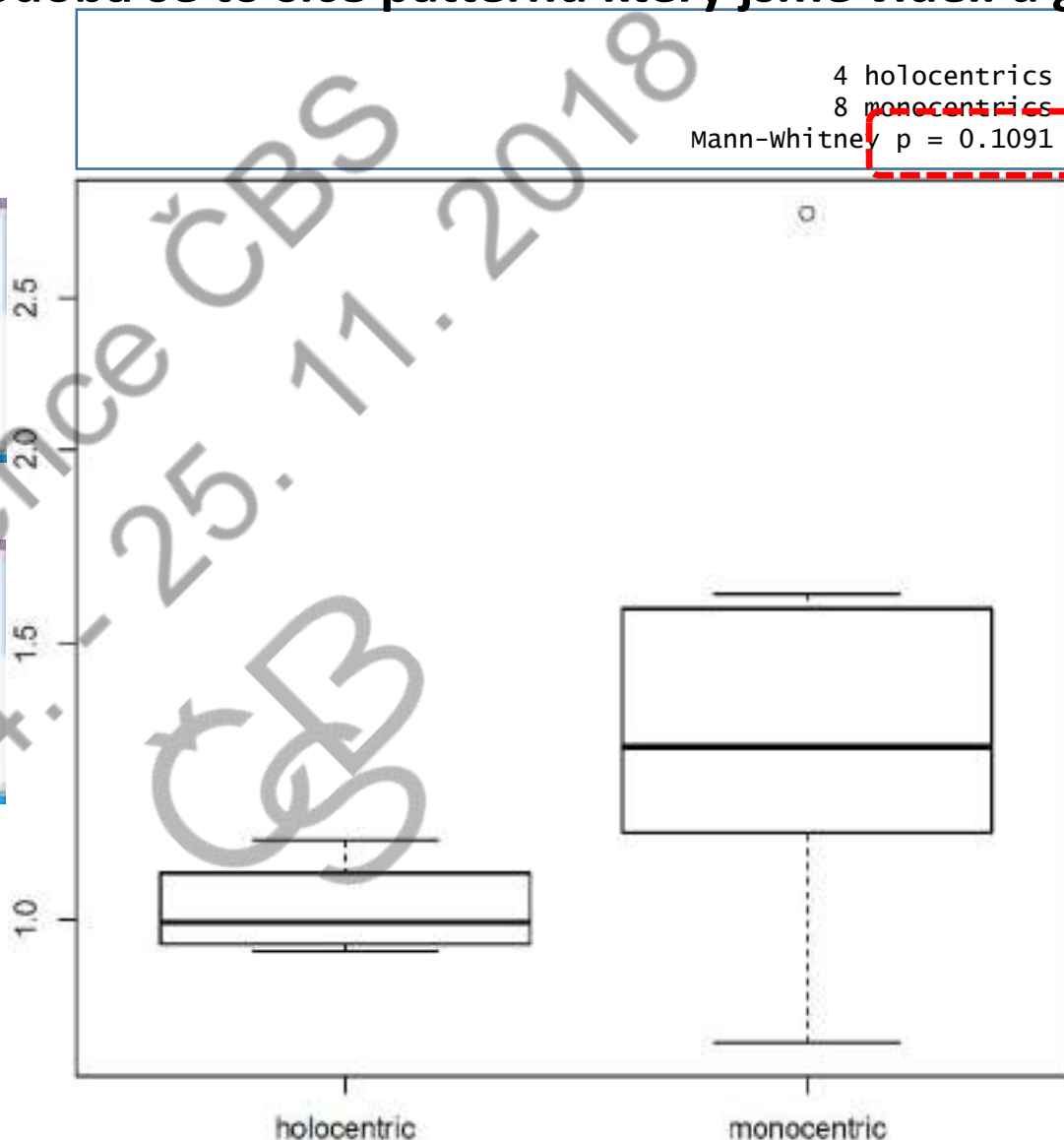
Holo

a

Mono

není

signifikantní



Holocentriky s monocentriky



Pokus 1: Les-neles

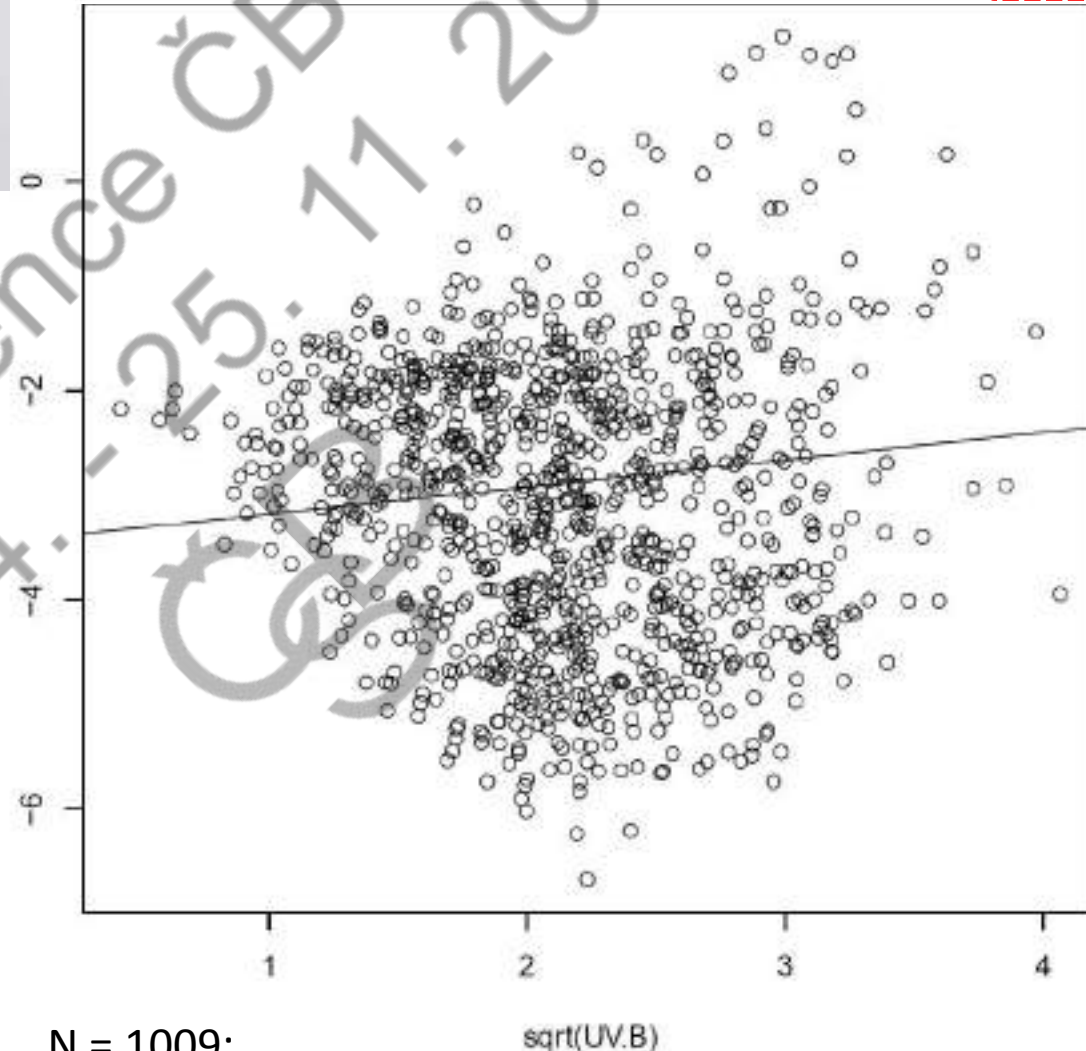
absorbance při 280–315 nm



S rostoucím UVb roste poměr
 $G2 / (G1 + G0)$



Fixed effects: $\log(g2.g1) \sim \sqrt{UV.B} * chromosomes$					
	Value	Std.Error	DF	t-value	p-value
(Intercept)	-3.972205	0.5145545	905	-7.719696	0.0000
$\sqrt{UV.B}$	0.050524	0.0788715	905	0.640586	0.5220
chromosomesmonocentric	0.913517	0.6252829	10	1.460966	0.1747
$\sqrt{UV.B} : chromosomesmonocentric$	0.268612	0.0887724	905	3.025855	0.0025



N = 1009:
314 holo, 695 mono

V regresním modelu vyšla signifikantní interakce mezi UV-B a typem struktury chromosomů (Holo nebo Mono)



Pokus 1: Les-neles

Monocentrici:

$G2 / (G0 + G1)$

roste

v závislosti na UV-B

protektivech

rychleji

Holocentrici: sklon růstu

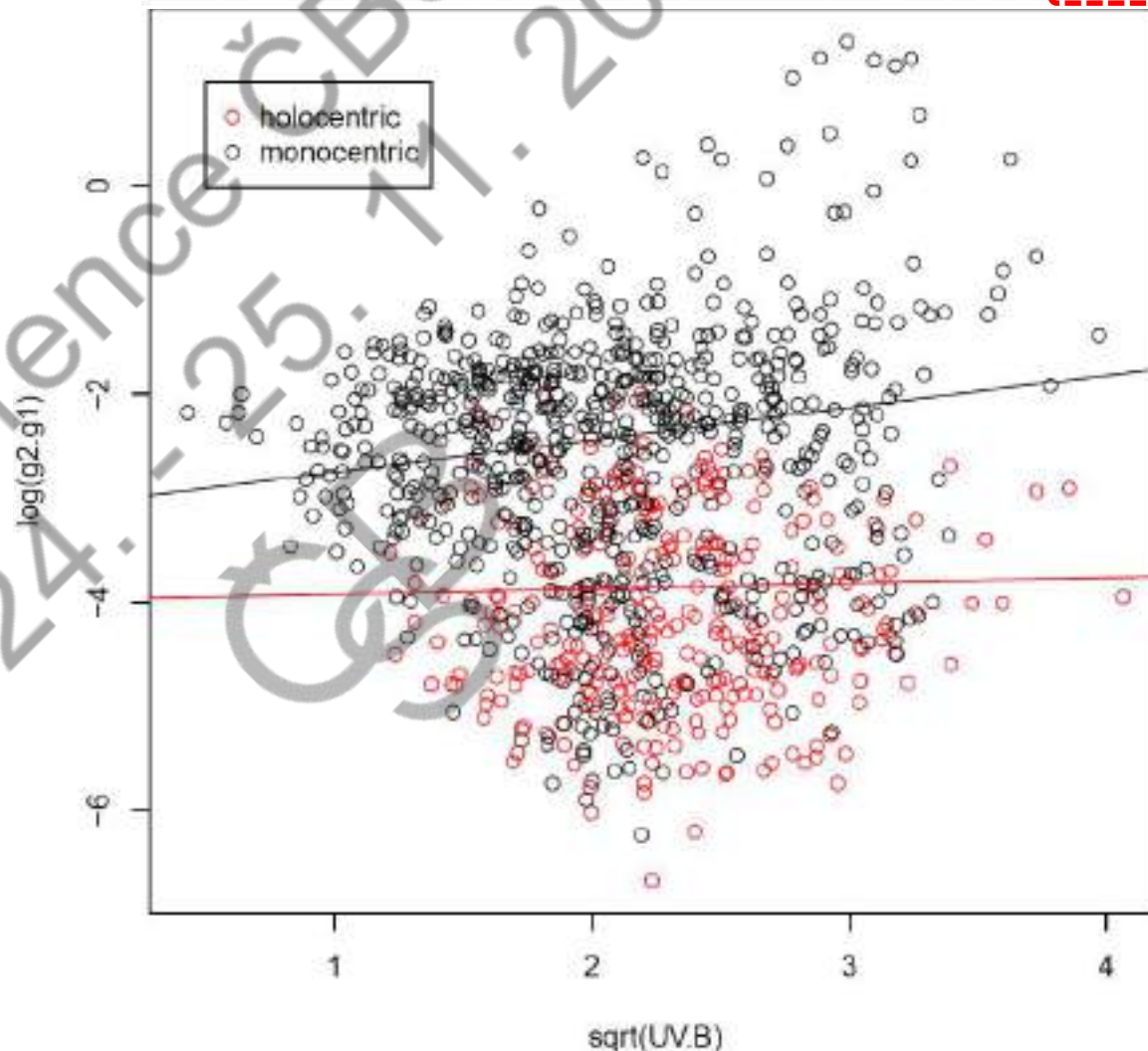
$G2 / (G0 + G1)$ v závislosti na

UV-B protektivech

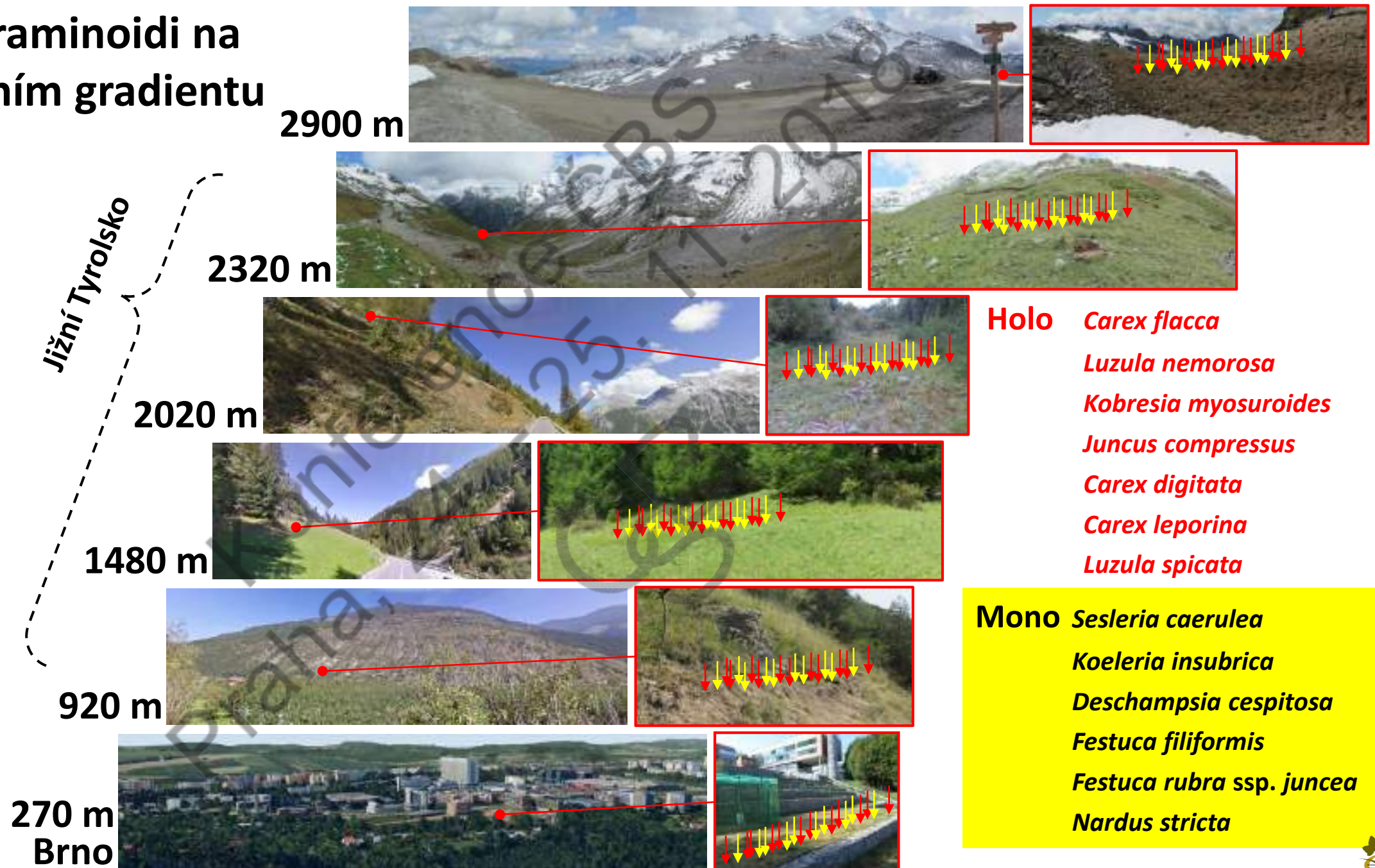
se neliší signifikantně

od nuly

Fixed effects: log(g2.g1) ~ sqrt(UV.B) * chromosomes					
	Value	Std.Error	DF	t-value	p-value
(Intercept)	-3.972205	0.5145545	905	-7.719696	0.0000
sqrt(UV.B)	0.050524	0.0788715	905	0.640586	0.5220
chromosomesmonocentric	0.913517	0.6252829	10	1.460966	0.1747
sqrt(UV.B):chromosomesmonocentric	0.268612	0.0887724	905	3.025855	0.0025

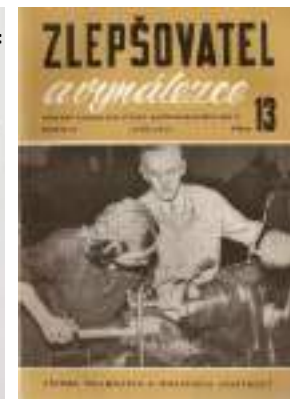


Pokus 2: Graminoidi na altitudinálním gradientu



Pokus 2: Graminoidi na altitudinálním gradientu

Ze střední části listu jsme odebrali 2x stejnou délku



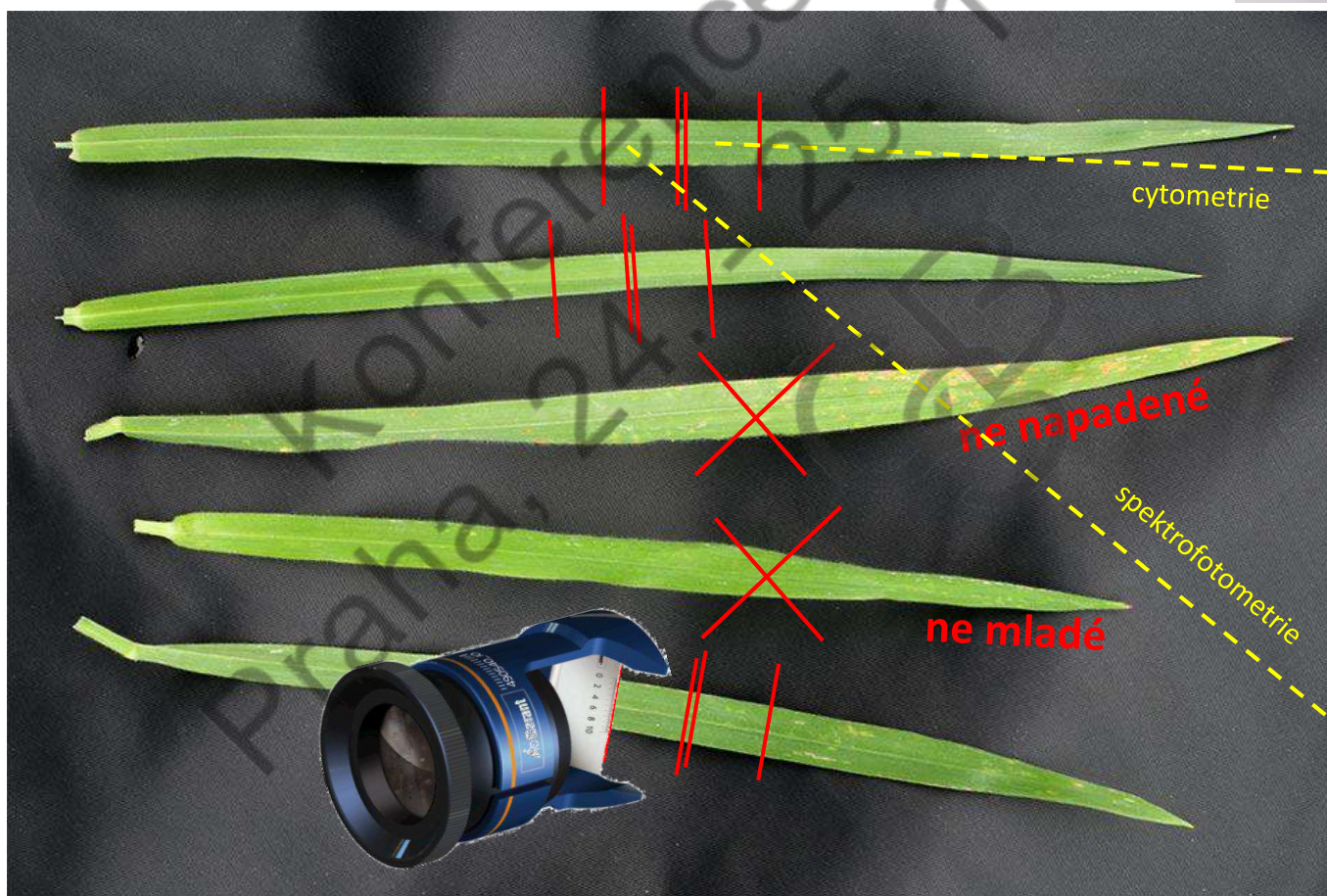
Odběry:

7. 5. 2018

6. 6. 2018

7. 7. 2018

6. 8. 2018

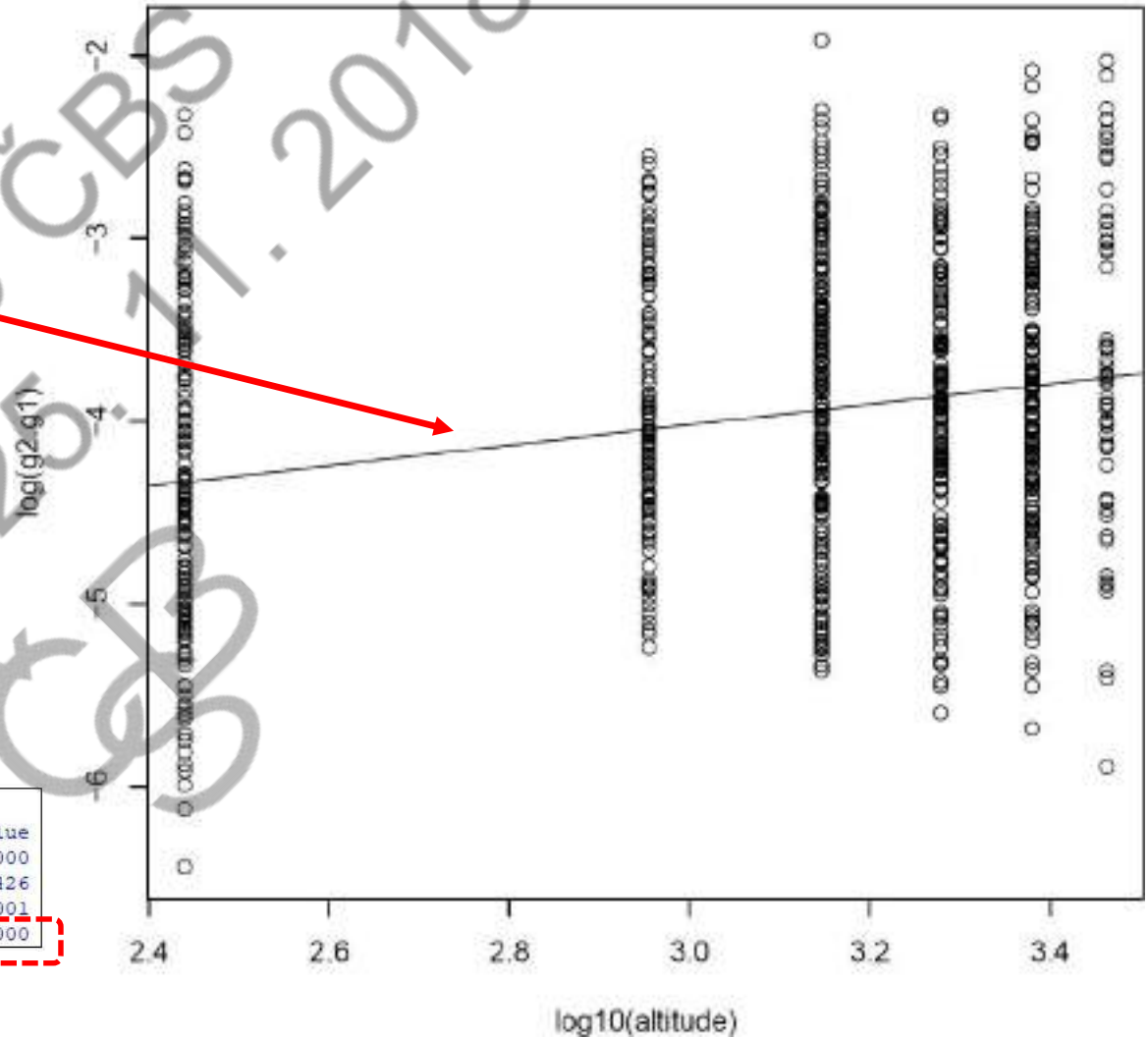


Pokus 2: Graminoidi na altitudinálním gradientu

S rostoucí nadmořskou výškou roste poměr $G2 / (G0 + G1)$

V regresním modelu je signifikantní interakce chromosomálního typu (holo- nebo monocentrické) a nadmořské výšky

```
Fixed effects: log(g2.g1) ~ log10(altitude) * chromosomes
              Value Std.Error DF   t-value p-value
(Intercept)  -4.402837  0.3184950  812  -13.823880  0.0000
log10(altitude)  0.099292  0.0849159  812   1.169300  0.2426
chromosomesmonocentric -2.823142  0.4687493  11  -6.022712  0.0001
log10(altitude):chromosomesmonocentric  1.018650  0.1252470  812   8.133124  0.0000
```

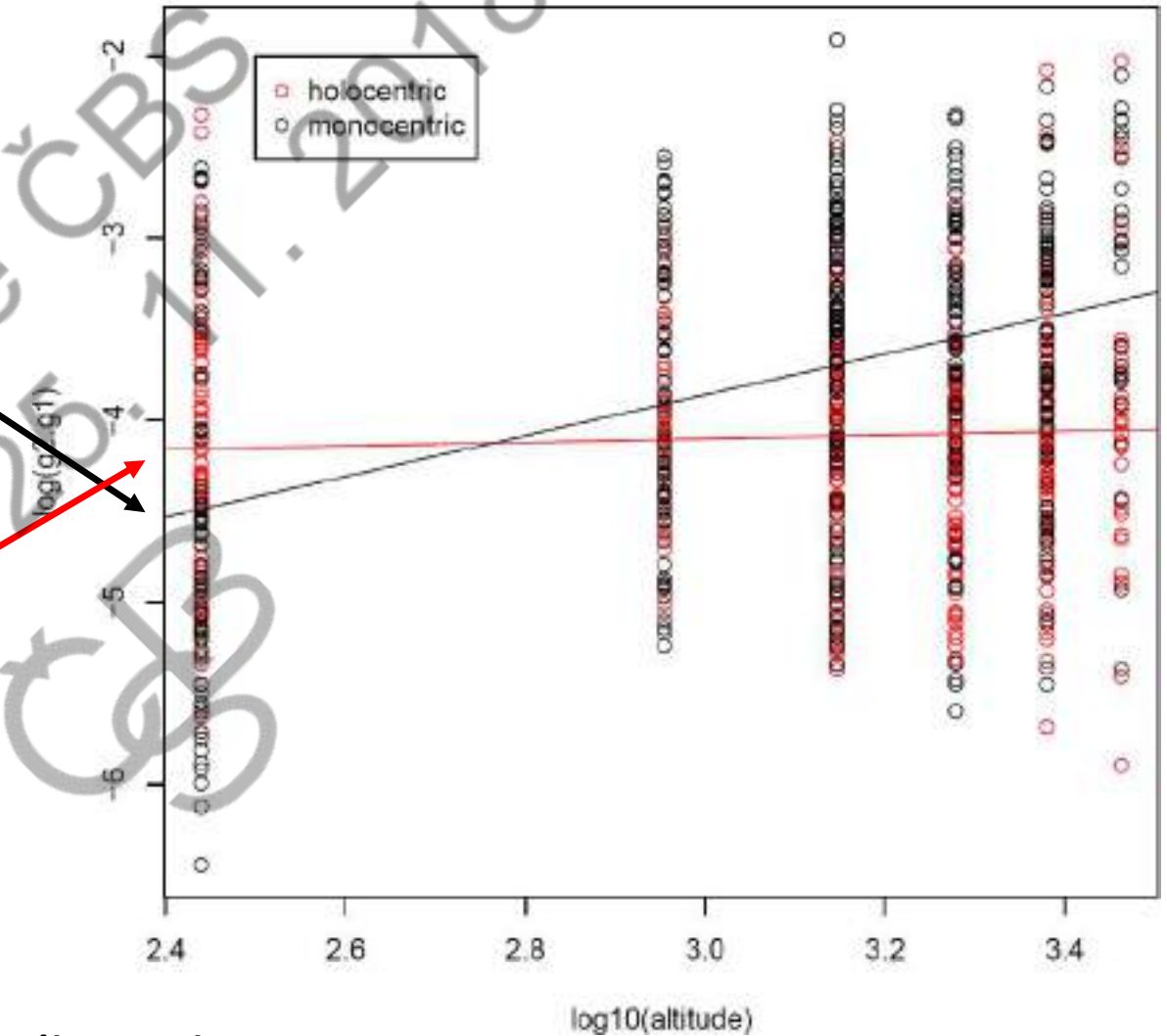


827 hodnot pro $G2 / (G0+G1)$

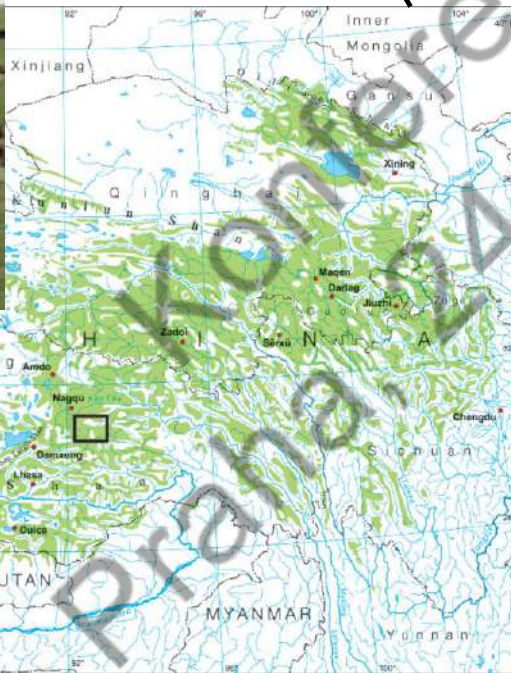
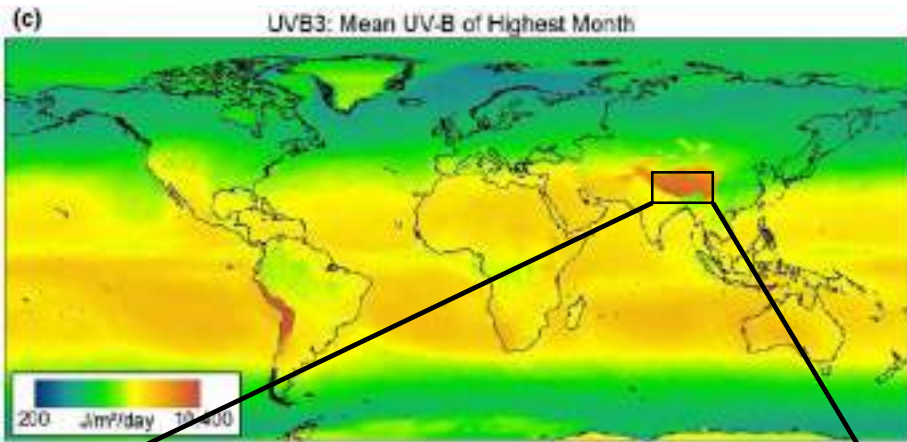
Pokus 2: Graminoidi na altitudinálním gradientu

Monocentrici: $G2 / (G0 + G1)$ roste s nadmořskou výškou rychleji

Holocentrici: sklon růstu $G2 / (G0 + G1)$ v závislosti na nadmořské výšce se neliší signifikantně od nuly



827 hodnot $G2/(G0+G1)$,
z toho 427 pro holo a 400 pro mono



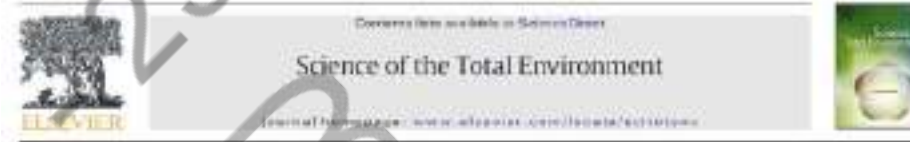
Article Georg Miele, Sabine Miele, Knut Kaiser, Liu Jianquan and Xinquan Zhao

Status and Dynamics of the *Kobresia pygmaea* Ecosystem on the Tibetan Plateau

The *K. pygmaea* ecosystem is the only larger vegetation unit of the Tibetan plateau that forms a closed vegetation cover of Cyperaceae turf. The mats consist of *K. pygmaea*, the smallest

	Record number										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Number of flowering species	9	11	20	15	26	14	18	18	16	22	11
<i>Andropogon distachyos</i>	0	2	60	90	70	66	96	85	90	93	98
<i>Phacelia grandis</i>	-	-	3	3	+	+	2	+	1	1	+
<i>Cirsium discolor</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>Urtica dioica</i>	-	-	1	2	+	-	1	1	1	1	1
<i>Phacelia distachyos</i>	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
<i>Silene acaulis</i>	-	-	2	+	-	-	+	+	+	1	-

Scale of the vegetation cover (M) (2011) (54-77)



Review

The *Kobresia pygmaea* ecosystem of the Tibetan highlands – Origin, functioning and degradation of the world's largest pastoral alpine ecosystem *Kobresia* pastures of Tibet

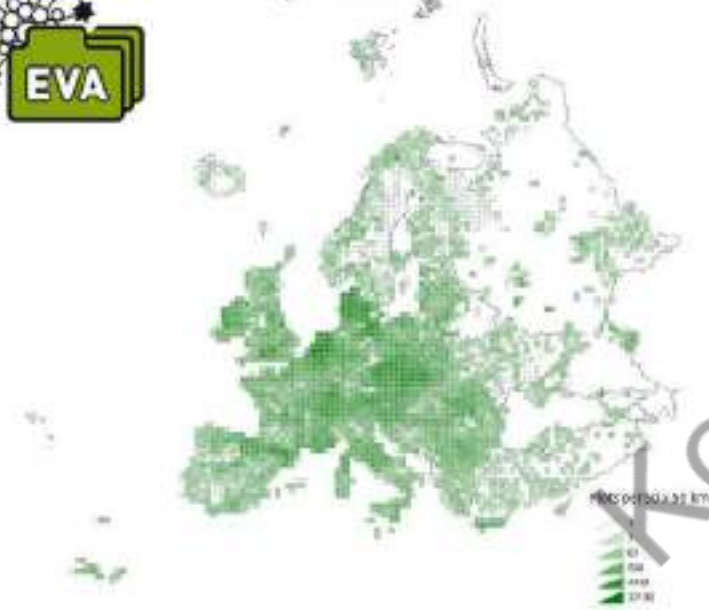
Georg Miele^a, Per-Marten Schleuss^b, Elke Seebier^c, Wolfgang Babel^{d,e}, Tobias Biermann^f, Martin Brändle^g, Fabu Chen^h, Heinz Conersⁱ, Thomas Foken^j, Tobias Gerken^k, Hans-F. Graf^l, Georg Guggenberger^m, Silke Hafnerⁿ, Maika Holzappel^o, Johannes Ingrisch^p, Yakov Kuznetsov^{q,r,s}, Zhongping Lai^t, Lukas Lehnert^u, Christoph Leuschner^v, Xiaogang Li^w, Jianquan Liu^x, Shilin Liu^y, Yaoming Ma^z, Sabine Miele^a, Volker Mosbrugger^{aa}, Henry J. Noltie^{ab}, Joachim Schmidt^{ac}, Sandra Spielvogel^{ad}, Sebastian Untereggsbacher^{ae}, Yan Wang^{af}, Sandra Willinghöfer^{ag}, Xingliang Xu^{ah}, Yongping Yang^{ai}, Shuren Zhang^{aj}, Lars Opgenoorth^{ak}, Karsten Wesche^{al}

are stored in soils (0–0.75 m) of the Qinghai-Tibetan plateau for an estimated area of 1,627,000 km². The *Kobresia* ecosystem (450,000 km²)

„Pokus 3“: Holo- a monograminoidi v kompetici



Plot density in 50 x 50 km cells



In March 2018, EVA consisted of 74 databases and 1,496,363 vegetation plots

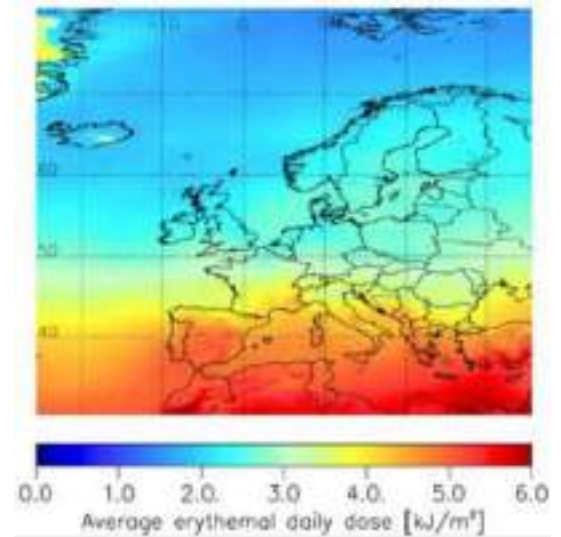
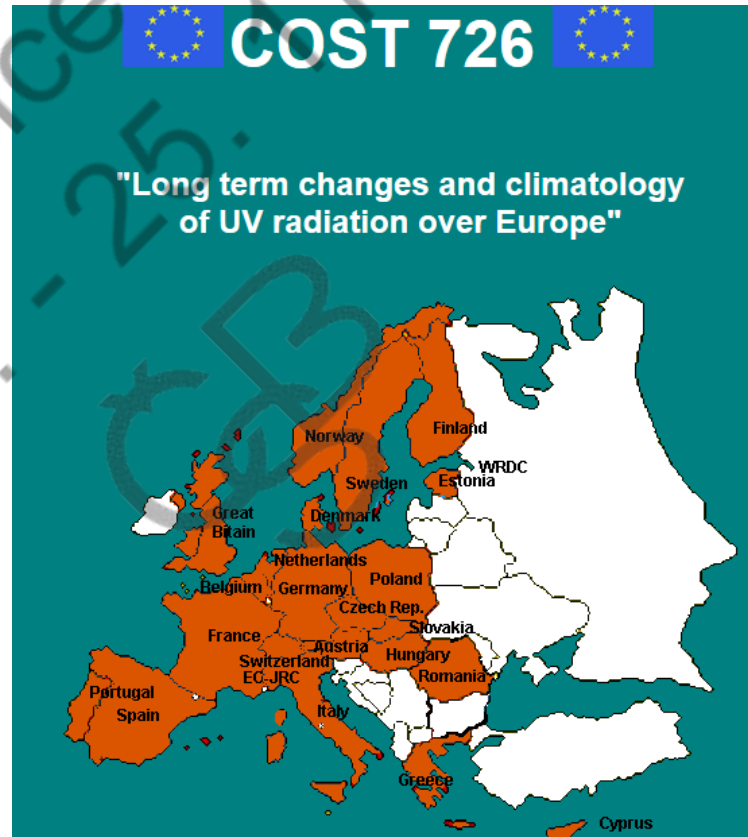
324 146 georeferencovaných vegetačních snímků
bez stromového patra
s přítomností Poaceae + (Cyperaceae nebo Juncaceae)

Radiation Protection Dosimetry (2006), Vol. 111, No. 4, pp. 407-411
doi:10.1093/rpd/nci007

A EUROPEAN SATELLITE-DERIVED UV CLIMATOLOGY AVAILABLE FOR IMPACT STUDIES

J. Verilhac
European Commission, Joint Research Centre, Institute for Health and Consumer Protection,
Via E. Fermi 1, 20020 Ispra (VA), Italy

This paper presents a satellite-derived climatology of the surface UV radiation, intended to support impact studies on the environment and human health. As of today, the dataset covers the period from 1 February 1984 to 31 August 2003, with daily dose maps covering Europe with a spatial resolution of 0.05°. It compares between the modelled erythemal daily dose and measurements in open fields at 0.05° scale with a relative difference of 25% and a bias of 3%. The remaining large dispersion is, however, due to a restricted number of days for which the relative difference is very high. The climatological dataset documents systematic patterns in the geographical distribution of the surface UV radiation due to cloudiness, altitude and season. It also shows a large year-to-year variability in monthly doses of up to ±50% in spring and ±30% in summer.

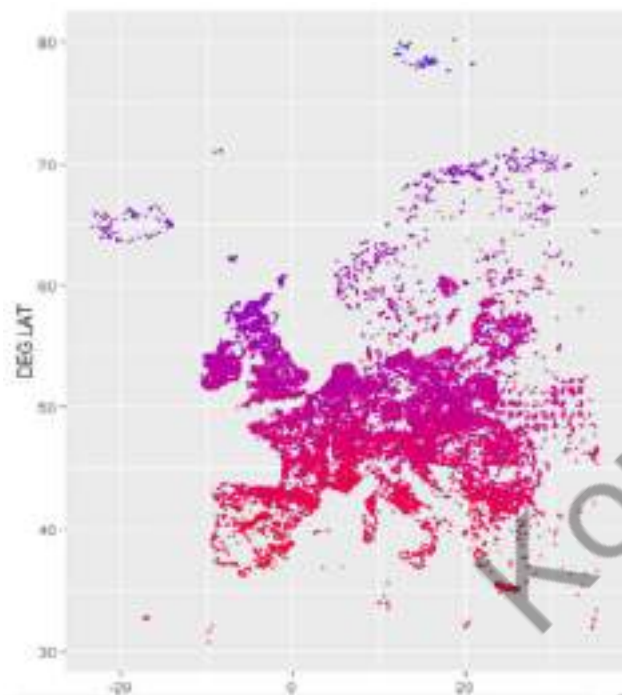


síť: 0.05 ° x 0.05 °
UV-B
každá půlhodina od
1. 1. 1984 do 31. 8.2003

700 GB dat

Excerptovány průměrné
denní dávky z vegetačních
sezón 1984-2003

„Pokus 3“: Holo- a monograminoidi v kompetici



pro každý snímek spočítán poměr pokryvností
(Cyper + Junc) / Poaceae

pro každý snímek spočítán vážený průměr
indikačních hodnot pro **vlhkost**

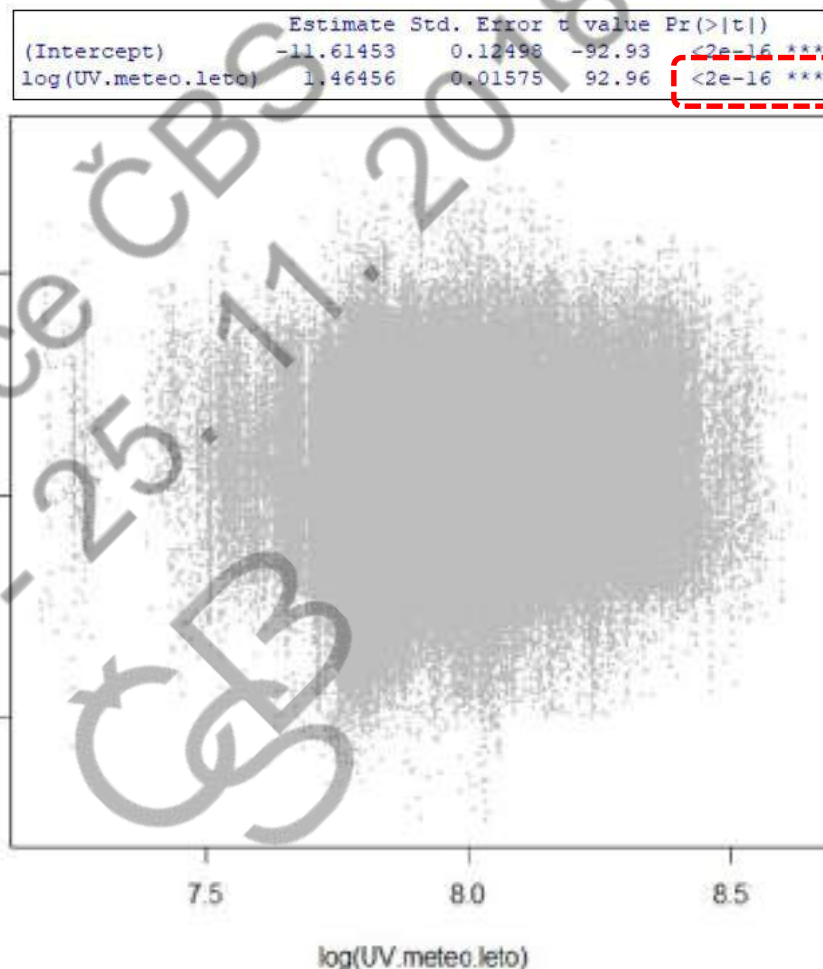
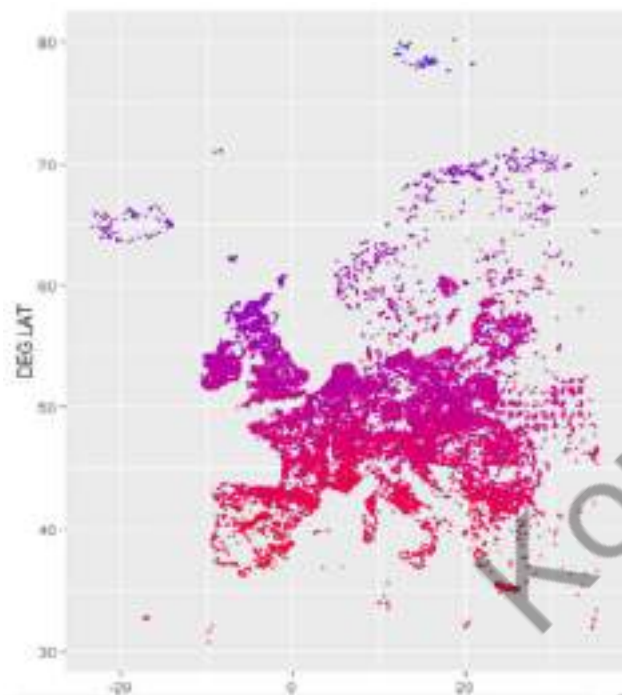
pro celý soubor spočítána **regrese**:
vlhkost → (Cyper + Junc) / Poaceae = Holo/Mono

Analyzována rezidua

324 146 georeferencovaných vegetačních snímků
bez stromového patra
s přítomností Poaceae + (Cyperaceae nebo Juncaceae)

„Pokus 3“: Holo- a monograminoidi v kompetici

Analýza reziduí (Cyper + Junc) / Poaceae ← UV-B

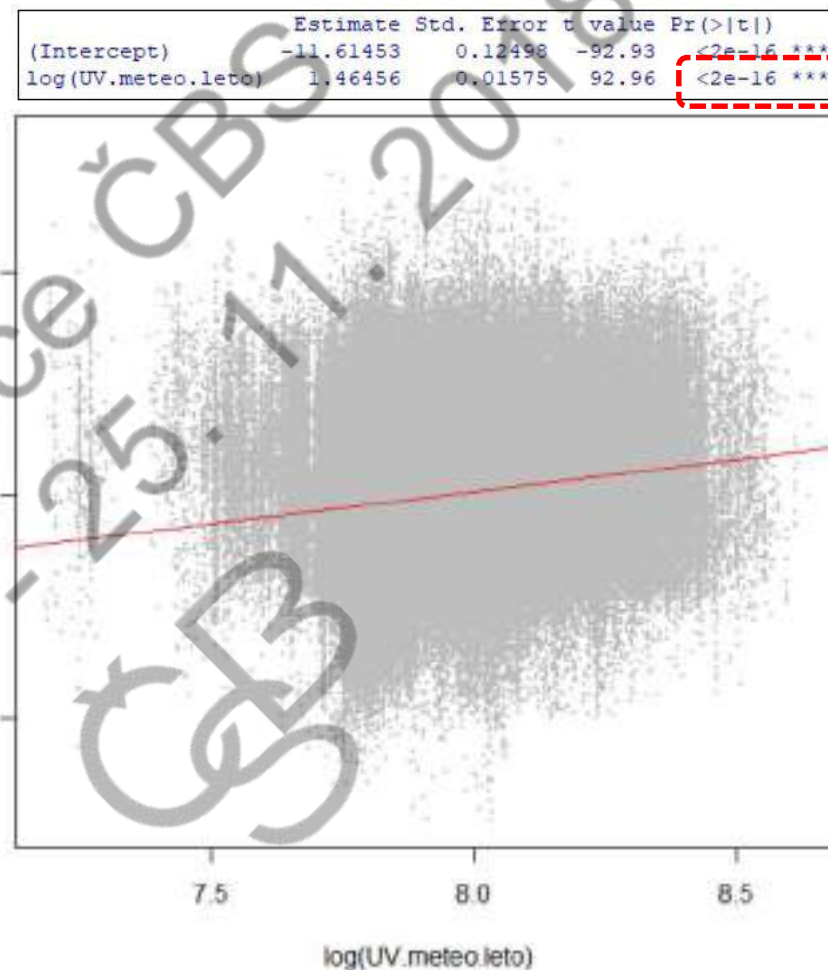
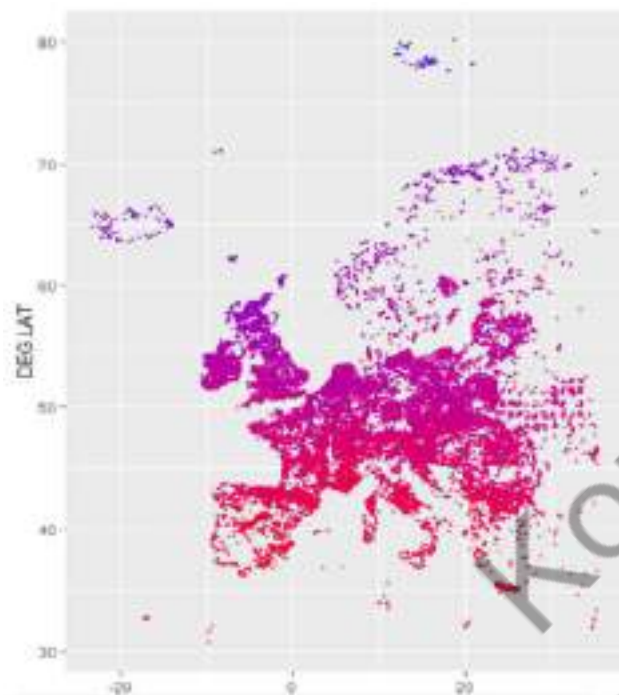


324 146 georeferencovaných vegetačních snímků
bez stromového patra
s přítomností Poaceae + (Cyperaceae nebo Juncaceae)

Excerovány průměrné
denní dávky z vegetačních
sezón (21. 6. – 23. 9.)
1984–2003



„Pokus 3“: Holo- a monograminoidi v kompetici



**S rostoucím
UV-B
zářením
se poměr
holo / mono
u graminoidů
zvyšuje**

324 146 snímků bez stromového
patra s přítomností Poaceae +
(Cyperaceae nebo Juncaceae)

Excerovány průměrné
denní dávky z vegetačních
sezón (21. 6. – 23. 9.)
1984–2003

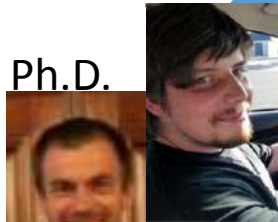


Závěry:

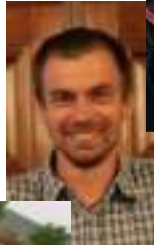
- Také dnešní monocentrici mohou mít ve vyšším UV-B větší problémy než holocentrici (les-neles, altitudinální gradient).
- Menší kompetitivnost dnešních holocentriků je o něco méně malá pokud „soutěží“ s monocentriky ve vyšším UV-B záření.
- V žádném případě nechceme říci, že je (z dlouhodobého hlediska) holocentrismus výhodnější než monocentrismus !!!
- Rovněž zkoumání role šáchorovitých a trav v dnešních ekosystémech předmětem našeho výzkumu opravdu nebylo !!!
- Jen jsme podpořili naši hypotézu, že terestrializace pozemského života mohla být jedním z evolučních kontextů, při kterých mohl být holocentrismus „k něčemu dobrý“



Mgr. František Zedek, Ph.D.



Mgr. Jakub Šmerda, Ph.D.



Mgr. Pavel Veselý, Ph.D.



Mgr. Petr Šmarda, Ph.D.



Klára Plačková



Mgr. Lucie Horová



Mgr. Daniela Bártová



Jana Kocmanová



Děkuji za pozornost



Mag. Dr. Alois W. Schmalwieser

Unit of Physiology and Biophysics University of
Veterinary Medicine, Vienna, Austria



Mgr. Jakub Nezval, Ph.D.

Katedra Fyziky



prof. RNDr. Milan Chytrý, Ph.D.

Ústav botaniky a zoologie
Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita



Mgr. Ilona Knollová, Ph.D.

Ústav botaniky a zoologie
Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita



doc. Mgr. Lubomír Tichý, Ph.D.

Ústav botaniky a zoologie
Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita

