

Univerzita Karlova

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: BBI



Vojtěch Schmidt

Evoluce auxinového metabolismu, signalizace a transportu v zelené linii

(Viridiplantae)

The evolution of auxin metabolism, signalling and transport in the green lineage

(Viridiplantae)

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Jan Petrášek, PhD.

Konzultant: Mgr. Roman Skokan

Praha, 2019

Poděkování

Rád bych poděkoval RNDr. Janu Petráškovi, PhD. za odborné vedení mé práce a cenné rady. Mé díky patří i Mgr. Romanu Skokanovi za ochotu, cenné rady a za představení svého výzkumu.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 7.5.2019

Podpis

Abstrakt

Fytohormon auxin je esenciální koordinátor růstu a vývoje suchozemských rostlin. Avšak mechanismy jeho působení u řas jsou nám doposud málo známé, neboť začaly být zkoumány relativně nedávno. Současný pokrok se zakládá hlavně na sekvenčních datech, přičemž jsou identifikovány homologní geny související s mechanismy účinku auxinu, tedy s jeho metabolismem, signalizací a transportem u vyšších rostlin. Biosyntéza auxinu předcházela rozdělení chlorofyt a streptofyt. Pokročilejší regulování hladiny auxinu konjugací se týká spíše suchozemských rostlin. První signalizační procesy byly pravděpodobně na netranskripční úrovni. Jaderně lokalizovaná auxinová signální dráha regulující transkripci mohla být sestavena z velmi starých komponent dříve s auxinem nesouvisejících. U charofyt tato dráha neexistuje, jsou však přítomny domény některých komponent. Kompletní auxinová regulace transkripce vznikla zřejmě až po přechodu na souš. Transport z buňky byl jeden z prvních mechanismů regulace hladiny auxinu. Sofistikovanější transportní přenašečový systém se začal rozvíjet u charofyt, u kterých byl také prokázán polární transport auxinu. Auxin tedy figuroval jako signální látka u primitivních řas, ale spektrum jím regulovaných procesů se začalo dramaticky rozšiřovat s přechodem na souš. Pro budoucí výzkum této problematiky je potřeba zavést další modelové organismy, zejména u charofyt.

Klíčová slova:

auxin, evoluce, řasy, mechorosty, metabolismus auxinu, auxinová signalizace, transport auxinu

Abstract

Phytohormone auxin is an essential coordinator of growth and development within land-plants. Mechanisms of auxin action in algae is still poorly understood, given that related research has begun recently. Current progress is derived mainly from available sequence data, which are necessary for analysis of gene homology with higher plants. In this case with the genes related to auxin action mechanisms, e.g. metabolism, signaling and transport. Auxin biosynthesis predated the split of Chlorophyta and Streptophyta, but tighter regulation of auxin levels is the matter of land-plants. First auxin responses were probably non-transcriptional. Transcription-regulating nuclear signaling pathway assembled from more ancient domains, some of them were identified in Charophyta, but whole pathway was complete after colonization of land. Auxin transport out of the cell was one of the original mechanisms of regulating its levels. More sophisticated auxin carrier system was proposed to evolve in Charophyta, where polar auxin transport was identified. Auxin as a signaling molecule was present in primitive algae groups, but its response spectrum dramatically increased after colonization of land. Future research of auxin action evolution needs more model organisms to be established, especially from Charophyta.

Keywords:

auxin, evolution, algae, Bryophyta, auxin metabolism, auxin signaling, auxin transport

Seznam zkratek:

2,4-D – kyselina 2,4-dichlorfenoxy-octová

ABCB – ATP-Binding Cassette Subfamily B

ABP1 – Auxin Binding Protein 1

ARF – Auxin Response Factor

Aux/IAA – Auxin/Indole-3-acetic acid

AUX1/LAX – Auxin insensitive 1/Like Auxin Insensitive

ER – endoplazmatické retikulum

GH3 – Glycoside Hydrolase 3

IAA – kyselina indol-3-octová

IPyA – kyselina indol-3-pyrohroznová

LRR – Leucin Rich Repeat (opakování bohaté na leucin)

NAA – kyselina 1-naftyloctová

NOG – No Gametophores

PAT – Polar Auxin Transport

PID - PINOID

PIN – PIN-FORMED

PILS – PIN-LIKES

PP2A – Protein Phosphatase 2A

SHI/STY – Sort Internodes/Stylish

SKP2A – S-Phase Kinase-Associated Protein 2A

TAA – Tryptophan Aminotransferase of Arabidopsis

TIR1/AFB – Transport Inhibitor Response 1/Auxin signalling F-box

TPL - TOPLESS

Obsah

1	Úvod	1
2	Mechanismy auxinového metabolismu, signalizace a transportu	2
2.1	Metabolismus	2
2.2	Signalizace	3
2.3	Transport	4
3	Úvod do fylogeneze Viridiplantae	6
4	Evoluce metabolismu, signalizace a transportu auxinu	10
4.1	Evoluce auxinového metabolismu	10
4.1.1	Mechorosty.....	10
4.1.2	Řasy.....	10
4.2	Evoluce auxinové signalizace	11
4.2.1	Mechorosty.....	11
4.2.2	Řasy.....	12
4.3	Evoluce auxinového transportu.....	13
4.3.1	Mechorosty.....	13
4.3.2	Řasy.....	14
5	Diskuse: Koncept auxinu je živé téma	16
5.1	Od kdy je IAA auxinem?	16
5.2	Auxin po dobytí souše.....	17
5.3	Budoucnost modelů ve vztahu k auxinu	18
6	Závěr	19
7	Seznam literatury	19

1 Úvod

Auxin je nejdéle známou a nejprozkoumanější látkou s růstově regulační funkcí u rostlin během celého jejich životního cyklu. Patří mezi tzv. fytohormony, které oproti hormonům živočišným nemají orgány specializované přímo pro jejich syntézu a mají širší koncentrační rozmezí, ve kterém působí. Spektrum fyziologických a vývojových odpovědí na auxin je obrovské, řada z nich je řízena i jeho mezibuněčným transportem. Auxin obecně funguje jako látka s morfogenní aktivitou, která svou regulovanou distribucí ovlivňuje vývoj jednotlivých buněk, pletiv a orgánů, jejichž odpověď je dána jak nastavením signální dráhy zprostředkovávající transkripční i netranskripční odpovědi, tak metabolismem auxinu. Odpověď na auxin je tak velmi závislá na povaze pletiva a provází celý embryogenní a post-embryonální vývoj rostlin (Vanneste a Friml, 2009). Mechanismus působení auxinu je též funkčně provázán s odpověďmi na řadu dalších signálních látek i stimulů z prostředí (Depuydt a Hardtke, 2011; Vanstraelen a Benková, 2012).

V této podobě auxin funguje u tzv. vyšších rostlin, kde je také nejpodrobněji popsán, zejména na modelu *Arabidopsis thaliana* (dále *Arabidopsis*). V poslední době jsou mechanismy účinku auxinu intenzivněji studovány také u mechorostů, reprezentujících první suchozemské rostliny. Důležité komponenty mechanismů účinku auxinu jsou přítomny v genomu mechu *Physcomitrella patens* (*P. patens*) a játrovky *Marchantia polymorpha* (*M. polymorpha*), hlavních modelových organismech mechorostů (Rensing, 2008; Bowman *et al.*, 2017). Bylo experimentálně prokázáno, že auxin je skutečně klíčovým regulátorem vývoje i u těchto organismů (Lavy *et al.*, 2016; Flores-Sandoval *et al.*, 2015; Eklund *et al.*, 2010).

Jelikož se mechorosty oddělily zřejmě záhy po přechodu na souš, auxin byl důležitý od velmi rané fáze evoluce vyšších (suchozemských) rostlin, lze tedy předpokládat, že tomu tak bylo i u společného předka vyšších rostlin. Původ těchto mechanismů zřejmě leží u streptofytních řas (charofyt), představujících sesterskou skupinu suchozemským rostlinám. Současnou úroveň poznání mechanismů účinku auxinu u řas zatím posouvají jen dostupná sekvenční data. V posledních letech byly kompletně osekvenovány genomy některých streptofytních řas (Hori *et al.* 2014; Nishiyama *et al.* 2018), většinou jsou však známy pouze analýzy transkriptomů, chondriomů a plastomů (Delwiche, 2016).

Hlubší pochopení původu mechanismů účinku auxinu může přinést nové otázky a odhalit směry budoucího zkoumání tohoto fytohormonu. V této práci budou nejprve představeny základní poznatky o jeho metabolismu, signalizaci a transportu a následně popsána fylogeneze mechanismů, které tyto procesy zajišťují v tzv. zelené linii, směřující k vyšším rostlinám.

Cílem této práce je tak nejen shrnout současný stav poznání, ale i vystopovat jejich evoluční souvislost.

2 Mechanismy auxinového metabolismu, signalizace a transportu

Některé hlavní fyziologické účinky auxinu (z řeckého slova auxein neboli růst), který je studován více než sto let (Enders a Strader, 2016), byly známy dávno před identifikací jeho chemické struktury. Většina výzkumu fyziologie auxinu byla provedena u krytosemenných rostlin. Pro potřeby této práce budou v této kapitole rozebrány základní dráhy metabolismu, signalizace a transportu auxinu, vycházející především ze studia modelové rostliny *Arabidopsis*.

2.1 Metabolismus

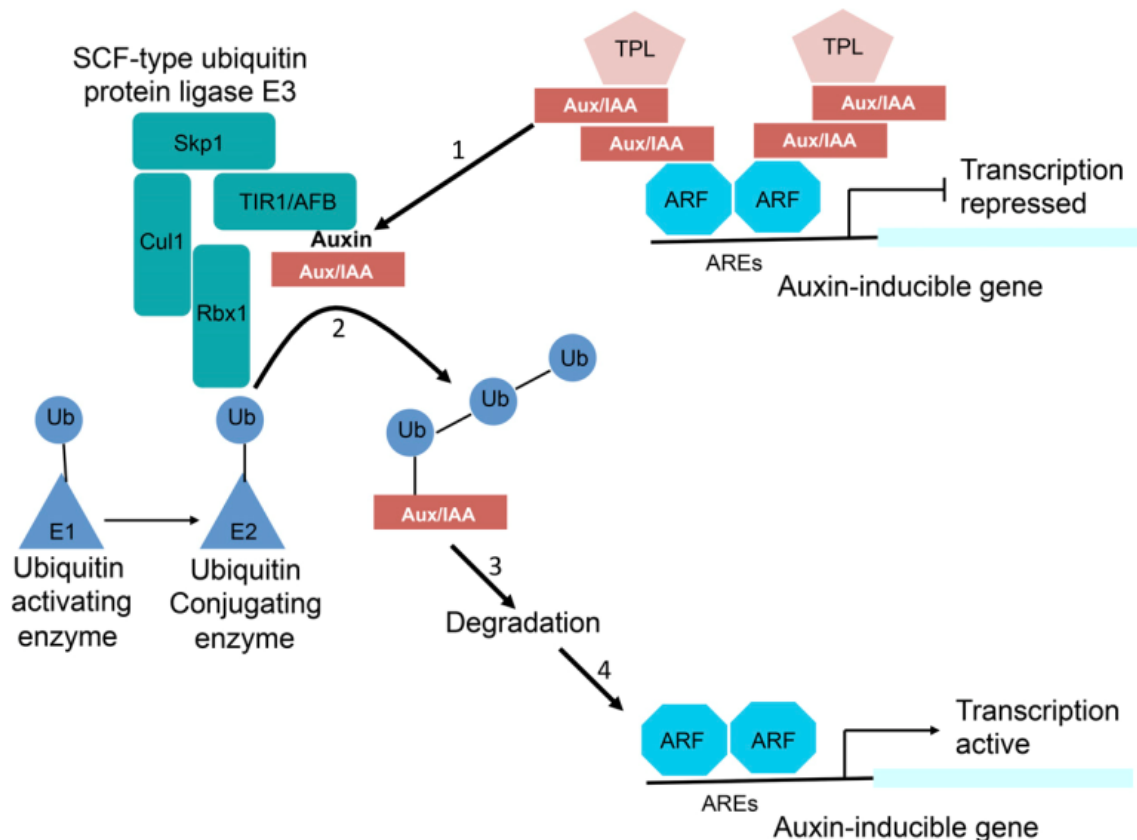
Metabolismus auxinu zahrnuje biosyntézu, konjugaci, dekonjugaci a degradaci. Tyto procesy spolu s transportem regulují auxinovou homeostázi v buňce. Typů nativních auxinů je více (Simon a Petrášek, 2011), nejvíce zastoupeným je ale s převahou kyselina indol-3-octová (IAA). V experimentech se mimo IAA používají také stabilnější syntetické auxiny kyselina 2,4-dichlorfenoxycetová (2,4-D) a kyselina 1-naftylacetová (NAA).

IAA je derivát L-tryptofanu (Trp). Trp vzniká šikimátovou dráhou společně s dalšími aromatickými aminokyselinami. Biosyntéza IAA je realizována pěti známými dráhami, čtyřmi závislými na Trp a jednou na Trp nezávislou, které jsou pojmenovány vždy dle prvního meziprojektu (Ljung, 2013). Hlavní podíl na biosyntéze IAA má Trp-závislá dráha přes kyselinu indol-3-pyrrolidonovou (IPyA). Aminotransferáza TRYPTOPHAN-AMINOTRANSFERASE OF ARABIDOPSIS (TAA) přetváří L-Trp na IPyA. Flavin-monooxygenáza YUCCA (YUC) potom převádí IPyA na IAA. Právě aktivita enzymu YUC je hlavním regulačním bodem této dráhy, která je mezi rostlinami konzervována. Ačkoli může být IAA syntetizován v různých pletivech, většina biosyntézy je soustředěna v apikálním meristému prýtu a v mladých listech.

IAA je aktivní ve své volné formě, většina IAA je však u *Arabidopsis* specificky konjugována s nízkomolekulárními látkami, a to zejména s aminokyselinami a sacharidy. Konjugace umožní dočasnou inaktivaci IAA, který lze opět mobilizovat dekonjugací (Korasick *et al.*, 2013). IAA může být konjugován i nevratně a tím odsouzen k oxidativní degradaci. Degradace se ovšem týká i volného IAA (Rosquete *et al.*, 2011; Ludwig-Müller, 2011). Konjugace a degradace je tedy důležitý nástroj pro rychlou regulaci homeostáze IAA v jednotlivých pletivech.

2.2 Signalizace

Auxinová signalizace je pojítkem mezi změnou hladiny auxinu a příslušnou odezvou na transkripční i netranskripční úrovni. Regulace transkripce auxinem je zajištěna komplexem ubikvitin ligázy (S-PHASE KINASE-ASOCIATED PROTEIN 1 (SKP1)-CULLIN-F-BOX SCF^{TIR1/AFB}), který obsahuje i vlastní receptor pro auxin, protein TIR1 (Obrázek 1). Promotory genů regulované auxinem obsahují řadu tzv. Auxin Response Elements (AuxREs), které jsou rozpoznávány transkripčními faktory AUXIN RESPONSE FACTORS (ARFs). Tyto jsou nízkých hladin auxinu inaktivovány dimerizací s represivním komplexem AUXIN/INDOLE-3-ACETIC ACID (Aux/IAA) a TOPLESS (TPL). TPL navíc zprostředkuje interakci s histon-deacetylázami, které stabilizují heterochromatin (Weijers a Wagner, 2016). Přenos signálu auxinu pak začíná navázáním IAA na jaderný receptor TRANSPORT INHIBITOR RESPONSE 1/AUXIN SIGNALING F-BOX (TIR1/AFB), který je součástí komplexu SCF^{TIR1/AFB}. Auxin jako “molekulární lepidlo“ umožní vazbu koreceptoru Aux/IAA



Obrázek 1: Mechanismus auxinové signální dráhy na příkladu auxinem indukovaného genu. Auxin se váže na receptor TIR1/AFB, jenž je součástí SCF komplexu ubikvitin ligázy E3. To umožní vazbu tohoto komplexu na Aux/IAA represor, který je po ubikvitinaci degradován v 26S proteazómu. Tím dojde k derepresi DNA-vazebného transkripčního faktoru ARF a následně k transkripci auxinem indukovaného genu. Převzato z Leyser (2018).

k SCF^{TIR1/AFB} komplexu E3 ubikvitin ligázy, což způsobí ubikvitinaci komplexu Aux/IAA-TPL jeho následnou degradaci v 26S proteazómu. Tímto jsou transkripční faktory ARF aktivovány a mohou se vázat na AuxRE (Leyser, 2018). Souhrnně lze říci, že auxin stimuluje specifickou degradaci represorů transkripčních faktorů.

V literatuře jsou též popsány další vazebné proteiny pro auxin, u nichž je prozatím jejich role ve zprostředkování auxinového signálu méně jasná. Prvním z nich je AUXIN BINDING PROTEIN 1 (ABP1), který je lokalizovaný přednostně v membránách endoplazmatického retikula (ER), ale jeho role v přenosu signálu je nejasná hlavně vzhledem k absenci mutantních fenotypů (Gao *et al.*, 2015; Strader a Zhao, 2017). V netranskripčních odezvách na auxin zřejmě hraje roli také již zmíněný receptor TIR1/AFB receptor, který se ukázal jako nezbytný pro okamžitou inhibici růstu kořene v reakci na zvýšení koncentrace auxinu (Fendrych *et al.*, 2018; Retzer *et al.*, 2018). Dalším vazebným proteinem auxinu je receptor typu F-box proteinu SKP2A (podobně jako TIR1) reprimující buněčný cyklus a je po percepci auxinu degradován (Pozo a Manzano, 2014).

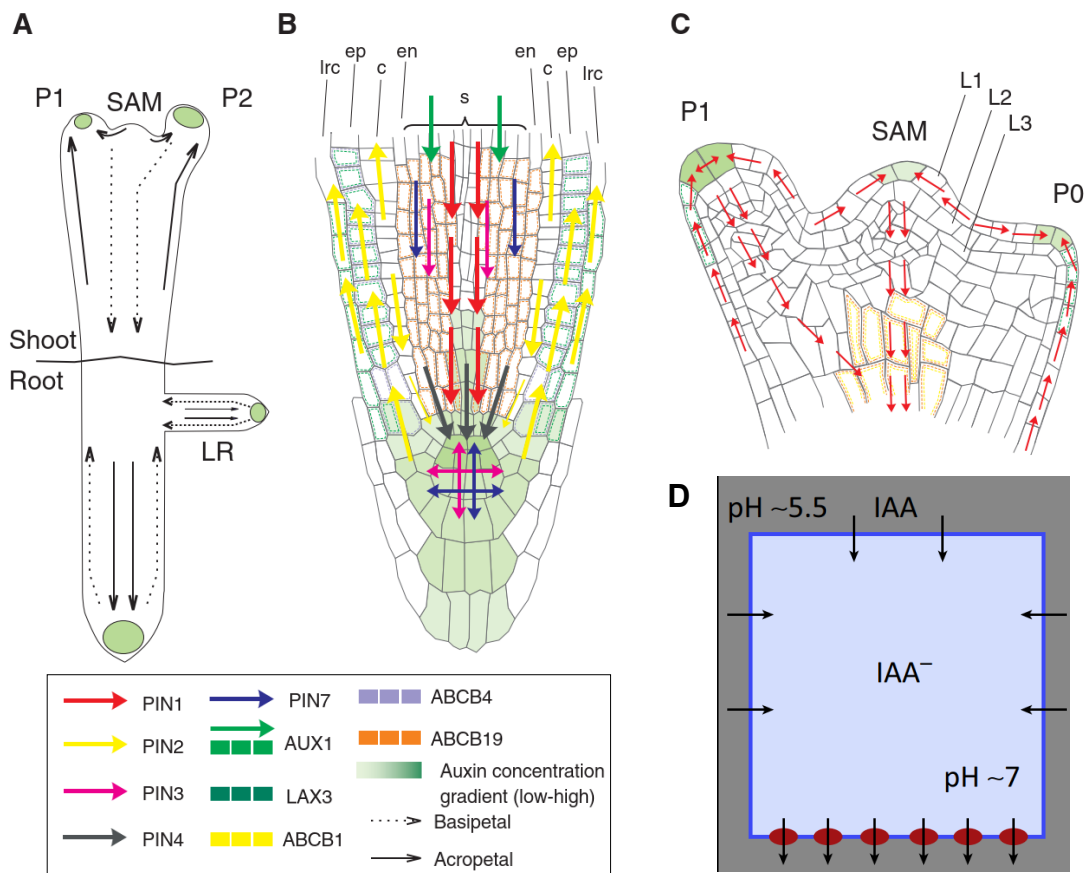
2.3 Transport

Auxin může být transportován floémem na delší vzdálenosti z míst zvýšené biosyntézy auxinu ("source"; mladá pletiva) do míst vyšší spotřeby ("sink"; kořen). Mezi fytohormony je však auxin unikátní svým směrovaným transportem z buňky do buňky (polární transport auxinu, PAT). Oproti floémovému transportu je PAT pomalejší a směrován specifickou distribucí membránových přenašečů auxinu. PAT je zodpovědný za tvorbu a regulaci gradientu auxinu v pletivech (Vanneste a Friml, 2009). Princip pohybu auxinu z buňky do buňky popisuje tzv. chemiosmotická hypotéza (Obrázek 2D). IAA je jako slabá karboxylová kyselina v nižším pH apoplastu protonována, avšak po vstupu do neutrálního prostředí cytoplazmy IAA disociuje (IAA⁻). Disociovaná molekula není schopna samovolně projít plazmatickou membránou, proto může buňku opustit pouze prostřednictvím přenašečů. IAA může vstoupit do buňky samovolně, nebo pomocí přenašečů AUXIN RESISTANT 1/LIKE AUXIN RESISTANT 1 (AUX1/LAX) symportem s protony (Vanneste a Friml, 2009). Přenašeče AUX1/LAX patří do rodiny aminokyselinových permeáz (Singh *et al.*, 2018). U *Arabidopsis* byli identifikováni 4 členové této rodiny, které vykazují pletivově-specifickou lokalizaci na plazmatické membráně. Zajišťují import auxinu v rámci PAT a tím pádem se podílejí ve všech procesech souvisejících s vytvářením auxinových gradientů, jako jsou gravitropní odpovědi, vývoj embrya vývoj postranních kořenů aj. (Lacek *et al.* 2017).

Ačkoli stále není známa jejich trojrozměrná struktura, ani mechanismus přenosu auxinu, z hlediska poznání fyziologického významu jsou nejprostudovanějšími přenašeči auxinu proteiny PIN-FORMED (PIN). Jedná se o sekundárně aktivní přenašeče. U *Arabidopsis* bylo identifikováno osm členů rodiny PIN. Pět z těchto členů je lokalizováno na plazmatické membráně. Jejich společným rysem je delší hydrofilní, intracelulární smyčka. Právě tyto proteiny se podílí na transportu auxinu z buňky a svou regulovanou polární distribucí určují směr toku auxinu v rámci PAT (Obrázek 2; Petrášek a Friml, 2009). Odlišným typem jsou proteiny PIN s redukovanou intracelulární smyčkou, nacházející se na membránách ER. PIN6 byl identifikován na plazmatické membráně i na membráně ER. Proteiny PIN lokalizované na ER se podílejí na intracelulární homeostázi auxinu (Mravec *et al.*, 2009; Ding *et al.*, 2012; Simon *et al.*, 2016). Na membráně ER jsou dále také přítomny auxinové přenašeče s podobnou strukturou jako proteiny PIN, tzv. PIN-LIKES (PILS), které rovněž přispívají k regulaci auxinové homeostáze v buňce (Barbez *et al.*, 2012). Funkce proteinů PIN je pečlivě regulována na několika úrovních. Množství proteinů PIN je regulováno samotnou auxinem řízenou transkripcí prostřednictvím SCF^{TIR1/AFB}, dále je zapojen proces recyklace těchto přenašečů mezi plazmatickou membránou a endozomálním prostorem buňky, a konečně abundance je kontrolována prostřednictvím vakuolární degradace. Důležitou post-translační modifikací u proteinů PIN je jejich fosforylace, která rozhoduje o jejich lokalizaci. Apikální lokalizace je zajištěna fosforylací kinázou PINOID (PID), naopak fosfatáza PROTEIN PHOSPHATASE 2A (PP2A) zajistí lokalizaci bazální (Adamowski a Friml, 2015).

Na PAT se také podílejí přenašeče ATP-BINDING CASSETTE SUBFAMILY B/MULTIDRUG RESISTANCE/PHOSPHOGLYCOPROTEIN (ABCB/MDR/PGP, dále ABCB), které přenášejí auxin za hydrolýzy ATP. Patří do rodiny ABC proteinů vyskytujících se napříč celým spektrem organismů a tato rodina má širokou substrátovou specifitu. U *Arabidopsis* bylo nalezeno 5 ABCB genů, které se účastní přenosu auxinu. Tyto membránové proteiny oproti PIN nevykazují polární lokalizaci a zpravidla nepodléhají internalizaci (Cho a Cho 2013).

V souhrnu se dá konstatovat, že auxin reguluje rostlinný vývoj na základě koncentračních gradientů tvořených jak metabolickými procesy, tak PAT. Lokální koncentrace auxinu potom určuje výslednou transkripční i netranskripční odezvu.



Obrázek 2: Polární transport auxinu u *Arabidopsis*. **(A)** Schématické znázornění auxinových maxim v apikálním meristému prýtu, kořenové špičce a v laterálním kořeni. **(B)** Lokalizace membránových přenašečů a směrů transportu auxinu v kořenové špičce. **(C)** Směry transportu auxinu tvořící auxinová maxima v apikálním meristému prýtu. **(D)** Schéma chemiosmotické hypotézy. Protonovaný IAA po vstupu do buňky disociuje, tudíž může buňku opustit pouze přes membránové přenašeče, čehož využívá PAT. **(A-C)** převzato z Petrášek a Friml (2009), **(D)** převzato z Bennett (2015).

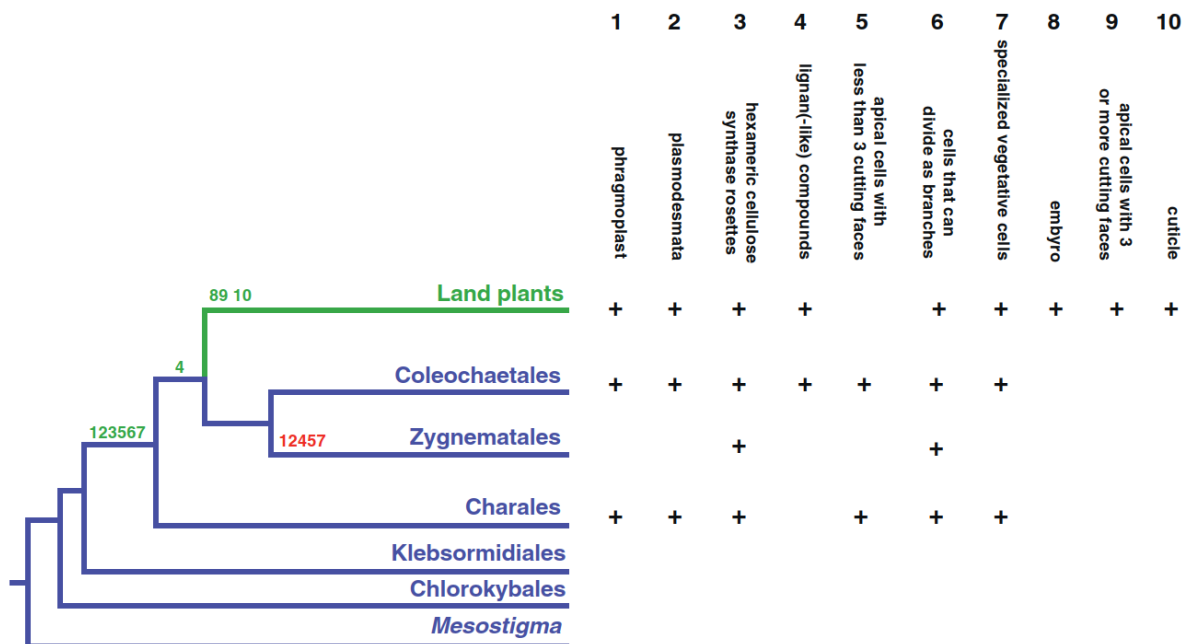
3 Úvod do fylogeneze Viridiplantae

Viridiplantae (zelené rostliny) tvoří druhově nejpočetnější skupinu fotosyntetických eukaryot. Spolu se skupinami Rhodophyta (ruduchy) a Glaucophyta jsou součástí (monofyletické) říše Archaeplastida a spojuje je přítomnost primárního plastidu (Delwiche a Cooper, 2015). Od sesterských ruduch se “zelená linie“ odštěpila před asi 1500 miliony let (Yoon *et al.*, 2004). Pochopení fylogeneze zelené linie je klíčové pro studium mechanismů, které usměrňovaly evoluci různorodých životních forem rostlin do současných podob.

Zelená linie zahrnuje tzv. zelené řasy a suchozemské rostliny (embryofyta) v rámci dvou skupin, tj. Chlorophyta a Streptophyta. K divergenci těchto dvou skupin došlo přibližně před 700 až 1200 miliony let (Becker, 2013). Chlorofyta jsou původně mořské řasy, avšak

odvozenější skupiny rovněž pronikly do sladkých vod, popřípadě na souš. Této skupině řas náleží i větší druhová diverzita, než mají řasy streptofytní. Ty se po oddělení vyvíjely ve sladkovodním prostředí (Obrázek 4), což je předurčilo ke kolonizaci souše, ke které došlo během pozdního Kambria/raného Ordoviku, před 470 až 515 miliony let (Morris *et al.* 2018). Velkolepá radiace suchozemských rostlin zásadním způsobem ovlivnila atmosférické podmínky a biogeochemické cykly, čímž byl umožněn vývoj ekosystémů, do kterých se začleňovaly další skupiny organismů.

Embryofyta jsou tedy odvozena ze streptofytních řas (charofyta). Molekulárně fylogenetické metody pokládají Mesostigmatophyceae a Chlorokybophyceae (obě pouze s jedním rodem) společně za sesterské skupiny všech ostatních streptofytních řas. *Mesostigma* je jednobuněčný bičíkovec, *Chlorokybus* je nepohyblivá řasa, která tvoří sarcinoidní buněčné shluky. Později divergovala třída Klebsormidiophyceae, která obsahuje řasy s vláknitou, nevětvenou stélkou. Tyto tři skupiny spojuje zaškrcování buněk při dělení. Tvorba fragmoplastu při dělení je apomorfií zbylých, tzv. vyšších charofyt, zvaných také Phragmoplastophyta, jimž jsou Klebsormidiophyceae sesterské (Leliaert *et al.*, 2012). Mezi vyšší charofyta se řadí třídy Charophyceae, Coloeochaetophyceae a Zygnematophyceae. U těchto skupin se vyvinuly některé znaky, které jsou esenciální pro život na souši, jako hexamerní celuloza-synthasový komplex, plasmodesmata, syntéza ligninů, sporopollenin aj. (Obrázek 3; Bowman, 2013).

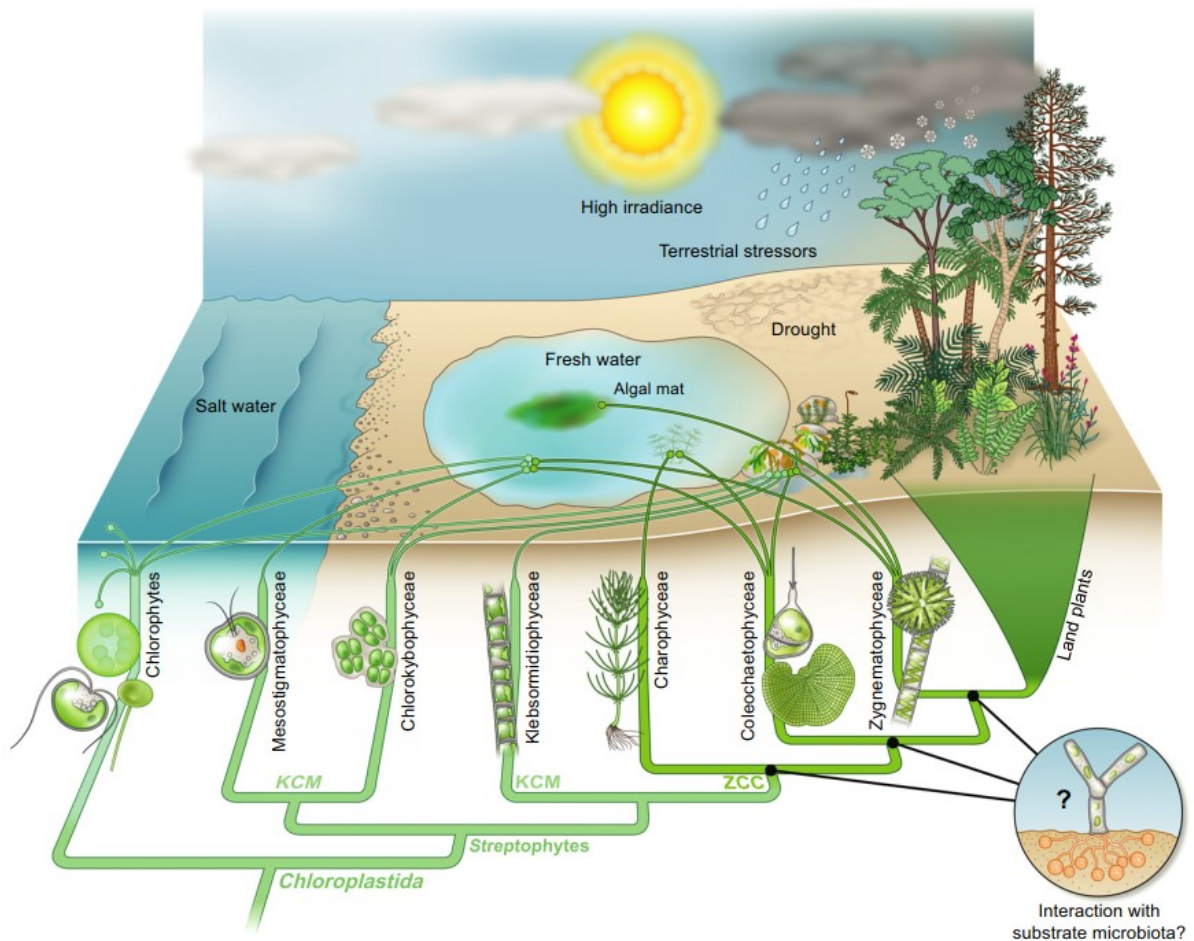


Obrázek 3: Adaptace u jednotlivých skupin streptofyt spojované s životem na souši. (+) označuje přítomnost znaku u příslušné skupiny, tyto znaky jsou označeny čísly, zelená čísla značí vznik znaku a červená naopak jeho ztrátu. Převzato z Bowman (2013).

Dřívější studie považovaly za sesterskou linii embryofyt parožnatky Charophyceae, a to zejména kvůli morfologické komplexitě jejich stélek (Obrázek 4). Nicméně recentní analýzy jaderných a plastidových genů na toto místo pokládají spájivky Zygnematophyceae (Wodniok *et al.*, 2011; Timme *et al.*, 2012). Spájivky však od dob společného předka řadu znaků ztratily (Obrázek 3) a v případě rodu krásivek doznaly i sekundární morfologickou redukci. Tato zjištění naznačují, že první rostliny na souši měly relativně jednoduchou vláknitou stélku (Rensing, 2018). Existuje i alternativní hypotéza, která přisuzuje přechod rostlin na souš již ancestrálním liniím charofyt a tvrdí, že dnešní skupiny charofyt se do sladkých vod vrátily sekundárně, nebo tam byly vytlačeny (Stebbins a Hill 1980; Harholt *et al.*, 2016). Tato hypotéza se zakládá především na výskytu složitější buněčné stěny u bazálních skupin, roztroušeném terestriálním výskytu některých druhů charofyt a zároveň by lépe vysvětlovala vznik spájení, jako způsob rozmnožování bez bičíkatých stádií u spájivek Zygnematophyceae, které je výhodné spíše na souši než ve vodním prostředí (Harholt *et al.*, 2016).

Záhy po kolonizaci souše rostlinami došlo k rozvoji mechorostů, jejich fylogeneze ale není doposud zcela objasněna. Puttick *et al.* (2018) představuje několik pravděpodobných topologií fylogeneze mechorostů. Ukázalo se však, že mechorosty jsou s velkou podporou monofyletická skupina (Sousa *et al.*, 2018). Recentní studie tedy naznačují, že mechorosty sdílí společného předka s cévnatými rostlinami neboli že cévnaté rostliny nejsou odvozeny z mechorostů. Společný předek mechorostů by potom byl pravděpodobně složitější než např. játrovky, které prodělaly sekundární redukci, či ztrátu původních znaků (Puttick *et al.*, 2018). Tato zjištění mohou měnit náhled na problematiku evoluce sporofytu. Charofyta jsou kromě zygoty haploidní, diploidní stádia vznikla s kolonizací souše vmezeřením mitotického dělení zygoty před meiotické (Umen, 2014). Společný předek cévnatých rostlin a mechorostů mohl připomínat Cooksonie, jejichž zkameněliny jsou jedny z nejstarších nalezených, v jejichž případě mohly být sporofyty větvené, fotosyntetické a ne zcela závislé na gametofytu (Libertín *et al.* 2018). Dříve předpokládaná původnost úplné závislosti sporofytu na gametofytu by mohla být jen odvozeným stavem u mechorostů (Sousa *et al.*, 2018).

Pro další studování evoluce fyziologických a vývojových procesů u rostlin je nezbytné mít silnou oporu v jejich fylogenetických vztazích. Na základě toho můžeme odvodit které znaky jsou původní, které odvozené, nebo dokonce zjednodušené, neboť evoluce skupin na tzv. dlouhých větvích je dlouhodobě nezávislá. A protože fosilní data jsou omezená, je třeba studovat více druhů bezcévných rostlin, zejména jejich genomů (Rensing, 2017).



Obrázek 4: Recentní model fylogeneze zelené linie se zaměřením na streptofyta a kolonizaci souše. Streptofyta zahrnuje šest skupin charofyt a suchozemské rostliny. Zobrazení jsou typičtí zástupci těchto skupin. Chlorofyta jsou sesterská se streptofyty a rozšířila se z mořské vody i do vod sladkých i na souš. Charofyta jsou původně sladkovodní, avšak striktně na vodní prostředí jsou vázány pouze Mesostigmatophyceae a Charophyceae. Ostatní skupiny charofyt lze mj. nalézt i ve vlhkých biotopech na souši. Zygnematophyceae jsou považovány za sesterskou skupinu suchozemským rostlinám. Převzato z De Vries a Archibald (2018)

4 Evoluce metabolismu, signalizace a transportu auxinu

4.1 Evoluce auxinového metabolismu

U rostlin jsou odezvy na auxin závislé na jeho koncentraci. S rostoucím počtem auxinem regulovaných genů a příslušných signálních komponent se očekávají přísnější nároky na udržování homeostáze IAA. Homeostáze IAA je u vyšších rostlin regulována třemi hlavními procesy: biosyntézou, degradací a konjugací. Právě kombinace těchto procesů tvoří různé metabolické strategie. Nejjednodušší z nich je syntéza/degradace, efektivnější je ovšem konjugace/hydrolýza, kdy se IAA pouze dočasně inaktivuje a v případě potřeby zvýšení koncentrace se znovu mobilizuje dekonjugací bez nutnosti *de novo* syntézy. Biosyntéza auxinu je u suchozemských rostlin realizována zejména dráhou přes IPyA, kde klíčovou roli hrají proteiny TAA a YUC.

4.1.1 Mechorosty

Nejmenší kompletní aparát pro biosyntézu auxinu dráhou přes IPyA má *M. polymorpha*, kde je tvořen proteinem *MpTAA* a pěti proteiny *MpYUC* (Bowman *et al.*, 2017). U játrovky je biosyntéza IAA soustředěna především v meristematických pletivech, tedy v místech, kde kolokalizuje exprese *MpTAA* a *MpYUC2*. *MpYUC1* vykazuje specificky sporofytickou expresi. Mutant *taa* má kulovitý tvar bez diferenciovaných pletiv (Eklund *et al.*, 2015). V genomu *P. patens* bylo identifikováno 6 ortologů TAA a 8 ortologů YUC (Nishiyama *et al.*, 2018). Pro vývoj gametofytu jsou zásadní auxinová maxima tvořená lokální biosyntézou IAA, která je podobně jako v *Arabidopsis* regulována geny rodiny *PpSHI/STY* (Eklund *et al.*, 2010).

V metabolismu IAA u vyšších rostlin hrají důležitou roli proteiny GH3, které jsou zodpovědné za konjugaci IAA a jejich exprese je řízena právě auxinem. Jejich homology jsou po dvou přítomny i u *M. polymorpha* a *P. patens*. U mechorostů ale chybí konjugát-hydrolázy, které by inaktivní IAA mohly opět aktivovat dekonjugací, tyto enzymy se poprvé vyskytují u vranečků (Ludwig-Müller, 2011). U mechů byla prokázána podstatně větší rychlost a míra konjugace IAA, než u játrovek (Sztein *et al.*, 1999).

4.1.2 Řasy

U charofyt byl identifikován ortolog TAA pouze u *Klebosrmedium nitens* (Wang *et al.*, 2015), u *S. pratensis* (Ju *et al.*, 2015) a v transkriptomu pěti druhů z řádu Zygnematales (Romani, 2017). Výskyt ortologů YUC je sporný, u *K. nitens* jej identifikoval Wang *et al.* (2015), jiné studie naopak tvrdí, že přesvědčivé ortology u charofyt nejsou (Bowman *et al.*,

2017). Absence těchto dvou komponent u ostatních zástupců ale stále není definitivně potvrzena. Ortology ostatních biosyntetických drah IAA nebyly doposud identifikovány.

U některých charofyt byly nalezeny ortology genů *GH3*, 4 u *K. nitens* a 1 u *Chara braunii* (Nishiyama *et al.*, 2018). Růstové špičky stélky *Nitella* vykazovaly celkově nízkou hladinu IAA, ale vysoký poměr volného IAA k jeho metabolitům, přičemž míra konjugace byla zanedbatelná (Sztein *et al.*, 2000). Také u *Actinotaenium curtum* (Zygnematales) a *K. nitens* byl zjištěn vysoký poměr volného IAA k jeho metabolitům (zejména OxIAA, jako degradační produkt), avšak mezi zkoumanými organismy jsou několikanásobné rozdíly koncentrace IAA (Žižková *et al.* 2016).

U chlorofytních řas byl rovněž identifikován auxin a komponenty jeho biosyntézy, nikoliv ale TAA (De Smet *et al.*, 2011). Zástupci sinic a chlorofytních řas také nevykazovaly konjugaci IAA, pouze produkci jeho katabolitů (Žižková *et al.*, 2016).

Tato zjištění naznačují, že homeostáze auxinu je udržována i na úrovni sinic a řasoví předkové rostlin využívali strategii biosyntézy a degradace. Přechod na souš zřejmě souvisí s přísnějšími nároky na udržování hladiny IAA, což je patrné u mechů, u kterých konjugace IAA nabrala reálný význam pro regulaci homeostáze IAA. IAA je pravděpodobně u mechů konjugován nevratně.

4.2 Evoluce auxinové signalizace

Přenos signálu auxinu s následnou specifickou odpovědí, jak je popsán v kapitole 2, má u vyšších rostlin velkou rozmanitost odpovědí a značnou redundanci. To vše je díky specifickým kombinacím jednotlivých signálních komponent, např. u *Arabidopsis* se jedná o 6 typů TIR1/AFB, 29 typů Aux/IAA a 32 typů ARF. Je možné, že jednotlivé interakce komponent této mašinerie mají souvislost s rostoucí komplexitou rostlinných těl během jejich evoluce, nicméně tato teorie nemusí být jediná správná.

4.2.1 Mechorosty

Genomická data ukazují, že *M. polymorpha* i *P. patens* mají všechny komponenty auxinové signální dráhy. V genomu *M. polymorpha* jsou všechny tyto ortology přítomny po jednom: 1 *MpTIR1/AFB*, 1 *MpAux/IAA*, *MpARF1*, *MpARF2*, *MpARF3* (po jednom z každé třídy ARF) a 1 *MpTPL* (Flores-Sandoval *et al.*, 2015). Bylo experimentálně dokázáno, že auxin prostřednictvím této dráhy reguluje diferenciaci a prodlužování buněk a řadu vývojových procesů játrovky (Flores-Sandoval *et al.*, 2015; Kato *et al.*, 2015). Spekuluje se, že diverzitu

transkripčních odpovědí u játrovky zajišťují právě *MpARF*, protože mají rozdílnou transkripční aktivitu a afinitu k DNA (Kato *et al.*, 2015).

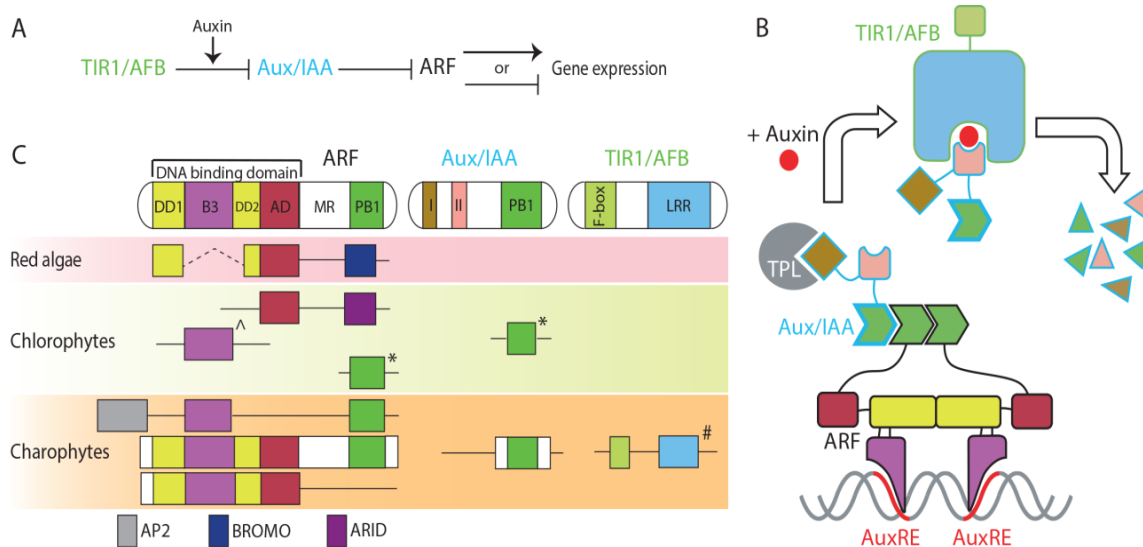
P. patens má více signalizačních ortologů, jsou zde přítomny 3 *PpAUX/IAA*, 4 *PpTIR/AFB* receptory a 14 *PpARF* (Rensing *et al.*, 2008; Lavy *et al.*, 2016). Vlastní mechanismus přenosu signálu auxinu u mechu je konzervovaný. Oproti *Arabidopsis* ale nevykazuje velkou redundanci. Lavy *et al.* (2016) ukazuje, že mutace *aux/iaa* způsobí necitlivost k auxinu, což naznačuje, že transkripce je regulována hlavně prostřednictvím Aux/IAA. Významným milníkem v ontogenezi mechu je přechod z vláknité struktury prvoklíčku (2D) do vystoupavé struktury gametoforu (3D). Nejedná se pouze o odlišné struktury, ale i o různé buněčné typy, jejichž diferenciace je stimulována auxinem, který prostřednictvím ARF indukuje expresi příslušných transkripčních faktorů NOG (Moody *et al.*, 2018). Tento vývojový přechod je však záležitostí mechorostů, u vyšších rostlin nastává 3D růst hned po dělení zygoty.

4.2.2 Řasy

Ukazuje se, že některé komponenty signální dráhy auxinu, nebo jejich domény, byly přítomny ještě před přechodem rostlin na souš (Obrázek 5 a 6). Charofyta obsahují ortolog auxinového vazebného proteinu ABP1 (*K. nitens*, *Spirogyra pratensis*; Hori *et al.*, 2014; De Smet *et al.*, 2011). Z kanonické signální dráhy ale chybí jasný homolog receptoru TIR1, objeveny jsou pouze příslušné LRR a F-box domény. Identifikovány ale byly transkripční represory Aux/IAA u *C. braunii* (Nishiyama *et al.*, 2018). Z transkripčních faktorů ARF jsou přítomny pouze některé domény. Byly objeveny prekurzory 2 tříd ARF, tzv. proto-ARF, jmenovitě proto-C-ARF a proto-A/B-ARF (Obrázek 5). Proto-ARF charofyt mají konzervovanou DNA-vazebnou doménu. Byla u nich též identifikována specifická doména PB1, která v rámci kanonické dráhy interaguje s doménou PB1 doménou Aux/IAA represorů. Aux/IAA represory u charofyt mají pouze doménu PB1, domény interagující s korepresorem TPL a s TIR1/AFB však chybí (Mutte *et al.*, 2018). Genomy *S. pratensis* a *Coleochaete orbicularis* obsahují ortology TPL (De Smet *et al.*, 2011). Bylo zjištěno, že i přes absenci komponent kanonické dráhy, *K. nitens* a *S. pratensis* vykazovaly patrnou transkripční odpověď na exogenní aplikaci 2,4-D (Mutte *et al.*, 2018). Odezva na IAA byla z charofyt pozorována zatím jen u *K. nitens* (Ohtaka *et al.*, 2017).

Současná genomická data ukazují, že prekurzory jednotlivých členů kanonické signální dráhy se roztroušeně vyskytují u charofytních řas a některé domény byly nalezeny i u chlorofyt, avšak netvoří kompletně funkční komponenty (Mutte *et al.*, 2018; Khasin *et al.*, 2018).

Nicméně už u chlorofyt byl identifikován homolog ABP1 (De Smet *et al.*, 2011; Khasin *et al.*, 2018), což naznačuje, že APB1 mohl být původní “receptor“ auxinu, s prozatím neznámou funkcí. Zatím však nebyly dokázány vzájemné interakce nalezených komponent, dokonce ani jejich vztah k auxinu jako takovému.



Obrázek 5. Proteiny signální dráhy auxinu a zastoupení jejich homologů v zelených řasách a ruduchách. (A, B) Základní schéma auxinové signální dráhy u suchozemských rostlin. (C) Výskyt domén komponent auxinové signalizace u červených a zelených řas. * není jisté, zda přísluší k ARF, či k Aux/IAA. Převzato z Mutte *et al.* (2018).

4.3 Evoluce auxinového transportu

4.3.1 Mechorosty

Mechorosty sdílí důležité homology komponent auxinového transportu s vyššími rostlinami. V genomu *P. patens* byly identifikovány homology proteinů AUX1/LAX (Rensing *et al.*, 2008; Singh *et al.*, 2018) a ABCB (Rensing *et al.*, 2008), jejich funkčnost je však u mechů neprozkoumána. Přítomny jsou také homology PILS, účastníci se regulace auxinové homeostáze (Feraru *et al.*, 2012). Obzvláště důležité jsou přenašeče PIN, jimi zprostředkovaný transport je klíčový pro funkci meristému a pro vývoj fyloidů (Bennett *et al.*, 2014a). U *P. patens* byly zjištěny 4 homology, tj. PINA-PIND. PINA-PINC mají kanonickou strukturu a vykazují sekvenční podobnost s *AtPIN1*. Jsou lokalizovány na plazmatické membráně, zatímco nekanonický PIND je na membráně ER (Viaene *et al.*, 2014). Právě struktura intracelulární smyčky je důležitým aspektem při zkoumání fylogeneze proteinů PIN. Na základě recentních sekvenčních analýz vyplývá, že proteiny PIN u suchozemských rostlin tvoří monofylum, kdy

společný předek měl konzervovanou kanonickou strukturu (Bennett *et al.*, 2014b). Nekanonické proteiny PIN jsou velmi divergentní, u mechů je to již zmíněný PIND, u krytosemenných rostlin je však míra divergence největší. U ostatních skupin cévnatých rostlin nekanonické proteiny PIN nebyly identifikovány. Bennett *et al.*, (2014b) usuzuje, že nekanonické proteiny PIN vznikly a vyvíjely se několikrát nezávisle z kanonických struktur. Nekanonické proteiny PIN jsou lokalizovány zejména na membráně ER a jsou spojovány s vnitřní homeostází auxinu.

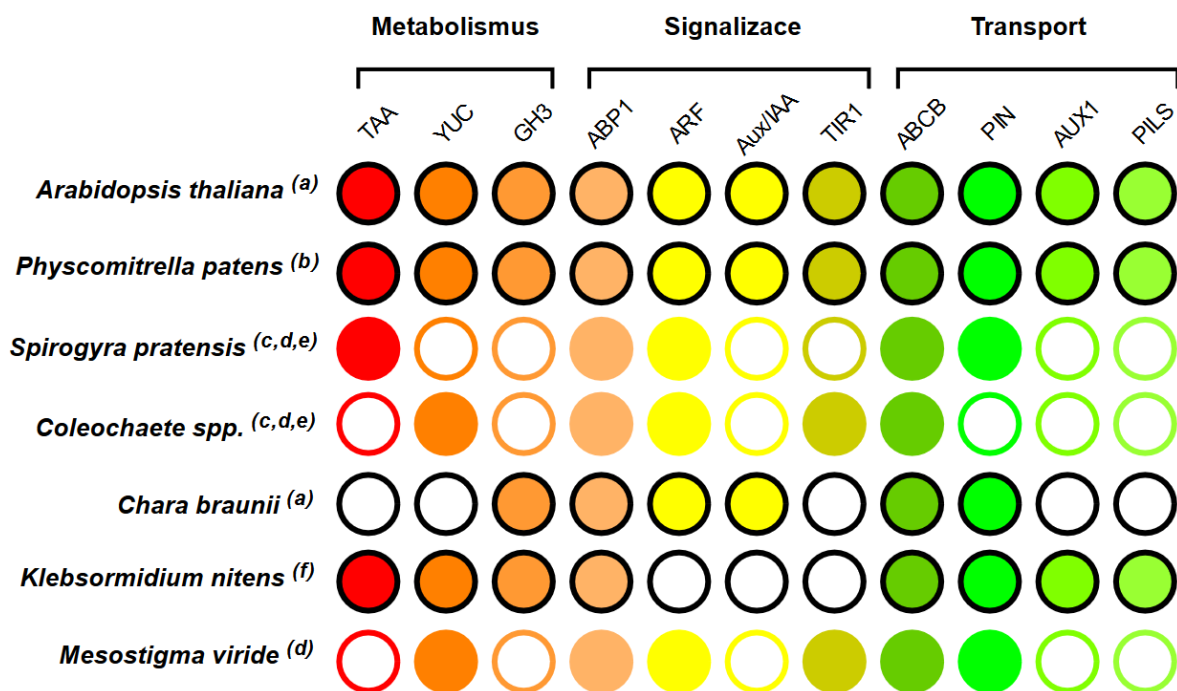
PAT u mechu byl prokázán jak v gametofytu, tak ve sporofytu. Každé stádium má však svá specifika. Bazipetální PAT se týká pouze sporofytu mechu, podobně jako u sporofytu *Arabidopsis*, nicméně u mechu tento transport udržuje sporofyt nevětvený, neboť mutant *pin* vykazuje větvení sporofytu (Bennett *et al.*, 2014a). U gametofytu byla polarizovaná distribuce proteinů PIN pozorována u růstových špiček prvoklíčku, transport auxinu do apikální buňky stimuluje jejich elongaci (Viaene *et al.*, 2014). U gametoforu je transport auxinu obousměrný, a kromě membránových přenašečů IAA může být zprostředkován i plasmodesmaty (Coudert *et al.*, 2015). Bylo zjištěno, že směr a intenzita transportu auxinu má vliv na laterální větvení gametofytu, které je regulováno spíše průchodností plasmodesmat než aktivitou membránových přenašečů, jak je tomu u sporofytu *Arabidopsis* (Coudert *et al.*, 2015).

4.3.2 Řasy

I u předků suchozemských rostlin podle recentních sekvenčních dat leží původ proteinů PIN na úrovni bazálních streptofytních řas. Ortology proteinů PIN byly identifikovány u *Mesostigma viride* (Ju *et al.*, 2015), *C. braunii* (Nishiyama *et al.*, 2018), *S. pratensis* (De Smet *et al.* 2011) nebo *K. nitens* (Viaene *et al.*, 2013). Pouze u *K. nitens* byly zjištěny i ortology přenašečů AUX1/LAX (Nishiyama *et al.*, 2018). Ortology ABCB mají zatím všechna zkoumaná charofyta (De Smet *et al.*, 2011; Nishiyama *et al.*, 2018). PAT byl experimentálně prokázán u *Chara corallina*, kde byl zjištěn silný transport auxinu směrem k rhizoidu. Naměřená rychlost transportu byla dokonce vyšší než u *Arabidopsis*, což vylučuje význam prosté difuze. Také bylo dokázáno, že ani proudění cytoplasmy nemá podíl na tomto transportu (Boot *et al.*, 2012). V antheridiích *Chara vulgaris* byl navíc imunolokalizován epitop reagující s protilátkou proti *AtPIN2* (Zabka *et al.*, 2016). Toto naznačuje možnou účast těchto přenašečů v různých fázích životního cyklu charofytních organismů. Ačkoli bývá PAT spojován hlavně s proteiny PIN, u charofyt tento vztah stále není jasně popsán, resp. není doposud jisté, zda je PAT u charofyt vůbec homologní s PAT suchozemských rostlin.

Některé komponenty auxinového transportu byly též nalezeny u chlorofyt. Příkladem může být výskyt ortologů PILS (Feraru *et al.*, 2012). Přes funkční a strukturní podobnosti s proteiny PIN jsou si však evolučně vzdálené. U odvozené *C. braunii* paradoxně chybí (Nishiyama *et al.*, 2018). U *Chlorella spp.* byly objeveny ortology AUX1/LAX (De Smet *et al.*, 2011), ale zatím není jasné, proč jsou v rámci chlorofyt vázány pouze na tento druh. Zatím se nabízí možnost horizontálního genového přenosu. Chlorofyta také nesou ortology ABCB přenašečů (De Smet *et al.*, 2011), ABC rodina je evolučně velmi stará a zdaleka není omezena pouze na rostliny. Není bez zajímavosti, že směrovaný transport auxinu byl prokázán i u nepříbuzných chaluh (Basu *et al.*, 2002), kde byly identifikovány homology přenašečů ABCB a PILS (Bogaert, 2018). Jedná se zřejmě o případ konvergentní evoluce transportních mechanismů IAA.

Evoluce transportních drah auxinu se ukazuje jako jeden z mechanismů, který provázal vznik komplexnějších morfologických struktur rostlinných těl. Míra vlivu evoluce proteinů PIN na vznik evolučních novinek je zatím na úrovni spekulací.



Obrázek 6: Přehled identifikovaných homologů proteinů účastnících se metabolismu, signalizace a transportu auxinu u streptofyt. V přehledu chybí *Chlorokybus atmophyticus*, pro absenci publikované sekvenční informace. Černé ohraničení značí genomická data, ostatní data jsou transkriptomická. Plný kruh označuje nález příslušného homologu, prázdný opak. U suchozemských rostlin (*Arabidopsis*, *Physcomitrella patens*) jsou přítomny všechny zkoumané homology. Je zřejmé, že sekvenčních dat u charofyt je stále málo, pouze genomické sekvence u *Chara braunii* a *Klebsormidium nitens* jsou relevantní. Nicméně i tam jsou velké rozdíly reflektující separátní evoluci. (a) Nishiyama *et al.*, 2018 (b) Rensing *et al.* (2008), (c) De Smet *et al.* (2011), (d) Ju *et al.*, 2015, (e) Mutte *et al.*, (2018), (f) Hori *et al.*, (2014).

5 Diskuse: Koncept auxinu je živé téma

5.1 Od kdy je IAA auxinem?

Stále není jasné, jakým způsobem auxin v evoluci dostal svému triviálnímu názvu, tj. účinku na prodlužování buněk, resp. od kdy ho můžeme považovat za morfogen. Auxin (IAA) je sice významný hlavně u rostlin, ale není však jejich specialitou, byl totiž identifikován i u bakterií (Žižková *et al.*, 2016), u hub nebo u živočichů (Enders a Strader, 2016). IAA je jeden z řady metabolitů aminokyseliny tryptofanu což vysvětluje jeho výskyt napříč celým spektrem organismů. Z evolučního hlediska se nabízí dvě základní strategie, proč si rostliny osvojily IAA jako signální látku.

Jeden ze scénářů vychází z potřeby udržovat nižší hladinu IAA, neboť je jeho vyšší koncentrace inhibiční pro růst a dělení buněk (Thimann, 1938; Fendrych *et al.*, 2018). U řasových předků toho bylo pravděpodobně docíleno transportem IAA z buňky do okolního prostředí, soudě podle přítomnosti nespecifických přenašečů typu ABCB u chlorofyt (De Smet *et al.*, 2011) a také podle velmi nízké míry konjugace IAA (Žižková *et al.*, 2016). IAA vylučovaný do vodního prostředí také mohl působit jako látka koordinující růst kolonie. Obdobný jev lze pozorovat u mezidruhových interakcí v rhizosféře, kdy např. prostřednictvím auxinu a jiných hormonů komunikují rostliny s bakteriemi (Zúñiga *et al.*, 2013).

Druhý scénář se zakládá na rostoucí komplexitě rostlinných těl, u kterých bylo potřeba mít látku koordinující růstové a vývojové procesy, pročež byl osvojen auxin. Tento scénář by se však týkal až odvozenějších charofyt, oproti tomu první scénář by byl možný již na úrovni chlorofyt. Nicméně tyto možnosti se nevyklučují, IAA skutečně mohl figurovat v době před rozdělením chlorofyt a streptofyt jako signální molekula, jejíž mechanismus účinku se rozvinul u streptofyt.

V rámci signálních drah mohl být původním receptorem auxinu ABP1 identifikovaný u chlorofyt (Smet *et al.*, 2011; Khasin *et al.*, 2018). Výskyt některých komponent kanonické SCF^{TIR1/AFB} dráhy u charofyt nasvědčuje tomu, že auxin nabýval schopnost regulování transkripce právě na úrovni těchto řas. Je možné, že tzv. proto-ARF dříve tvořily samostatně fungující rodinu transkripčních faktorů, která byla později "ochočena" proteiny typu Aux/IAA inhibující jejich aktivitu. Auxin potom mohl zprostředkovat degradaci těchto inhibitorů po navázání na receptor TIR1, který je součástí komplexu odvozeného od ubikvitinové degradační dráhy. Tím transkripční faktory, resp. jimi regulované geny začaly být pod kontrolou auxinu. To naznačuje, že evoluce auxinové signalizace je součástí trendu, kdy již existující regulační geny s původní, nám zatím neznámou funkcí získaly funkci novou procesem tzv. neo-

funkcionalizace. Podobný scénář se přisuzuje i homeotickým genům (Pires a Dolan, 2012). Přestože Aux/IAA a TIR1/AFB u charofyt postrádají některé domény, u *S. pratensis* a *K. nitens* byly pozorovány transkripční odezvy po aplikaci syntetického auxinu 2,4-D, proto stále nelze s jistotou říci, jestli tato dráha u charofyt je, nebo není funkční (Mutte *et al.* 2018).

Klíčovým v evoluci auxinových transportních mechanismů byl rozvoj přenašečů PIN, který umožnil polarizaci toku IAA. PAT mohl podmínit integraci signálu auxinu na delší vzdálenost a vznik větší diverzity odpovědí. Překvapivý nález ortologu přenašeče PIN u jednobuněčné řasy *Mesostigma viride* (Ju *et al.*, 2015) poukazuje na původ těchto proteinů u bazálních streptofyt. U parožnatky *C. braunii* bylo nalezeno 6 ortologů PIN (Nishiyama *et al.*, 2018) a u příbuzného druhu parožnatky byl experimentálně dokázán PAT (Boot *et al.*, 2012). Nicméně vše, co dnes víme o přenašečích PIN u charofyt pochází pouze ze sekvenčních dat. Pokud by se však prokázala spojitost PAT charofyt s těmito přenašeči, mohli bychom považovat za homologní PAT charofyt a suchozemských rostlin, a také spekulovat že směrovaný transport auxinu hrál roli v evoluci komplexnějších morfologických struktur ještě před přechodem na souš. Recentní studie ukázaly, že IAA hraje roli i ve vývoji některých chaluh, kde byly identifikovány homology auxinových přenašečů (Bogaert *et al.*, 2018), dříve byl u chaluh prokázán i směrovaný transport IAA (Basu *et al.*, 2002). Konvergentní evoluce se tedy týká i mechanismů nakládání s auxinem.

Na otázku “Od kdy je IAA auxinem?” tedy zatím nelze jednoznačně odpovědět. IAA zřejmě účinkoval už před rozdělením chlorofyt a streptofyt. Jeho účinky se však v evoluci mohly výrazně měnit. Mechanismus působení auxinu tak, jak jej známe u vyšších rostlin se sice začal vyvíjet u charofyt, ale jako morfogen auxin začal pravděpodobně působit až po přechodu rostlin na souš.

5.2 Auxin po dobytí souše

Po přechodu rostlin na souš se mechanismy spojené s auxinem začaly rozvíjet a zesložitovat. U modelů mechorostů je již přítomna SCF^{TIR1/AFB} dráha, biosyntetická dráha přes IPyA a i PAT. Nicméně je zatím obtížné popsat model mechanismu účinku auxinu u bazálních suchozemských rostlin, zejména pokud by platila monofylie mechorostů (Sousa *et al.*, 2018). Jedna z hlavních charakteristik suchozemských rostlin je mnohobuněčná a trojrozměrná struktura jejich těl, a to jak u gametofytu, tak u sporofytu. Auxin je důležitý pro vývojový přechod do trojrozměrné struktury mechového gametoforu (Moody *et al.* 2018). Ovšem mechanismus vzniku sporofytu je stále nejasný. Evoluce suchozemských rostlin byla

provázena zvyšováním počtu paralogů (variant genů u druhu) genovými duplikacemi, geny související s auxinem nevyjímaje (Bennett *et al.*, 2014a). Je nasnadě, nikoli však pravidlem, že vyšší počet těchto komponent stojí za vyšší morfologickou komplexitou. Také je důležité brát v potaz, že již na úrovni charofyt zřejmě byl paralelizmus evoluce auxinových mechanismů s mechanismy některých dalších fytohormonů, jako kyselina jasmonová (Ludwig-Müller, 2011; Zhang *et al.*, 2018), etylén (Ju *et al.*, 2015) nebo strigolaktony (Delaux *et al.*, 2012).

5.3 Budoucnost modelů ve vztahu k auxinu

Vzhledem k pokročilým sekvenačním metodám se očekávají další dostupné genomy. Z hlediska evoluce mechanismů nakládání s auxinem je žádoucí mít více dostupných genomů charofyt a chlorofyt, jednak pro objasnění fylogenetických vztahů mezi nimi a jednak pro objasnění přechodu rostlin na souš a evoluce různých genových rodin (Obrázek 6). Jednotlivé skupiny charofyt prodělaly dlouhotrvající nezávislou evoluci, proto je třeba mít větší spektrum genomů (Domozych *et al.*, 2016; Rensing, 2017). Především genomy umožní zavedení příslušných modelových organismů. Na základě genomických dat lze lépe provádět srovnávání homologie, funkční analýzy různých proteinů a zkoumání fyziologických procesů v souvislosti s auxinem. Velký potenciál pro studium mechanismů účinku auxinu mají spájkivky Zygnematophyceae, které jsou považovány za sesterskou skupinu suchozemským rostlinám a jsou druhově i morfologicky nejbohatší skupinou charofyt (Delwiche a Cooper, 2015). V posledních letech byly vyvinuty protokoly pro stabilní transformaci některých krásivek představujících sekundárně zjednodušenou skupinu spájkivek (Abe *et al.*, 2011; Sørensen *et al.*, 2014). Ani fylogeneze mechorostů ještě není zcela objasněna (Puttick *et al.* 2018), proto i zde je na místě mít větší oporu v genomických datech více modelových druhů. Mimo zelenou linii představují i chaluhy zajímavou skupinu pro studium auxinově evolučních aspektů.

Auxin a mechanismy jeho účinku jsou mezi fytohormony studovány nejdéle a za posledních dvacet let byl zaznamenán rapidní pokrok v pochopení jeho role. Během příštích let možná budeme svědky překvapivých objevů na poli evoluce mechanismů nakládání s auxinem, které naše dosavadní vnímání této látky mohou pozměnit.

6 Závěr

Tato práce shrnuje recentní poznatky o mechanismech účinku auxinu u řas a bazálních suchozemských rostlin. Některé komponenty těchto mechanismů jsou velmi staré a jiné jsou naopak novinkami pokročilejších skupin. Zatímco první formy biosyntézy a transportu auxinu předcházejí rozdělení chlorofyt a streptofyt, transkripční signální dráha je kompletní až u suchozemských rostlin. Pro hlubší pochopení osvojení auxinu a jeho působení u předků suchozemských rostlin je vedle zkoumání dosavadních modelových rostlin nasnadě zavedení modelů nových. Díky nim bude možno nahlížet na auxin v evolučních souvislostech.

Ve své diplomové práci plánuji navázat na tuto problematiku a zaměřit se na mapování efektu auxinu na růst a morfologii zástupců šesti jednotlivých skupin charofyt, což nám podá komplexnější představu o možné původní roli auxinu.

7 Seznam literatury

- Abe, Jun, Sachie Hori, Yuki Tsuchikane, Naoko Kitao, Misako Kato, and Hiroyuki Sekimoto. 2011. "Stable Nuclear Transformation of the *Closterium Peracerosum-Strigosum*-Littorale Complex." *Plant and Cell Physiology* 52 (9): 1676–85. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcr103>.
- Adamowski, Maciek, and Jiří Friml. 2015. "PIN-Dependent Auxin Transport: Action, Regulation, and Evolution." *The Plant Cell Online* 27 (1): 20–32. <https://doi.org/10.1105/tpc.114.134874>.
- Barbez, Elke, Martin Kubes, Jakub Rolcik, Chloe Beziat, Ales Pencik, Bangjun Wang, Michel Ruiz Rosquete, Jinsheng Zhu, Petre I. Dobrev, Yuree Lee, Eva Zazimalova, Jan Petrasek, Markus Geisler, Jiri Friml, and Juergen Kleine-Vehn. 2012. "A novel putative auxin carrier family regulates intracellular auxin homeostasis in plants." *Nature* 485 (7396): 119–U155. <https://doi.org/10.1038/nature11001>.
- Basu, S., H. G. Sun, L. Brian, R. L. Quatrano, and G. K. Muday. 2002. "Early embryo development in *Fucus distichus* is auxin sensitive." *Plant Physiology* 130 (1): 292–302. <https://doi.org/10.1104/pp.004747>.
- Becker, Burkhard. 2013. "Snow Ball Earth and the Split of Streptophyta and Chlorophyta." *Trends in Plant Science* 18 (4): 180–83. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.09.010>.
- Bennett, Tom A, Maureen M Liu, Tsuyoshi Aoyama, Nicole M Bierfreund, Marion Braun, Yoan Coudert, Ross J Dennis, et al. 2014a. "Article Plasma Membrane-Targeted PIN Proteins Drive Shoot Development in a Moss." *Current Biology* 24 (23): 2776–85. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.09.054>.
- Bennett, Tom, Samuel F. Brockington, Carl Rothfels, Sean W. Graham, Dennis Stevenson, Toni Kutchan, Megan Rolf, Philip Thomas, Gane Ka-Shu Wong, Ottoline Leyser, Beverley J. Glover, and C. Jill Harrison. 2014b. "Paralogous Radiations of PIN Proteins with Multiple Origins of Noncanonical PIN Structure." *Molecular Biology and Evolution* 31 (8): 2042–2060. <https://doi.org/10.1093/molbev/msu147>.

- Bennett Tom. 2015. "PIN proteins and the evolution of plant development." *Trends. Plant Sci.* 20, 498–507. <http://doi.org/10.1016/j.tplants.2015.05.005>
- Bogaert, K. A., L. Blommaert, K. Ljung, T. Beeckman, and O. De Clerck. 2019. "Auxin Function in the Brown Alga *Dictyota dichotoma*." *Plant Physiology* 179 (1): 280-299. <https://doi.org/10.1104/pp.18.01041>.
- Boot, Kees J.M., Kees R. Libbenga, Sander C. Hille, Remko Offringa, and Bert Van Duijn. 2012. "Polar Auxin Transport: An Early Invention." *Journal of Experimental Botany* 63 (11): 4213–18. <https://doi.org/10.1093/jxb/ers106>.
- Bowman, John L. 2013. "Walkabout on the Long Branches of Plant Evolution." *Current Opinion in Plant Biology* 16 (1): 70–77. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2012.10.001>.
- Bowman, J. L., T. Kohchi, K. T. Yamato, J. Jenkins, S. Q. Shu, K. Ishizaki, S. Yamaoka, R. Nishihama, Y. Nakamura, F. Berger, C. Adam, S. S. Aki, F. Althoff, T. Araki, M. A. Arteaga-Vazquez, S. Balasubramanian, K. Barry, D. Bauer, C. R. Boehm, L. Briginshaw, J. Caballero-Perez, B. Catarino, F. Chen, S. Chiyoda, M. Chovatia, K. M. Davies, M. Delmans, T. Demura, T. Dierschke, L. Dolan, A. E. Dorantes-Acosta, D. M. Eklund, S. N. Florent, E. Flores-Sandoval, A. Fujiyama, H. Fukuzawa, B. Galik, D. Grimanelli, J. Grimwood, U. Grossniklaus, T. Hamada, J. Haseloff, A. J. Hetherington, A. Higo, Y. Hirakawa, H. N. Hundley, Y. Ikeda, K. Inoue, S. I. Inoue, S. Ishida, Q. D. Jia, M. Kakita, T. Kanazawa, Y. Kawai, T. Kawashima, M. Kennedy, K. Kinose, T. Kinoshita, Y. Kohara, E. Koide, K. Komatsu, S. Kopsischke, M. Kubo, J. Kyojuka, U. Lagercrantz, S. S. Lin, E. Lindquist, A. M. Lipzen, C. W. Lu, E. De Luna, R. A. Martienssen, N. Minamino, M. Mizutani, N. Mochizuki, I. Monte, R. Mosher, H. Nagasaki, H. Nakagami, S. Naramoto, K. Nishitani, M. Ohtani, T. Okamoto, M. Okumura, J. Phillips, B. Pollak, A. Reinders, M. Rovekamp, R. Sano, S. Sawa, M. W. Schmid, M. Shirakawa, R. Solano, A. Spunde, N. Suetsugu, S. Sugano, A. Sugiyama, R. Sun, Y. Suzuki, M. Takenaka, D. Takezawa, H. Tomogane, M. Tsuzuki, T. Ueda, M. Umeda, J. M. Ward, Y. Watanabe, K. Yazaki, R. Yokoyama, Y. Yoshitake, I. Yotsui, S. Zachgo, and J. Schmutz. 2017. "Insights into Land Plant Evolution Garnered from the *Marchantia polymorpha* Genome." *Cell* 171 (2): 287-+. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.09.030>.
- Cho, Misuk, and Hyung-Taeg Cho. 2013. "The function of ABCB transporters in auxin transport." *Plant signaling & behavior* 8 (2): e22990-e22990. <https://doi.org/10.4161/psb.22990>
- Coudert, Y., W. Palubicki, K. Ljung, O. Novak, O. Leyser, and C. J. Harrison. 2015. "Three ancient hormonal cues co-ordinate shoot branching in a moss." *Elife* 4. <https://doi.org/10.7554/eLife.06808>.
- De Smet, Ive, Ute Voss, Steffen Lau, Michael Wilson, Ning Shao, Ruth E. Timme, Ranjan Swarup, Ian Kerr, Charlie Hodgman, Ralph Bock, Malcolm Bennett, Gerd Juergens, and Tom Beeckman. 2011. "Unraveling the Evolution of Auxin Signaling." *Plant Physiology* 155 (1): 209-221. <https://doi.org/10.1104/pp.110.168161>.
- Delaux, P. M., X. N. Xie, R. E. Timme, V. Puech-Pages, C. Dunand, E. Lecompte, C. F. Delwiche, K. Yoneyama, G. Becard, and N. Sejalón-Delmas. 2012. "Origin of strigolactones in the green lineage." *New Phytologist* 195 (4): 857-871. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04209.x>.
- Delwiche, C F. 2016. "The Genomes of Charophyte Green Algae." *Advances in Botanical Research*. Vol. 78. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/bs.abr.2016.02.002>.

- Delwiche, Charles Francis, and Endymion Dante Cooper. 2015. "The Evolutionary Origin of a Terrestrial Flora." *Current Biology* 25 (19): R899–910. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.08.029>.
- Depuydt, Stephen, and Christian S Hardtke. 2011. "Hormone Signalling Crosstalk in Plant Growth Regulation." *Current Biology* 21 (9): R365–73. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2011.03.013>.
- Ding, Z. J., B. J. Wang, I. Moreno, N. Duplakova, S. Simon, N. Carraro, J. Reemmer, A. Pencik, X. Chen, R. Tejos, P. Skupa, S. Pollmann, J. Mravec, J. Petrasek, E. Zazimalova, D. Honys, J. Rolcik, A. Murphy, A. Orellana, M. Geisler, and J. Friml. 2012. "ER-localized auxin transporter PIN8 regulates auxin homeostasis and male gametophyte development in Arabidopsis." *Nature Communications* 3: 9. <https://doi.org/10.1038/ncomms1941>.
- Domozych, D. S., Z. A. Popper, and I. Sorensen. 2016. "Charophytes: Evolutionary Giants and Emerging Model Organisms." *Frontiers in Plant Science* 7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01470>.
- Eklund, D. M., K. Ishizaki, E. Flores-Sandoval, S. Kikuchi, Y. Takebayashi, S. Tsukamoto, Y. Hirakawa, M. Nonomura, H. Kato, M. Kouno, R. P. Bhalerao, U. Lagercrantz, H. Kasahara, T. Kohchi, and J. L. Bowman. 2015. "Auxin Produced by the Indole-3-Pyruvic Acid Pathway Regulates Development and Gemmae Dormancy in the Liverwort *Marchantia polymorpha*." *Plant Cell* 27 (6): 1650-1669. <https://doi.org/10.1105/tpc.15.00065>.
- Eklund, D. Magnus, Mattias Thelander, Katarina Landberg, Veronika Staldal, Anders Nilsson, Monika Johansson, Isabel Valsecchi, Eric R. A. Pederson, Mariusz Kowalczyk, Karin Ljung, Hans Ronne, and Eva Sundberg. 2010. "Homologues of the Arabidopsis thaliana SHI/STY/LRP1 genes control auxin biosynthesis and affect growth and development in the moss *Physcomitrella patens*." *Development* 137 (8): 1275-1284. <https://doi.org/10.1242/dev.039594>.
- Enders, T. A., and L. C. Strader. 2015. "AUXIN ACTIVITY: PAST, PRESENT, AND FUTURE." *American Journal of Botany* 102 (2): 180-196. <https://doi.org/10.3732/ajb.1400285>.
- Fendrych, Matyáš, Maria Akhmanova, Jack Merrin, Matouš Glanc, Shinya Hagihara, Koji Takahashi, Naoyuki Uchida, Keiko U Torii, and Jiří Friml. 2018. "Rapid and Reversible Root Growth Inhibition by TIR1 Auxin Signalling." *Nature Plants* 4 (July). <https://doi.org/10.1038/s41477-018-0190-1>.
- Feraru, Elena, Stanislav Vosolobě, Mugurel I. Feraru, Jan Petrášek, and Juergen Kleine-Vehn. 2012. "Evolution and structural diversification of PILS putative auxin carriers in plants." *Frontiers in Plant Science* 3. <https://doi.org/10.3389/fpls.2012.00227>.
- Flores-Sandoval, E., D. M. Eklund, and J. L. Bowman. 2015. "A Simple Auxin Transcriptional Response System Regulates Multiple Morphogenetic Processes in the Liverwort *Marchantia polymorpha*." *Plos Genetics* 11 (5): 26. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1005207>.
- Gao, Yangbin, Yi Zhang, Da Zhang, Xinhua Dai, Mark Estelle, and Yunde Zhao. 2015. "Auxin Binding Protein 1 (ABP1) Is Not Required for Either Auxin Signaling or Arabidopsis Development" *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1.

- <https://doi.org/10.1073/pnas.1500365112>.
- Harholt, Jesper, Øjvind Moestrup, and Peter Ulvskov. 2016. "Why Plants Were Terrestrial from the Beginning." *Trends in Plant Science* 21 (2): 96–101. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2015.11.010>.
- Hori, Koichi, Fumito Maruyama, Takatomo Fujisawa, Tomoaki Togashi, Nozomi Yamamoto, Mitsunori Seo, Syusei Sato, *et al.* 2014. "Factors for Plant Terrestrial Adaptation." *Nature Communications* 5 (May): 1–9. <https://doi.org/10.1038/ncomms4978>.
- Ju, Chuanli, Bram Van De Poel, Endymion D. Cooper, James H. Thierer, Theodore R. Gibbons, Charles F. Delwiche, and Caren Chang. 2015. "Conservation of Ethylene as a Plant Hormone over 450 Million Years of Evolution." *Nature Plants* 1 (1): 1–7. <https://doi.org/10.1038/nplants.2014.4>.
- Kato, Hiroataka, Kimitsune Ishizaki, Masaru Kouno, Makoto Shirakawa, John L. Bowman, Ryuichi Nishihama, and Takayuki Kohchi. 2015. "Auxin-Mediated Transcriptional System with a Minimal Set of Components Is Critical for Morphogenesis through the Life Cycle in *Marchantia polymorpha*." *Plos Genetics* 11 (5). <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1005084>.
- Khasin, M., R. R. Cahoon, K. W. Nickerson, and W. R. Riekhof. 2018. "Molecular machinery of auxin synthesis, secretion, and perception in the unicellular chlorophyte alga *Chlorella sorokiniana* UTEX 1230." *Plos One* 13 (12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205227>
- Korasick, David A., Tara A. Enders, and Lucia C. Strader. 2013. "Auxin biosynthesis and storage forms." *Journal of Experimental Botany* 64 (9): 2541-2555. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert080>.
- Lacek, Jozef, Experimental Botany, The Czech Republic, Luschnig Christian, and Zažímalová Eva. 2017. "Polar Auxin Transport." <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0020116.pub2>.
- Lavy, M., M. J. Prigge, S. Tao, S. Shain, A. Kuo, K. Kirchsteiger, and M. Estelle. 2016. "Constitutive auxin response in *Physcomitrella* reveals complex interactions between Aux/IAA and ARF proteins." *Elife* 5. <https://doi.org/10.7554/eLife.13325>.
- Leliaert, Frederik, David R. Smith, Hervé Moreau, Matthew D. Herron, Heroen Verbruggen, Charles F. Delwiche, and Olivier De Clerck. 2012. "Phylogeny and Molecular Evolution of the Green Algae." *Critical Reviews in Plant Sciences* 31 (1): 1–46. <https://doi.org/10.1080/07352689.2011.615705>.
- Leyser, O. 2018. "Auxin Signaling." *Plant Physiology* 176 (1): 465-479. <https://doi.org/10.1104/pp.17.00765>.
- Libertín, Milan, Jiří Kvaček, Jiří Bek, Viktor Žárský, and Petr Štorch. 2018. "Sporophytes of Polysporangiate Land Plants from the Early Silurian Period May Have Been Photosynthetically Autonomous." *Nature Plants* 4 (May). <https://doi.org/10.1038/s41477-018-0140-y>.
- Ljung, Karin. 2013. "Auxin metabolism and homeostasis during plant development." *Development* 140 (5): 943-950. <https://doi.org/10.1242/dev.086363>.

- Ludwig-Muller, J. 2011. "Auxin conjugates: their role for plant development and in the evolution of land plants." *Journal of Experimental Botany* 62 (6): 1757-1773. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq412>.
- Moody, Laura A, Steven Kelly, Ester Rabbinowitsch, Jane A Langdale, Laura A Moody, Steven Kelly, Ester Rabbinowitsch, and Jane A Langdale. 2018. "Genetic Regulation of the 2D to 3D Growth Transition in the Moss *Physcomitrella Patens* Report Genetic Regulation of the 2D to 3D Growth Transition in the Moss *Physcomitrella Patens*." *Current Biology* 28 (3): 473-478.e5. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.12.052>.
- Morris, J. L., M. N. Puttick, J. W. Clark, D. Edwards, P. Kenrick, S. Pressel, C. H. Wellman, Z. H. Yang, H. Schneider, and P. C. J. Donoghue. 2018. "The timescale of early land plant evolution." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 115 (10): E2274-E2283. <https://doi.org/10.1073/pnas.1719588115>.
- Mravec, Jozef, Petr Skůpa, Aurelien Bailly, Klara Hoyerova, Pavel Krecek, Agnieszka Bielach, Jan Petrasek, Jing Zhang, Vassilena Gaykova, York-Dieter Stierhof, Petre I. Dobrev, Katerina Schwarzerova, Jakub Rolcik, Daniela Seifertova, Christian Luschnig, Eva Benkova, Eva Zazimalova, Markus Geisler, and Jiří Friml. 2009. "Subcellular homeostasis of phytohormone auxin is mediated by the ER-localized PIN5 transporter." *Nature* 459 (7250): 1136-U127. <https://doi.org/10.1038/nature08066>.
- Mutte, S. K., H. Kato, C. Rothfels, M. Melkonian, G. K. S. Wong, and D. Weijers. 2018. "Origin and evolution of the nuclear auxin response system." *Elife* 7: 25. <https://doi.org/10.7554/eLife.33399>
- Nishiyama, T., H. Sakayama, J. de Vries, H. Buschmann, D. Saint-Marcoux, K. K. Ullrich, F. B. Haas, L. Vanderstraeten, D. Becker, D. Lang, S. Vosolsobe, S. Rombauts, P. K. I. Wilhelmsson, P. Janitza, R. Kern, A. Heyl, F. Rumppler, Liac Villalobos, J. M. Clay, R. Skokan, A. Toyoda, Y. Suzuki, H. Kagoshima, E. Schijlen, N. Tajeshwar, B. Catarino, A. J. Hetherington, A. Saltykova, C. Bonnot, H. Breuninger, A. Symeonidi, G. V. Radhakrishnan, F. Van Nieuwerburgh, D. Deforce, C. Chang, K. G. Karol, R. Hedrich, P. Ulvskov, G. Glockner, C. F. Delwiche, J. Petrasek, Y. Van de Peer, J. Friml, M. Beilby, L. Dolan, Y. Kohara, S. Sugano, A. Fujiyama, P. M. Delaux, M. Quint, G. Theissen, M. Hagemann, J. Harholt, C. Dunand, S. Zachgo, J. Langdale, F. Maumus, D. Van Der Straeten, S. B. Gould, and S. A. Rensing. 2018. "The Chara Genome: Secondary Complexity and Implications for Plant Terrestrialization." *Cell* 174 (2): 448-+. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.06.033>.
- Petrášek, J., and J. Friml. 2009. "Auxin Transport Routes in Plant Development." *Development* 136 (16): 2675–88. <https://doi.org/10.1242/dev.030353>.
- Pires, N. D., and L. Dolan. 2012. "Morphological evolution in land plants: new designs with old genes." *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences* 367 (1588): 508-518. <https://doi.org/10.1098/rstb.2011.0252>.
- Pozo, Juan C, and Concepción Manzano. 2014. "Auxin and the Ubiquitin Pathway . Two Players – One Target : The Cell Cycle in Action" 65 (10): 2617–32. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert363>.
- Puttick, Mark N, Jennifer L Morris, Tom A Williams, Harald Schneider, Davide Pisani, and Philip C J Donoghue. 2018. "The Interrelationships of Land Plants and the Nature of the Ancestral Embryophyte Article The Interrelationships of Land Plants and the Nature of the Ancestral Embryophyte." *Current Biology* 28 (5): 733-745.e2.

<https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.01.063>.

- Rensing, Stefan A., Daniel Lang, Andreas D. Zimmer, Astrid Terry, Asaf Salamov, Harris Shapiro, Tomoaki Nishiyama, Pierre-Francois Perroud, Erika A. Lindquist, Yasuko Kamisugi, Takako Tanahashi, Keiko Sakakibara, Tomomichi Fujita, Kazuko Oishi, Tadasu Shin-I, Yoko Kuroki, Atsushi Toyoda, Yutaka Suzuki, Shin-ichi Hashimoto, Kazuo Yamaguchi, Sumio Sugano, Yuji Kohara, Asao Fujiyama, Aldwin Anterola, Setsuyuki Aoki, Neil Ashton, W. Brad Barbazuk, Elizabeth Barker, Jeffrey L. Bennetzen, Robert Blankenship, Sung Hyun Cho, Susan K. Dutcher, Mark Estelle, Jeffrey A. Fawcett, Heidrun Gundlach, Kousuke Hanada, Alexander Heyl, Karen A. Hicks, Jon Hughes, Martin Lohr, Klaus Mayer, Alexander Melkozernov, Takashi Murata, David R. Nelson, Birgit Pils, Michael Prigge, Bernd Reiss, Tanya Renner, Stephane Rombauts, Paul J. Rushton, Anton Sanderfoot, Gabriele Schween, Shin-Han Shiu, Kurt Stueber, Frederica L. Theodoulou, Hank Tu, Yves Van de Peer, Paul J. Verrier, Elizabeth Waters, Andrew Wood, Lixing Yang, David Cove, Andrew C. Cuming, Mitsuyasu Hasebe, Susan Lucas, Brent D. Mishler, Ralf Reski, Igor V. Grigoriev, Ralph S. Quatrano, and Jeffrey L. Boore. 2008. "The Physcomitrella genome reveals evolutionary insights into the conquest of land by plants." *Science* 319 (5859): 64-69. <https://doi.org/10.1126/science.1150646>.
- Rensing, S. A. 2017. "Why we need more non-seed plant models." *New Phytologist* 216 (2): 355-360. <https://doi.org/10.1111/nph.14464>.
- Rensing Stefan A. 2018. "ScienceDirect Great Moments in Evolution : The Conquest of Land by Plants." *Current Opinion in Plant Biology* 42 (Figure 1): 49–54. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2018.02.006>.
- Retzer, Katarzyna, Gaurav Singh, and Richard M Napier. 2018. "It Starts with TIRs." *Nature Plants*, no. July: 2–4. <https://doi.org/10.1038/s41477-018-0196-8>.
- Romani, F. 2017. "Origin of TAA Genes in Charophytes: New Insights into the Controversy over the Origin of Auxin Biosynthesis." *Frontiers in Plant Science* 8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01616>.
- Rosquete, M. R., E. Barbez, and J. Kleine-Vehn. 2012. "Cellular Auxin Homeostasis: Gatekeeping Is Housekeeping." *Molecular Plant* 5 (4): 772-786. <https://doi.org/10.1093/mp/ssr109>.
- Simon, Sibiu, and Jan Petrasek. 2011. "Why plants need more than one type of auxin." *Plant Science* 180 (3): 454-460. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2010.12.007>.
- Simon, Sibiu, Petr Skupa, Tom Viaene, Marta Zwiewka, Ricardo Tejos, Petr Klima, Maria Carna, Jakub Rolcik, Riet De Rycke, Ignacio Moreno, Petre I. Dobrev, Ariel Orellana, Eva Zazimalova, and Jiri Friml. 2016. "PIN6 auxin transporter at endoplasmic reticulum and plasma membrane mediates auxin homeostasis and organogenesis in Arabidopsis." *The New phytologist* 211 (1): 65-74. <https://doi.org/10.1111/nph.14019>.
- Singh, G., K. Retzer, S. Vosolsobe, and R. Napier. 2018. "Advances in Understanding the Mechanism of Action of the Auxin Permease AUX1." *International Journal of Molecular Sciences* 19 (11): 12. <https://doi.org/10.3390/ijms19113391>.
- Sorensen, I., Z. J. Fei, A. Andreas, W. G. T. Willats, D. S. Domozych, and J. K. C. Rose. 2014. "Stable transformation and reverse genetic analysis of *Penium margaritaceum*: a platform for studies of charophyte green algae, the immediate ancestors of land plants."

- Plant Journal* 77 (3): 339-351. <https://doi.org/10.1111/tpj.12375>.
- Sousa, Filipe De, Peter G Foster, Philip C J Donoghue, Harald Schneider, and Cymon J Cox. 2018. "Nuclear Protein Phylogenies Support the Monophyly of the Three Bryophyte Groups (Bryophyta Schimp .)." <https://doi.org/10.1111/nph.15587>.
- Stebbins, G. L., and G. J. C. Hill. 1980. "DID MULTICELLULAR PLANTS INVADE THE LAND." *American Naturalist* 115 (3): 342-353. <https://doi.org/10.1086/283565>
- Strader, L. C., and Y. D. Zhao. 2016. "Auxin perception and downstream events." *Current Opinion in Plant Biology* 33: 8-14. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2016.04.004>.
- Sztein, A. E., J. D. Cohen, I. G. de la Fuente, and T. J. Cooke. 1999. "Auxin metabolism in mosses and liverworts." *American Journal of Botany* 86 (11): 1544-1555. <https://doi.org/10.2307/2656792>.
- Thimann, B Y Kenneth V. 1938. "Auxins and the Inhibition of Plant Growth." <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.1939.tb00937.x>
- Timme, R. E., T. R. Bachvaroff, and C. F. Delwiche. 2012. "Broad Phylogenomic Sampling and the Sister Lineage of Land Plants." *Plos One* 7 (1): 8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029696>.
- Umen, James G. 2014. "Green Algae and the Origins of Multicellularity in the Plant Kingdom." *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 6 (11): 1–29. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a016170>.
- Vanneste, Steffen, and Jiří Friml. 2009. "Auxin: A Trigger for Change in Plant Development." *Cell* 136 (6): 1005–16. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.03.001>.
- Vanstraelen, M., and E. Benkova. 2012. "Hormonal Interactions in the Regulation of Plant Development." *Annual Review of Cell and Developmental Biology, Vol 28* 28: 463-487. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-101011-155741>.
- Viaene, Tom, Charles F. Delwiche, Stefan A. Rensing, and Jiri Friml. 2013. "Origin and evolution of PIN auxin transporters in the green lineage." *Trends in Plant Science* 18 (1): 5-10. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.08.009>.
- Viaene, T., K. Landberg, M. Thelander, E. Medvecka, E. Pederson, E. Feraru, E. D. Cooper, M. Karimi, C. F. Delwiche, K. Ljung, M. Geisler, E. Sundberg, and J. Friml. 2014. "Directional Auxin Transport Mechanisms in Early Diverging Land Plants." *Current Biology* 24 (23): 2786-2791. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.09.056>.
- Vries, J, Archibald, JM. 2018. Plant evolution: landmarks on the path to terrestrial life. *New Phytologist* 217: 1428– 1434. <https://doi.org/10.1111/nph.14975>
- Wang, Chunyang, Yang Liu, Si-Shen Li, and Guan-Zhu Han. 2015. "Insights into the origin and evolution of the plant hormone signaling machinery." *Plant physiology* 167 (3): 872-86. <https://doi.org/10.1104/pp.114.247403>.
- Weijers, D., and D. Wagner. 2016. "Transcriptional Responses to the Auxin Hormone." *Annual Review of Plant Biology, Vol 67* 67: 539-574. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-043015-112122>.
- Wodniok, Sabina, Henner Brinkmann, Gernot Gloeckner, Andrew J. Heide, Herve Philippe, Michael Melkonian, and Burkhard Becker. 2011. "Origin of land plants: Do conjugating

- green algae hold the key?" *Bmc Evolutionary Biology* 11. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-11-104>.
- Yoon, H. S., J. D. Hackett, C. Ciniglia, G. Pinto, and D. Bhattacharya. 2004. "A molecular timeline for the origin of photosynthetic eukaryotes." *Molecular Biology and Evolution* 21 (5): 809-818. <https://doi.org/10.1093/molbev/msh075>.
- Zabka, A., J. T. Polit, K. Winnicki, P. Paciorek, J. Juszczyk, M. Nowak, and J. Maszewski. 2016. "PIN2-like proteins may contribute to the regulation of morphogenetic processes during spermatogenesis in *Chara vulgaris*." *Plant Cell Reports* 35 (8): 1655-1669. <https://doi.org/10.1007/s00299-016-1979-x>.
- Zhang, C., L. L. Zhang, D. D. Wang, H. L. Ma, B. L. Liu, Z. Shi, X. H. Ma, Y. Chen, and Q. Chen. 2018. "Evolutionary History of the Glycoside Hydrolase 3 (GH3) Family Based on the Sequenced Genomes of 48 Plants and Identification of Jasmonic Acid-Related GH3 Proteins in *Solanum tuberosum*." *International Journal of Molecular Sciences* 19 (7). <https://doi.org/10.3390/ijms19071850>.
- Žižková, E., M. Kubeš, P. I. Dobrev, P. Pribyl, J. Simura, L. Zahajska, L. Zaveska Drabkova, O. Novak, and V. Motyka. 2017. "Control of cytokinin and auxin homeostasis in cyanobacteria and algae." *Annals of Botany* 119 (1): 151-166. <https://doi.org/10.1093/aob/mcw194>.
- Zuniga, A., M. J. Poupin, R. Donoso, T. Ledger, N. Guiliani, R. A. Gutierrez, and B. Gonzalez. 2013. "Quorum Sensing and Indole-3-Acetic Acid Degradation Play a Role in Colonization and Plant Growth Promotion of *Arabidopsis thaliana* by *Burkholderia phytofirmans* PsJN." *Molecular Plant-Microbe Interactions* 26 (5): 546-553. <https://doi.org/10.1094/mpmi-10-12-0241-r>.