

Plastyczność strategii odżywiania storczyków miksotroficznych jako stadium pośredniego w ewolucji mykoheterotrofii

Michał May

Przedstawiciele rodziny Orchidaceae (storczykowate) wykazują trzy odmienne strategie odżywiania: opartą na fotosyntezie autotrofię (AT), mykoheterotrofię (MH), w przypadku której całość substancji odżywczych pozyskiwana jest od partnera mykoryzowego – grzyba zasiedlającego glebę, oraz miksotrofię (MX), która łączy w sobie jednoczesne wykorzystanie aktywności fotosyntetycznej i odwrócony przepływ mykoryzowy węgla. Wszystkie gatunki storczykowatych cechują się strategią kiełkowania uzależnioną od pozyskiwania węgla od partnera mykoryzowego, są więc mykoheterotrofami w stadium młodocianym. Większość gatunków po wytworzeniu organów fotosyntetycznych przechodzi na odżywianie AT i przywraca typowy dla mykoryzy kierunek przepływu węgla organicznego. Niektóre gatunki pozostają jednak MH w dorosłości, jako ewolucyjne przystosowanie do zasiedlania nisz ekologicznych o niskiej dostępności światła. Przejście z AT do MH zachodziło wielokrotnie, w niezależnych zdarzeniach ewolucyjnych, w oddzielnych liniach ewolucyjnych storczykowatych. Odżywianie MX można uznać za stadium pośrednie pomiędzy tymi strategiami. Stanowi ono ewolucyjny punkt wyjściowy do przejścia na ściśle odżywianie MH. Wiele gatunków MX wykazuje wysoki potencjał adaptacyjny do powrotu do odżywiania AT w warunkach promujących fotosyntezę względem uzależnienia od węgla pochodzenia grzybowego. Sekwencjonowanie genomów plastydowych dwóch autotroficznych gatunków storczyków, *P. chlorantha* i *D. majalis*, w celu wyznaczenia wzorcowego stanu plastomu rośliny samożywnej, wykazało, że oba gatunki posiadają nienaruszony, kompletny plastom i w pełni funkcjonalną maszynę fotosyntetyczną. Opis dalszych 13 plastomów zsekwencjonowanych dla gatunków storczykowatych, z których 9 opisano przedtem w literaturze jako miksotroficzne a 4 jako autotroficzne, wykazał 10 przypadków kompletnych plastomów i 3 przypadki zajścia redukcji składu genomu plastydowego, które jednak nie upośledzają funkcjonalności fotosyntetycznej tych gatunków. Nie odnotowano korelacji pomiędzy stopniem zależności od węgla pochodzenia grzybowego a degradacją genomów plastydowych. Rośliny MX zachowały genetyczne podstawy do przywrócenia ściśle AT strategii odżywiania – zjawiska, które zaobserwowano w przypadku miksotroficznego storczyka z gatunku *E. helleborine* uprawianego w szklarni. Brak obecności drzew, które stanowią główne źródło węgla fotosyntetycznego w sieciach mykoryzowych,

sprzyjał przywróceniu odżywiania AT, co potwierdziła analiza składu izotopowego. Analiza transkryptomów storczyków MH wykazała daleko posuniętą degradację ich genomów plastydowych, ale nie wykryła obecności genów unikalnych dla mykoheterotrofów. Porównanie profili ekspresji pomiędzy częściami nadziemnymi i podziemnymi sugeruje, że fizjologia roślin MH wynika nie z innowacji genetycznej, lecz z reprogramowania ekspresji istniejących genów. Składanie transkryptomów dla niemodelowych gatunków roślin jest utrudnione, ze względu na brak dostępności pełnych sekwencji genomowych, które mogłyby posłużyć do kierowanego procesu składania odczytów z sekwencjonowania RNA. W takiej sytuacji konieczne jest zastosowanie mniej dokładnego podejścia *de novo*. W celu poprawy jego jakości przeprowadzono testy strategii opartej o zastosowanie dwóch odmiennych platform sekwencjonowania. Podejście hybrydowe używa krótkich odczytów sekwencji

z platformy Illumina i długich odczytów generowanych przez platformę MinION w celu przewyciężenia ograniczeń technicznych obu tych metod i wygenerowania transkryptomu wysokiej jakości bez wsparcia genomu referencyjnego. Dodatkowo, na podstawie doświadczeń z badań przeprowadzonych nad plastycznością strategii odżywiania roślin, udało się skonstruować zoptymalizowany i ujednolicony zestaw narzędzi i procedur, które wykorzystane zostaną w dalszych badaniach.