

Zsekwencjonowanie całego genomu sagowca *Cycas panzhihuaensis* – wybrane implikacje teoretyczne dla współczesnej botaniki

Whole genome sequencing of *Cycas panzhihuaensis*
– selected theoretical implications for modern botany

TADEUSZ PIETRAS

II Klinika Psychiatryczna Instytutu Psychiatrii i Neurologii w Warszawie
ul Sobieskiego 9, PL-02-957 Warszawa
e-mail: tadeusz.pietras@umed.lodz.pl

Submitted: 19 February 2023; Accepted: 30 June 2023

ABSTRACT: In 2022, the full genome of *Cycas panzhihuaensis* was decoded, prompting some noteworthy reflections. Understanding the cycad's genome indirectly confirms the monophyletic nature of seed plants and the occurrence of genome duplication in the common ancestor of seed plants. Cycads, as an archaic group, have persisted into modern times, probably due to the multiplication of genes conferring resistance to fungal and viral infections, as well as a high content of toxins poisonous to herbivores. The presence of movable spermatophores, genes enabling flagellum function, and comparisons of gene sequences suggest that Cycadophyta and Ginkgophyta probably constitute a sister clade to the clade comprising conifers and Gnetophyta.

Key words: genome, cycads, seed plants, evolution

Wstęp

Sagowce to długowieczne rośliny drzewiaste, które w przeciwieństwie do innych roślin nagonasiennych mają liście przypominające pierzasto złożone liście palm skupione na szczycie charakterystycznego pnia. Współczesne sagowce obejmują dwie rodziny, sagowcowate (cykasowate, Cycada-ceae) i zamiowate (Zamiaceae). Wśród sagowców wyróżnia się obecnie 11 rodzajów i 360 gatunków, przy czym do rodziny zamiowatych zalicza się następujące rodzaje: *Lepidozamia*, *Encephalartos* (zgłowień, moźdżeniec), *Macrozamia* (makrozamia), *Bowenia*, *Dioon* (dioon, głąbiec), *Zamia* (zamia, maczugowiec), *Microcycas* (mikrocycas), *Ceratozamia* (ceratozamia, różyca) i *Stangeria* (stangeria). Do sagowcowatych natomiast należy tylko jeden rodzaj – *Cycas* (sagowiec, sago, cykas) (Condamine i in., 2015). W polskojęzycznej literaturze wiele podstawowych informacji o sagowcach zawarto w artykule Beyersa i Pacyny (2012) w czasopiśmie „Wszechświat”.

Rośliny nasienne, prawdopodobnie wraz z kopalną grupą pranagozalążkowych (Progymnospermophyta), są najwyżej rozwiniętym kladem w ewolucji roślin telomowych i całej grupy roślin zielonych (Viridiplantae) (Zhang i in., 2022). Cechują się przyrostem wtórnym, tzn. obecnością kambium wytwarzającego wtórny floem i ksylem. Cechą charakterystyczną roślin nasiennych, jako roślin naczyniowych, jest obecność wiązek przewodzących, w których pomiędzy łykiem a drewnem znajduje się kambium. Umożliwiło to powstanie roślin drzewiastych, co było sukcesem ewolucyjnym. W wielu liniach ewolucyjnych roślin okrytonasiennych przyrost na grubość zaniknął, dając początek przebogatej grupie roślin zielonych. W kladzie roślin jednoliściennych zazwyczaj nie ma kambium i przyrostu wtórnego na grubość, a jeśli przyrost wtórny jest obecny, przebiega w specyficzny sposób (rośliny jednoliścienne pochodzą od roślin mających kambium, zatem jego brak u nich jest cechą wtórną) (Hejnowicz, 2002). Rośliny nasienne charakteryzują się także tworzeniem nasion i całkowitym uzależnieniem fazy haploidalnej

(gametofitu) od rośliny diploidalnej (sporofitu) (z wyjątkiem Progymnospermophyta) oraz niezwykłą plastycznością ewolucyjną (Tomescu i Groover, 2019). Odniosły one znaczny sukces ewolucyjny, będąc dominującą grupą roślin na lądzie od ery mezeofitycznej (rośliny nagonasienne) aż do czasów współczesnych (okrytonasienne) (Szafer i Kostyniuk, 1962; Blomenkemper i in., 2020). Rośliny nagonasienne są ważnym elementem światowej dendroflory, szczególnie na półkuli północnej w strefie klimatu borealnego i w górach (Szweykowska i Szweykowski, 1993; Kornaś i Medwecka-Kornaś, 2002).

Badania molekularne wskazują, że rośliny nasienne są kładem monofiletycznym¹ wywodzącym się ze wspólnego pnia z paprociowymi (Polypodiopsida) – obejmującymi skrzypowe, nasięźrzałowe, strzelichowe i paprotkowe (Christenhusz i Chase, 2014; Ran i in., 2018; Åstrand i in., 2021). Na początku XX w. rośliny nasienne traktowano jako jedną gromadę (typ) z dwoma podgromadami (podtypami) – rośliny nagonasienne (nagozalążkowe) i rośliny okrytonasienne (okrytozalążkowe) (Strasburger red, 1967). Pod koniec XX w. uważano z kolei, że wśród nagonasiennych były dwie niezależnie ewoluujące grupy – nagozalążkowe drobno-listne i nagozalążkowe wielkoliste, a z tych drugich miały rozwinąć się rośliny okrytozalążkowe (Meyen, 1984; Szweykowska i Szweykowski, 1993). Badania kladystyczne uwzględniające analizę genomów² wskazują (i oparty na tej analizie kladystyczny system klasyfikacji roślin okrytozalążkowych APG IV), że kład roślin okrytozalążkowych jest siostrzanym kładem roślin nagozalążkowych i ma z nimi wspólnego przodka, prawdopodobnie w grupie roślin pranagozalążkowych (Angiosperm Phylogeny Group, 2016; Murat i in., 2017; Ran i in., 2018). Powrócono zatem współcześnie do koncepcji o monofiletycznym charakterze roślin nagonasiennych.

Rośliny okrytonasienne, a właściwie ich przodkowie, rozwijały się równolegle z roślinami nagonasiennymi, nie pozostawiły jednak śladów kopalnych wcześniejszych niż w jurze, być może dlatego, że były one mniej trwałe lub wyglądały zupełnie inaczej niż okrytozalążkowe współczesne. Odgrywały zapewne niewielką rolę w ekosystemach. Podobną sytuację obserwuje się w ewolucji ssaków, które pochodzą od wspólnego przodka z gadami, jednak ssaki mezozoiczne i paleozoiczne były klasyfikowane jako



Cycas sp., w Łódzkiej Palmiarni
Cycas sp., in the Łódź Palm House

tw. gady ssakokształtne zupełnie odmienne od współczesnych ssaków i odgrywające w paleozoiku i mezozoiku niewielką rolę w faunie. Dopiero wymieranie kredowe (wywołane prawdopodobnie uderzeniem meteorytu w półwysep Jukatan oraz rozległymi wylewami lawy w Indiach i na Syberii) spowodowało intensywną radiację adaptacyjną³ zarówno roślin okrytonasiennych, jak i współczesnych ssaków łżyskowych, z równoległą redukcją liczby gatunków roślin nagozalążkowych i gadów (Dzik, 2015).

1 Kład monofiletyczny – grupa organizmów mających wspólnego przodka, obejmująca wszystkie wywodzące się z niego grupy potomne, tzw. linie rozwojowe. Klady rozdzielają się dychotomicznie, tworząc drzewo pokrewieństw. Klady niekoniecznie odpowiadają kategoriom systematycznym stosowanym w tradycyjnej systematyce. Przykładem kladystycznej systematyki roślin nasiennych jest system APG-IV.

2 Genom – ogół informacji genetycznej komórki lub organizmu. Genom danego osobnika określa się terminem genotypu.

3 Radiacja adaptacyjna – gwałtowna ewolucja grupy organizmów pochodzących od jednego przodka do różnych nisz ekologicznych z silnym zróżnicowaniem cech w grupach potomnych. Przykładem jest radiacja adaptacyjna ryb pielęgnicowatych w Wielkich Jeziorach Afrykańskich. W jeziorze Tanganika żyje kilkaset gatunków ryb pielęgnicowatych pochodzących od jednego przodka; mają one różne kształty ciała, zachowania i zajmują różne nisze ekologiczne. Tymczasem w rzekach Afryki żyje niewiele poniżej 100 gatunków ryb pielęgnicowatych. Przykładem radiacji adaptacyjnej dużej grupy systematycznej jest np. radiacja roślin okrytonasiennych czy ssaków, która nastąpiła po wymieraniu kredowym i zwolnieniu wielu nisz ekologicznych. Podobnie w starej paleozoicznej grupie sagowców nastąpiła w erze kenofitycznej radiacja adaptacyjna współczesnych gatunków, które są ze sobą blisko spokrewnione (Kornaś i Medwecka-Kornaś, 2002; Dzik, 2015).

Jak już wspomniano, oba klady roślin nasiennych, tzn. rośliny nago- i okrytonasienne, wywodzą się od wspólnego przodka wytwarzającego już nasiona prawdopodobnie w grupie bliskiej paleozoicznym roślinom pranagozależnym (Wang i in., 2021). Niektóre kopalne grupy zbliżone morfologicznie do roślin okrytozależnych (Glossopteridales, Caytoniales) zaliczane są czasami do wspólnego z nimi kladu ze względu na zbliżone cechy morfologiczne, na przykład siatkowate unerwienie liści czy pozornie okryte załączki. Brak jednak możliwości analizy sekwencji genomów każe na to powiązanie spojrzeć z pewnym dystansem, podobieństwa morfologiczne mogą bowiem wynikać z konwergencji (Taylor i Taylor, 2009). Przykładem takiej konwergencji jest kład Gnetales, który morfologicznie (budowa woreczka załączkowego, proces przypominający podwójne zapłodnienie, obecność naczyń w drewnie, owadopylność, rozgałęzienie sympodialne, ślady uwstecznionej obupłciowości sporofili, siatkowate unerwienie liści w rodzaju *Gnetum*) przypomina rośliny okrytonasienne (Gugerli i in., 2001; Ran i in., 2018). Tymczasem badania genomu jądrowego, mitochondrialnego oraz plastydowego wskazują, że gniotowe są grupą siostrzaną dla kladu rodziny sosnowatych w obrębie roślin szpilkowych (Ran i in., 2018; De La Torre i in., 2019; Kan i in., 2021). Ich podobieństwo do okrytonasiennych jest przykładem konwergencji i podobnego stadium rozwoju ewolucyjnego. Botanicy przywiązujący większą wagę do cech morfologicznych wskazują raczej na pokrewieństwo Gnetales z wymarłymi benefitami (Rothwell i in., 2009). Dane uzyskane na podstawie porównania sekwencji genów wskazują wyraźnie na związek Gnetales ze szpilkowymi. Gniotowe wraz z rodziną sosnowatych stanowią prawdopodobnie kład siostrzany do reszty roślin szpilkowych (Di Stilio i Ickert-Bond, 2021). Dane paleontologiczne przynajmniej częściowo potwierdzają wspólne pochodzenie gniotowych z roślinami szpilkowymi (Hernandez-Castillo i in., 2001; Herrera i in., 2020). Gniotowe zatem są prawdopodobnie silnie zmienionymi szpilkowymi.

Sagowce (Cycadopsida) powstały w środkowym permie i zdominowały ekosystemy lądowe w mezozoiku (Szafer i Kostyniuk, 1962). Główne linie rodowe sagowców pochodzą z permu, choć współczesne gatunki wyłoniły się stosunkowo niedawno i są przejawem radiacji adaptacyjnej tej starej ewolucyjnie grupy roślin (Condamine i in., 2015).

W 2022 r. zsekwencjonowano cały genom jądrowy, mitochondrialny i plastydowy *Cycas panzhihuaensis* (Liu Y i in., 2022). Poniższy artykuł jest refleksją nad pewnymi nowymi implikacjami dotyczącymi ewolucji roślin wynikającymi z porównania genomu tego sagowca z genomami innych roślin nasiennych.

Wielkość genomu sagowców

Genom haploidalny *Cycas* składa się z 11 chromosomów. W porównaniu z innymi roślinami nagonasiennymi jego wielkość (10,5 Gb) jest podobna do genomu *Ginkgo* (10,6 Gb) (Guan i in., 2016) i pośrednia między stosunkowo małym i zwartym genomem *Gnetum* (4,1 Gb) (Wan i in., 2018) a bardzo dużymi genomami drzew iglastych (na przykład ~20 Gb u *Picea* i *Pinus*) (Nystedt i in., 2013; Niu i in., 2022). Podobnie jak u innych nagonasiennych duża część

(14%) genomu *C. panzhihuaensis* składa się z archaicznych sekwencji powtarzających typu *copia* i *gypsy*⁴ rozpowszechnionych w genomie sagowców mniej więcej w równej liczbie (Galindo-González i in., 2017). Pozostałe rośliny nagonasienne mają większą liczbę sekwencji *gypsy* niż *copia*. Spośród wszystkich zsekwencjonowanych genomów roślin *C. panzhihuaensis* ma najdłuższe średnie introny (~30,8 kb) i geny (~121,3 kb), ponadto zawierają one dużą część nieznaną gdzie indziej sekwencji niewiadomego pochodzenia. Najdłuższy gen, CYCAS_013063, kodujący białko podobne do kinezyny KIF3A, zajmuje 2,1 Mb w genomie *C. panzhihuaensis*; najdłuższy intron ma około 1,5 Mb i został wykryty w CYCAS_030563, genie kodującym białko centrum reakcji fotosystemu II CP43. Oba geny ulegają ekspresji, o czym świadczą dane z transkryptomu (Liu Y i in., 2022).

Na podstawie molekularnych analiz filogenetycznych rośliny nagonasienne są traktowane jako grupa monofiletyczna, ale kolejność rozgałęzień między ich głównymi liniami pozostaje w sferze dyskusji. Powstaje pytanie, czy kład sagowców jest kladem siostrzanym wobec reszty roślin nagonasiennych (miłorzębowe, szpilkowe, gniotowe), czy też tworzy wspólną grupę z miłorzębowymi, a siostrzaną do kladu gniotowych i szpilkowych. Badania porównawcze wielu genów jądrowych i plastydowych wskazują raczej na ten drugi scenariusz (Huang i in., 2022). Także obecność ruchomych plemników, podobne mechanizmy rozmnażania płciowego oraz rozdzielność płciowości (dwupienność częsta u nagonasiennych) wskazują na słuszność takiej koncepcji (Rodkiewicz, 1984). Budowa drewna z kolei sugeruje, że miłorzębowe ze szpilkowymi oraz gniotowymi tworzą jeden kład siostrzany do sagowców (Jacobsen, 2021). Szpilkowe i miłorzębowe mają drewno typu piknoksylicznego (zwarte, z małym udziałem promieni rdzeniowych i małym rdzeniem charakterystyczne dla nagozależnych drobnolistnych), w przeciwieństwie do sagowców, u których drewno ma charakter manoksyliczny (luźne, z dużym udziałem miększu promieni rdzeniowych i dużym rdzeniem, charakterystyczne dla nagozależnych wielolistnych) (Jacobsen, 2021). Interesujące wydaje się, że naczynia powstały niezależnie w dwóch grupach nagonasiennych – u niektórych sagowców i u gniotowych (Jacobsen, 2021). Niektóre analizy filogenetyczne wskazują z kolei, że miłorzębowe są grupą, która oddzieliła się najwcześniej od głównego pnia nagonasiennych. To, czy miłorzębowe i sagowce tworzą wspólny kład, czy też sagowce jako pierwsze oddzielają się od reszty nagonasiennych (obejmujących w takiej sytuacji miłorzębowe, szpilkowe i gniotowe) wymaga dalszych badań porównawczych sekwencji genów i analiz paleobotanicznych (Xi i in., 2013).

Duplikacja całego genomu jest ważną siłą napędową ewolucji roślin lądowych i radykalnie przyczynia się do

4 *copia* i *gypsy* to sekwencje genetyczne, które pełnią kluczową rolę w przemieszczaniu genów w genomie organizmów. Umożliwiają ten proces, zwany retrotranspozycją, przez wykorzystanie odwrotnej transkrypcji RNA. Początkowo tworzą kopię RNA na bazie własnego DNA, a następnie przekształcają ją z powrotem w DNA, integrując to nowe DNA w inne obszary genomu. Działanie *copia* i *gypsy* wpływa na różnorodność genetyczną i ewolucyjne dostosowanie organizmów, stanowiąc istotny element ewolucyjnych procesów dziedziczenia genetycznego.

powstawania nowych adaptacji przez możliwość różnicowania się dwóch jednakowych genów (Stull i in., 2021; Liu Y i in., 2022). Analiza genomów *Cycas* i *Ginkgo* sugeruje duplikację genomu przed rozdzieleniem się tych dwóch linii ewolucyjnych. Analizy filogenomiczne oparte na 15 genomach i jednym transkryptomie ujawniły 2469 duplikacji u nagonasiennych w 9545 rodzinach genów i wskazują, że to zdarzenie zwielokrotnienia genomu zaszło u ostatniego wspólnego przodka wszystkich współczesnych nagonasiennych (Stull i in., 2021; Liu Y i in., 2022). Duplikacja całego genomu u przodka roślin nagonasiennych, nazwana duplikacją omega (ω), była niezależna od duplikacji u wspólnego przodka nagonasiennych i okrytonasiennych. Zatem w ewolucji nagonasiennych poliploidyzacja odegrała ważną rolę jako siła napędowa na wczesnym etapie, choć współcześnie nie jest ona tak częsta jak w grupie okrytonasiennych. Wśród roślin nagonasiennych mniej niż 5% ma charakter poliploidalny, w tym tylko 1,5% szpilkowych; u żadnego gatunku sagowca nie stwierdzono poliploidii (Delevoryas, 1979).

Geny związane z wytwarzaniem ruchomych plemników

W przeciwieństwie do innych roślin nasiennych sagowce i miłorzęb zachowują plemniki mające wici – cechę wspólną z mszakami, widłakowymi i paprociowymi. W genomie sagowców zachował się pełny skład genów kodujących ruch komórki za pomocą wici, podobnie jak w genomie miłorzębu. Nieruchome komórki plemnikowe wśród roślin nasiennych powstały prawdopodobnie dwukrotnie, w kładzie roślin okrytozalążkowych i w kładzie obejmującym szpilkowe i gniotowe (Liu H i in., 2021; Liu Y i in., 2022). Kopalne *Glossopteris*, prawdopodobnie kordaity oraz paprocie nasienne także miały ruchome plemniki (Szafer i Kostyniuk, 1962; Nishida i in., 2004). Ruchliwość plemników wynika z działania aparatu wiciowego, a większość genów związanych z jego budową występuje w genomie *C. panzihuaensis*. (Liu H i in., 2021; Liu Y i in., 2022). Rodzaj *Ginkgo* zachowuje również geny kodujące składniki wici, chociaż jest ich znacznie mniej niż w genomie *C. panzihuaensis*. W genomie miłorzębu brakuje części genów kodujących niektóre tzw. radialne białka szprychowe (tzn. RSP2, RSP3, RSP9 i RSP11), podczas gdy *Gnetum*, drzewa szpilkowe i rośliny okrytozalążkowe, które rozwijają komórki plemnikowe bez wici, utraciły wiele genów kodujących białka niezbędne do tworzenia wici i aparatu wiciowego (Liu H i in., 2021; Liu Y i in., 2022). Zewnętrzne gęste włókna są unikalnymi strukturami pomocniczymi, które utrzymują strukturalną integralność wici i są niezbędne do ich funkcjonowania. Geny kodujące białka tych włókien występują w genomach *Cycas panzihuaensis* i *Ginkgo biloba*, ale nie występują u *Gnetum*, drzew szpilkowych i roślin okrytonasiennych (Wan i in., 2018; Liu H i in., 2021; Liu Y i in., 2022). W pracy poświęconej poznaniu genomu miłorzębu zawarte jest zestawienie liczby genów kodujących białka aparatu ruchowego wici licznych zielenic, mszaków, widłakowych, paprociowych, nagozalążkowych oraz okrytozalążkowych ilustrujące zmniejsze-

nie ich liczby lub brak niektórych z nich w kładach roślin mających nieruchome komórki plemnikowe (Liu H i in., 2021).

Przejsie od plemników pływających do pozbawionych zdolności ruchu komórek plemnikowych jest jedną z głównych innowacji w ewolucji roślin nasiennych. Genomy *Cycas panzihuaensis* i *Ginkgo biloba* wykazują pełną zawartość genów związanych z ruchem wici obecnych u niższych Viridiplantae i innych liniach ewolucyjnych organizmów jądrowych (Eukaryota), także w kładzie Opisthokonta, do którego należą zwierzęta tkankowe, w tym *Homo sapiens* (Kumar i Singh 2021; Liu H i in., 2021; Liu Y i in., 2022).

Wszystkie organizmy eukariotyczne mające ruchome plemniki (w tym także człowiek) wymagają do poruszania się obecności cyklicznego adenozymonofosforanu (cAMP)⁵ wytwarzanego przez cyklazę adenylnową (Yamamoto i in., 2021). Sagowce i miłorzęby oraz wszystkie rośliny telomowe nienasienne mające ruchome plemniki kodują enzym *CAPE* o podwójnej roli – cyklazy adenylnowej i fosfodiesterazy, ulegający ekspresji wyłącznie w ruchomych plemnikach. Enzym ten syntetyzuje (cyklaza) i zarazem rozkłada (fosfodiesteraza) niezbędny przy ruchu plemników cAMP (Blanco i in., 2020; Yamamoto i in., 2021). W wielu liniach roślin mających nieruchome komórki plemnikowe gen kodujący ten enzym zaniknął, np. u okrytonasiennych czy w rodzinie sosnowatych (Yamamoto i in., 2021). Wyjątkiem jest rodzina Cupressaceae, w której gen ten zachował się, mimo że wytwarzają one pozbawione zdolności ruchu komórki plemnikowe (Blanco i in., 2020; Yamamoto i in., 2021). U roślin okrytonasiennych znaleziono geny kodujące różne cyklazy i fosfodiesterazy, pełnią jednak one inną rolę niż udział w ruchu plemników, brakuje przy tym sekwencji typowych dla *CAPE* (Yamamoto i in., 2021).

Geny związane z odpornością na patogeny

Wszystkie trzy typy receptorów odporności roślin na patogeny: CNL, TNL i RNL wykazują ekspresję u *Cycas panzihuaensis* i innych roślin nagonasiennych (Liu H i in., 2021; Liu Y i in., 2022). Białka odpornościowe CNL i RNL są szeroko rozpowszechnione zarówno u roślin nagonasiennych, jak i okrytonasiennych, podczas gdy białka rodziny TNL częściej występują u roślin nagonasiennych niż u większości roślin okrytonasiennych (Liu H i in., 2021; Liu Y i in., 2022). Wskazuje to ma odmienne wzorce ewolucyjne udziału różnych genów kodujących białka odporności w obu tych grupach roślin. Oznacza to także, że ta ścieżka sygnalizacyjna odporności na patogeny musiała powstać przed podziałem na rośliny nago- i okrytonasienne. Z kolei geny kodujące

5 cAMP – jeden z wielu wtórnych przekazników drugiego rzędu działania hormonów i substancji przekazujących informację międzykomórkową. Pobudzenie niektórych receptorów błonowych aktywuje enzym cyklazę adenylnową, która z ATP wytwarza cząsteczki cAMP. cAMP aktywują liczne kinazy zależne od cAMP fosforylujące białka i regulujące ekspresję genów. Mechanizm ten powszechny u zwierząt i licznych innych linii rozwojowych Eukaryota u roślin odgrywa znacznie mniejszą rolę. Substancja ta reguluje u roślin ruch plemników, przepuszczalność błony komórkowej czy reakcje odpornościowe (Blanco i in., 2020).

endochitynazy i chitynazy zabezpieczające przed patogenami grzybowymi zawierającymi chitynę w ścianie komórkowej są zawarte w licznych powtórzeniach tandemowych w genomie *C. panzhihuaensis* i u większości nagonasiennych (w porównaniu z innymi roślinami lądowymi) (Liu H i in., 2021; Liu Y i in., 2022). Taka zwielokrotniona odporność na patogeny może być przyczyną znacznie większej reprezentacji sagowców we florze współczesnej (360 gatunków) w porównaniu z miłorzębowymi (jeden gatunek). Obie grupy były szeroko reprezentowane w permie i w erze mezozoicznej. U miłorzębu jest znacznie mniej genów kodujących białka odpornościowe niż u sagowców (Liu H i in., 2021; Liu Y i in., 2022).

Rzeczywiście, porównanie genomów *Cycas* i *Ginkgo* ujawnia obecność wielu genów i białek specyficznych dla *Cycas* wzbogacających szlaki związane z odpornością na infekcję, stres biotyczny i abiotyczny, w tym geny zaangażowane w zaprogramowaną śmierć komórki, inhibitory proteaz serynowych (potrzebnych przy odporności na szkodniki) oraz metabolity wtórne o działaniu przeciwbakteryjnym i przeciwgrzybiczym oraz trującym dla dużych roślinożerców, np. ssaków (Liu H i in., 2021; Liu Y i in., 2022).

Drugą przyczyną zwiększonej oporności na patogeny u sagowców, w porównaniu z miłorzębem, jest znacznie bogatszy zestaw terpenoidów. Terpenoidy to zróżnicowana grupa metabolitów wtórnych, a ich synteza zależy od licznych genów kodujących określone enzymy (Zhou i Pichersky, 2020). Kilka podrodzin syntazy terpenoidowej TPS (TPS-a do TPS-h) jest znanych u roślin, przy czym TPS-d jest unikalna dla nagonasiennych, a trzy z czterech typów TPS-d znaleziono u *Cycas panzhihuaensis*, z niezwykle nasiloną ekspresją TPS-d2 w porównaniu z *Ginkgo* i większością pozostałych nagonasiennych (Liu H i in., 2021; Liu Y i in., 2022). Ponadto zidentyfikowano nową podrodzinę TPS w rodzaju *Cycas*, z trzema kopiami u *C. panzhihuaensis* i ośmioma kopiami u *C. debaoensis*. Analizy poziomu ekspresji wszystkich genów TPS w różnych tkankach *C. panzhihuaensis* ujawniają, że wiele z nich ulega ekspresji głównie w korzeniu, zwłaszcza w korzeniu pierwotnym i w korzeniach koralkowych (ang. coralloid roots) wykorzystywanych przez symbiotyczne sinice z rodzaju *Anabena* asymilujących azot atmosferyczny, mikrosporofilu i woreczku pyłkowym, późnych stadiach rozwoju zapłodnionego zalążka. Trzy geny specyficzne dla *Cycas* ulegały ekspresji głównie w korzeniu i szyszce męskiej, ale jeden z nich (CYCAS_009486) ulega szczególnie silnej ekspresji w megagametoficie oraz w zalążku po zapyleniu i zapłodnieniu (Liu H i in., 2021; Liu Y i in., 2022).

Sagowce, w przeciwieństwie do miłorzębu, wyposażone są w silne neurotoksyny zabijające roślinożerców, w tym ssaki. Należy tu cykazylna i trujący niebiałkowy aminokwas beta-N-metylamino-L-alanina (produkowana przez symbiotyczne sinice z rodzaju *Anabena*) (Wang i in., 2020). Spożycie bogatego w skrobię rdzenia łodygi sagowców (sago) wymaga specjalnych procedur wyłukiwania neurotoksyn. Obie te trucizny są odpowiedzialne za rozwój stwardnienia zanikowego bocznego i zespołu parkinsonowskiego oraz ośpiennego u osób spożywających kaszę sago, szczególnie na wyspie Guam (Kisby i in., 1992; Spencer, 2022). Cyka-

zylna wykazuje dodatkowo działanie muta- i onkogenne (Kisby i in., 1992; Spencer, 2022). Beta-N-metylamino-L-alanina pełni rolę fałszywego aminokwasu – zastępuje serynę w łańcuchu białkowym miedziowo-cynkowej dysmutazy nadciśnieniowej (Proctor i in., 2019). Wiadomo, że mutacje inaktywujące tę dysmutazę są u ludzi przyczyną genetycznych wariantów stwardnienia zanikowego bocznego z towarzyszącymi objawami pozapiramidowymi i niekiedy z ośpieniem (Corcia i in., 2017). Wbudowywanie się beta-N-metylamino-L-alaniny w białko dysmutazy obniża jej aktywność katalityczną, co patofizjologicznie przypomina uwarunkowany genetycznie niedobór tego enzymu (Fang i in., 2022).

W pracach poświęconych sekwencjonowaniu genomu roślin nagonasiennych nie zwraca się uwagi na ich wyjątkową oporność na infekcje wywołane wirusami roślinnymi. W 2020 r. wykryto wirus nekrozy liści sagowców należący do rodzaju *Badnavirus* z rodziny *Caulimoviridae* (Alvarez-Quinto i in., 2020). Są to wirusy DNA namnażające się, podobnie jak ludzkie retrowirusy czy hepadnawirusy przy pomocy odwrotnej transkryptazy (Bhat i in., 2016). Fenomen rzadkich infekcji wirusowych u roślin nagonasiennych stoi w sprzeczności z występowaniem licznych sekwencji pararetrowirusowych zintegrowanych z genomami paproci oraz roślin nago- i okrytonasiennych, szczególnie w rodzinie sosnowatych (Diop i in., 2018; Richert-Pöggeler i in., 2021). Świadczy to o licznych atakach wirusów z tej rodziny na przodków współczesnych roślin nagonasiennych. U roślin nagonasiennych i to właśnie u sagowców znaleziono jeszcze jednego wirusa RNA z rodzaju *Nepovirus* (Han i in., 2002).

Ostatnio wykryto kompletne cztery koliste sekwencje wirusopodobne w rodzaju *Welwitschia* o genomach wirusów z rodzin *Caulimoviridae* i *Geminiviridae* i scharakteryzowano je na podstawie danych genomowych *W. mirabilis* (Debat i Beijerman, 2022). W roku 2006 znaleziono genom wirusa RNA u sosny zwyczajnej, nie wywoływał on jednak objawów chorobowych u roślin (Veliceasa i in., 2006). Wirus ten pochodzi prawdopodobnie od grzybów mykoryzowych i jest nowym wirusem z rodziny *Caulimoviridae* atakującym przedstawiciela nagonasiennych. Być może liczne kopie genów przypominających genom *Caulimoviridae* są przyczyną, że sosna jest niezwykle na niego odporna (Veliceasa i in., 2006). W 2015 r. wykryto obecność wirusa mozaiki barwinka w naturalnych stanowiskach *W. mirabilis* na pustyni Namib (Koh i in., 2015). Jest to przykład ciągłych prób ataku różnych rodzajów wirusów roślinnych na rośliny nagonasienne.

Podsumowanie

Poznanie pełnego genomu jednego z sagowców ma duże znaczenie dla zrozumienia ewolucji roślin nagonasiennych. Liczne dane uzyskane przez porównywanie sekwencji DNA u różnych gatunków otwierają zupełnie nowe możliwości zrozumienia biologii roślin nagonasiennych. Dane molekularne potwierdzają pogląd, że sagowce to grupa archaiczna w grupie roślin nasiennych, niepozabawiona jednak możliwości ewolucyjnych, o czym świadczy intensywna radiacja adaptacyjna współczesnych gatunków.

Literatura

- Alvarez-Quinto RA, Lockhart BEL, Fetzner JL, Olszewski NE. 2020. Genomic characterization of cycad leaf necrosis virus, the first badnavirus identified in a gymnosperm. *Archives of Virology* 165(7):1671–1673 DOI: 10.1007/s00705-020-04630-6.
- Angiosperm Phylogeny Group. 2016. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society* 181(1):1–20 DOI: 10.1111/boj.12385.
- Åstrand J, Knight C, Robson J, Talle B, Wilson ZA. 2021. Evolution and diversity of the angiosperm anther: trends in function and development. *Plant Reproduction* 34(4):307–319 DOI 10.1007/s00497-021-00416-1.
- Bhat AI, Hohn T, Selvarajan R. 2016. Badnaviruses: The current global scenario. *Viruses* 8(6):177 DOI: 10.3390/v8060177.
- Beyers EA, Pacyna A. 2012. Sagowce. *Wszechświat* 113(7–9):210–219.
- Blanco E, Fortunato S, Viggiano L, de Pinto MC. 2020. Cyclic AMP: A polyhedral signalling molecule in plants. *International Journal of Molecular Sciences* 21(14):4862 DOI: 10.3390/ijms21144862.
- Blumenkemper P, Kerp H, Abu Hamad A, DiMichele WA, Bomfleur B. 2018. A hidden cradle of plant evolution in Permian tropical lowlands. *Science* 362(6421):1414–1416 DOI: 10.1126/science.aau4061.
- Christenhusz MJ, Chase MW. 2014. Trends and concepts in fern classification. *Annals of Botany* 113(4):571–594 DOI: 10.1093/aob/mct299.
- Condamine FL, Nagalingum NS, Marshall CR, Morlon H. 2015. Origin and diversification of living cycads: a cautionary tale on the impact of the branching process prior in Bayesian molecular dating. *BMC Evolutionary Biology* 15:65 DOI: 10.1186/s12862-015-0347-8.
- Corcia P, Couratier P, Blasco H, Andres CR, Beltran S, Meininger V, Vourc'h P. 2017. Genetics of amyotrophic lateral sclerosis. *Revue Neurologique* 173(5):254–262 DOI: 10.1016/j.neurol.2017.03.030.
- Debat H, Bejerman N. 2022. A glimpse into the DNA virome of the unique “living fossil” *Welwitschia mirabilis*. *Gene* 843:146806 DOI: 10.1016/j.gene.2022.146806.
- De La Torre AR, Piot A, Liu B, Wilhite B, Weiss M, Porth I. 2019. Functional and morphological evolution in gymnosperms: A portrait of implicated gene families. *Evolutionary Applications* 13(1):210–227 DOI: 10.1111/eva.12839.
- Delevoryas T. 1979. Polyploidy in gymnosperms. W: Lewis WH red. *Polyploidy. Biological Relevance. Basic Life Sciences*, 13. New York: Springer, 215–218 DOI: 10.1007/978-1-4613-3069-1_12.
- Diop SI, Geering ADW, Alfama-Depauw F, Loaec M, Teycheney PY, Maumus F. 2018. Tracheophyte genomes keep track of the deep evolution of the Caulimoviridae. *Scientific Reports* 8(1):572 DOI: 10.1038/s41598-017-16399-x.
- Di Stilio VS, Ickert-Bond SM. 2021. Ephedra as a gymnosperm evo-devo model lineage. *Evolution & Development* 23(3):256–266 DOI: 10.1111/ede.12370.
- Dzik J. 2015. *Zoologia. Różnorodność i pokrewieństwa zwierząt*. Warszawa: Wydawnictwa Uniwersytetu Warszawskiego.
- Fang T, Je G, Pacut P, Keyhanian K, Gao J, Ghasemi M. 2022. Gene therapy in amyotrophic lateral sclerosis. *Cells* 11(13):2066 DOI: 10.3390/cells11132066.
- Galindo-González L, Mhiri C, Deyholos MK, Grandbastien M-A. 2017. LTR-retrotransposons in plants: Engines of evolution. *Gene* 626:14–25 DOI: 10.1016/j.gene.2017.04.051.
- Guan R, Zhao Y, Zhang H, Fan G, Liu X, Zhou W, Shi C, Wang J, Liu W, Liang X, Fu Y, Ma K, Zhao L, Zhang F, Lu Z, Lee SM-Y, Xu X, Wang J, Yang H, Fu C, Ge S, Chen W. 2016. Draft genome of the living fossil *Ginkgo biloba*. *GigaScience* 5(1):49 DOI: 10.1186/s13742-016-0154-1.
- Gugerli F, Sperisen C, Büchler U, Brunner I, Brodbeck S, Palmer JD, Qiu Y-L. 2001. The evolutionary split of Pinaceae from other conifers: evidence from an intron loss and a multigene phylogeny. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 21(2):167–175 DOI: 10.1006/mpev.2001.1004.
- Han SS, Karasev AV, Ieki H, Iwanami T. 2002. Nucleotide sequence and taxonomy of *Cycas necrotic stunt virus*. *Archives of Virology* 147(11):2207–2214 DOI: 10.1007/s00705-002-0876-5.
- Hejnowicz Z. 2002. *Anatomia i histogeneza roślin naczyniowych. Organy wegetatywne*. Warszawa: PWN.
- Hernandez-Castillo GR, Rothwell GW, Mapes G. 2001. Compound pollen cone in a Paleozoic conifer. *American Journal of Botany* 88(6):1139–1142 DOI: 10.2307/2657097.
- Herrera F, Shi G, Mays C, Ichinnorov N, Takahashi M, Bevit JJ, Herendeen PS, Crane PR. 2020. Reconstructing *Krassilovia mongolica* supports recognition of a new and unusual group of Mesozoic conifers. *PlosOne* 15(1):e0226779 DOI: 10.1371/journal.pone.0226779.
- Huang K-Y, Kan S-L, Shen T-T, Gong P, Feng Y-Y, Du H, Zhao Y-P, Wan T, Wang X-Q, Ran J-H. 2022. A comprehensive evolutionary study of chloroplast RNA editing in gymnosperms: A novel type of G-to-A RNA editing is common in gymnosperms. *International Journal of Molecular Sciences* 23(18):10844 DOI: 10.3390/ijms231810844.
- Jacobsen AL. 2021. Diversity in conduit and pit structure among extant gymnosperm taxa. *American Journal of Botany* 108(4):559–570 DOI: 10.1002/ajb2.1641.
- Kan S-L, Shen T-T, Ran J-H, Wang X-Q. 2021. Both Conifer II and Gnetales are characterized by a high frequency of ancient mitochondrial gene transfer to the nuclear genome. *BMC Biology* 19(1):146 DOI: 10.1186/s12915-021-01096-z.
- Kisby GE, Ellison M, Spencer PS. 1992. Content of the neurotoxins cycasin (methylazoxymethanol β -D-glucoside) and BMAA (β -N-methylamino-L-alanine) in cycad flour prepared by Guam Chamorros. *Neurology* 42(7):1336–1340 DOI: 10.1212/wnl.42.7.1336.
- Koh SH, Li H, Admiraal R, Jones MG, Wylie SJ. 2015. Catharanthus mosaic virus: A potyvirus from a gymnosperm, *Welwitschia mirabilis*. *Virus Research* 203:41–46 DOI: 10.1016/j.virusres.2015.03.007.
- Kornaś J, Medwecka-Kornaś A. 2002. *Geografia roślin*. Wyd. 2. Warszawa: PWN.
- Kumar N, Singh AK. 2021. The anatomy, movement, and functions of human sperm tail: an evolving mystery. *Biology of Reproduction* 104(3):508–520 DOI: 10.1093/biolre/roaa213.

- Liu H, Wang X, Wang G, Cui P, Wu S, Ai C, Hu N, Li A, He B, Shao X, Wu Z, Feng H, Chang Y, Mu D, Hou J, Dai X, Yin T, Ruan J, Cao F. 2021. The nearly complete genome of *Ginkgo biloba* illuminates gymnosperm evolution. *Nature Plants* 7(6):748–756 DOI: 10.1038/s41477-021-00933-x.
- Liu Y, Wang S, Li L, Yang T, Dong S, Wei T, Wu S, Liu Y, Gong Y, Feng X, Ma J, Chang G, Huang J, Yang Y, Wang H, Liu M, Xu Y, Liang H, Yu J, Cai Y, ... Zhang S. 2022. The *Cycas* genome and the early evolution of seed plants. *Nature Plants* 8(4):389–401 DOI: 10.1038/s41477-022-01129-7.
- Meyen SV. 1984. Basic features of gymnosperm systematics and phylogeny as evidenced by the fossil record. *The Botanical Review* 50(1):1 DOI: 10.1007/BF02874305.
- Murat F, Armero A, Pont C, Klopp C, Salse J. 2017. Reconstructing the genome of the most recent common ancestor of flowering plants. *Nature Genetics* 49(4):490–496 DOI: 10.1038/ng.3813.
- Nishida H, Pigg KB, Kudo K, Rigby JF. 2004. Zooidogamy in the Late Permian genus *Glossopteris*. *Journal of Plant Research* 117(4):323–328 DOI: 10.1007/s10265-004-0164-4.
- Niu S, Li J, Bo W, Yang W, Zuccolo A, Giacomello S, Chen X, Han F, Yang J, Song Y, Nie Y, Zhou B, Wang P, Zuo Q, Zhang H, Ma J, Wang J, Wang L, Zhu Q, Zhao H, ... Wu HX. 2022. The Chinese pine genome and methylome unveil key features of conifer evolution. *Cell* 185(1):204–217.e14 DOI: 10.1016/j.cell.2021.12.006.
- Nystedt B, Street NR, Wetterbom A, Zuccolo A, Lin Y-C, Scofield DG, Vezzi F, Delhomme N, Giacomello S, Alexeyenko A, Vicedomini R, Sahlin K, Sherwood E, Elfstrand M, Gramzow L, Holmberg K, Hällman J, Keech O, Klasson L, Koriabine M, ... Jansson S. 2013. The Norway spruce genome sequence and conifer genome evolution. *Nature* 497(7451):579–584 DOI: 10.1038/nature12211.
- Proctor EA, Mowrey DD, Dokholyan NV. 2019. β -Methylamino-L-alanine substitution of serine in SOD1 suggests a direct role in ALS etiology. *PLoS Computational Biology* 15(7):e1007225 DOI: 10.1371/journal.pcbi.1007225.
- Ran J-H, Shen T-T, Wang M-M, Wang X-Q. 2018. Phylogenomics resolves the deep phylogeny of seed plants and indicates partial convergent or homoplastic evolution between Gnetales and angiosperms. *Proceedings of the Royal Society Biological Sciences* 285(1881):20181012 DOI: 10.1098/rspb.2018.1012.
- Richert-Pöggeler KR, Vijverberg K, Alisawi O, Chofong GN, Heslop-Harrison JSP, Schwarzacher T. 2021. Participation of multifunctional RNA in replication, recombination and regulation of endogenous plant pararetroviruses (EPRVs). *Frontiers in Plant Science* 12:689307 DOI: 10.3389/fpls.2021.689307.
- Rodkiewicz B. 1984. *Embriologia roślin nagozalążkowych*. Warszawa: PWN.
- Rothwell GW, Crepet WL, Stockey RA. 2009. Is the angiosperm hypothesis alive and well? New evidence from the reproductive structures of Bennettitales. *American Journal of Botany* 96(1):296–322 DOI: 10.3732/ajb.0800209.
- Spencer PS. 2022. Parkinsonism and motor neuron disorders: Lessons from Western Pacific ALS/PDC. *Journal of the Neurological Sciences* 433:120021 DOI: 10.1016/j.jns.2021.120021.
- Stull GW, Qu X-J, Parins-Fukuchi C, Yang Y-Y, Yang J-B, Yang Z-Y, Hu Y, Ma H, Soltis PS, Soltis DE, Li D-Z, Smith SA, Yi T-S. 2021. Gene duplications and phylogenomic conflict underlie major pulses of phenotypic evolution in gymnosperms. *Nature Plants* 7(8):1015–1025 DOI: 10.1038/s41477-021-00964-4.
- Strasburger E red. 1967. *Botanika. Podręcznik dla szkół wyższych*. Wyd. 2 pol. wg wyd. 28 oryg. Warszawa: PWRiL.
- Szafer W, Kostyniuk M. 1962. *Zarys paleobotaniki*. Warszawa: PWN.
- Szweykowska A, Szweykowski J. 1993. *Botanika. T. 2. Systematyka*. Warszawa: PWN.
- Taylor EL, Taylor TN. 2009. Seed ferns from the late Paleozoic and Mesozoic: Any angiosperm ancestors lurking there? *American Journal of Botany* 96(1):237–251 DOI: 10.3732/ajb.0800202.
- Tomescu AMF, Groover AT. 2019. Mosaic modularity: an updated perspective and research agenda for the evolution of vascular cambial growth. *New Phytologist* 222(4):1719–1735 DOI: 10.1111/nph.15640.
- Veliceasa D, Enünlü N, Kós PB, Köster S, Beuther E, Morgun B, Deshmukh SD, Lukács N. 2006. Searching for a new putative cryptic virus in *Pinus sylvestris* L. *Virus Genes* 32(2):177–186 DOI: 10.1007/s11262-005-6874-4.
- Wan T, Liu Z-M, Li L-F, Leitch AR, Leitch IJ, Lohaus R, Liu Z-J, Xin H-P, Gong Y-B, Liu Y, Wang W-C, Chen L-Y, Yang Y, Kelly LJ, Yang J, Huang J-L, Li Z, Liu P, Zhang L, Liu H-M, ... Wang X-M. 2018. A genome for gnetales and early evolution of seed plants. *Nature Plants* 4(2):82–89 DOI: 10.1038/s41477-017-0097-2.
- Wang J, Hilton J, Pfefferkorn HW, Wang S, Zhang Y, Bek J, Pšenička J, Seyfullah LJ, Dilcher D. 2021. Ancient noeggerathian reveals the seed plant sister group diversified alongside the primary seed plant radiation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 118(11):e2013442118 DOI: 10.1073/pnas.2013442118.
- Wang Z-Q, Wang S, Zhang J-Y, Lin G-M, Gan N, Song L, Zeng X, Zhang C-C. 2020. The proposed neurotoxin β -N-methylamino-L-alanine (BMAA) is taken up through amino-acid transport systems in the *Cyanobacterium anabaena* PCC 7120. *Toxins* 12(8):518 DOI: 10.3390/toxins12080518.
- Xi Z, Rest JS, Davis CC. 2013. Phylogenomics and coalescent analyses resolve extant seed plant relationships. *PLoS ONE* 8(11):e80870 DOI: 10.1371/journal.pone.0080870.
- Yamamoto C, Takahashi F, Ooe Y, Shirahata H, Shibata A, Kasahara M. 2021. Distribution of adenylyl cyclase/cAMP phosphodiesterase gene, CAPE, in streptophytes reproducing via motile sperm. *Scientific Reports* 11(1):10054 DOI: 10.1038/s41598-021-89539-z.
- Zhang Z, Ma X, Liu Y, Yang L, Shi X, Wang H, Diao R, Zhong B. 2022. Origin and evolution of green plants in the light of key evolutionary events. *Journal of Integrative Plant Biology* 64(2):516–535 DOI: 10.1111/jipb.13224.
- Zhou F, Pichersky E. 2020. More is better: the diversity of terpene metabolism in plants. *Current Opinion in Plant Biology* 55:1–10 DOI: 10.1016/j.pbi.2020.01.005.