

1. ORGANOGENEZE

1.1. ADAPTACE ROSTLIN K ŽIVOTU NA SOUŠÍ

Přechod rostlin k suchozemskému způsobu života souvisí s trvalým upevněním v půdě, odkud čerpají rostliny vodu a minerální látky. Jejich nepohyblivost je spjata s celým souborem adaptací, pomocí kterých se rostliny mimo jiné vyrovnávají také s nutností zachovat **vysoký poměr plochy k objemu**. Růst rostliny se tedy řídí potřebou co nejlépe získávat vodu, živiny a energii a co nejlépe s nimi hospodařit.

Pevná mechanická kostra, tvořená **buněčnými stěnami**, přispívá k udržení rostliny ve vzpřímené poloze, a její listy udržuje v takovém rozložení, které jim dává nejvhodnější podmínky pro fotosyntézu. Zároveň však to, že buněčné stěny jsou navzájem stmeleny do pevné struktury, činí růst sousedních buněk a pletiv na sobě navzájem závislými, neboť **buňky se nemohou proti sobě posouvat**. Během buněčného dělení se vytváří nová buněčná stěna mezi dceřinými buňkami a napojuje se na původní stěny buňky mateřské. Tím je poloha buněk fixována.

Buněčné stěny nejen zachovávají pevnost rostlin, ale také umožňují růst. Schopnost růstu buněčné stěny je podmínkou růstu a organogeneze rostlin. Proto se vývojová a pletivová variabilita ve složení a struktuře buněčné stěny uplatňuje při regulaci organogeneze.

Většina rostlinných buněk má velké **vakuoly**, které osmotickým tlakem vyvolají **turgor**. Teprve turgor dává celulózním stěnám vlastnosti pevné struktury a je také nezbytným činitelem v mechanismu růstu. Kromě toho je systém vakuol v diferencovaném pletivu jakýmsi vnějším prostředím cytoplasmy, udržovaným uvnitř rostlinného těla.

Primární stěna je heterogenní a dynamická polymerní struktura, skládající se z navzájem provázaných celulózních mikrofibril, ponořených do matrix, která obsahuje pektiny, různé hemicelulosity (xylany, xyloglukany, mannany) a stěnové proteiny. Mikrofibrily celulózy, které jsou nejpevnější složkou stěny, jsou zpravidla uspořádány kolmo na prodlužovací růst. Ve stěně rostoucí buňky je asi 30% celulózy z celkového množství polysacharidů a podíl celulózy během diferenciaci buňky stoupá. Nejznámější stěnové proteiny jsou expansiny (díky své struktuře interagují s jinými složkami stěny a regulují tak rezistenci stěny) a enzym xyloglukanendotransglukosylasa (XET), která štěpí řetězce xyloglukanu a obstarává vkládání nových molekul do těchto řetězců. Výskyt expansinů je regulován hormonálně, vnějšími podněty, stresy a jejich účinnost se zvyšuje oxygencí stěny. Jejich výskyt a působení v buňce může být lokální. Struktura stěny tak umožňuje uplatnění turgoru ve směru menší rezistence stěny a tak transformovat nesměrovaný turgor na anizotropní, tj. směrovaný růst buňky.

Cytoskelet hraje důležitou roli v organogenezi rostlin. Má podobnou strukturu jako cytoskelet živočišných buněk. Je tvořen soustavou mikrotubulů a aktinových vláken a má některé podobné asociované bílkoviny. Má však také u rostlin některé zvláštnosti. Při prodlužování buněk je charakteristické uspořádání kortikálních mikrotubulů rovnoběžně s ukládáním micel celulózy, což ukazuje na možný fyziologický vztah obou těchto struktur při směrovaném růstu. Před vstupem do mitózy (v preprofázi) mikrotubuly vytváří preprofázový svazek ve formě prstence, který obepíná cytoplazmu v rovině přehrádky mezi budoucími dceřinými buňkami a předznamenává tak směr budoucího dělení a tím také budoucí organogenezi. V průběhu buněčného dělení vytváří

se další přechodný cytoskeletální útvar, fragmoplast, který se účastní přísunu materiálu pro stavbu nové buněčné stěny mezi dceřinými buňkami. Tam, kde se mikrotubuly fragmoplastu setkávají, hromadí se shluky polysacharidů, které postupně splývají v buněčnou přehrádku a nakonec se na okrajích napojují na starší stěny okolních buněk. Právě fixování buněk stěnami v rostlinných pletivech má za následek, že pro vznik a výslednou morfologii nějakého orgánu má význam nejen **rychlost dělení a růstu buněk, ale také jejich směr.**

Soustava buněčných stěn vytváří zvláštní prostředí pro pohyb látek a komunikaci mezi buňkami - **apoplast**, který představuje síť buněčných stěn prostoupených vodou. Buněčná stěna není souvislou bariérou mezi buňkami. Jsou v ní **plasmodesmata** - úzké otvory obsahující cytoplazmatickou membránu, endoplazmatické retikulum a bílkovinné partikule, které upravují průchodnost plasmodesmat pro různé látky. Propustnost plasmodesmat pro detekční barviva je kolem 1 kDa, avšak jejich schopnost transportovat proteiny a mRNA může dosahovat až 30 – 50 kDa. Plasmodesmata tak spojují cytoplasmu buněk v **symplast**. Vznikají již při tvorbě přehrádky v průběhu buněčného dělení, ale mají také značnou dynamiku vzniku a zániku v rostoucích a diferencujících se buňkách. Spojení buněk plasmodesmaty umožňuje koordinované chování souboru buněk v pletivu.

Mnohostrannost funkcí cytoskeletu při růstu a vývoji je dána jeho obrovskou dynamičností: např. byla v kořenových vláscích zjištěna rychlost narůstání mikrotubulů 5 $\mu\text{m}/\text{min}$ a rychlost odbourávání 7 $\mu\text{m}/\text{min}$.

Nehledě na svou **nepohyblivost**, rostlina se dobře vyrovnává s proměnlivým a často nepřátelským okolím. Činí tak pomocí důmyslného **zpracování signálů z prostředí** pro řízení svých růstových aktivit, dovede nejen čelit aktuální nepříznivé situaci (sucho, mráz), ale také "předvídat" vývoj klimatických faktorů a předem se na nepříznivé okolnosti připravit. Mezi signály z vnějšího prostředí, které určují organogenezi patří zemská tíže, některé oblasti světelného spektra a střídání dne a noci. Kromě těchto trvale působících faktorů jsou to změny teploty, ozáření, dostupnosti vody, přítomnosti jiných organizmů aj., které aktuálně ovlivňují růst, organogenezi i ontogenezi rostlin.

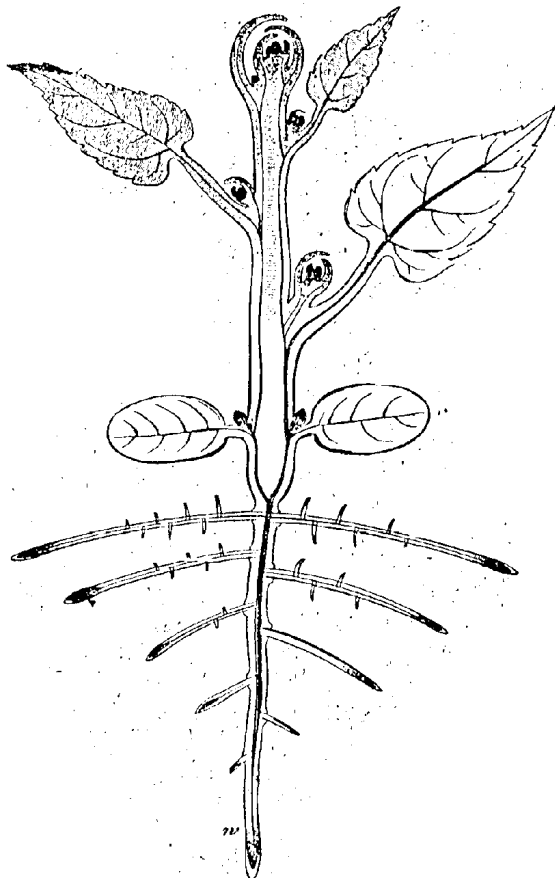
Rostliny se vyznačují velkými **potenciálními možnostmi růstu** a velkou schopností **regenerace**. Zároveň mají spolehlivé mechanismy pro **zadržení nežádoucího růstu**. Jednou z nejpodstatnějších vlastností rostlin je **celoživotní přítomnost dělivých pletiv (meristémů)**, vyskytujících se na různých, nicméně přesně definovaných místech rostliny. Dělení buněk a organogeneze v nich probíhat může, ale nemusí. Podléhá regulacím.

Poměrně **jednoduchá je anatomická stavba** dospělých částí rostliny. Rostlina má jednovrstevnou pokožku, soustavu vodivých pletiv a pletiva základní (kůru, asimilační pletiva, zásobní pletiva apod.). Je to zároveň jeden z předpokladů snadné regenerace celé rostliny z malého kousku. Nehledě na malou specializaci pletiv, je rostlina schopna **vnímat signály**, má pro ně specializované receptory ve svých buňkách. Má také schopnost **přenášet signály** v rámci rostliny, i když se tak děje pomaleji a nenápadněji než u vyšších živočichů. Nejznámějšími příklady jsou reakce listů u citlivky na dotek a reakce celých rostlin na lokální poškození patogeny.

Rozmanité jsou strategie přizpůsobení ontogeneze vyšších rostlin, rozmanitý je průběh jejich růstu a výsledná morfologická stavba rostlin. Veškerá tato **rozmanitost je výsledkem interakce spíše nepočtených obecných mechanismů příjmů a zpracování vnějších signálů v návaznosti na vnitřní regulační mechanismy**. Příkladem interakce vnějších a vnitřních signálů může být polární růst rostliny, která svými kořeny směřuje dolů ke zdrojům vody a živin a svými nadzemními orgány směřuje vzhůru, kde se vystaví slunečním paprskům, a kde se také uskuteční sexuální rozmnožování.

1.2. MODULÁRNÍ STAVBA A KOORDINOVANÝ RŮST ROSTLINY

V obecném plánu růstu vyšší rostliny je opakování **fytoemerů**, což jsou moduly skládající se z **listu, pupenu a internodia** (článku stonku). Větvení **kořenů** je rovněž neustálým opakováním podobného (**obr. 1-1**). Na každém vrcholu stonku (ve vrcholovém meristému) přirůstají další moduly s novými listy, v paždí listů se zakládají úžlabní (axilární) pupeny, tj. vrcholy schopné produkce vlastních modulů s úžlabními pupeny, atd. Tento způsob růstu představuje obrovskou možnost narůstání rostliny (**obr. 1-2**).



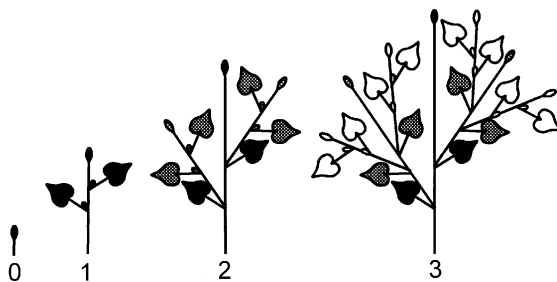
Obr. 1-1. Modulární růst rostliny: zakládání pupenů v úžlabí listů je předpokladem opakování modulů.

Ve skutečnosti se uplatní jen některé ze všech těchto možností. Rozmanitost flóry na souši, kde vyšší rostliny viditelně převládají, je vlastně z velké části dána různou realizací úžlabních pupenů a růstem v těchto pupenech.

Realizace potenciálu větvení je podmíněna genotypem a mění se, někdy dost podstatně, v průběhu ontogeneze. Mnoho rostlin má zpočátku nevětvený stonek, až v době kvetení jsou bohatě větvené. U jiných rostlin se větvení realizuje více na spodní části stonku, u země, a pak až nahore, v květenství. Typickým příkladem jsou obiloviny.

Větvení je závislé na signálech z vnějšího prostředí, na přístupnosti živin a vody a v každém okamžiku závisí na vzájemných vlivech všech dosud vytvořených orgánů v rostlině. O těchto vztazích mezi různými částmi jedné rostliny se mluví jako o **mezi-orgánových růstových korelacích**. Důležitým prostředkem regulace růstových korelací jsou fytohormony. Podílejí se na koordinovaném chování rostliny jako celku a na vytváření růstových gradientů v rostlině.

Podílejí se na koordinovaném chování rostliny jako celku a na vytváření růstových gradientů v rostlině.



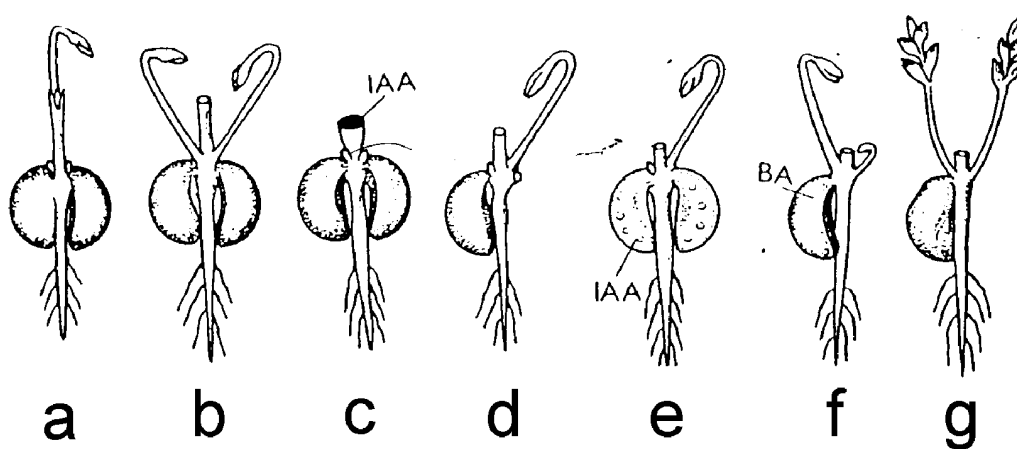
Obr. 1-2. Růstový potenciál a hypotetické možnosti větvení z jediného úžlabního pupenu; černě, šedivě a bíle je naznačeno pouze postupné větvení 1., 2. a 3. řádu a je třeba si k tomuto schématu ještě přimyslet přirůstání dalších listů s úžlabními pupeny na každém z naznačených vrcholů

Rostlina umí tolerovat porušení své celistvosti. Reaguje na něj změnami růstu, které prozrazují existenci vzájemných meziorgánových vlivů. S takovými jevy se můžeme setkat i v přírodě (**obr. 1-3**).

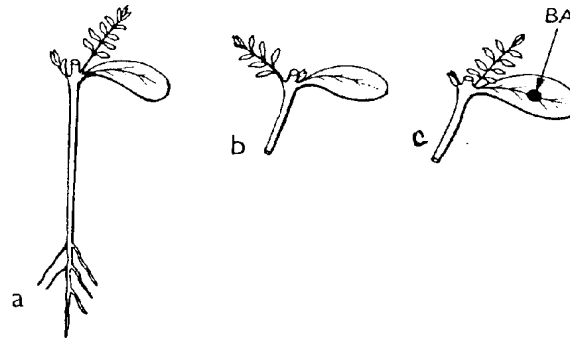


Obr. 1-3. Neobvyklý růst úžlabních pupenů u smrku s chybějícím vrcholkem kmene

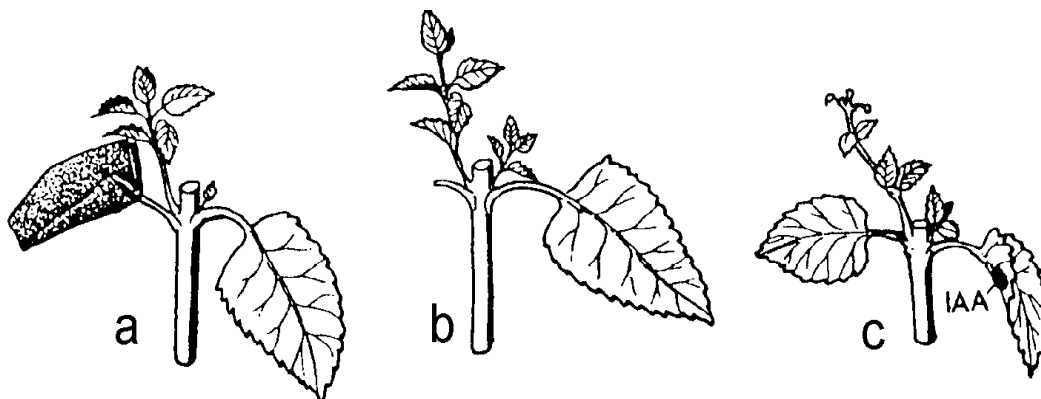
V pokusech se k průkazům meziorgánových korelací s výhodou používají jednoduché modely např. klíční rostliny nebo řízky s jedním listem a pupenem (**obr. 1-4 až 1-8**). Mnoho takových vtípných pokusů opsal brněnský profesor botaniky R. Dostál.



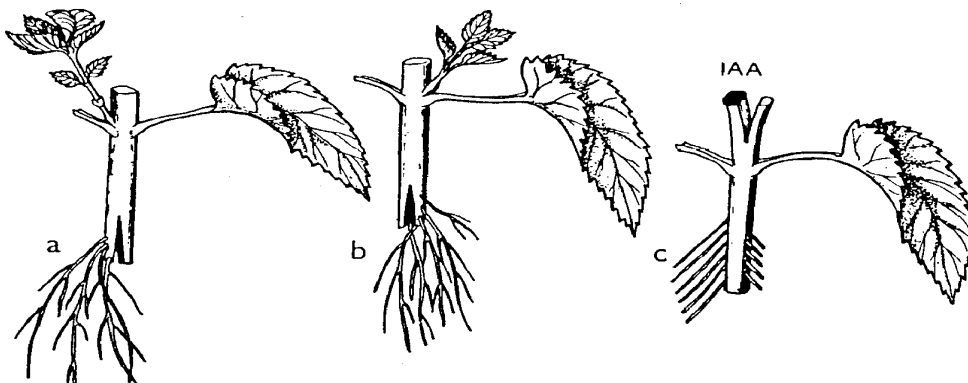
Obr. 1-4. Klíční rostlina hrachu. **a** - u neporušené rostliny roste kořínek a vrcholový pupen, zatímco růst axilárních pupenů je zadrženo; **b** - po odříznutí vrcholového pupenu rostou pupeny v úžlabí děloh; **c** - přirozený brzdící účinek vrcholového pupenu lze nahradit fytohormonem auxinem (indolyloctovou kyselinou - IAA); **d** - brzdící (inhibiční) vliv dělohy na vlastní úžlabní pupen se prozradí, když odřízneme jednu z děloh: přednostně roste pupen na té straně, kde byla děloha odstraněna; **e** - že přitom nejde jen o redukci zásobních látek, ale o hormonální vliv, se ukáže, jestliže odstraníme stejnou část obou děloh a na řeznou plochu jedné z nich nanese auxin; **f** - jiný fytohormon, cytokinin, na rozdíl od auxinu podporuje růst nejbližšího pupenu (v pokusu byl použit syntetický cytokinin benzyladenin, BA); **g** - souměrný růst obou úžlabních pupenů klíční rostlinky, nastává na plném světle bez ohledu na odstraněnou dělohu (pokusy **a** až **f** byly provedeny u zastíněných rostlin; na plném světle se růstové korelace projevují méně výrazně!)



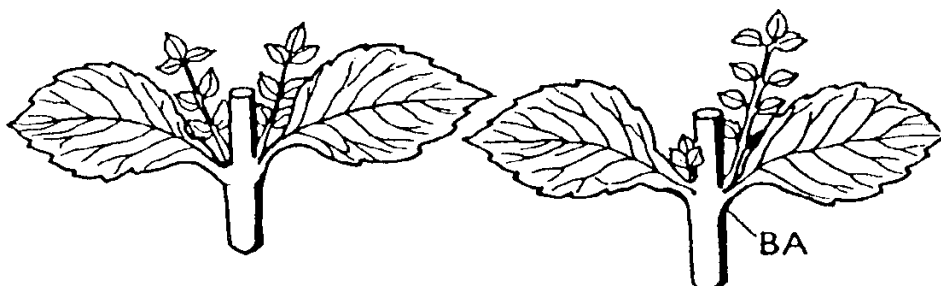
Obr. 1-5. Klíčící rostlina lnu: má tu vlastnost, že prodlužující se hypokotyl vynáší dělohu velmi záhy na světlo; na rozdíl od hypogeického klíčení hrachu je klíčení lnu epigeické; **a** - na rozdíl od hrachu děloha podporuje růst bližšího pupenu; **b**, - odstranění kořene a části hypokotylu obrací tento vztah; **c** - dodání cytokininu (BA) vytváří podobné vztahy jako přítomnost kořene



Obr. 1-6. Krtičník má párové listy a rovnocenné pupeny v jejich úžlabí. List krtičníku vystavený světlu brzdí růst bližšího pupenu (**a**, **b**), podobně působí auxin nanesený na jeden z osvětlených listů (**c**)



Obr. 1-7. Rostoucí pupen krtičníku (**a**, **b**) nebo auxin (**c**) podporují růst kořenů na příslušné straně stonku.



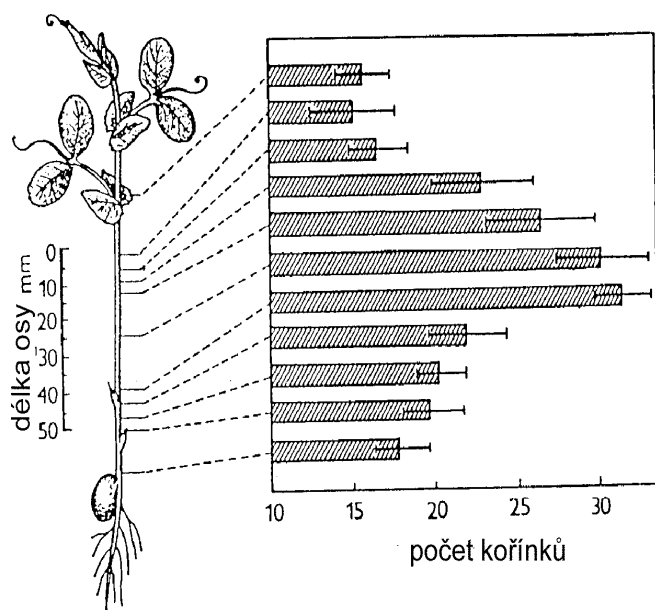
Obr. 1-8. Cytokinin (BA) stimuluje bližší pupen

Na základě těchto několika příkladů si můžeme učinit představu o některých meziorganových vztazích v rostlině:

1. Hlavní pupen brzdí růst úžlabních pupenů – tento jev se nazývá **apikální dominance**.
2. Rostoucí úžlabní pupen podporuje růst kořenů.
3. List nebo děloha ovlivňují růst svého úžlabního pupenu, přitom způsob ovlivnění může záležet na osvětlení.
4. Vliv rostoucího pupenu lze nahradit auxinem a vliv kořenů na pupeny cytokininem.
5. Světlo působí v meziorganových korelacích spíše jako morfogenní než jako nutriční faktor.

Jedním ze základních meziorganových vztahů v celistvé rostlině je vztah mezi staršími a mladšími laterálními orgány. Mladší orgány jsou nadřazeny. Jsou přednostně uspokojovány jejich nároky na vodu a živiny. Při jejich nedostatku přežívají nejdéle.

Reakce rostlin na záměrné porušení celistvosti se používají při řízkování a zakořeňování řízků (**obr. 1-9**), při stříhání trávníku, při tvarování koruny stromů, v ovocnářství, při zaštipování v zahradnictví apod.



Obr.1-9. Na schopnost zakořeňování má vliv nejen koncentrace a chemická povaha použitého auxinu, ale také místo, odkud se řízek odebírá.

1.3. ORGANIZACE A FUNKCE VRCHOLOVÝCH MERISTÉMŮ (DĚLIVÝCH PLETIV)

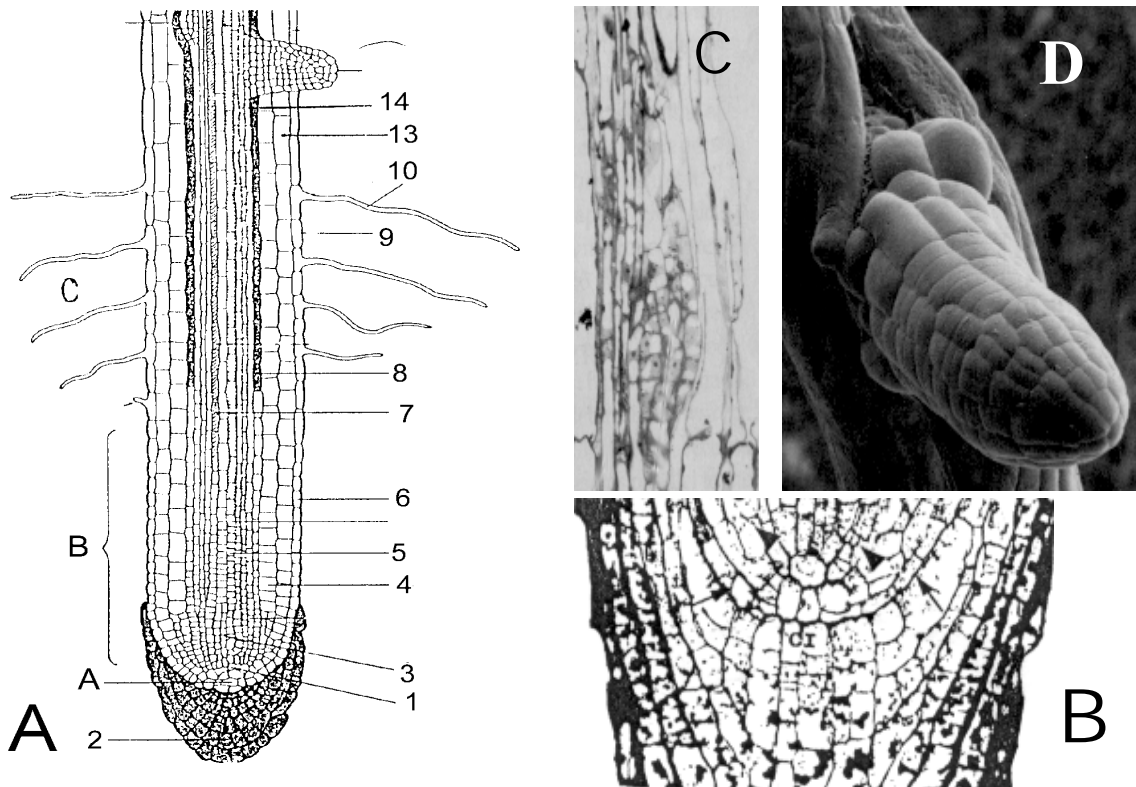
Zakládání a počáteční růst nových orgánů se uskutečňuje na špičkách všech stonků a kořenů rostliny. Sídlem organogeneze jsou vrcholové meristémy. Ve vrcholových meristémech probíhá dělení buněk. Velikost vrcholových meristémů (desetiny mm u stonků a 1 - 3 mm délky u kořenů) se v průběhu vývoje příliš nemění, protože na konci vzdálenějším vrcholu se buňky přestávají dělit a postupně se přidávají k diferencujícím se orgánům a pletivům svého stonku či kořene.

Vrcholové meristémy kořenů a stonků zachovávají si své funkce dělivého pletiva až do konce svého života a jsou stálým zdrojem buněk pro organogenezi. Vrcholy mají neomezený růst. Listy jsou zpočátku součástí meristému stonku, avšak dělení buněk v nich

postupně ustává. Listy mají omezený růst. Ukončení buněčného dělení je doprovázeno a následováno zvětšováním (extenzí) buněk a nakonec utvářením dospělých pletiv a orgánů rostliny.

Na nejzajímavějším konci vrcholových meristémů je malý počet buněk, které lze považovat za iniciály. Stálost iniciál však není celoživotní, zvláště u stonkových meristémů při organogenezi občas nastává "únik" některé iniciální buňky do zakládajícího se orgánu a doplnění skupiny iniciál některou z dceřinných buněk. Sledování osudu iniciál umožňují přirozené nebo uměle vyvolané mutace v jednotlivých buňkách (např. ztráta chlorofylu) a následující výskyt potomstev zmutovaných buněk v různých částech rostliny.

Vrcholové meristémy stonků a kořenů se od sebe liší nejen **směrem růstu** vzhledem k zemské tíži, ale také **vzdáleností organogeneze** od špičky vrcholu. Liší se též **rychlostí dělení buněk** (v kořeni je zhruba dvojnásobná oproti stonku). Iniciály jsou v kořeni chráněny kořenovou čepičkou, stonkové meristémy jsou v pupenu zabaleny do mladých listů.

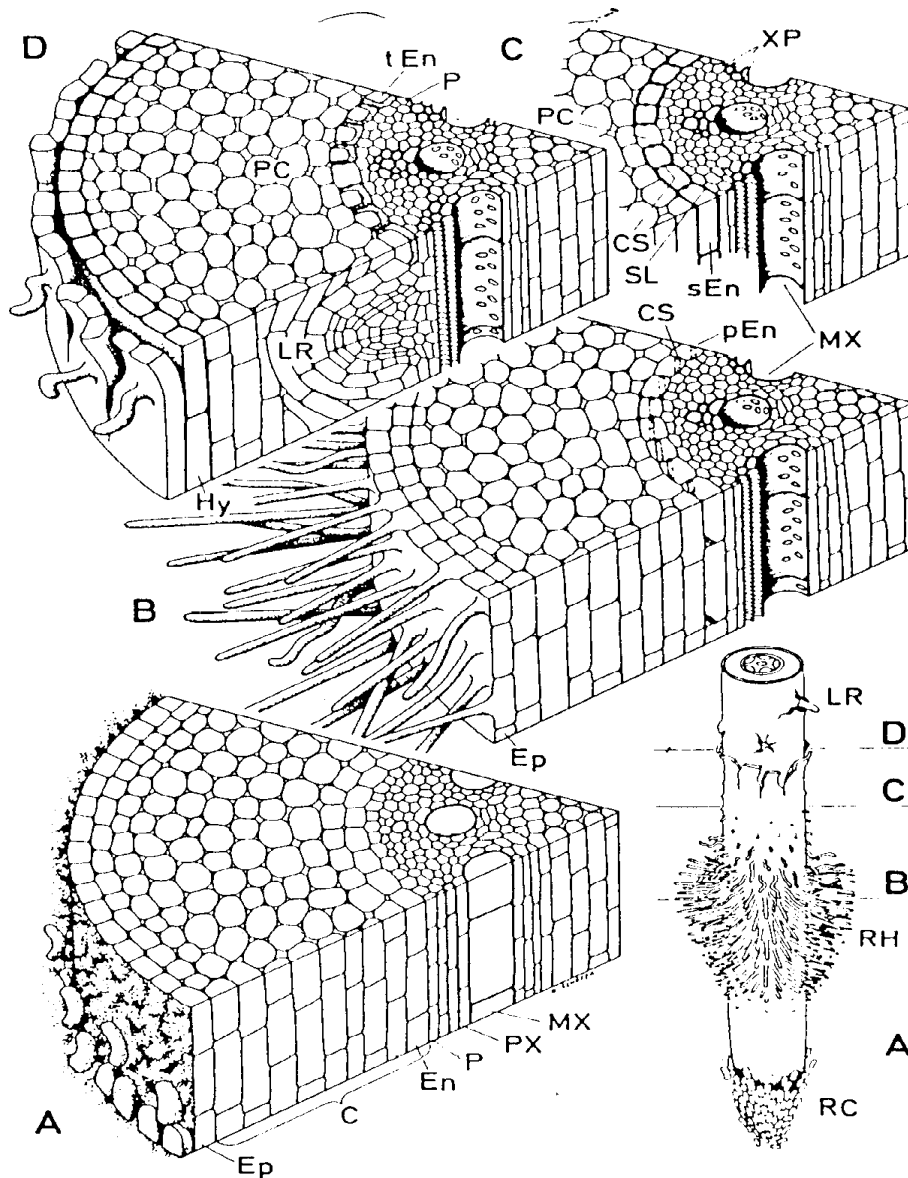


Obr. 1-10. Schéma struktury kořene (A), mikroskopický snímek vrcholem kořene s klidovým centrem a iniciálami kořenové čepičky a vlastního kořene (B), zakládání a prorůstání laterálního kořene (C, D)

Vrchol kořene roste převážně do délky (**obr. 1-10A.**). Klidové centrum (1) je skupina buněk, které se dělí velmi zřídka. Přesto se z nich odvozují všechna pletiva kořene. Soudí se, že nízká frekvence dělení snižuje nebezpečí mutací v průběhu ontogeneze a napomáhá tak genetické stabilitě. Dceřinné buňky dávají vznik buňkám apikálního meristému (A), které oddělují směrem dolů buňky kořenové čepičky (2). Ta je nejen ochranou klidového centra, ale má významnou funkci při vnímání zemské tíže (viz. další přednášky). Nad klidovým centrem se nachází zóna buněk s maximální rychlostí dělení (3). Ještě výše je zóna dlouhivého růstu buněk (B). V této zóně ustává buněčné dělení (na úrovni 4), začínají se v ní diferencovat sítkovice (5) a nad úrovní maximálního dlouhivého růstu (6)

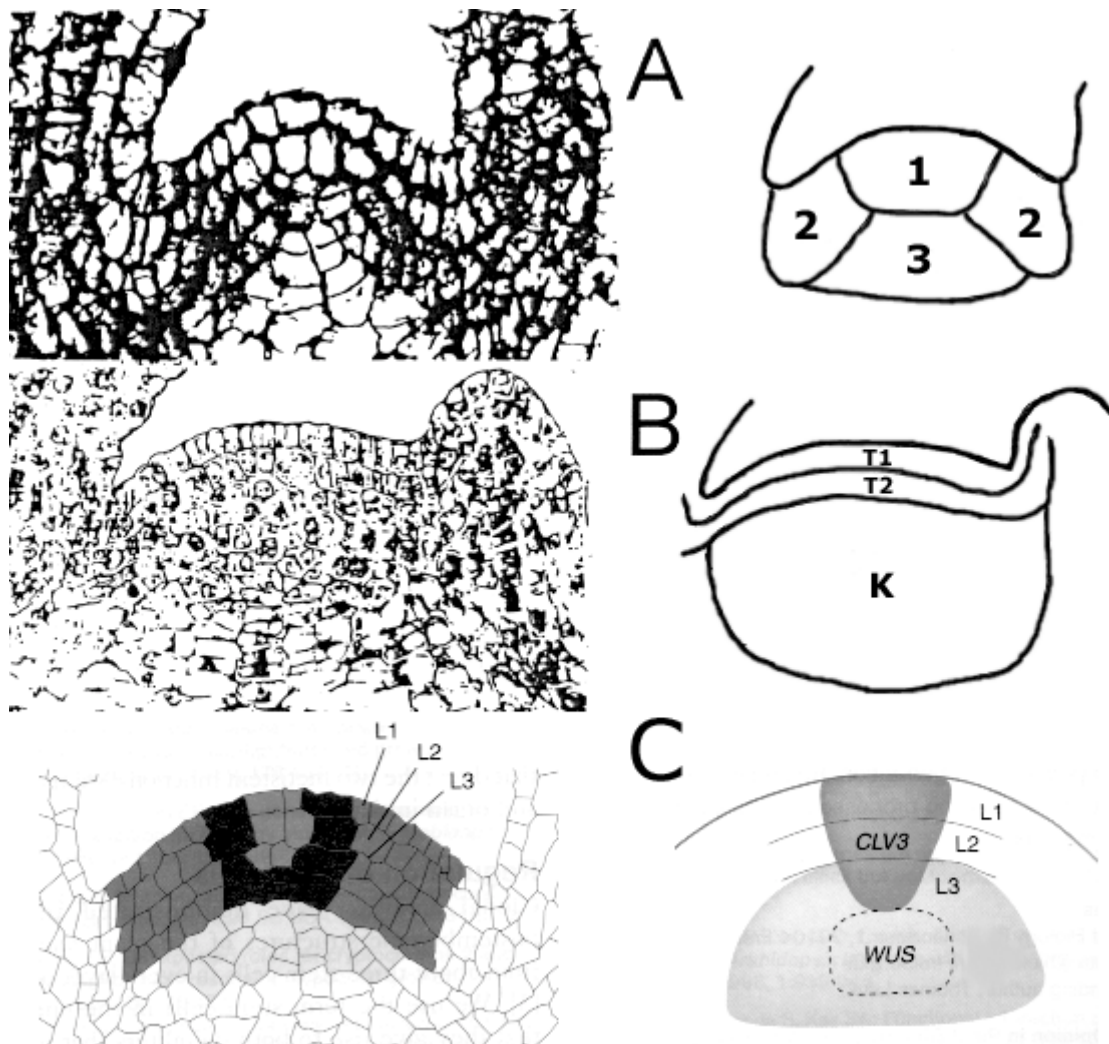
začíná diferenciaci xylému (7). Ještě výše se diferencuje endodermis (8) a z některých buněk pokožky (epidermis, 9) vyrůstá kořenové vlášení (10). Tento úsek se někdy nazývá zónou kořenového vlášení (C). Větvení kořínku začíná ve značné vzdálenosti od vlastního vrcholového meristému, z pericyklu (14) a prorůstá endodermis, kůrou (13) a pokožkou (9). Zakládání postranních kořínků je podmíněno lokální aktivací dělení v buňkách již diferencovaného pericyklu a změnami složení bílkovin ve stěnách pletiv, kterými nový kořínek prorůstá.

Další diferenciaci a vznik dospělé struktury kořene je znázorněn na **obr 1-11**.



Obr. 1-11. Schéma primárního kořene s detailním vyobrazením anatomie segmentů vyřiznutých v různé vzdálenosti od vrcholu. A: Ep - epidermis, C - kůra, En - endodermis, p - pericykl, PX - protoxylém, MX - metaxylém. B: pEn - primární endodermis, CS - Casparyho proužky. C: PC - buňka endodermis bez Casparyho proužku, sEn - sekundární endodermis, SL - suberinová lamela. D: terciární endodermis, Hy - hypodermis, LR - postranní kořínek.

Vrchol stonku produkuje postranní orgány mnohem blíže k samotnému vrcholu než kořen a činí tak s velkou pravidelností. **Organogenní funkce vrcholových meristemů stonku je podmíněna heterogenní strukturou vrcholu.** Uvedena tři kritéria rozlišení (obr. 1-12) platí pro všechny vrcholy Angiosperm.



Obr. 1-12. Vlevo mikrofotografie podélných řezů vrcholu stonku *Chenopodium rubrum* (A), *Brassica campestris* (B) a *Arabidopsis thaliana* (C). Vpravo popis heterogenní anatomické struktury vrcholu podle zonace (nahore), podle rozdělení na tuniku a korpus (uprostřed) nebo podle vrstev se samostatnými iniciálami a také podle lokalizované genové exprese specifické pro vrchol stonku (dole). Schematizované kresby vpravo znázorňují rozložení zón na vrcholu: 1 - centrální, 2 - periferní (prstencově objímá vrchol), 3 - zóna dřevňového meristému; T1, T2 - první a druhá vrstva tuniky, K – korpus; L1,L2,L3 – vrstvy s iniciálami, CLV3, WUS – oblasti exprese genů *CLAVATA 3* a *WUSCHEL*

A. Podle rychlosti dělení buněk a cytologických charakteristik můžeme ve vrcholu rozlišit zóny. Na horním konci vrcholu se uprostřed nachází **centrální zóna** (obr. 1-12, zóna 1) s velmi pomalým buněčným dělením. Přesto je zdrojem pro ostatní zóny (obdoba klidového centra kořene). Několik buněk uprostřed centrální zóny má funkci kmenových buněk, neboli iniciál, ostatní jsou jejich dceřinnými buňkami. **Periferní zóna** (2) s rychlejším buněčným dělením je místem zakládání listů a pupenů. **Zóna dřevňového meristému** (3) zajišťuje růst stonku. Zóny se liší mezi sebou cytologicky. Rychlejší dělení buněk se pozná podle jejich menší velikosti, hustší a méně vakuolizované cytoplasmu a podle častějších mitóz. Organogenní funkce zón se odráží ve způsobu, jakým jsou buňky

uspořádány a jaký směr dělení převládá. Zóna dřevného meristému přechází v **subapikální** oblast, kde přestává buněčné dělení a je výrazný dlouhivý růst buněk.

B. Podle směru dělení buněk rozlišujeme **tuniku (T)** a **korpus (K, obr.1-12B)**. Tunika na rozdíl od korpusu se dělí poněkud **antiklinálně** (nové buněčné stěny směřují kolmo k povrchu). Tak roste povrch vrcholu. V korpusu dělení probíhá různými směry. Při růstu vrcholu vznikají tahy a tlaky díky stmelení buněk společnými stěnami. Zvláště v tunice je značná asymetrie působení mechanických sil, poněvadž tlak působí převážně zevnitř, a na povrchu převládá tah. Nestejnoměrné rozložení mechanických sil se spolupodílí na regulaci růstu a organogeneze tím, že ovlivňuje uspořádání mikrofibril celulózy.

C. Antiklinální dělení vrstev tuniky má za následek, že jednotlivé vrstvy jsou samostatnými buněčnými klony a každá vrstva má v centrální zóně své vlastní kmenové mateřské buňky- iniciály. Vrstvy se označují se jako **L1, L2, L3** (Layer – *angl.* vrstva - **obr.1-12C**). Z povrchové vrstvy L1 pochází epidermis, z L2 - převážná část pletiv laterálních orgánů, z L3 – vnitřní pletiva stonku (kůra, vodivá pletiva a dřev).

Stonkové vrcholy jsou stálým zdrojem buněk pro opakovanou organogenezi. Správná funkce vrcholového meristému vyžaduje jak zachování omezeného počtu iniciál, tak schopnost jejich dceřinných buněk dělit se a přispívat k patřičné organogenezi. Koordinace obou funkcí je umožněna interakcí genů exprimovaných ve vrcholu. U *Arabidopsis thaliana* skupina genů *CLAVATA (CL1, CL2, CL3)* omezuje vznik nadměrného počtu kmenových buněk a řídí jejich přechod do organogenních zón, kdežto gen *WUSCHEL (WUS)* udržuje pluripotenci kmenových buněk. Přitom je gen *WUS* negativně regulován proteinem *CLAVATA*. Mutace v těchto genech mají za následek různé projevy dezorganizace růstu. Kromě regulační smyčky *CLV* a *WUS* je pro vývoj stonkového vrcholu důležitý také gen *SHOOTMERISTEMLESS (STM)*. Je-li nefunkční, zcela chybí vrcholový meristéum a je znemožněna postembryonální organogeneze. Gen *LEAFY (LFY)* se uplatňuje při přechodu ke kvetení, kdy zaniká funkce centrální zóny.

Buňky vrcholu jsou propojeny četnými plasmodesmaty, které umožňují symplastický transport nutný pro zásobení dělivého pletiva. Vrstvy L1, L2 a L3 jsou tvořeny samostatnými buněčnými klony, ale nejsou fyziologicky oddělené. Jsou propojeny plasmodesmaty a probíhá mezi nimi transport informační RNA a proteinů, důležitých pro koordinovanou funkci vrcholu. Nicméně jejich přítomnost i propustnost není stejná a vytváří tak symplastické kompartmenty v rámci vrcholu. Např. buňky tuniky ležící v centrální zóně jsou poněkud izolovány od buněk téže vrstvy tuniky, které patří již do periferní zóny. Selektivita plasmodesmatické propustnosti je nejlépe demonstrována tím, že vrcholy jsou nedostupné pro viry, zatímco pro vlastní regulační makromolekuly ano. Symplastické členění, podobně jako zonace je dynamické a posouvá se při zakládání každého nového orgánu.

Zakládání listů na vrcholu má velmi přísnou organizaci. Listy se zakládají v tunice periferní zóny, v pravidelných uhlových vzdálenostech (**obr. 1-13 a 1-14**). Pravidelné umístění každého nového listového základu (primordia) ve stejné úhlové vzdálenosti od předchozího listu se nazývá **fylofaxe**. Ve snaze vysvětlit mechanismus této pravidelnosti byly vysloveny různé teorie.

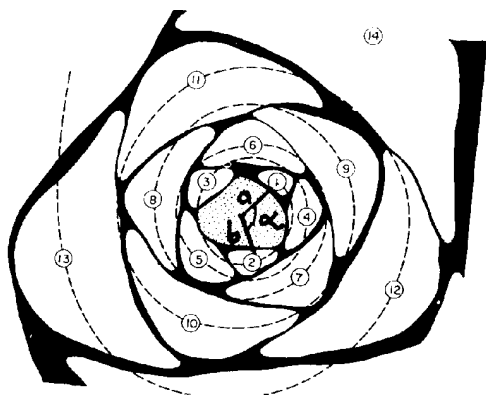
Jedna z nich předpokládá gradienty inhibičních látek difundujících z vrcholu a z rostoucích listových primordií a zamezujících tvorbu nového listu až do místa dostatečného zředění těchto látek. Prvním kandidátem na takovou látku s morfogenními účinky je fytohormon auxin.

Druhá teorie poukazuje na existenci směrovaných mechanických sil v rostoucím vrcholu, proměnlivých v průběhu tvorby orgánů a vytvářejících podmínky

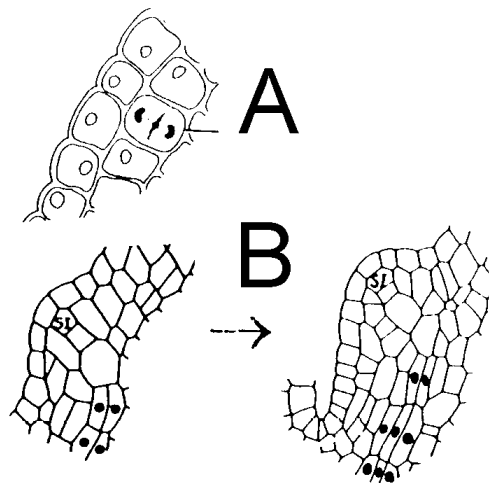
v cytoskeletu a v buněčné stěně pro další směrovaný růst, pro vznik „hrbolů“, tj. nových primordií - což se pravidelně opakuje po dosažení stejných mechanických podmínek na vrcholu. Mechanismem fylotaxe je tlak a tah, který v tunice při růstu vzniká a ovlivňuje uspořádání cytoskeletu a celulózy. Plošný růst tuniky je následek její antiklinálního dělení a právě tunika hraje důležitou roli v listové organogenezi. Mechanické vlastnosti stěny zakládajícího se listu podmiňují tak vznik následného listového základu v určité vzdálenosti od předchozího.

Další pohled na fylotaxi poskytuje studium genů, které regulují zakládání a růst listů. Například gen *KNOTTED1* (*KN 1*) se vypne v buňkách, které patří nebo budou patřit listovým primordiím. Jeho exprese je negativně regulována produktem jiného genu *ROUGH SHEATH 2* (*RS2*). Podobnou lokalizaci exprese mimo listová primordia jeví také gen *STM*. Naproti tomu transkripce genu pro stěnovou bílkovinu expansin je zvýšena tam, kde se bude zakládat nový list. Podobnou lokalizaci mají také některé geny kódující enzymy cukerného metabolismu.

Všechny tyto přístupy ke studiu fylotaxe mají oporu v experimentálních důkazech, dosud však chybí celkové vysvětlení. Geometrická pravidelnost zakládání a uspořádání listů na stonku, fylotaxe, nabízí řadu možností matematických popisů. Některým parametrům takových popisů lze přisoudit fyziologický význam. Mezi ně patří úhel divergence (divergence angle), tj. úhel, který svírají spojnice středů dvou následně založených listových primordií (základů listů) se středem vrcholu. Je to také plastochronový poměr (plastochron ratio), tj. poměr vzdálenosti středů dvou následných listů od středu vrcholu. Fyziologický smysl má rovněž index fylotaxe (phyllotaxis index) vyjadřující ontogenetickou proměnlivost fylotaxe a podíl obvodu periferní zóny, kterou nové listové primordium zaujímá (obr. 1-13).



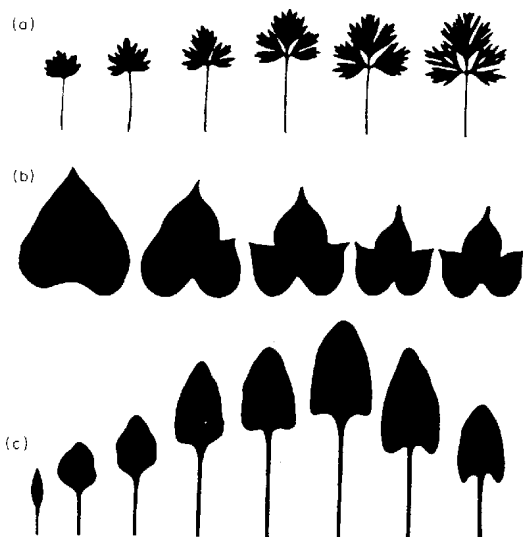
Obr. 1-13. Průřez vrcholem lomikamene s listovými základy (primordi) a rostoucími listy v tom pořadí, v jakém se na vrcholu založily; α – úhel divergence, a,b - vzdálenosti dvou následných primordií od středu.



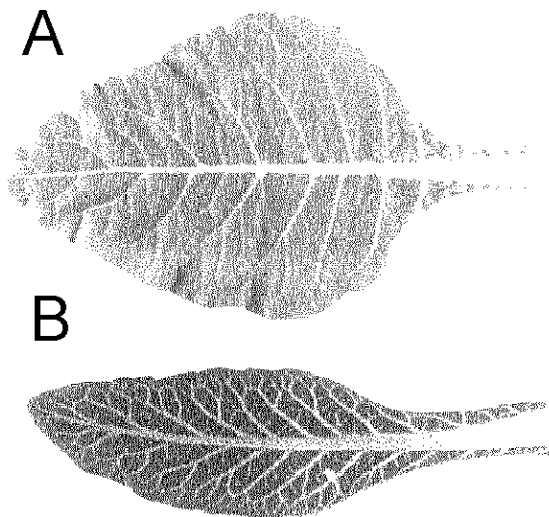
Obr. 1-14. A: Periklinální dělení v druhé vrstvě tuniky jako počátek zakládání listu. B: První fáze růstu listového primordia (buňky, z nichž se diferencuje prokambium, jsou označeny tečkami).

Listy se zakládají v tunice periferní zóny. Celý děj začíná změnou směru dělení jedné nebo několika málo buněk (obr. 1-14A). Plošný růst povrchových vrstev na vrcholu je v tomto místě vystřídán **periklinálním** dělením (nové buněčné stěny jsou rovnoběžné s povrchem) a vyboulením budoucího listového základu (obr. 1-14 B). Jeho vzdálenost od

vrcholu a obvodové vzdálenosti středů dvou po sobě následujících listů jsou ve vegetativní fázi stálé a jsou charakteristické pro druh. Doba mezi založením dvou po sobě následujících listů, zvaná **plastochron**, je naopak proměnlivá v závislosti na podmínkách růstu a zejména závisí na teplotě. Plastochron je tedy jednotkou biologického času odpočítávaného zakládáním listů na vrcholu. Obvykle jeden plastochron trvá jeden až několik dní.



Obr. 1-15. Zleva doprava ontogenetické změny a tvaru listů u tří různých druhů.



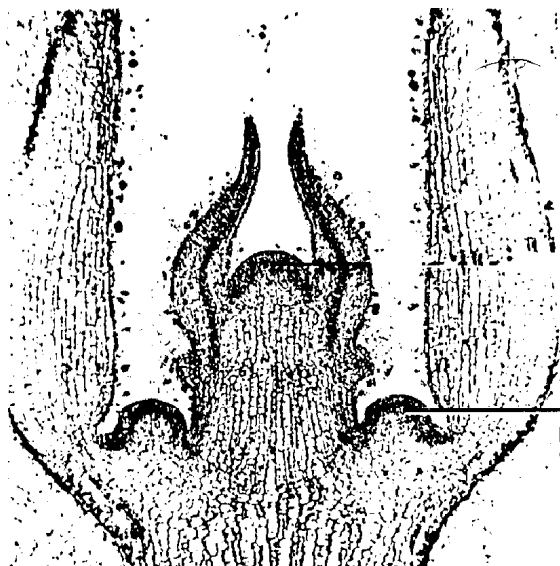
Obr. 1-16. List mutantu tabáku (B) ve srovnání s normálním listem (A). Mutace postihla průběh buněčného cyklu, nenarušila však diferenciaci buněk (srovnej stejně vyvinutou žilnatinu).

Od samého začátku je zakládání listu provázeno diferenciací **prokambia**, které spojuje nový list s rostoucím stonkem a je prvním krokem diferenciaci systému vodivých drah v listu (**obr. 1-14 B**).

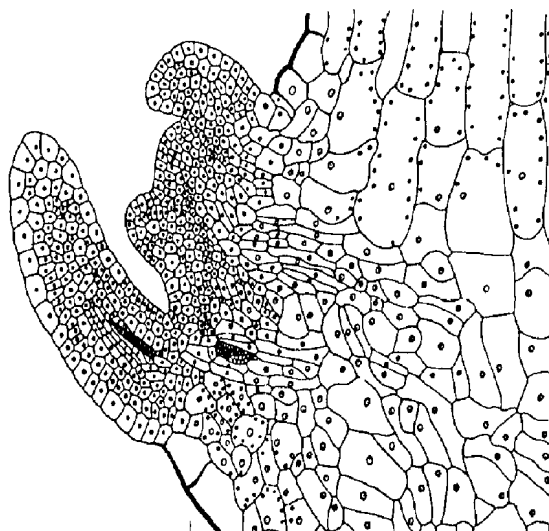
Listy mají ukončený, determinovaný, růst. Zatímco způsob zakládání a počátečního růstu primordií je velmi stálý, konečná morfologie listu závisí na lokálních gradientech rychlostí dělení buněk a je snadno ovlivnitelná vývojem a vnějšími podmínkami. Změny tvaru listů podél stonku prozrazují, že v průběhu ontogeneze se program růstu listů mění (**obr. 1-15**). Odchyly od normálního průběhu růstu lze zachytit i u mutantů se změnou tvaru listů (**obr. 1-16**).

Zakládání pupenů se děje také v periferní zóně, většinou o jednu vrstvu buněk hlouběji než zakládání listů. Pupy se objevují v úžlabí listových primordií se zpožděním jednoho až několika plastochronů. Založený pupen je tedy oddělen od vlastního meristému již částečně diferencovaným pletivem (**obr. 1-17**). Zpoždění závisí na genotypu a na ontogenezi rostliny. Před nástupem reprodukční fáze se zpoždění zmenšuje a pupeny se stávají součástí vlastního vrcholu. Buňky pupenového primordia mohou se odlišovat od ostatních buněk meristému. Například u *Chenopodium rubrum* se vyznačují naprostou absencí škrobu.

Většina rostlin (možná všechny) vytváří pupenové základy v úžlabí všech listů. Dokonce i zdánlivě „prázdná“ úžlabí jeví stopy redukováných pupenů. Díky axilárním meristemům mají rostliny velkou regenerační kapacitu. Kromě toho při poranění, řízkování apod. se mohou tvořit **adventivní pupeny** (**obr. 1-18**). I v tomto případě je bývalé úžlabí listu zvláště predisponováno pro vznik pupenu.



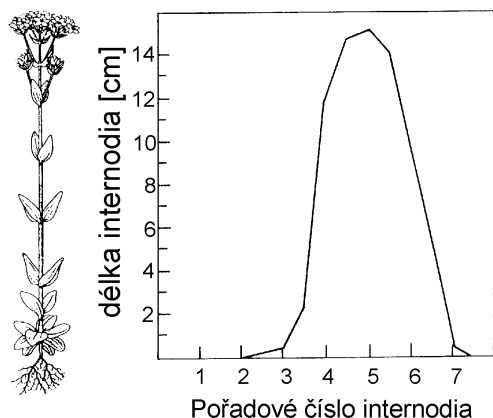
Obr. 1-17. Zakládání a počáteční růst úžlabních pupenů



Obr.1-18. Vznik adventivních pupenů po poranění

Růst založeného pupenu trvá různě dlouho. Někdy pupen nepřesahuje mikroskopické rozměry. Takové pupeny se mohou aktivovat, když dojde k poškození rostoucího vrcholu rostliny. Většinou v pupenech ještě pokračuje buněčné dělení a zakládají se v nich listy i další úžlabní pupeny, případně reprodukční orgány. Takové pupeny již vidíme pouhým okem. Když ještě následuje dlouhivý růst internodií a růst listů, pupeny vyrůstají ve větve s dospělými listy a úžlabními pupeny. Takový růst pupenů je často vázán jen na určitou vývojovou fázi, např. odnožování, kvetení nebo jarní rašení víceletých rostlin.

Spícími pupeny nazýváme takové pupeny, v nichž ustal růst a organogeneze a které se mohou znovu aktivovat, když pro to nastanou vhodné podmínky (sezónní nebo ontogenetické). Jak bylo řečeno již dříve, důležitou roli v růstu pupenů hraje hormonální regulace. Auxin brání růstu pupenů (hlavně dokud nedosáhnou určité velikosti), cytokinin podporuje růst pupenů (hlavně nad jeho zdrojem). Vymanění z apikální dominance je doprovázeno specifickou genovou expresí, která je lokalizována nejen do těchto pupenů, ale i do vodivých pletiv, která vznikají jako jejich spojení se stonkem. Souvislost růstu pupenů s diferenciací vodivých pletiv byla mnohokrát prokázána.



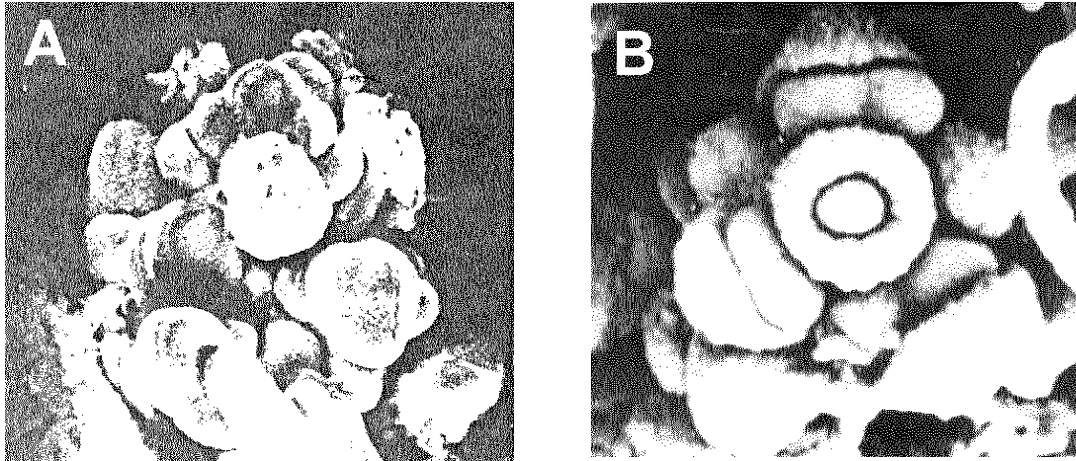
Internodia vznikají na vrcholu tak, že se listy postupně zakládají v určitých vertikálních vzdálenostech od sebe. Rostou dělením a prodlužováním buněk. Největší podíl na počátečním růstu internodií má dělení a prodlužování buněk v subapikální části, tj. pod vrcholovým meristémem.

Obr. 1-19. Proměnlivost konečné délky internodií podél rostliny

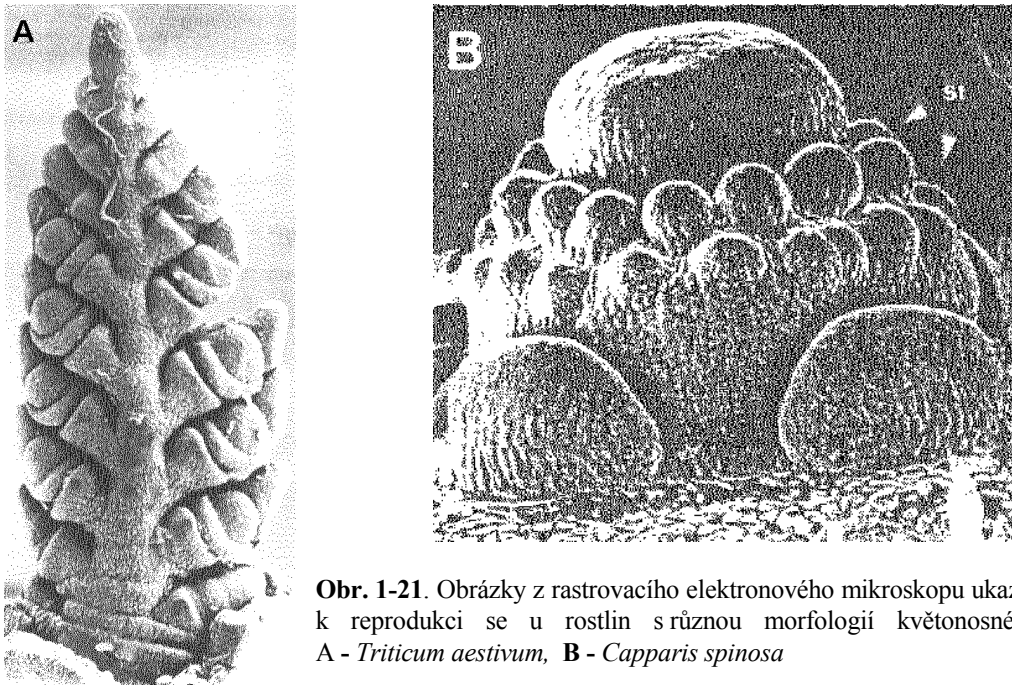
Průběh růstu internodií závisí na podmínkách prostředí, ale především podléhá ontogenetickým změnám rostliny (obr. 1-19.). Častý je výskyt krátkých internodií a při-

zemní růžice listů ve vegetativní fázi a pozdější prodlužování internodií před tvorbou květenství. Vlastní květ pak představuje sérii velmi zkrácených internodií s listy přeměněnými v květní orgány.

Při přechodu do reprodukční fáze nastávají změny ve vrcholech stonku. Zrychluje se buněčné dělení. Největší zrychlení, až několikanásobné, nastává v centrální zóně. Zrychluje se také zakládání listů a zvláště zakládání pupenů. Zakládání květenství znamená větvení vrcholu. Mění se také růst internodií. Po založení květních kruhů naposled pestíků, končí organogenní funkce vrcholu (**obr. 1-20 a obr. 1-21**). Více v kapitolách 12. a 13.



Obr. 1-20. Zakládání květenství (A) a květu (B) u *Chenopodium rubrum*.



Obr. 1-21. Obrázky z rastrovacího elektronového mikroskopu ukazují přechod k reprodukci se u rostlin s různou morfologií květonosného stonku. A - *Triticum aestivum*, B - *Capparis spinosa*

1.4. REGENERAČNÍ SCHOPNOSTI ROSTLIN

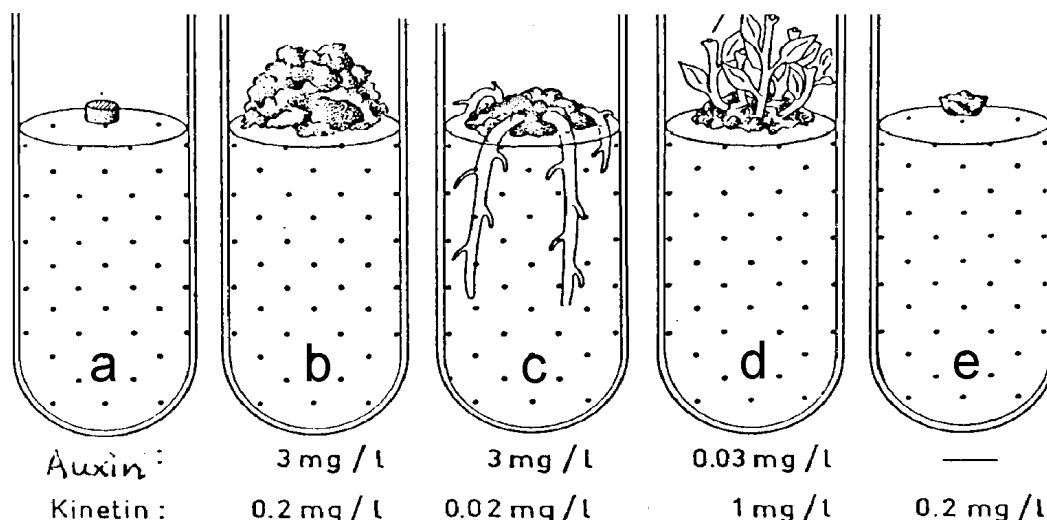
Reakce rostlin na drastické porušení celistvosti se využívají v biotechnologiích. Používá se soubor technik kultivace orgánů, tkání a buněk, ze kterých posléze mají regenerovat celé rostliny.

Jedním ze způsobů množení rostlin je zakořeňování řízků, kterým lze získat velké množství genotypově totožného potomstva z jedné rostliny. Takové množení materiálu patří k tradičním metodám zahradnictví. Tvorbu **adventivních kořenů** na řízcích podporuje aplikace roztoku auxinů. Mezi faktory, které ovlivňují zakořeňování patří také místo odběru z mateřské rostliny.

Podobně lze regenerovat celé rostliny ze stonkových řízků s pupenem nebo jen z izolovaných pupenů. Izolace samotných meristémů bez okolních listů již vyžaduje dodání chybějících živin a fytohormonů a složitější aseptické postupy. Meristémová metoda množení se používá pro ozdravení materiálu. Využívá toho, že vstup patogenů do vrcholových meristémů je u rostlin ztížen.

Celou rostlinu lze regenerovat teoreticky z kterékoli části rostliny, z kteréhokoliv pletiva či buňky. Tato schopnost rostlin se nazývá **totipotence rostlin**. Pro každý genotyp a také pro různá výchozí pletiva je třeba vyzkoušet postupy regenerace, tj. složení živné půdy, teplotu a osvětlení a upřesnit dávkování fytohormonů, především auxinů a cytokininů.

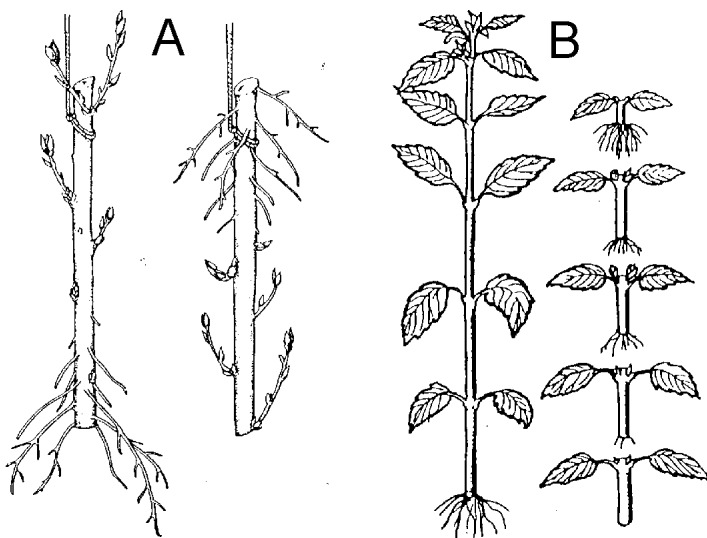
Nezbytným stupněm regenerace je vytvoření organizovaných vrcholů. Z chování izolovaných částí rostlin, asepticky kultivovaných "in vitro", se můžeme více dozvědět o vzájemném působení orgánů, o tom, co po izolaci chybí a co je třeba dodat pro zdárný průběh organogeneze ve zkoumaném pletivu. Dovídáme se např. o hormonální regulaci vztahů mezi kořeny a nadzemní částí rostliny, o nezbytnosti přísunu auxinu ze stonku pro růst kořenů a přísunu cytokininů z kořenů do nadzemní části. Můžeme studovat mechanismy rozhodování mezi alternativními cestami morfogeneze a poznávat mechanismy diference na buněčné a tkáňové úrovni (**obr. 1-22**).



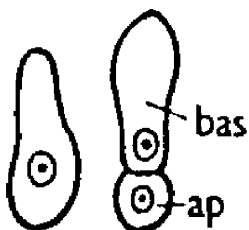
Obr. 1-22. Izolované kultury tabáku. **a** - kousek izolovaného stonku tabáku přeneseného asepticky do zkumavky na živnou půdu; **b** - Je-li v půdě hodně auxinu a málo cytokininu, roste hodně kalus; **c** - Při nízké koncentraci cytokininu a vysoké koncentraci auxinu rostou hlavně kořeny; **d** - Při nízké koncentraci auxinu a vysoké koncentraci cytokininů tvoří se větší počet olistěných výhonů, kořeny chybí; **e** - Bez cytokininu se růst zastavuje

1.5. POLARITA JAKO DŮLEŽITÁ VLASTNOST BUNĚK, ORGÁNŮ A CELÝCH ROSTLIN

U suchozemských rostlin se polarita uplatňuje při uchycení rostlin v zemi a při správném uspořádání a koordinaci růstu všech její částí. Existenci horního a dolního pólu v rostlině (**fyziologického vrcholu a fyziologické báze**) dokazuje chování řízků (**obr. 1-23**). Totéž místo na rostlině může být při odběru řízků "nahore" nebo "dole" podle vzájemné polohy obou řezů (**obr. 1-23B**).



Obr. 1-23. A - Pupeny raší poblíž horního konce řízků, adventivní kořeny se zakládají na dolním konci. Polarita je zachována **bez ohledu na zemskou tíži** (vrba). B - Rozřežeme-li rostlinu na řízky s jediným párem listů a pupenů, získáme několikanásobné opakování bazálního konce s adventivními kořeny, **bez ohledu na původní umístění v rostlině**. Na řízcích z různých částí rostliny množství vytvořených kořenů a také růst pupenů se často výrazně liší, mluvíme o gradientech růstu podél rostliny. Také gradienty jsou projevem polarity celé rostliny (krtičník).

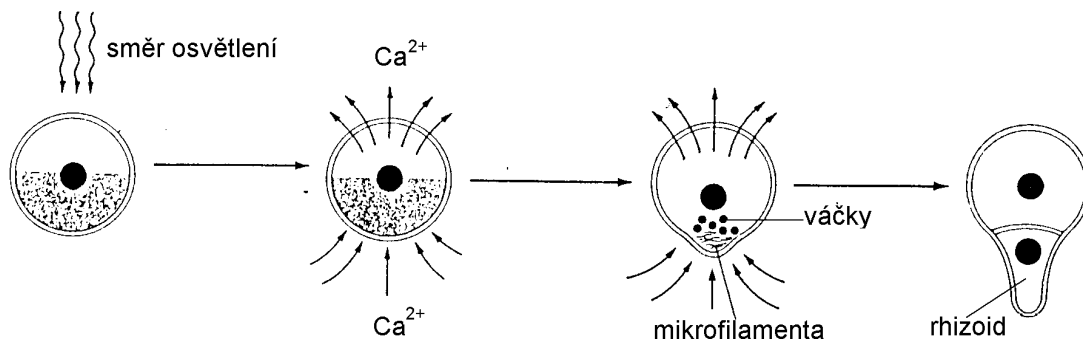


Obr. 1-24. Polarita semenných rostlin vzniká v průběhu embryogeneze. Již při prvním dělení oplozeného vajíčka vidíme bazální (bas) a apikální (ap) konec embrya. Je předurčena polohou a polárním uspořádáním vajíčka v semeníku. Polarita je zachována při dalším vývoji embrya a při utváření kořenového a stonkového vrcholu embrya v semeni. Tímto způsobem se **polarita dědí**.

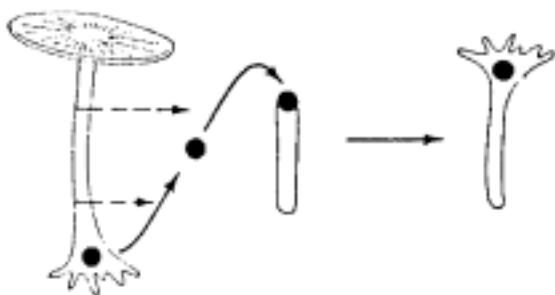
Mechanismus vzniku polarity se dá nejpohodlněji studovat u volných buněk, např. u zygoty hnědé řasy *Fucus* (**obr. 1-25**). Polarita vzniká ve volně plovoucí buňce zygoty teprve poté, co je vystavena směrovanému signálu. Signálem může být dotek dna nebo světlo, které proniká s hladiny. Růst rhizoidů (směrem k místu mechanického tlaku nebo směrem odvráceným od dopadajícího světla) je výsledkem zpracování vnějšího signálu a dává vznik polaritě, která pak trvá po celý život jedince.

Začátkem vzniku polarity buněk je vyvolání polární sekrece. Směřovaný signál z okolí buňky ovlivní membránové kanály citlivé na určité dráždění. Změny v transportu iontů ovlivňují elektrochemickou polaritu membrán, která dále podporuje směrovaný transport iontů, především K^+ , Cl^- a Ca^{2+} . Další změny představují směrovaný transport vesikulů a jsou již viditelné na úrovni cytologických struktur. Pokračují asymetrickým dělením na dvě nestejně buňky. Pro vznik polarity je nezbytná správná funkce cytoskeletu a Golgi, jakožto orgánů vnitrobuněčné sekrece.

Polarita může být také navozena asymetrickou polohou jádra. Názorně to ukazují výsledky mikrochirurgie jednobuněčné řasy *Acetabularia* (**obr. 1-26**).

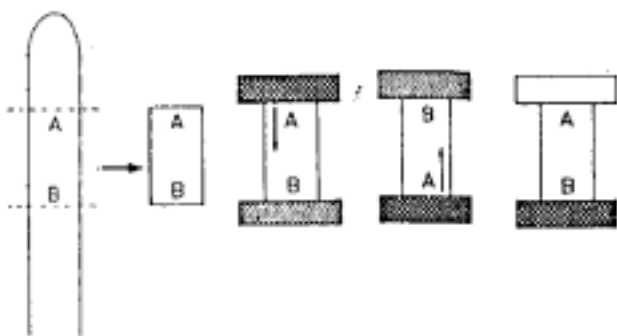


Obr. 1-25. Působení vnějšího signálu, např. světla, vyvolává u oplozeného vajíčka řasy *Fucus* růst rhizoidu na zastíněné straně. Osvětlení z jedné strany (a) vyvolává nejdříve asymetrické změny v cytoplasmatické membráně. O počínající polarizaci buňky vypovídá tok iontů, především Ca^{2+} a elektrický proud (b). Přítomnost iontů vápníku má význam při aktivaci proteosyntézy. Do určité doby se polarita může měnit, jestliže se změní poloha buňky vůči směru signálu. Později se objevují první známky asymetrie v cytologii buňky: na rhizoidálním konci se hromadí vesikuly, obsahující enzymy a jiné látky pro růst stěny a rovněž mikrofilamenty (c). Po těchto strukturálních změnách je polarita již neměnná (předtím se může měnit, jestliže buňka změní polohu vzhledem ke směru signálu). První dělení zygoty znamená diferenciaci rhizoidu (d).



Obr. 1-26. Jádru řasy *Acetabularia* je umístěno v rhizoidálním konci buňky; na apikálním konci stopky je klobouček. Jestliže se vyoperované jádro implantuje do horního konce vyříznuté stopky, regeneruje rhizoid místo kloboučku, tj. rhizoid regeneruje tam, kde je jádro.

U vyšších rostlin je polarita buněk koordinována celistvou rostlinou. Důležitým faktorem se stává **polární transport auxinu, který probíhá od fyziologického vrcholu rostliny směrem do kořenů**, tedy ve stonku bazipetálně, v kořeni akropetálně, tj. ke kořenovým vrcholům (Obr. 1-27).



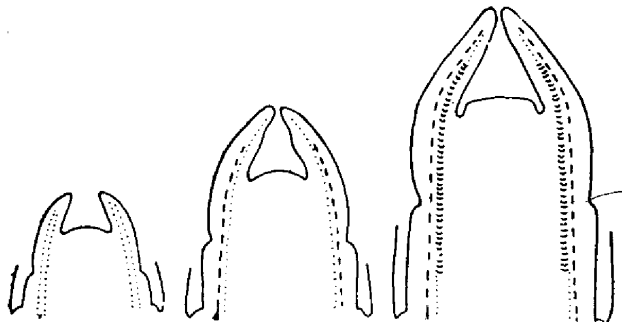
Obr. 1-27. Na segmenty koleoptile s fyziologickým vrcholem (A) a fyziologickou bází (B) jsou umístěny agarové bločky s radioaktivním auxinem. Pohyb auxinu do agarové bločky umístěného na opačném konci je možné naměřit jen tehdy, když je zdroj auxinu "nahore", bez ohledu na polohu segmentu vzhledem k zemské tíži.

Transport auxinu probíhá v podélných řadách buněk parenchymatického pletiva. Na spodní straně těchto buněk jsou totiž v plazmatické membráně soustředěny bílkovinné komplexy, které fungují jako přenašeči auxinu ven z buňky (*angl.* efflux carriers). Díky tomuto asymetrickému rozložení přenašečů auxinu z buňky ven, probíhá výtok auxinu směrem dolů.

Při dělení buněk se přenašeči auxinu z buňky znovu objeví na spodních koncích obou dceřinných buněk. Při zakládání laterálních orgánů, např. kořínků, přesouvá se umístění přenašečů ve vznikajících základech o 90 stupňů, na nový fyziologický konec buňky, takže základní směr toku auxinu od fyziologického vrcholu k fyziologické bázi

je zachován. Takové „přesuny“ umožňují neustálý (zřejmě dosti rychlý) pohyb bílkovin přenašečů mezi vnitrobuněčnými kompartmenty a plazmatickou membránou.

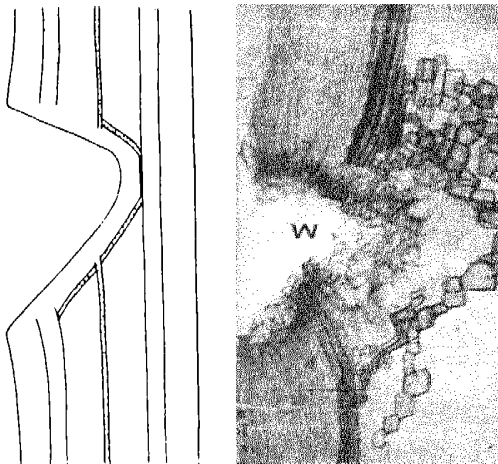
Polární transport auxinu určuje nejen samotnou polaritu rostliny a vztah mezi kořeny a nadzemní částí rostliny, ale také mnoho růstových procesů. Je základem tropizmů (ohybů rostlin). Je významným mechanismem apikální dominance (dominantní je ta ze dvou větví, která transportuje více auxinu). Narušení transportu auxinu má za následek dezorganizaci fylotaxe: buď se primordia zakládají v celé periferní zóně kolem dokola, bez dodržování úhlu, nebo se nezakládají vůbec a vrchol roste jen do výšky. Polarita embryí je rovněž podmíněna přítomností a transportem auxinu. Polární transport auxinu z apikálního zdroje určuje také **směr diferenciacce vodivých pletiv** při tvorbě nových fytoemerů (**obr. 1-28**).



Obr. 1-28. Diferenciace prokambia (tečky), floému (svislé čárky) a xylému (vodorovné čárky) v průběhu růstu stonku.

Diferenciace xylému a floému je závislá na zdroji auxinu. U intaktních rostlin jsou zdrojem rostoucí části prýtu, především pupeny. Význam polárního toku auxinu při diferenciaci vodivých pletiv je patrný po poranění stonku a při manipulaci se zdroji auxinu, ať již přirozenými nebo syntetickými (**obr. 1-29**).

Diferenciace vodivých pletiv a jejich transportní funkce při pohybu látek na velké vzdálenosti má význam pro udržení polarity celých rostlin.



Obr. 1-29. Regenerace xylému přerušenoého zářezem sleduje nejkratší možný směr dolů od zdroje auxinu.