

## 13. ONTOGENEZE III.: REPRODUKCE

### 13.1. VÝVOJ KVĚTU

Při vývoji květních orgánů nastávají ve vrcholech podstatné změny organogeneze a růstu orgánů. Listový nebo pupenový původ květních orgánů je sice patrný při zakládání a v raných fázích vývoje, ale jejich další růst a diference se odlišuje. Změně funkce odpovídají také cytologické a metabolické změny, dochází k expresi jiných genů, na příklad genů pro biosyntézu barviv v květech.

Zatímco doba ukončení vegetativní organogeneze a nástupu kvetení je ovlivnitelná vnějšími i vnitřními signály, je následující utváření květu velmi silně fixováno. Dochází k postupnému utváření čtyř květních kruhů: kalicha, koruny, tyčinek a pestíků. Jakékoliv odchylky od tohoto pořádku, způsobené nějakou mutací **genů květní identity** jsou velmi nápadné a projevují se jako vynechání nebo zdvojení či znásobení některého kruhu, nebo jako nahrazení jednoho kruhu jiným a často tvorbou různých přechodných abnormálních tvarů „květních“ orgánů (**obr 13-1**). Podle působení se dají geny květní identity dělit na třídy : A- řídí tvorbu kalichu, A-B - řídí tvorbu kalicha a koruny, B-C řídí tvorbu tyčinek, C – řídí tvorbu pestíků. Řadí se mezi tzv. **homeotické geny**, které v živočišné embryogenezi udržují časovou a prostorovou posloupnost vývoje orgánů. Homeotické geny květní morfogeneze se účastní rozhodování o postupu při vývoji květu a květních orgánů. Reguluji pořadí květních kruhů. Předpokládá se, že jejich proteinové produkty mají funkci transkripčních faktorů, aktivují nebo blokují transkripci jiných genů a tím regulují tvar a funkci květních kruhů a zajišťují jejich správnou posloupnost.



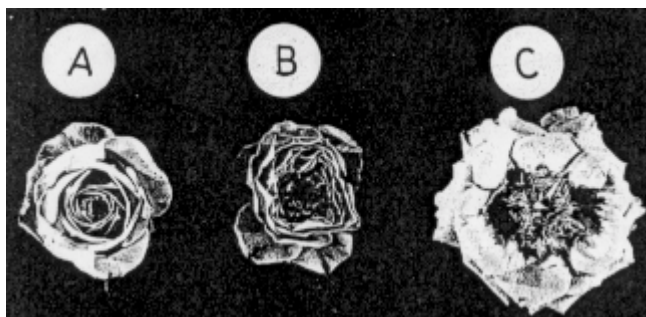
**Obr. 13-1.** *Arabidopsis thaliana* : vlevo normální květ, vpravo mutant s abortovanými korunními plátky a deformovanými tyčinkami

Polární transport auxinu je důležitým vnitřním faktorem nejen pro vegetativní, ale také pro květní organogenezi. Poruchy genů, odpovědných za mechanismus vytlačování auxinu z buňky, mají za následek vážné poruchy v utváření květu. Také exogenní působení inhibitorů transportu auxinů má za následek abnormity v symetrii květů (**obr. 13-2**).



**Obr. 13-2.** Látky, které brání transportu auxinu, působí deformace květů - příklad anomálií u zvonku. Vlevo nahoře kontrola, ostatní květy po působení trijodbenzoové kyseliny.

**Fytohormony mohou ovlivňovat funkci genů květní identity.** Např. nežádoucí přeměna korunních plátků v zelené listy u růže souvisí se zvýšením hladiny cytokininu (**obr. 13-3**) a snížením transkripce květního genu *RAG*, homologického genu *AG* (*AGAMOUS*) z *A.thaliana*. Zvýšená produkce giberelinu v tyčinkách petunie působí nejen prodlužování nitky, ale také růst korunních plátků a jejich pigmentaci.



**Obr. 13-3.** Aplikace cytokininu a všechny podmínky, které zvyšují hladinu endogenních cytokininů, narušují normální utváření květů růže(A); způsobují zelenání a nadměrné opakování květních orgánů a jejich částečný návrat k listové morfologii (B a C)

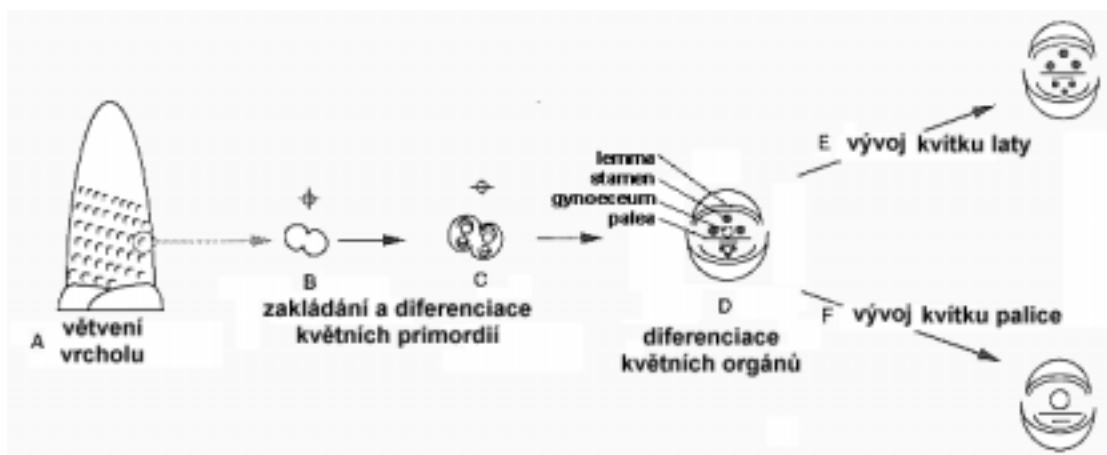
**Fytohormony hrají důležitou roli při regulaci pohlaví květů.** Na příklad u okurky auxin a etylen podporují vznik samičích květů na rostlině, kdežto giberelin podporuje květy samčí. I u špenátu je možné giberelinem zvýšit podíl samčích rostlin v populaci. Cytokinin u mnoha rostlin podporuje vývoj samičích orgánů v květech. Hladiny fytohormonů se mění v průběhu vývoje květu.

Některé projevy hormonální regulace utváření květu a jeho pohlavních orgánů mají nápadnou souvislost s hormonální regulací růstu těchto orgánů nebo dokonce celých rostlin. Tak např. samčí rostliny špenátu mají delší internodia a užší listy než rostliny samičí a postřík porostu špenátu giberelinem způsobuje nejen vytahování rostlin, ale i mírné zvýšení procenta samčích rostlin.

Vznik jednopohlavních květů znamená blokádu opačného pohlaví. Blokáda může nastat v různé fázi vývoje (**Tab. 13-1**). U konopí a špenátu nastává rozlišení pohlaví již ve vegetativní fázi. Samčí rostliny jsou vytáhlejší, méně větví a jsou o něco ranější než samičí. Květy jsou přísně jednopohlavné od samého počátku. Naproti tomu u kukuřice se ve všech květech zakládají tyčinky a pestíky a teprve později v terminálních květenstvích abortují pestíky a v úžlabních květenstvích abortují tyčinky (**obr. 13-4**). Zároveň se objevují rozdíly v růstu: úžlabní pupeny se samičími květenstvími mají velmi krátká internodia a listy obalující palice jsou modifikovány.

**Tabulka 13-1.** U různých rostlin s jednopohlavními květy nastává blokáda vývoje jednoho pohlaví

Typ blokády:	Příklad rostliny
Před zakládáním květních orgánů	<i>Cannabis sativa</i>
Při zakládání tyčinek a pestíků	<i>Zea mays</i>
Při utváření tyčinek a pestíků	<i>Silene dioica</i>
Ve sporogenezi	<i>Asparagus officinalis</i>
V gametogenezi	<i>Vitis</i> spp.
Při přípravě funkčního vajíčka nebo pylu	<i>Fragaria</i> spp.



**Obr. 13-4.** A, B, C, D - Vývoj samčího a samičího květenství kukuřice je zpočátku stejný. E - vývoj mužského květenství začíná inhibicí vývoje pestíkových základů, F - vývoj palice začíná inhibicí vývoje tyčinek.

U mnoha rostlin trvá období, ve kterém reagují na **fotoperiodickou indukci** přetrvává až do tvorby pohlavních orgánů. Přenese-li se kvetoucí *Hyoscyamus niger* z induktivního dlouhého dne na krátký, budou se nové úžlabní květy vytvářet abnormálně, místo okvěti se objeví listové útvary, internodia hlavního stonku budou stále kratší, až se vytvoří na stonku druhotná růžice listů, podobná původní přizemní růžici. V tomto případě fotoperiodický signál je nezbytný pro správnou funkci genů květní morfogeneze a nejen pro regulaci přechodu z vegetativní fáze.

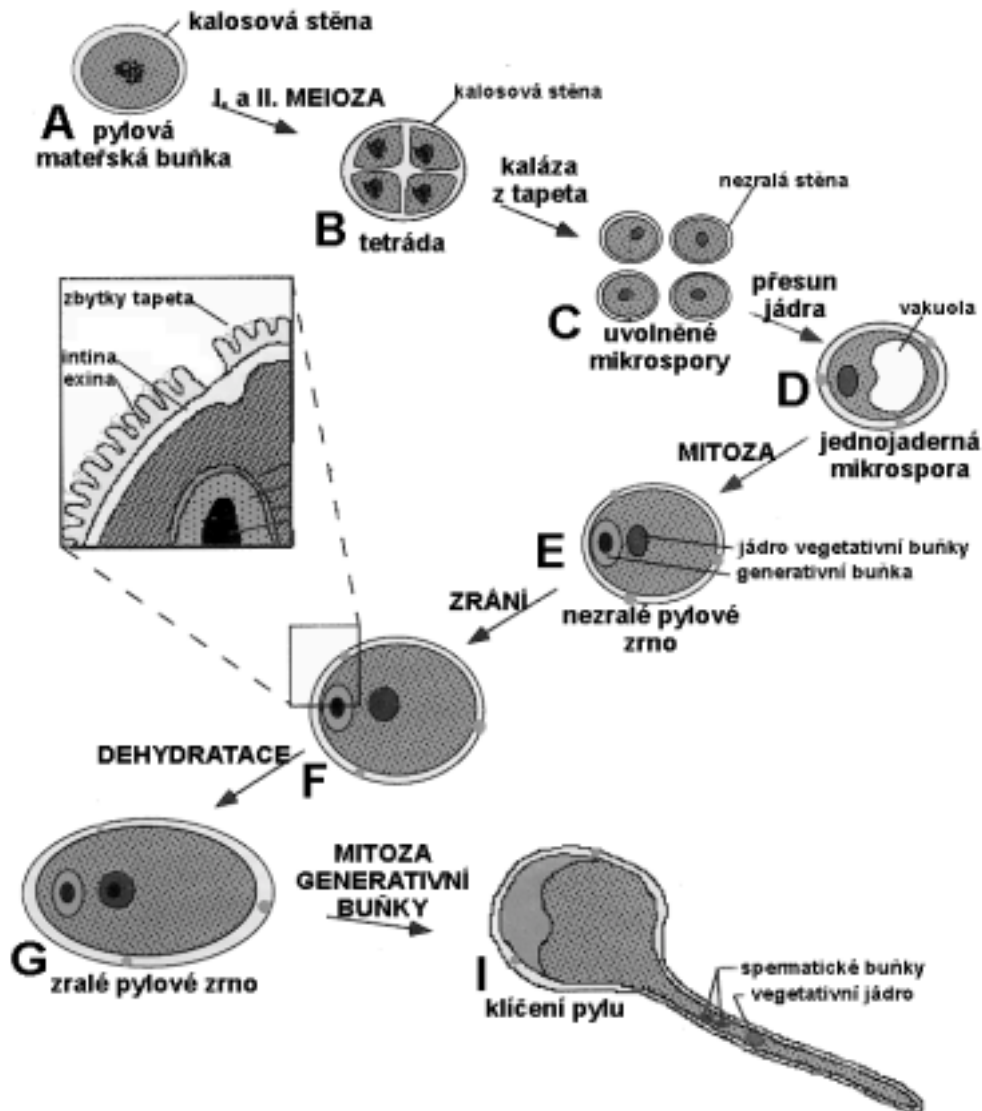
## 13.1 SAMČÍ GAMETOGENEZE

**Začíná meiotickým dělením mateřských buněk pylu.** Vzniklé tetrády jsou obaleny společnou kalosovou stěnou. Působením enzymu kalasy, kterou vylučuje tapetum, uvolní se čtyři mikrospory, které rostou a vakuolizují a dělí se ještě jednou na dvě

nestejně buňky, přitom menší buňka generativní se nachází uvnitř cytoplazmy větší buňky vegetativní. Tento útvar je **dvojbuněčný samčí gametofyt**. Během dalšího vývoje a zrání pylu je vegetativní buňka metabolicky velmi aktivní. Transkripce vrcholí před obdobím zrání pylu, účastní se jí na 20 tisíc genů. V průběhu zrání se hromadí lipidy a škrob a celý proces končí dehydratací pylu (**obr. 13-5**).

Z generativní buňky vznikají dělením dvě gamety, u některých rostlin již během zrání pylu (u trav), u jiných až při prorůstání pylové láčky čnělkou (např. u tabáku).

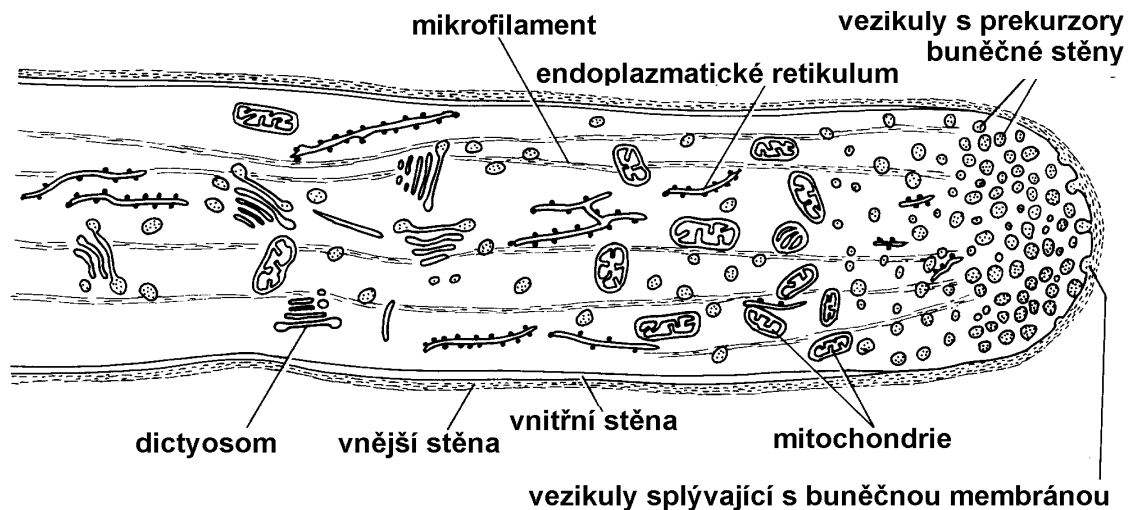
**Obr. 13-5.** Samčí gametogeneze: A - mateřská buňka pylu, B, C - tetrády, D, E - jednojaderné a dvouja-



derné nezralé pylové zrno, E, F, G - zrání pylu, I - klíčení pylu a rozdělení generativního jádra na dvě gamety.

Zralý pyl uvolněný z mateřské rostliny se přenáší větrem, hmyzem apod. na bliznu, kde prorůstá vodícím pletivem čnělky až k semeníku. Růst pylové láčky je růstem vegetativní buňky. Generativní buňka a buňky spermatické, vzniklé jejím rozdělením, jsou dopravovány do semeníku rostoucí vegetativní buňkou. Pyl lze kultivovat *in vitro* a celý proces zrání a klíčení pylu pozorovat a studovat.

**Pylová láčka přirůstá na špičce.** Používá ke svému růstu mRNA, připravené v pylovém zrně během jeho vývoje. Všechnu informaci, kterou samčí gametofyt ke svému krátkému životu potřebuje, nese s sebou ve špičce láčky. Tam probíhá proteosyntéza potřebná pro růst láčky, např. pro aparát syntézy rostoucí kalosové stěny a kalosových přehradek, které se tvoří průběžně během růstu láčky a stále znova oddělují metabolicky aktivní špičku od starších vakuolizovaných částí láčky. Přitom část mRNA zůstává ve formě zásobních riboproteinů. Ve špičce pylové láčky je velmi hustá cytoplazma s četnými mitochondriemi, dictyosomy, aktinovými vlákny (**obr. 13-6**). Tyto struktury se během růstu láčky stále obnovují. Na nejzažším konci je také živý provoz vesikulů nesoucích polysacharidy pro stavbu stěny. Kalosová vnitřní vrstva stěny pylové láčky má důležitou funkci v komunikaci mezi pylovou láčkou a pestíkem. Při prorůstání pylu čnělkou probíhají velmi aktivně také procesy ve čnělce.



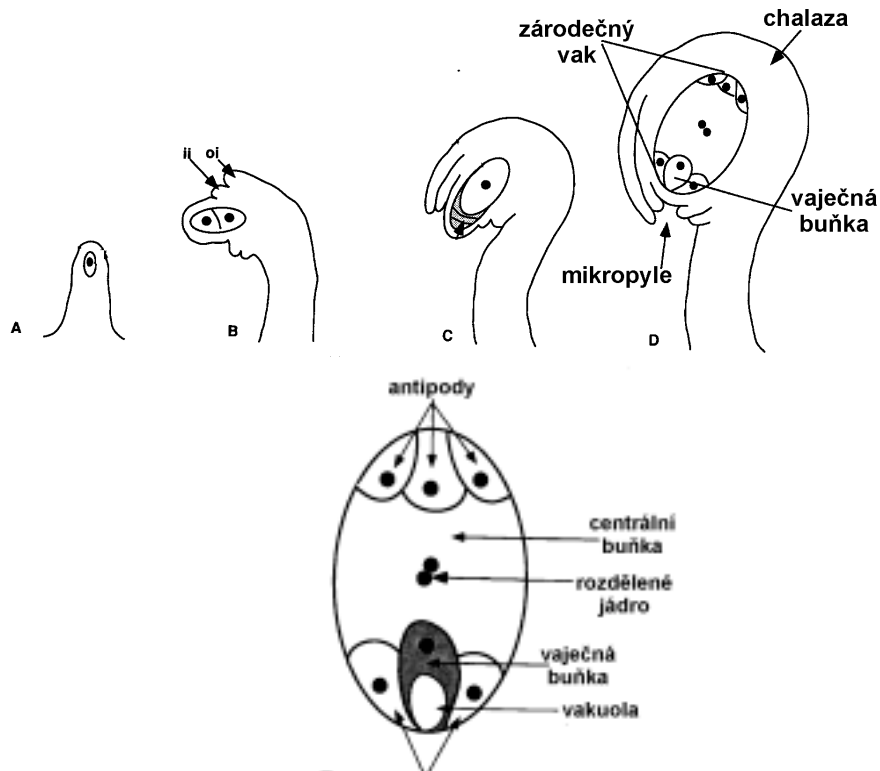
Obr. 13-6. Špička rostoucí pylové láčky.

## 13.2 SAMIČÍ GAMETOGENEZE

Na rozdíl od samčí gametogeneze, probíhá celá samičí gametogeneze v kontaktu s mateřskou rostlinou. **Začíná meiotickým dělením mateřské buňky zárodečného vaku.** Během dalšího vývoje ze čtyř buněk přežívá většinou jen jedna, dělí se ještě třikrát a vytváří **osmibuněčný zárodečný vak - samičí gametofyt.** Centrální buňka je největší, má dvě jádra, která někdy splývají již před oplozením. Má vysokou metabolickou aktivitu. Po oplození jednou ze dvou samčích gamet vytváří triploidní endosperm (**obr. 13-7**).

**Vaječná buňka** se nachází na mikropylárním konci zárodečného vaku, má přísně polární polohu vakuoly a jádra obklopeného hustou cytoplazmou. Před oplozením má malou transkripční aktivitu. Její ribozomální a cytoskeletální aparát je připraven pro pozdější růst zygoty. Při oplození se chová pasivně. **Synergidy** po stranách vaječné buňky mají aktivní roli při oplození. Jedna z nich přijímá samčí gametu.

Předáním jádra samčí gamety vaječné buňce a jeho splynutím s jádrem vajíčka vzniká zygota a začíná embryogeneze a růst diploidní generace. Polaritu budoucí rostlinky určuje již před oplozením poloha vaječné buňky, gradienty směřovaného transportu do vyvíjejícího se vajíčka a organizace cytoskeletu. Poslední pokusy s oplozením izolované vaječné buňky *in vitro* však ukazují, že zygota získává polaritu i mimo mateřskou rostlinu.



**Obr. 13-7.** Samičí gametogeneze: **A** - vajíčko, **B** - po prvním meiotickém dělení a na začátku tvorby integumentů (ii, oi), **C** - po meiozi a degeneraci tří ze čtyř buněk vzniklých redukčním dělením, **D, E** - zralý zárodečný vak vrcholu stonku.

### 13.3 OPYLENÍ A OPLOZENÍ

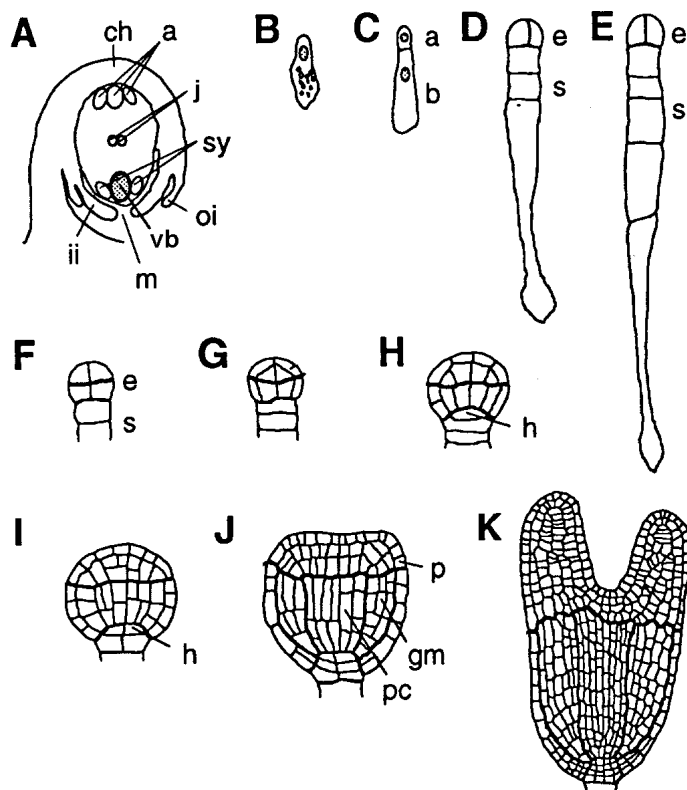
Pylová láčka, pokud není odmítnutá pletivem čnělky, prorůstá vodícím pletivem průchodného traktu až dosáhne mikropylárního vstupu do embryonálního vaku.

Cizosprašnost je adaptačním mechanismem, který zajistil vyšším rostlinám větší variační možnosti a tím větší úspěšnost selekce. Cizosprašnost je geneticky podmíněna lokusem S pro autoinkompatibilitu (Self-incompatibility) s mnoha alelami. V podstatě se jedná o rozpoznání a odmítnutí pylu v případě, že identická alela je exprimována v pylu a v pestíku. Autoinkompatibilitu můžeme rozdělit na dva základní typy: **sporofytická autoinkompatibilita** vzniká na mateřské rostlině (sporofytu) ještě před meiozí a nedovolí vůbec prorůstání pylu (u čeledi *Brassicaceae*), **gametofytická autokompatibilita** je určena až haploidním genotypem pylu a zastavuje růst pylové láčky při prorůstání vodícím pletivem čnělky (u tabáku). V každém případě špička autoinkompatibilního pylu degeneruje dříve než doroste k zárodečnému vaku.

Zvláštností vyšších rostlin je **dvojitý oplození**. Jedna ze dvou samčích gamet splývá s vaječnou buňkou a vytváří vlastní embryo, druhá splývá s diploidním jádrem centrální buňky zárodečného vaku a dává vznik triploidnímu endospermu. Genová exprese endospermu je soustředěna především na hromadnou výrobu zásobních látek pro vyvíjející se embryo. Vývoj pletiva endospermu probíhá různě. Buď se zastaví po několika děleních jádra, nebo se vytvoří vícebuněčné pletivo, které klíčící rostlina spotřebuje při svém růstu (v obilce), nebo se zcela spotřebuje ještě než dozraje semeno.

### 13.4 EMBRYOGENEZE

Začíná u rostlin dvojitým oplozením, při němž se vytváří diploidní zygota a triploidní mateřská buňka endospermu. V průběhu embryogeneze roste a utváří se zárodek a připravuje se na dormanci a klíčení. Okolní pletiva chrání a vyživují embryo. Hlavní nutriční význam má endosperm.



**Obr. 13-8** Embryogeneze dvouděložné rostliny: **A** – vajíčko (a- antipody, vb - vaječná buňka, sy - synergidy, ii - vnitřní integument, oi - vnější integument, m - micropyle, ch - chalaza, j - jádra centrální buňky zarybného vaku), **B** – růst a polarizace zygoty, **C** - první dělení na dvě nestejně buňky (a - základ embrya, b - základ suspensoru), **D, E** - vznik a růst suspensoru (s), spojujícího embryo (e) s mateřskou rostlinou; **F až I** - globulární fáze embryogeneze, objevuje se rozhraní mezi populacemi buněk kořene (h) a nadzemní části, **H, J** - diferencuje se epidermis a kořenový vrchol, **K** - srdčitá fáze embryogeneze, během které začíná diferenciace pletiv.

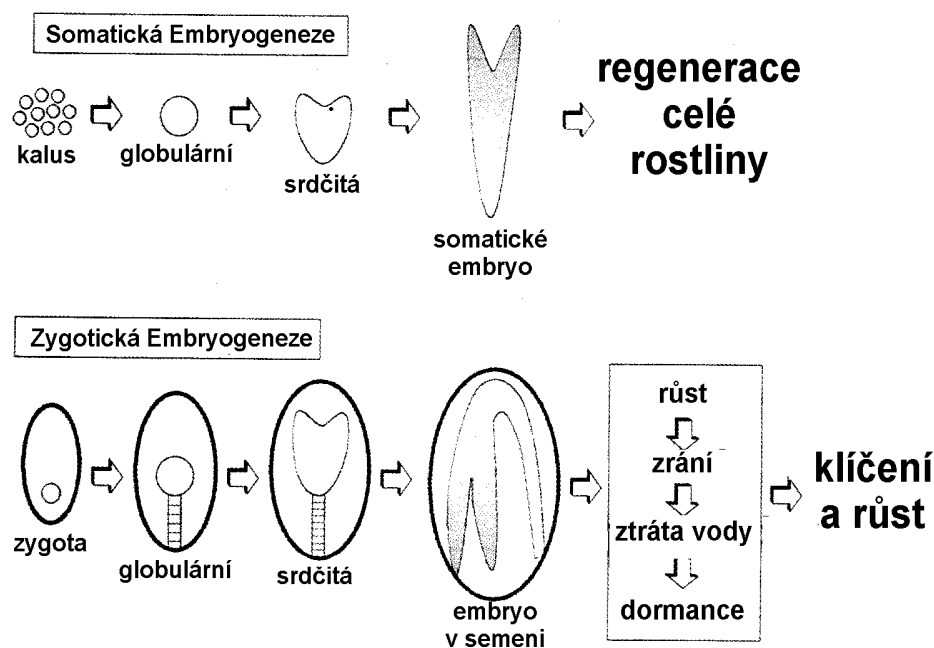
V první fázi embryogeneze probíhá vlastní vývoj embrya, jsou určeny buňky kořenového a stonkového vrcholu, vytváří se polární organizace a bilaterální symetrie embrya. V druhé fázi vývoje probíhá hromadění zásob. Ve třetí fázi semeno ztrácí vodu a upadá do klidového stavu (**obr. 13-10**). Na konci embryogeneze má embryo koříněk s kořenovým vrcholem, stoněk se stonkovým vrcholem, dělohy a několik základů pravicích listů (zpravidla 1-4).

Pro embryogenezi je důležitý polární tok auxinu. U mutantů s poruchou polárního transportu auxinu objevují se abnormality v bilaterální symetrii děloh. V posledních fázích zrání semen stoupá obsah ABA, která brání předčasnému klíčení nezralých embryí a zároveň indukuje syntézu zásobních bílkovin specifických pro semena a rovněž syntézu polypeptidů účastnících se dormance semen.

### 13.5 SOMATICKÁ EMBRYOGENEZE

Patří k nejzajímavějším jevům totipotence rostlinných buněk. Na rozdíl od přirozené zygotické embryogeneze je výsledkem biotechnologických postupů *in vitro*.

Somatická embrya lze získat z různých výchozích pletiv za určitých podmínek kultivace *in vitro* a to dvěma cestami. Při nepřímé somatické embryogenezi musí napřed nastat dediferenciace výchozího pletiva a vznik kalusu. Teprve v kalusu se mohou tvořit meristematické základy embryí. Přímá somatická embryogeneze nevyžaduje tvorbu kalusu. Může nastat, když výchozí buňky jsou již potenciálně embryogenní. Příkladem je **androgeneze**, tj. přímá diferenciace embryí z pylových buněk.



Obr. 13-9. Srovnání somatické a zygotické embryogeneze.

Nově organizované útvary, které se objevují při somatické embryogenezi, velmi připomínají jednotlivé fáze normální zygotické embryogeneze (obr. 13-9). Ze somatických embryí se mohou vyvinout normální rostlinky se všemi svými genotypovými a fenotypovými znaky. Zygotická a somatická embrya prochází podobnými fázemi a u téhož druhu existuje značná časová shoda v trvání a průběhu jednotlivých fází vývoje. Hlavní rozdíl je v tom, že somatické embryo se nevyvíjí v kontaktu s mateřskou rostlinou a nemá klidové období, kterým normálně prochází semena.

Somatická embryogeneze má praktický význam pro množení rostlin. Úspěšnost somatické embryogeneze je závislá na výchozím materiálu a na podmínkách kultivace, tj. na složení kultivačního media, na teplotě, světle apod. Požadavky na přítomnost fytohormonů v kultivačním mediu se v průběhu indukce a tvorby somatických embryí zpravidla mění. Optimální podmínky somatické embryogeneze je třeba pro každý materiál vyzkoušet a pak dodržet. Typickým příkladem je postup u explantátů z vojtešky (Tab. 2): a) vyvolání tvorby kalusu v mediu s vhodným poměrem auxinu k cytokininu, b) následující přenesení na půdu bez auxinu nebo se sníženým obsahem auxinu, umožňující vlastní somatickou embryogenezi (somatická embrya mají sama o sobě zvýšenou produkci auxinu oproti výchozímu pletivu). U jehličnanů je v určité fázi vývoje nutná ABA.

Tab. 2 Příklad biotechnologického postupu při nepřímé somatické embryogenezi u vojtešky:

<b>kousek čepel nebo řapíku listu</b> →	100µM 2,4,D 1µM kinetin 10 dní →	1µM NAA 10µM kinetin 20 dní →	bez hormonů 20 dní →	<b>somatická embryogeneze</b>
---	--	-------------------------------------	----------------------------	-----------------------------------

Při přímé embryogenezi z nezralého pylu, lze zahájit program buněčného dělení vegetativního jádra působením stresu. Například u pylových buněk kapusty byl při teplotě nad 30°C indukován takový program cytologických změn, který odpovídá asymetrickému dělení somatického embrya. Dělení vegetativního jádra a tvorbu embryí u tabá-

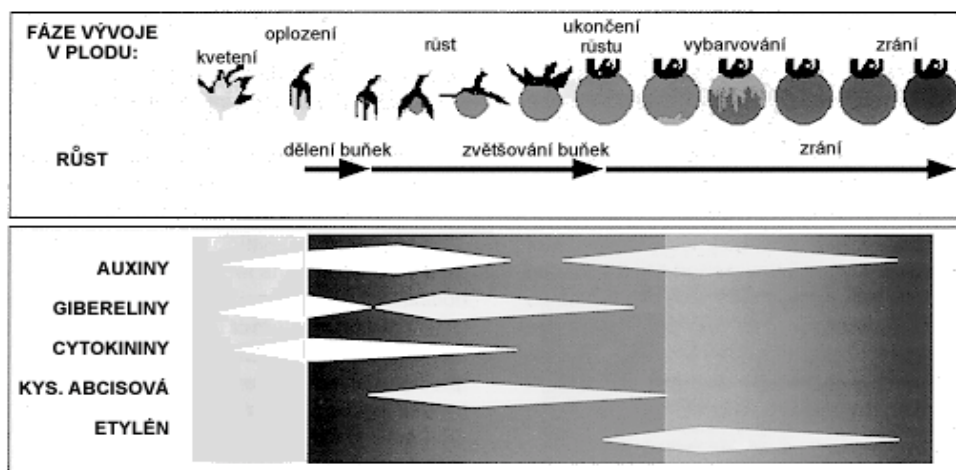


ku lze vyvolat působením nízkých teplot nebo odstraněním cukru z kultivačního media, neboli vyhladověním nezralého pylu při jeho kultivaci *in vitro*. První buněčné dělení při přímé somatické embryogenezi z pylového zrna začíná změnami v cytoskeletu. Rostliny vypěstované z těchto haploidních embryí jsou haploidní.

### 13.6 VÝVOJ PLODŮ A SEMEN

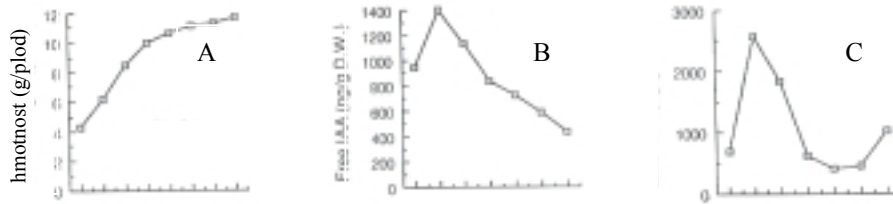
Plod vzniká ze semeníku, který je listového původu a má mnoho společného s anatomii a fyziologií listů, alespoň v prvních fázích vývoje. Později spíše převládnu specifické rysy, které jsou výsledkem specifické genové exprese ve vyvíjejících se a zrajících plodech. Podobně jako u stárnoucích listů, při zrání plodů se snižuje exprese genů pro bílkoviny fotosyntetických systémů. Na rozdíl od stárnoucích listů, je však potlačen odtok látek, tvořících se v rostoucích plodech působením hydrolytických enzymů. Plod je naopak silným sinkem. Po oplození vajíčka se buňky plodů dělí a později zvětšují a diferencují. Počet vyvíjejících se semen má vliv na velikost plodů.

Hormonální regulace se uplatňuje při růstu a zrání plodů. Zdrojem fytohormonů pro vývoj plodů jsou především vyvíjející se embrya, ale část potřebné hormonální výbavy pochází z mateřské rostliny. U révy vinné dodaný **giberelin** zvětšuje bezsemenné plody a nahrazuje tak semena jako zdroj tohoto fytohormonu. Giberelin u rajčete a tabáku ovlivňuje hladinu **auxinu** ve vajíčkách. Je to příklad **kooperace fytohormonů** při předávání signálu oplození. **Cytokininy** jsou ve zvýšené míře transportovány z mateřské rostliny do semen zvláště ve fázi buněčného dělení plodu. Fáze zvětšování buněk plodu je provázána zvýšeným přísunem auxinu. Zvýšené hladiny **abscisové kyseliny** a **etylénu** v plodech souhlasí s fázemi dehydratace a zrání semen. Etylén se uplatňuje při zrání plodů.

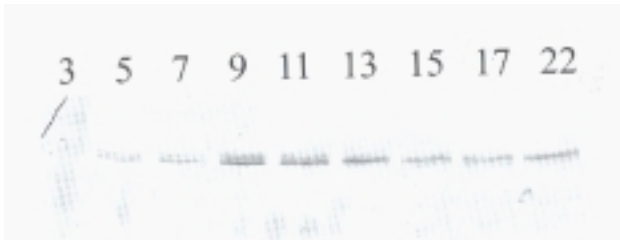


**Obr. 13-10.** Fáze vývoje plodu rajčete od květu až k dozrání a odpovídající průběh změn v hladinách fytohormonů.

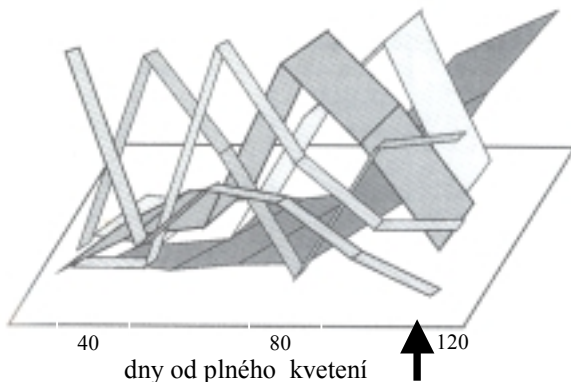
Množství fytohormonů se mění v průběhu růstu a zrání plodů dosti výrazně. Lze vystopovat, kterým růstovým fázím a kterým pletivům odpovídají vzestupy a poklesy hladin různých fytohormonů, jak ukazuje příklad rajčete na **obr. 13-10**. Studium genové exprese v průběhu zrání plodů ukazuje průběh změn v enzymech (**obr. 13-11 až 13-13**).



**Obr. 13-11.** Změny obsahu auxinu jako výsledek exprese genu jeho biosyntézy. (A) Průběh růstu plodu mandloně a (B) změny koncentrace auxinu volného a konjugovaného ve formě esteru (C).



**Obr. 13-12.** Vzestup cytokininoxidasy v raných fázích vývoje obílek kukuřice (v průběhu 22 dní od opylení).



**Obr. 13-13.** Změny exprese různých genů buněčné stěny v broskvích v průběhu vývoje a zrání plodů. Metoda DNA čipů umožnila sledovat vybrané geny, které se účastní biosyntézy stěny, tvorby struktury stěny nebo její destrukce. Šířka pruhů odpovídá počtu nalezených genů s podobným průběhem exprese. Svislá šipka znázorňuje dobu klimakterického vzestupu výdeje etylenu.

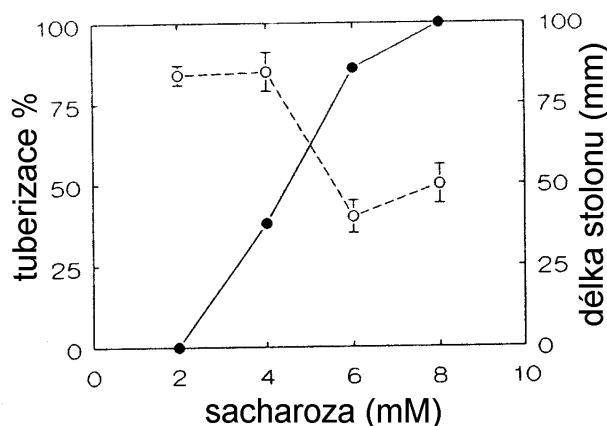
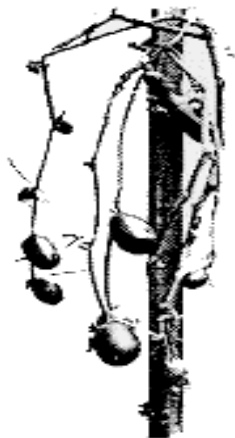
## 13.7 SPECIALIZOVANÉ VEGETATIVNÍ ORGÁNY ROZMNOŽOVÁNÍ

Patří sem **cibule** (stonky se silně zkrácenými internodií a nahloučenými ztlustlými listy) a **hlízy** (ztlustlé části stonku s velmi redukovanými listy).

Tvorba hlíz a cibulí je u mnoha rostlin indukována **fotoperiodickým signálem**, přitom obecně se dá říci, že tvorba cibulí je podporována dlouhým dnem, kdežto tvorba hlíz (tuberizace) spíše krátkým dnem. Podobně jako u květní indukce je zde fotoreceptorem je fytochrom, fotoperiodický signál vzniká v listech a je přenosný roubováním.

Stimulus pro tuberizaci má patrně něco společného s **květním stimulem**. Dlouhodobě tabák *Nicotiana glauca* pěstovaný na dlouhém dni nebo krátkodenní *Nicotiana glauca* z krátkého dne vyvolávají tuberizaci po naroubování na krátkodenní brambor *Solanum tuberosum*. *Solanum tuberosum* pak vytváří hlízy, i když sám stále rostl na dlouhém dni.

Kultivary bramboru *S.tuberosum* jsou neutrální k délce dne a mají nedokonale vyvinutou sexuální reprodukci. Nicméně **fotoperiodický režim ovlivňuje množství fytohormonů**. Podobně jako u jiných rostlin, na krátkém dni je méně giberelinů a cytokininů a více ABA než na dlouhém dni. Fytohormony pak ovlivňují utváření stolonů (stonků nesoucích hlízy) a utváření hlíz.



**Obr.13-14.** Mikrohřízky na stonkových řízcích při vysoké koncentraci sacharózy v médiu.

**Obr. 13-15.** Vliv koncentrace sacharózy v kultivačním médiu na růst stolonů (přerušovaná čára) a na tuberizaci (plná čára).

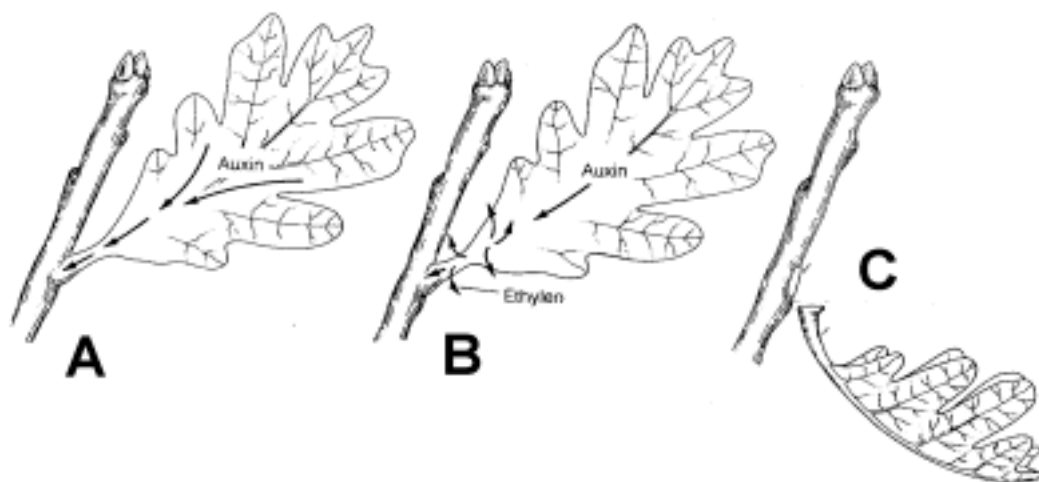
Pro studium vlivu fytohormonů na tuberizaci se velmi hodí stonkové segmenty bramboru s jedním pupenem, pěstované ve sterilních kulturách *in vitro* s různým množstvím fytohormonů v kultivačním médiu. Tyto kultury jsou za určitých podmínek schopny tvořit stolonu a mikrohřízky. **Giberelin** v takových kulturách stimuluje prodloužení stolonů, přitom tuberizace je inhibována. **Auxin** vyvolává kořenění místo tuberituberizace. **Cytokinin** *in vitro* podporuje tuberizaci jen za určitých podmínek, z úzlabního pupenu může vyrůst buď mikrohřízka nebo olistěný výhon. **ABA** inhibuje růst stolonů a stimuluje tuberizaci. Z toho, že ABA-deficientní mutant může tuberizovat však vyplývá, že ABA není pro tuberizaci nezbytná. **Etylén** tuberizaci inhibuje. Velmi důležitým faktorem stimulujícím tuberizaci *in vitro* je **sacharóza (obr. 13-14 a 13-15)**. Vysoká koncentrace sacharózy (až 10 %) v kultivačním médiu se tak jeví jako indukční faktor pro tuberizaci. Růstové účinky fytohormonů se navzájem prolínají a podmiňují. Ještě více to musí platit pro poměry v celé rostlině, kde je mnoho ne zcela synchronních zdrojů fytohormonů. Vyvolání tuberizace je spojeno s indukcí mRNA pro specifickou bílkovinu bramborových hlíz, patatin.

### 13.8 STÁRNUTÍ

Stárnutí neboli **senescence** začíná jako aktivní a koordinovaný proces na úrovni transkripce, translace i posttranslačních změn bílkovin a mnoha metabolických změn v cytoplazmě i ve stěně buněk. Stárnutí jednotlivých orgánů má navíc ještě svůj vlastní program v rámci této koordinace. U monokarpických rostlin pozorujeme **synchronizaci sexuálního vývoje a stárnutí** rostlin. Aktivace růstu a organogeneze ve vrcholu, která provází přechod k reprodukci, předznamenává ukončení funkce vrcholu po vytvoření pestíku. A tak již samotná indukce kvetení bývá signálem pro stárnutí a opad korunních plátků. Orgány sexuální reprodukce jsou dalším významným zdrojem signálu, který vyvolává stárnutí celé rostliny. Svědčí o tom možnost prodloužit život rostliny tím, že budeme odstraňovat květy nebo rostoucí plody.

Při ukončení vegetace a v souvislosti se stárnutím nastává **změna kapacity sinků** a zvyšuje se přísun živin do reprodukčních orgánů a rostoucích plodů. Tyto změny se uskutečňují prostřednictvím fytohormonů. Vnější signálem pro stárnutí (a pro hormonální změny s ním spojené) bývá často **fotoperiodický signál zkrácení dne**.

**Cytokininy** působí proti stárnutí listů. Oddalují také stárnutí celých rostlin. Stimulují zakládání a růst listů na úkor přechodu do reprodukční fáze. **Etylén** podporuje zrání plodů a stárnutí listů a květů, účastní se při regulaci opadu listů tím, že indukuje proteolytické enzymy, které narušují stěny buněk ve specializované odlučovací zóně na bázi řapíku. V mladých listech auxin inhibuje biosyntézu etylénu, ke změně dochází na podzim vlivem krátkého dne. To je příklad interakce vnějších a vnitřních hormonálních signálů při regulaci jednoho fyziologického procesu (**obr. 13-16**). Procesů stárnutí se účastní rovněž **ABA** a kys. **jasmonová**.



**Obr. 13-16.** A – Vysoká koncentrace auxinu z mladého listu snižuje citlivost odlučovací zóny k etylénu. B - U starších listů koncentrace auxinu klesá, zvyšuje produkci etylénu a zvyšuje citlivost odlučovací zóny. C - Etylénem indukované hydrolytické enzymy narušily stěny buněk odlučovací zóny a způsobily odlomení listu v odlučovací zóně.

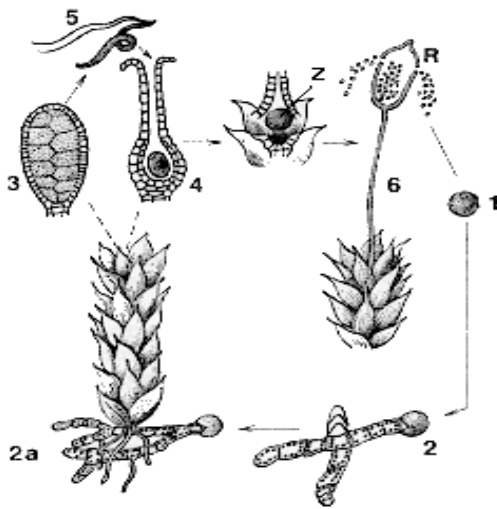
### 13.9 REGULACE ONTOGENEZE MECHŮ A KAPRADIN

U mechorostů a kaprad'orostů má převahu v životním cyklu gametofyt, který je autotrofní. Vytváří samčí a samičí orgány, v nichž se tvoří gamety. Po oplození roste sporofyt, na něm redukčním dělením vznikají haploidní spory.

Ze spory nejdříve vyklíčí vláknitý prvoklíček, který se dělí zprvu jen jedním směrem. Později dojde k plošnému a prostorovému růstu tím, že se změní směr dělení. Tvorba gametofytu je tedy závislá na regulaci polaritu růstu (**Obr. 13-17 a 13-18**). Regulace vývoje byla u mechů a kapradin zevrubně studována jen na několika jejich záspících, ale i tak přinesla mnoho zajímavých srovnání se semennými rostlinami.

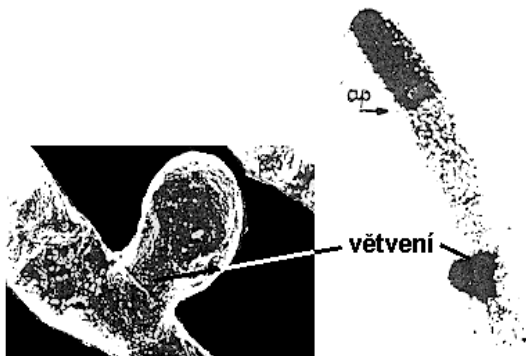
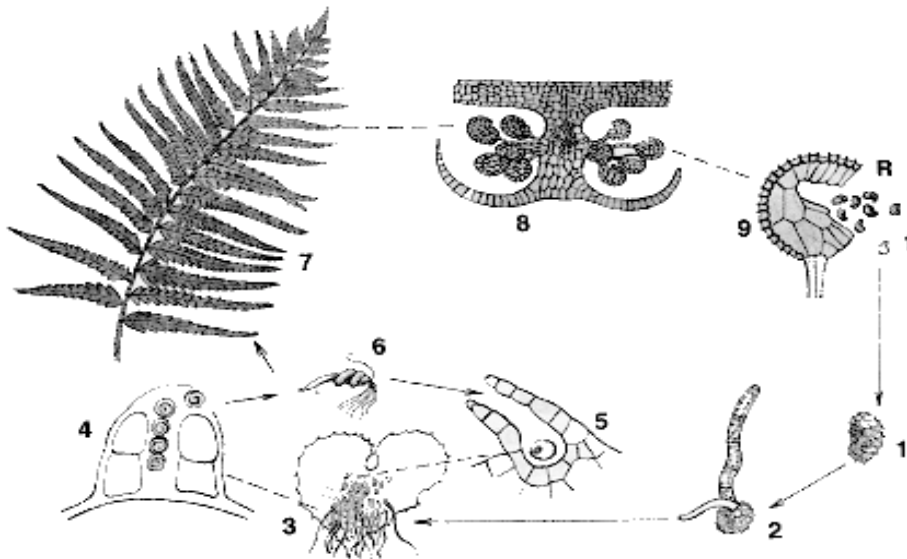
**Hormonální regulace** je u mechorostů a kaprad'orostů do značné míry podobná jako u rostlin kvetoucích. U mechů auxin a cytokinin ovlivňují růst prvoklíčku. **Přechod od jednorozměrného vláknitého růstu k větvení je indukován cytokininem u mechů.** Reakce na cytokinin je lokální a je omezena na určitou fázi prodlužovacího růstu buňky. Buňky téhož vlákna, které jsou v pokročilejší fázi vývoje, na cytokinin již nereagují. Změna směru buněčného dělení je spojena s lokálním zvýšením příjmu látek

(např. cukrů) a s reorganizací cytoskeletu. Změně směru dělení předchází zvýšená produkce cytokininů a změna směru růstu v těch buňkách, ve kterých nastane větvení (obr. 13-19).



**Obr. 13-17.** Schéma životního cyklu mechu ploníku obecného (*Polytrichum commune*): 1 spora, 2 prvoklíček s pupenem, 2a dospělý gametofyt, 3 palatka, 4 zárodečník s oosférou, 5 spermatozoid, 6 štět s tobolkou. R - redukční dělení, Z - zygota

**Obr. 13-18.** Schéma životního cyklu kapradi samce (*Dryopteris filix-mas*): 1 spory, 2 klíčící spora, 3 prokel, 4 palatka a 5 zárodečník s oosférou na prokelu, 6 spermatozoid, 7 sporofyt, 8 kupky výtrusnic, kryté ostěrou, 9 výtrusnice. R - redukční dělení



**Obr. 13-19.** Přejít od lineárního k plošnému růstu u prvoklíčku mechu *Physcomitrella patens*: vlevo růst a první buněčné dělení ve směru kolmém na předchozí dělení, vpravo příjem glukózy převážně v zónách růstu, tj. v apikální buňce (ap) v buňce budoucího větvení (autoradiogram pořízený po podání rostlinám radioaktivní glukózy).

U kapradin lze giberelinem indukovat jak klíčení spor tak tvorbu samčích orgánů, antheridií (obr. 13-20). Giberelin tak může nahradit požadavek světla, nezbytný pro oba procesy.



Obr. 13-20. U kapradiny *Anemia* giberelin v koncentraci  $10^{-5}$  M vyvolal klíčení spor (s) a urychlenou tvorbu antheridií (A). Podobný vývoj nastává na světle i bez giberelinu. V této fázi se do prostředí vylučuje antheridiogen (B), který vyvolává klíčení a tvorbu antheridií u dalších jedinců.

O některých kapradinách (např. o *Anemia*) se ví, že produkují a vylučují do prostředí antheridiogen, který se svou chemickou strukturou podobá giberelinům (obr. 13-20B). K biosyntéze a k vylučování antheridiogenu dochází v době, kdy roste prvoklíček a připravuje se tvorba antheridií. V přírodě tyto procesy mohou nastat bez chemického induktoru, jen na světle, tedy v horních vrstvách půdy. Antheridiogen vylučují jedinci nacházející se nahoře v postačujících světelných podmínkách. Prosakuje ve vlhké půdě do větší hloubky a může tam i ve velmi nízké koncentraci vyvolat klíčení a tvorbu antheridií u starších zapadlých populací spor ve tmě. Mezitím pokročilejší jedinci na půdním povrchu již tvoří oogonia a může nastat prospěšné křížení mezi populacemi.

**Antheridiogen je tedy funkčně podobný feromonům**, tj. látkám vylučovaným do prostředí a ovlivňujícím vývoj a sexuální chování organismů. Na druhé straně antheridiogen vykazuje **strukturální podobnost s fytohormonem giberelinem** a lze jej nahradit giberelinem v jeho funkcích chemického signálu, indukujícího ontogenetické změny u kapradiny (klíčení a sexuální reprodukci). Přitom ani antheridiogen ani giberelin nevyvolávají u kapradin prodlužovací růst. Tato růstová reakce, tak nápadná u rostlin kvetoucích, zcela chybí u kapradin. Jde pravděpodobně o fylogenetickou příbuznost feromonu antheridiogenu s fylogeneticky mladšími fytohormony prodlužovacího růstu typu giberelinu. Máme zde příklad strukturální a funkční fylogeneze regulačních látek.