2. REGULACE RŮSTU

2.1. FYTOHORMONY

Koordinace metabolismu, růstu a vývoje u složitých vícebuněčných organismů závisí na předávání informace mezi buňkami a orgány pomocí signálů. U rostlin jsou růstové aktivity početných vrcholů regulovány chemickými signály hormonální povahy, fytohormony. Také zprostředkování signálů z okolního prostředí se děje v rostlině s pomocí fytohormonů.

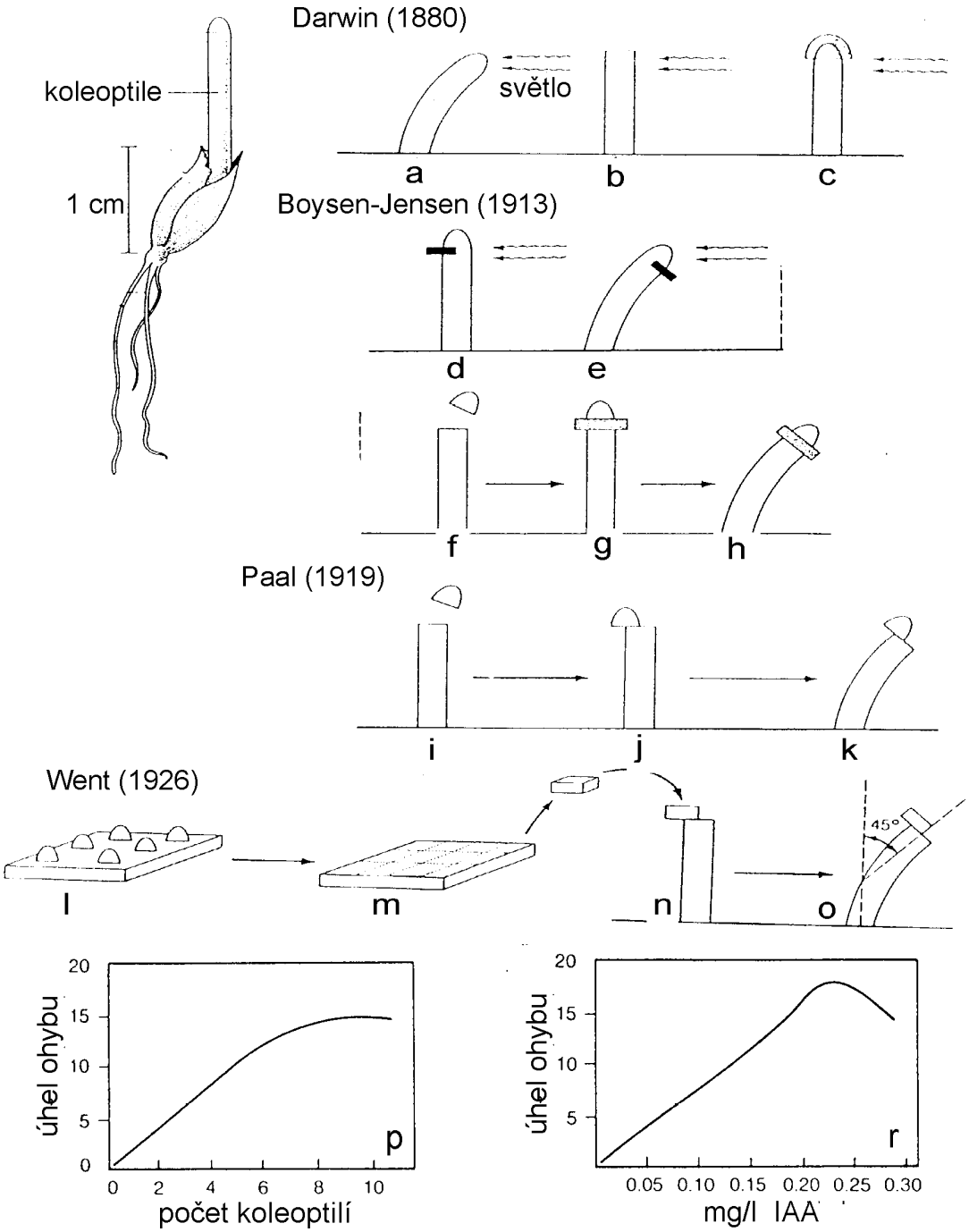
Na rozdíl od živočišných hormonů jsou fytohormony mnohem **méně specializované**. Každý z nich vystupuje v mnoha životních funkcích. Navíc regulace jednotlivých pochodů růstu a vývoje se uskutečňuje za součinnosti všech nebo alespoň většiny fytohormonů. **Interakce** různých skupin fytohormonů v průběhu růstu a vývoje rostlin je obecným rysem hormonální regulace u rostlin.

Podobně jako živočišné hormony jsou fytohormony přítomny v rostlině ve velmi **malých množstvích** a jsou účinné v rostlině již v koncentracích 10^{-8} až 10^{-6} M. Přítomnost fytohormonů v místě účinku je dána jejich **biosyntézou**, **rozkladem** nebo jinou **inaktivací** a také **transportem** vodivými pletivy, apoplastem a symplastem. Jejich působení v buňce je podmíněno vazbou na **receptor**. Vytvoření **komplexu hormon-receptor** spouští řetěz biochemických změn, který představuje **přenos signálu** v buňce. V jádře regulují expresi genů, v cytoplasmě vyvolávají uvolnění vápenatých iontů a aktivaci enzymů, závislých na přítomnosti vápníku. Tím vším se podobají fytohormony živočišným hormonům.

Koordinace růstu rostliny v souladu s okolními vlivy a s klimatickými změnami je umožněna příjmem a zpracováním signálů z okolí, které nejen vyvolávají "racionální" růstové reakce na aktuální změny, ale také umožňují "předvídání" sezónních změn. K hormonálně řízeným procesům patří také část tzv. pohybů rostlin. Jsou to ohyby rostlinných orgánů, spojené s asymetrickou distribucí fytohormonů a následným asymetrickým růstem. Koordinační funkce v rostlině a schopnost reagovat na vnější signály takovým způsobem, jaký je pro rostlinu prospěšný, připodobňuje funkci fytohormonů úloze nervové soustavy u živočichů.

2.2. AUXIN

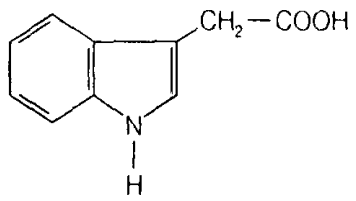
Auxin je prvním objeveným a dosud nejlépe prozkoumaným fytohormonem. Práce na jeho objevu začíná na konci 19. století, kdy Ch. Darwin a syn studovali reakci koleoptile na světlo. Závěrem jejich pokusů bylo zjištění, že světelný signál, který je odpovědný za ohyb koleoptile klíčních rostlinek trávy *Phalaris canariensis* za světlem, je přijímán vrcholem koleoptile a přenáší se do růstové zóny tak, že zastíněná strana roste rychleji. F. Went (1926) první demonstroval ve vrcholu koleoptile látku podporující růst, pomocí agarových bločků, do kterých aktivní růstová látka difundovala. V 30tých letech byla růstová látka extrahovaná, identifikovaná jako kyselina indolyl-3-octová a nazvaná auxin (z řeckého *auxein*, „růst“). **Obr 2-1** představuje stručnou historii objevu prvního fytohormonu, auxinu.



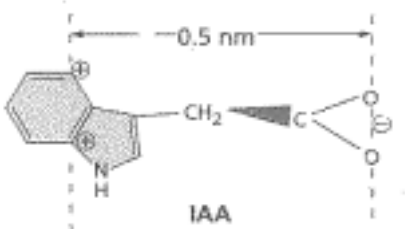
Obr. 2-1. Pokusy, které vedly k objevu auxinu. Koleoptile se ohýbá za světlem (a), avšak bez špičky (b) nebo při její zatemnění (c) nereaguje na světlo. Částečná, jednostranná izolace špičky od zóny ohybu brání ohybu za světlem, pokud je na straně zastíněné (d), nevadí však na straně osvětlené (e). Stimulus, tj. nějaký, patrně chemický faktor, proudí ze špičky dolů do růstové zóny a může procházet volně želatinovým bločkem, vloženým mezi odříznutou špičku a zónu růstu (f, g, h). Jednostranný kontakt růstové zóny se zdrojem stimulu vyvolá růst této strany a ohyb i bez světla (i, j, k). Když se stimulus z mnoha špiček koleoptile nechá difundovat do agaru (l), agar rozřeže na bločky, které se umístí na dekapitovanou koleoptili tak, aby se dotýkaly poloviny řezné plochy, nastane rovněž ohyb ve tmě (m, n), který se dá měřit (o). Úhel ohybu je úměrný počtu špiček, čili množství stimulu (p). Chemicky identifikovaný stimulus, teď již známý auxin, lze kvantitativně stanovit biotestem, když ohyb vyvolaný extraktem z rostlin porovnáme s kalibrační křivkou auxinu (r). Dnes se místo biotestů používají přesnější a náročnější chromatografické a imunochemické metody.

CHARAKTERISTIKA (chemická struktura)

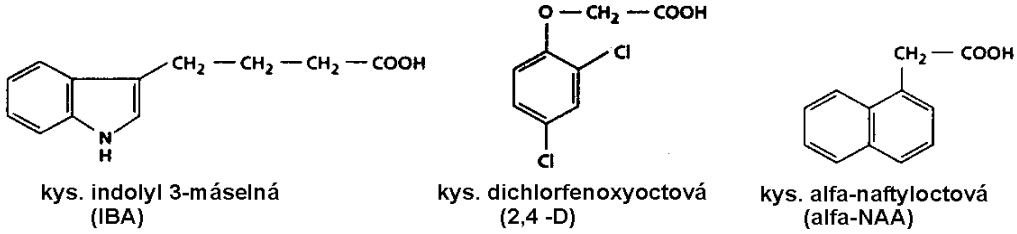
I když dnes známe více auxinů u rostlin, kyselina indolyl-3-octová (*angl.* indolyl-3-acetic acid, **IAA**) je nejčastější z přírodních auxinů (**obr. 2-2**). Máme také řadu synteticky připravených derivátů auxinů (**obr. 2-3**). Auxiny jsou velmi různorodou skupinou látek, všechny mají při neutrálním pH silný záporný náboj na karboxylové skupině postranního řetězce, který je vzdálen 0.5nm od slabšího pozitivního náboje na kruhové struktuře (**obr. 2-2**). Toto oddělení náboje je zásadní pro auxinovou aktivitu.



Obr. 2-2. Kyselina indolyl-3-octová (IAA)



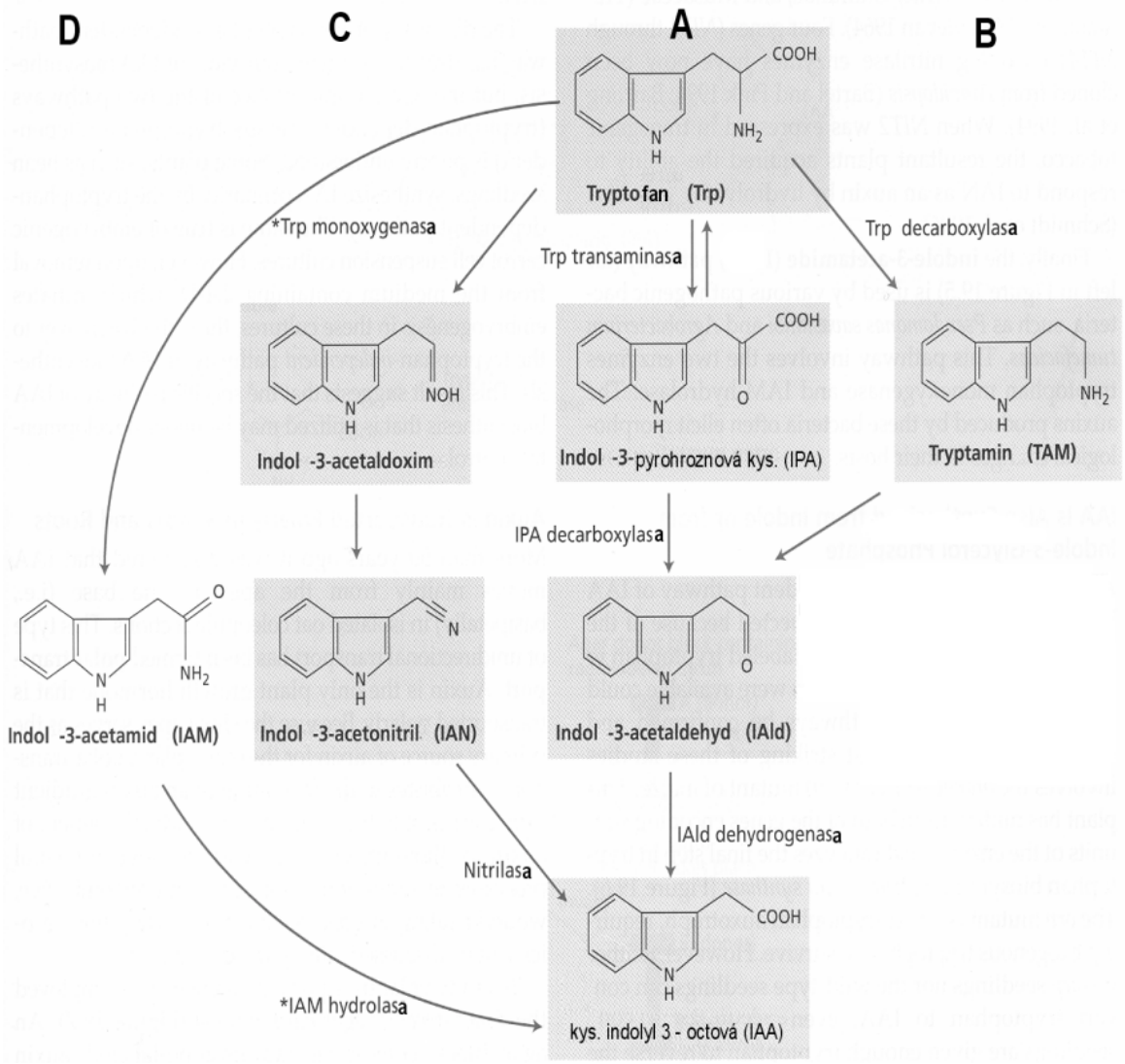
Rozdělení náboje na molekule auxinu



Obr. 2-3. Některé syntetické auxiny.

BIOSYNTÉZA IAA

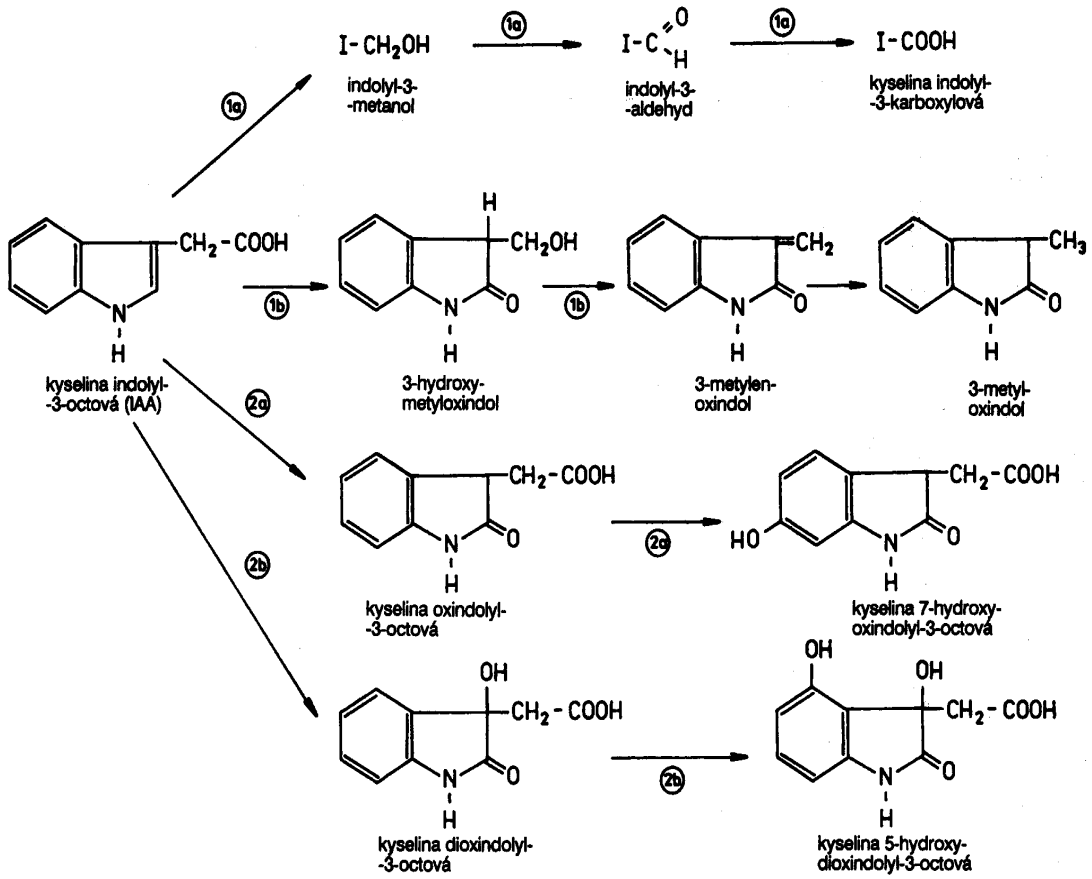
Jsou známy čtyři biosyntetické cesty, které vychází z aminokyseliny tryptofanu (**obr. 2-4**). Nejčastější biosyntetickou cestou u vyšších rostlin je cesta indolylpyruvátová (A), tryptaminová cesta (B) se vyskytuje hlavně v čeledi *Poaceae*, indolylacetaldoximová cesta (C) byla nalezena v čeledi *Brassicaceae*. Cesta indolylacetamidová (D) se vyskytuje u mikroorganismů. Hlízkové bakterie *Agrobacterium tumefaciens* vnáší geny, kódující enzymy pro tuto cestu do hostitelské rostliny. Tento jev se využívá k transformaci, při které exprimovaný gen a jeho produkty se účastní regulace růstu a vývoje v příjemci. Existuje také cesta syntézy IAA, která není závislá na tryptofanu. Existence tolika cest syntézy IAA dokazuje důležitost tohoto fytohormonu.



Obr. 2-4. Cesty biosyntézy auxinu vycházející z tryptofanu a enzymy, které katalyzují jednotlivé kroky. A-indolylpyruvátová cesta, B-tryptaminová cesta, C-indolylacetaldoximová cesta, D-indolylacetamidová cesta (mikrobiální).

METABOLIZMUS

Aktivní formou auxinu je volný auxin, ale většina auxinu v rostlině se nachází ve formě konjugované s nízkomolekulárními látkami (estery, amidy) nebo látkami vysokomolekulárními (glukan, glykoproteiny). Konjugace je proces reverzibilní, konjugáty slouží jako zásobní a transportní forma a také jako ochrana před degradací. Uvolnění auxinu z konjugátu je ovlivněno signály z prostředí (světlo, gravitace). Ireverzibilní cesty degradace auxinu jsou buď: A) dekarboxylační, katalyzovaná peroxidázou a B) nedekarboxylační (**obr. 2-5**).



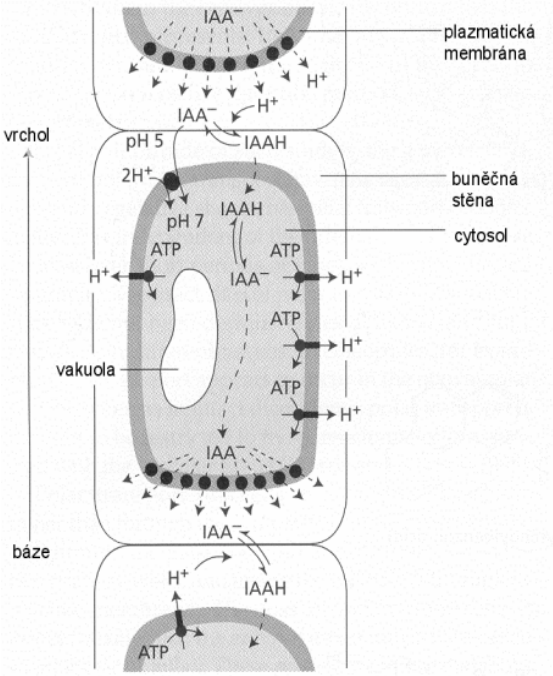
Obr. 2-5. Cesty degradace IAA. 1a, 1b – dekarboxylační dráhy katalyzované peroxidázou, 2a, 2b – nedekarboxylační oxidace (I = indolyl)

TRANSPORT

Zdrojem auxinu jsou všechny nadzemní rostoucí orgány, zejména rostoucí pupeny a plody. Špička koleoptile klíčních rostlinek trav je také zdrojem volného auxinu, uvolňovaného z konjugátů, transportovaných ze semen.

Auxin se pohybuje v rostlině floémem pasivně spolu s asimiláty. Ale zvláštní význam má specifický polární aktivní transport parenchymem od vrcholů stonku (a špičky koleoptile) k vrcholům kořenů, tj. **transport bazipetální ve stonku a akropetální v kořeni**. Rychlost polárního toku auxinu je asi 1cm.h^{-1} (zhruba 10x rychlejší než difuze a 100x pomalejší než pasivní transport floémem). Polární transport auxinu je důležitý pro růst a utváření rostlin. Nejen udržuje polaritu v podélném směru, ale zároveň reguluje zakládání a růst laterálních orgánů a ohyby rostlin.

Polární transport auxinu vysvětluje chemiosmotický model (**obr. 2-6**). Je dán fyzikálně chemickými vlastnostmi auxinu a různých komponent buňky, zvláště polární strukturou buněk, kterými je auxin transportován.

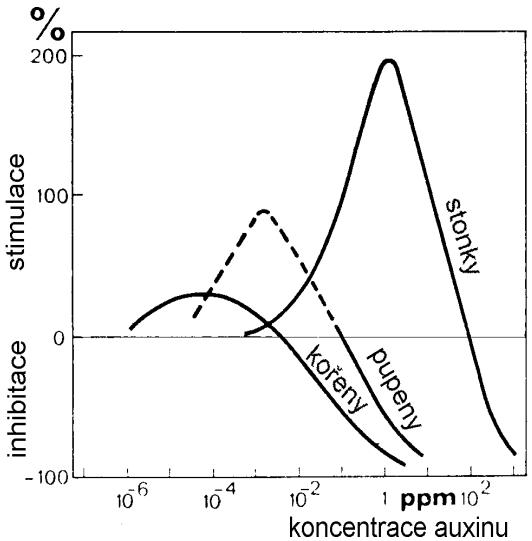


Obr. 2-6. Schéma polárního transportu auxinu.

V kyselém prostředí buněčné stěny je auxin nedisociovaný (IAAH) a jako takový také snadno prochází lipidní cytoplazmatickou membránou do cytoplasmy. V alkaličtější cytoplazmě tato slabá kyselina částečně disociuje na IAA^- a H^+. Ionty IAA^- jsou hydrofilní a proto nemohou lipidní membránou ven z buňky. Auxin, který se pohybuje apoplastem dolů podle koncentračního spádu, by se takto hromadil v buňce, nebýt přenašečů auxinu, které vytlačují ionty IAA^- přes membránu do roztoku v buněčné stěně. Přenášeči auxinu z buňky přes plazmatickou membránu jsou bílkovinné komplexy, lokalizované na bázích buněk (viz. také kap. Organogeneze, podkapitola Polarita).

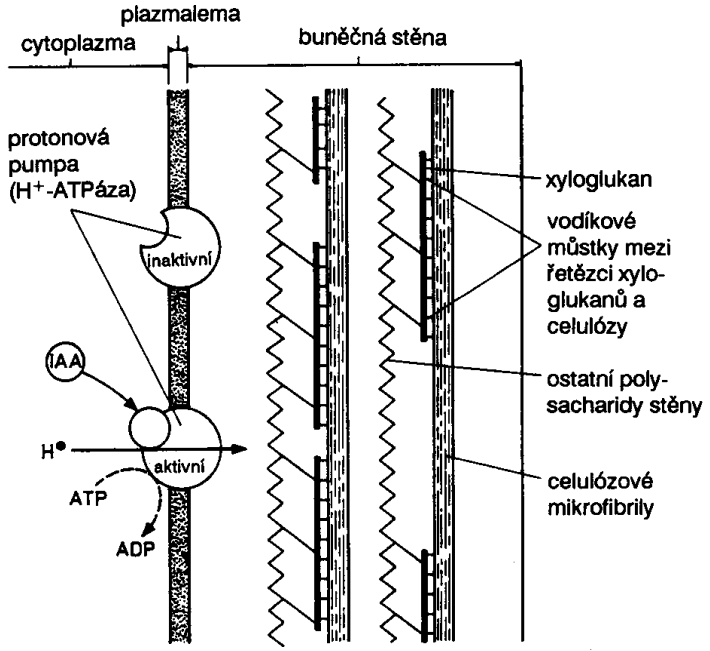
FYZIOLOGICKÉ ÚČINKY

Auxin indukuje dlouživý růst v optimální koncentraci 10^{-6} až 10^{-5} M pro stonek, kdežto v kořeni je optimální koncentrace o 1-2 řády nižší. Koncentrace, které stimuluji dlouživý růst nadzemních části rostliny inhibují dlouživý růst kořenů. **Supraoptimální koncentrace auxinu inhibuje dlouživý růst (obr. 2-7).** Poněvadž přirozený zdroj auxinu je zpravidla optimální, je stimulační účinek auxinu na prodlužovací růst zjevný až po odstranění nebo oslabení tohoto přirozeného zdroje auxinu nebo při asymetrické distribuci auxinu. Růstová odpověď pak nastává někdy již po 10 min. od aplikace auxinu.



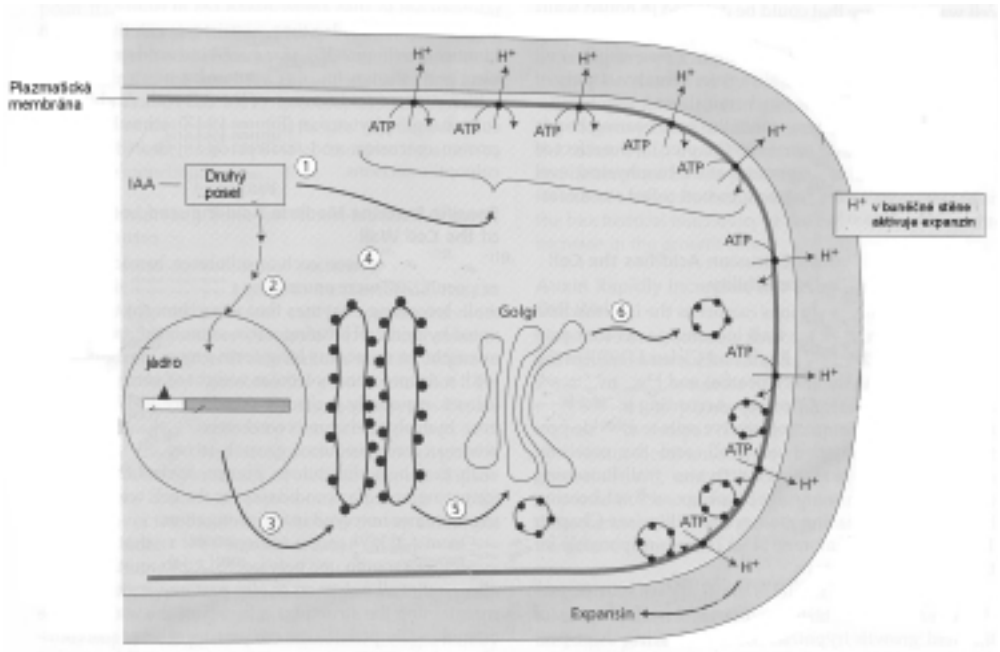
Obr. 2-7. Koncentrační křivky stimulačního a inhibičního vlivu auxinu na růst kořenů, úžlabních pupenů a stonku.

Součástí prodlužování buněk, a objemového růstu buněk vůbec, je zvýšení **ireverzibilní roztažnosti buněčné stěny**. Auxin stimuluje aktivní vylučování protonů do buněčné stěny, následkem toho nastává pokles pH v buněčné stěně (v apoplastu) a aktivují se enzymy **expansiny**. Expansiny spolu s hydrolytickými enzymy, které mají optimum při nízkem pH, působí uvolňování vodíkových můstků mezi polysacharidy buněčné stěny. Buněčná stěna se roztahuje a buňka roste (**obr. 2-8**). Změny v pH jsou doprovázeny elektrochemickými změnami, nastává **hyperpolarizace membrány.**



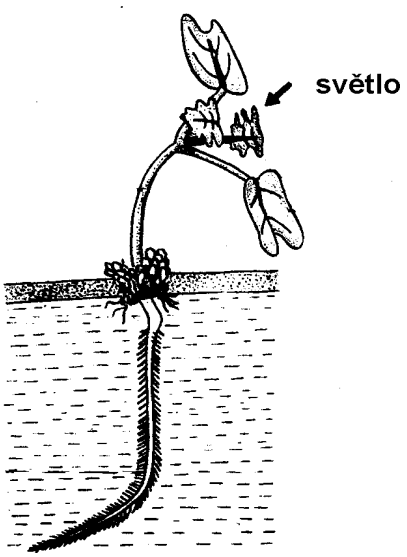
Obr. 2-8. Schéma působení IAA na protonovou pumpu a na okyselení buněčné stěny.

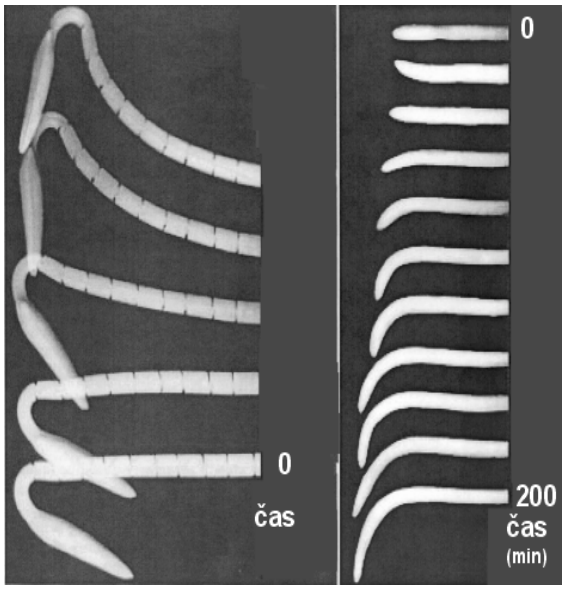
Dlouhodobá aktivace objemového růstu vyžaduje syntézu nového materiálu pro stavbu buněčné stěny. V segmentech stonku, podrobených stimulaci dlouživého růstu auxinem, byly nalezeny nové mRNA, které se u nestimulovaných segmentů nevyskytovaly. Jejich produktem jsou enzymy, účastnící se okyselení buněčné stěny a syntézy komponent nezbytných pro dostavbu rostoucí stěny. Mnohostranné působení auxinu na dlouživý růst buňky ukazuje **obr. 2-9.**



Obr. 2-9. Působení auxinu na růst buňky: **cesta 1**: aktivace protonové pumpy, která vytlačuje H^+ do buněčné stěny a okyseluje ji (aktivace ATPasy a zvýšení transkripce pro ATPasu) (1). **cesta 2**: signál pro transkripci (2), proteosyntéza na endoplazmatickém retikulu (3, 4), vylučování a transport směrem k buněčné stěně pomocí Golgiho aparátu (5, 6) a růst buněčné stěny.

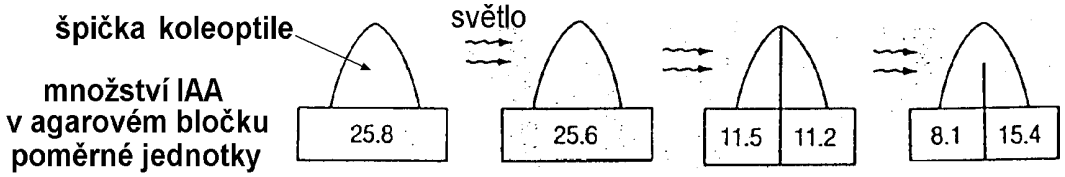
Nerovnoměrná distribuce auxinu a různá reakce pletiv na auxin vyvolávají ohyby rostlin, tropizmy (**obr. 2-10**). Jsou založeny na polárním transportu auxinu a na reakcích prodlužovacího růstu, kladných nebo záporných, podle místní koncentrace IAA a podle citlivosti pletiva na danou koncentraci. Asymetrická distribuce auxinu, vyvolána směrovaným působením vnějšího signálu je součástí mechanismu tropismů.





Obr. 2-10. Fototropizmus Negativní gravitropizmus u stonku (vlevo) a gravitropizmus pozitivní u kořene (vpravo).

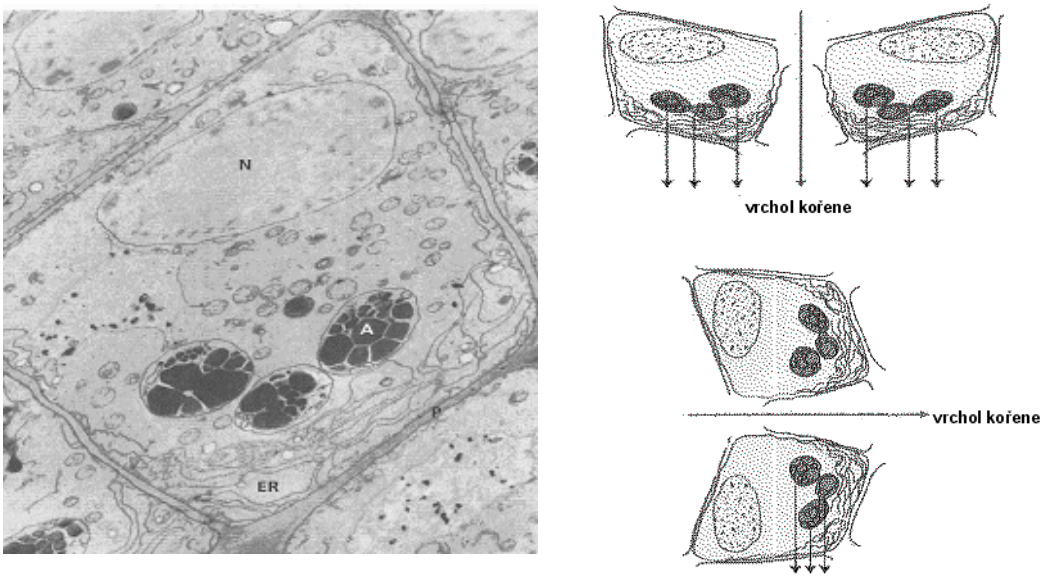
Fototropizmus (růst za světlem) zabezpečuje optimální příjem záření listy. Je historicky prvním jevem, který vedl k objevu auxinu a významu jeho transportu z vrcholu do růstové zony. Podle **Cholodny–Wentova modelu** má vrchol koleoptile tři funkce: 1) produkce volné IAA, 2) příjem směrovaného světelného stimulu, a 3) vznik asymetrie hladiny IAA a jeho předpokládaný laterální transport jako odpověď na směrovaný světelný signál. Nesymetrické rozdělení auxinu transportovaného bazipetálně do elongační zóny působí rozdílně na růst buněk (na zastíněné straně je růst rychlejší) (**obr. 2-11**).
Fotoreceptorem jsou flavoproteiny s maximem příjmu světelného záření v modré části spektra (vlnová délka 420 až 480 nm).



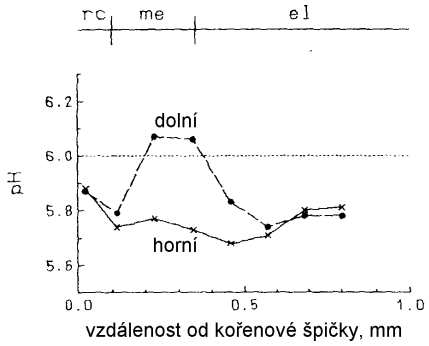
Obr. 2-11. Ze špičky koleoptile ovsa proudí do agarového bloku stejné množství auxinu ve tmě (vlevo) jako při jednosměrném osvětlení. Jestliže izolujeme pomocí nepropustné destičky zastíněnou a osvětlenou polovinu koleoptile spolu s bločkem, najdeme v každé z nich poloviční množství auxinu. Ponechání nejhořejší části špičky vcelku (vpravo) umožňuje laterální redistribuci auxinu, a to tak, že na osvětlené straně je auxinu o to méně, o co je ho více na straně zastíněné. Při osvětlení celé koleotlile (viz obr. 2-1) reaguje růstová zóna stimulací růstu na zastíněné straně.

Gravitropizmus zabezpečuje vertikální růst prýtu a kořene správným směrem. Vnějším signálem pro **gravitropické** růstové reakce je zemská tíže. Příjemcem tohoto signálu jsou

amyloplasty, vyplněné škrobovými zrny. Amyloplasty jsou těžší než okolní cytoplazma a proto klesají v buňce dolů. Buňky s amyloplasty, zvané **statocyty,** mají odlišnou strukturu na svém horním a dolním konci. Po vychýlení stonku nebo kořene ze svislé polohy začínají amyloplasty klesat a při své cestě buňkou vyvíjejí tlak na nezvyklých místech membránového systému buňky (**obr. 2-12**). Mechanický tlak vyvolává změny v struktuře membrán a tím změny jejich propustnosti pro ionty. Změna distribuce iontů vápníku je součástí přenosu hormonálního signálu v buňce (viz kapitola 2.8.). Zároveň změny distribuce iontů K^+ a H^+ spojené se změnami pH (**obr. 2-13**) a s generováním elektrického proudu znásobují gravitropický signál. Mění se distribuce auxinu, na dolní straně se hromadí více auxinu než na horní straně a nastává ohyb (**obr. 2-14**).

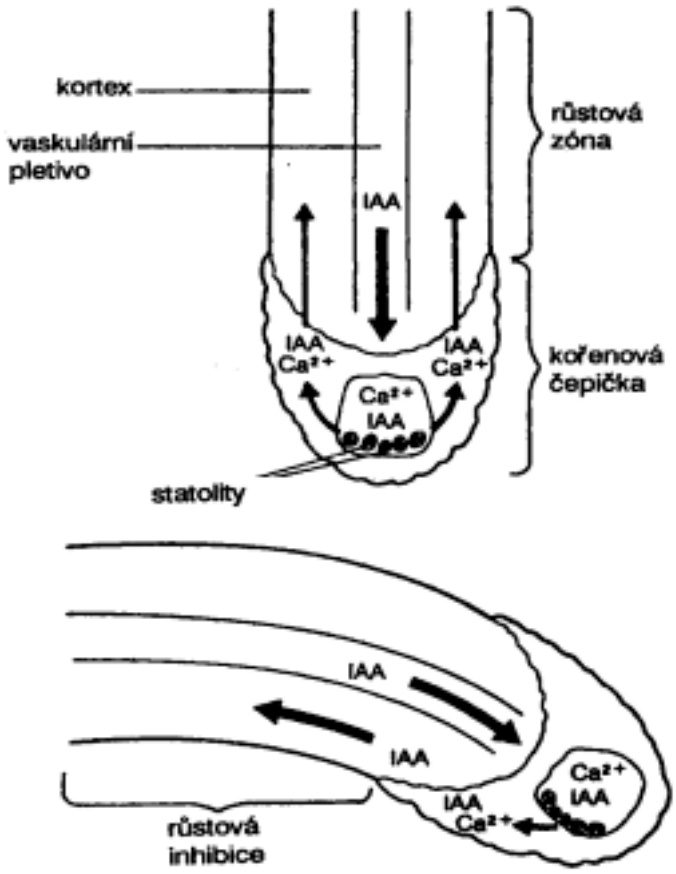


Obr. 2-12. Vlevo elektronmiskroskopický snímek statocytu s amyloplasty v kořenové čepičce (N-jádro, ER-endoplazmatické retikulum), vpravo nahoře schéma dvou statocytů s amyloplasty kořene v poloze vertikální a horizontální (dole).



Obr. 2-13. Rozložení pH v horní (x) a dolní (●) straně: kořenová čepička (rc), meristém (me) a prodlužovací zóna (el) kořínku *Phleum* 20 min po otočení do svislé polohy

Přesto, že příjem signálu je stejný u kořenů a u nadzemních orgánů, fyziologické projevy jsou odlišné. Kořeny se ohýbají dolů, stonky nahoru (viz. **obr. 2-10**). Přitom ohyb kořenů je doprovázen celkovou inhibicí jejich růstu, kdežto ohyb stonků je doprovázen celkovou stimulaci růstu. To vše souvisí s rozdílnou citlivosti stonku a kořene na zvýšené koncentrace auxinu (viz. **obr. 2-7**). Další rozdíl je v lokalizaci amyloplastů. Pletiva stonku obsahují škrob po celé délce stonku (hlavně ve škrobové pochvě, která se nachází kolem vodivých pletiv rostoucího stonku) a proto gravitropická růstová reakce stonku probíhá ve stejných buňkách jako příjem gravitropického signálu. Naproti tomu u kořenů zóna prodlužování buněk je oddělena od statocytů soustředěných v kořenové čepičce. Mezi nimi se nachází pletivo, v kterém probíhá pouze dělení buněk. O to významnější roli hraje v kořenových vrcholech transport signálu do reagujícího pletiva. Po odstranění kořenové čepičky kořen ztrácí schopnost reagovat na gravitropický signál.



Obr. 2-14. Ve svislé poloze kořene polární tok auxinu ve stele postupuje do kořenové čepičky a odtud se rovnoměrně rozděluje v kůře prodlužovací zóny. Po otočení kořene do vodorovné polohy proudí více auxinu na spodní stranu a tam vzniká supraoptimální koncentrace auxinu; růst buněk v prodlužovací zóně je pak na této straně inhibován.

Tigmotropizmus je růst kolem překážek a vyskytuje se u popínavých rostlin.

Auxin je hlavním fytohormonem apikální dominance, tj. potlačení růstu úžlabních pupenů rostoucím vrcholovým pupenem. Ukazují to názorně pokusy s odstraněním vrcholu a jeho náhradou dodaným auxinem (viz kapitolu Organogeneze). Auxin z dominantního vrcholového pupenu inhibuje pod nim se nacházející úžlabní pupeny, aniž by do nich vstupoval. Inhibované úžlabní pupeny mají dokonce nižší koncentraci auxinu ve srovnání s rostoucími pupeny. Jedním z možných vysvětlení apikální dominance je působení auxinu přes atrakci živin a jiných fytohormonů do hlavního pupenu bohatého na auxin a proto také jejich nedostatek v úžlabních pupenech. Čím dál tím více se ukazuje, že růst pupenů závisí na intenzitě polárního transportu auxinu z těchto pupenů. Dodatečnou příčinou různého růstu pupenů může být i stimulační vliv transportu auxinu na diferenciaci vodivých pletiv spojujících rostoucí pupen se stonkem (viz. kap. Ontogeneze). Složitost jevu apikální dominance je dána také spoluúčastí ostatních fytohormonů. Zeslabení apikální dominance, ke kterému často dochází v průběhu ontogeneze, postupuje většinou shora a začíná tam, kde gradient auxinu podél stonku vykazuje nejvyšší hodnoty.

Auxin stimuluje diferenciaci vodivých pletiv. Tato diferenciace probíhá bazipetálně. Bezprostředně pod rostoucím pupenem se diferencuje prokambium a z něho vodivá pletiva. Odstranění pupenu bráni diferenciaci vodivých pletiv. Význam auxinu dokazuji pokusy s poraněním stonku, při kterém vodivá pletiva jsou přerušena. Je-li nad poraněním přítomen zdroj auxinu (rostoucí pupen nebo auxin nanesený na rostlinu) nastává diferenciace nových vodivých pletiv kolem rány (viz kap. Organogeneze).

Auxin stimuluje zakládání laterálních a adventivních kořenů v koncentracích až o několik řádů vyšších než jsou koncentrace optimální pro stimulaci prodlužování kořene. Tvorba adventivních kořenů v dolní části stonkových řízků souvisí s hromaděním auxinu při jeho polárním transportu. Indukce laterální rizogeneze zahrnuje indukci změn v diferencovaném pletivu, stimulaci buněčného dělení a dezintegraci pletiva, kterým nový kořínek musí prorůstat .

Auxin se účastní regulace buněčného cyklu a stimuluje dělení buněk. Tento účinek je zjevný v kulturách izolovaných tkání a buněk, kde působí v interakci s cytokininem. Auxin stimuluje růst kalusu. Při regeneraci rostlin podporuje růst kořenů (viz kapitola Organogeneze).

Auxin podporuje růst plodů. Auxin produkovaný v pylu, endospermu a embryu je prvotním signálem pro vývoj plodů. Tento signál vzniká pravděpodobně již po opylení a iniciuje růst vajíček a nasazení plodů. Růst plodů je závislý na produkci auxinu ve vyvíjejících se semenech. Plod, který transportuje nejvíc auxinu může potlačit růst ostatních plodů (dominance plodů).

KOMERČNÍ VYUŽITÍ

Auxiny (zejména syntetické) se využívají v zemědělství a zahradnictví již přes 50 let. Uplatňují se při zakořeňování řízků, při množení rostlin, indukci kvetení u ananásu, prevenci nebo indukci opadu plodů a indukci partenokarpních plodů. Velké uplatnění mají v biotechnologiích.

Auxin je tedy fytohormonem, který má zásadní význam pro organogenezi a utváření rostlin. Udržuje polaritu rostlin, ovlivňuje větvení nadzemních a podzemních části rostlin, reguluje prodlužování rostlin (negativně i pozitivně), účastní se tropizmů a reguluje organogenezi *in vitro* a vůbec má zásadní vliv při meziorganových komunikacích.

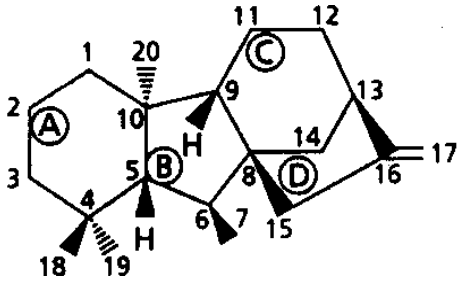
2.3. GIBERELINY

Objev giberelinů začíná studiem nemoci rýže, způsobené nižší houbou *Gibberella fujikuroi*. Nemoc spočívala v nadměrném prodlužování rostlin a nedostatečné tvorbě mechanických pletiv u napadené rostliny. V 30tých letech se japonským vědcům podařilo získat z této houby látku nazvanou giberellin A a B. Aktivní látka byla izolována a popsána v padesátých letech jako kyselina giberelová (*angl.* gibberellic acid, **GA**) a v roce 1958 byly gibereliny poprvé identifikovány u vyšších rostlin. Jejich účinek byl pak zkoušen na různých rostlinách v různých situacích. Záhy byla látka izolována i z vyšších rostlin. Objevy dalších giberelinů (dnes je jich známo přes 100) šly ruku v ruce se zdokonalováním analytických metod, hlavně s pokrokem přístrojové techniky, např. hmotové spektrometrie, která dovoluje rozpoznání malých množství a malých rozdílů v chemické struktuře. Gibereliny byly číslovány dolním indexem podle pořadí jejich objevování. Další pokrok umožnilo studium mutantů se závadami v biosyntéze giberelinů a identifikace genů, kódujících enzymy biosyntézy a dále studium jednotlivých enzymů biosyntézy.

CHARAKTERISTIKA (chemická struktura)

Gibereliny jsou tetracyklické diterpenoidy. Podmínkou aktivity je tetracyklický *ent*-giberelanový skelet a karboxylové skupiny v poloze 7 a 19 (**obr. 2-15**). Všechny gibereliny jsou slabé organické kyseliny málo rozpustné ve vodě. Liší se navzájem přítomností laktonového kruhu, počtem a polohou hydroxylových a karboxylových skupin. Dělí se podle počtu uhlíků na C20 a C19. Většina nalezených giberelinů jsou prekurzory aktivních giberelinů nebo produkty jejich inaktivace, některé jsou možná artefakty získané při analýzách. Jen některé gibereliny mají biologickou aktivitu. Nejvýznamnější z nich jsou GA_1,

GA_3, GA_4, GA_7. Přitom u vyšších rostlin převládá GA_1, zatímco u jednobuněčné *Gibberelly* převládá GA_3.



Obr. 2-15. Struktura *ent*-giberelanoveho skeletu, který se skládá ze čtyř cyklů – A,B,C,D.

BIOSYNTÉZA

Biosyntéza giberelinů může být rozdělena do tří etap (**obr. 2-16**):

1) cyklizace až po *ent*-kauren probíhá v chloroplastech a proplastidech, 2) biosyntetická dráha od *ent*-kaurenu až po aldehyd GA_{12} probíhá v endoplazmatickém retikulu. První dvě etapy jsou společné všem giberelinům. 3)Poslední etapa biosyntézy giberelinů se větví, zahrnuje přeměny giberelinů a probíhá v cytosolu.

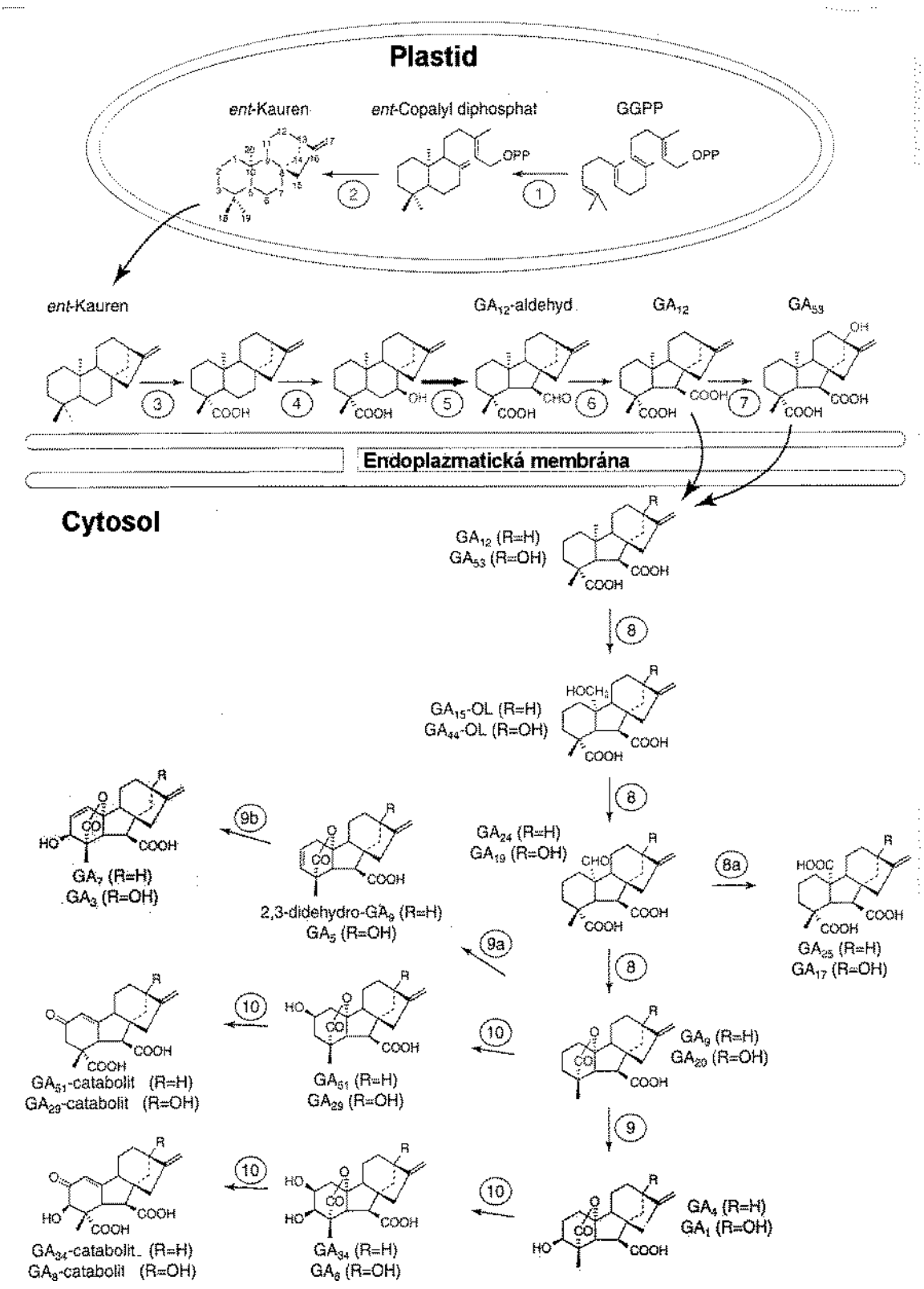
METABOLIZMUS

Gibereliny s různou chemickou strukturou mají různé účinky a tak jejich regulační funkce závisí nejen na jejich biosyntéze a inaktivaci (konjugací nebo degradací), ale i na **přeměnách**. Důležitými enzymy přeměn giberelinů jsou GA20 oxidasy a 3β-hydroxylasy. Některé enzymy jsou polyfunkční, tj. katalysují více reakcí. Zároveň ale jsou některé enzymy polygenní, t. j. stejný enzym není produkován stejným genem, ale skupinou genů, z nichž každý může být poněkud jinak regulován (např. různě v různých pletivech). Vnější signály ovlivňují jednotlivé kroky biosyntézy a metabolizmu giberelinů. Jsou to zejména světlo, fotoperioda a teplota (viz. kap. Ontogeneze II).

Inaktivace giberelinů nastává nejčastěji po hydroxylaci v poloze 2. Druhým způsobem inaktivace, který rostliny používají pro regulaci hladiny giberelinů je reverzibilní konjugace s cukry.

TRANSPORT

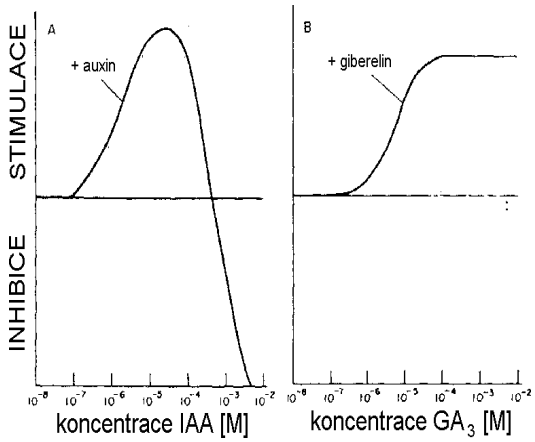
Gibereliny se syntetizují v místech aktivního růstu, především v pupenech, mladých listech, v semenech. Odtud se transportují do celé rostliny floémem ve formě aktivní, neaktivní nebo ve formě konjugované.



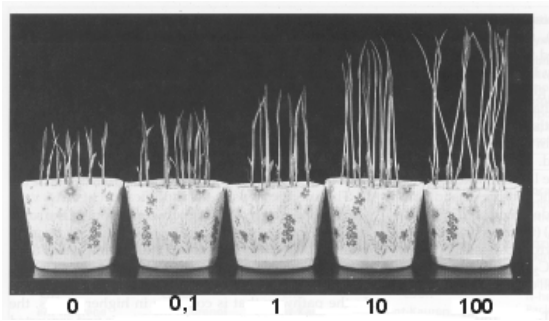
Obr. 2-16. Hlavní cesty biosyntézy a metabolizmu giberelinů u vyšších rostlin. Enzymy *ent*-copalyldifosfatsyntasa (1) a *ent*-kaurensyntasa (2) se nachází v plastidech. Dalších pět enzymů biosyntézy (3) – (7) až na GA_{12} a GA_{53} se nachází ve vnitrobuněčných membránách. V cytosolu se nachází GA 20-oxidasa (8) a GA 3β-hydroxylasa (9), které katalyzují biosyntézu aktivních giberelinů. V cytosolu se nachází také GA 2-oxidasa, která inaktivuje gibereliny (10).

FYZIOLOGICKÉ ÚČINKY

Prodlužovací růst stonku vyvolaný giberelinem na rozdíl od auxinu se projevuje i bez dekapitace, tj. na celistvých rostlinách, při všech koncentracích (**obr. 2-17, obr. 2-18**) a bývá značný, např. u rýže až 25cm za den. Stimulace prodlužování nastává u všech nadzemních orgánů, u kterých ještě není ukončen prodlužovací růst. Růst kořenů je přitom většinou inhibován. Stimulace prodlužovacího růstu je podobně jako u auxinů spojena s okyselením buněčné stěny, se zvýšením její roztažnosti a s aktivitou enzymu xyloglukanendotransglykolasy (XET). Tento enzym hydrolyzuje xyloglukan, mění orientaci molekul v buněčné stěně a umožňuje penetraci expansinů do buněčné stěny a její růst. Při regulaci prodlužovacího růstu spolupracují IAA a GA tak, že IAA reguluje některé pozdější kroky biosyntézy GA. .



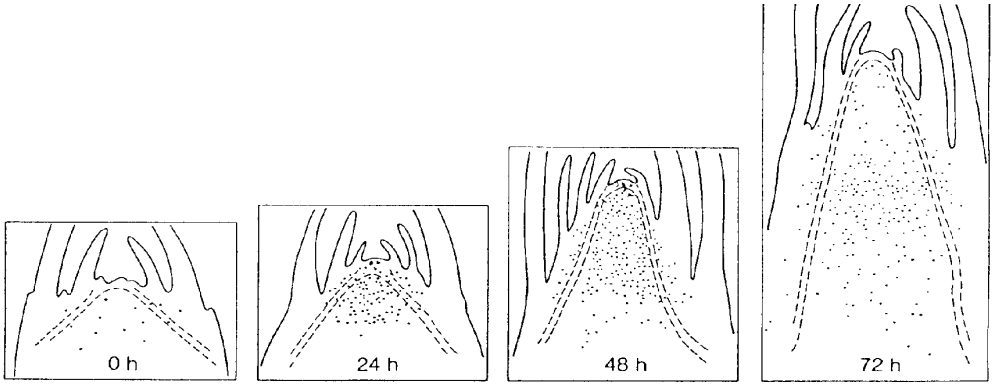
Obr. 2-17. Typické koncentrační křivky prodlužování nadzemních orgánů po auxinu (A) a giberelinu (B)



Obr. 2-18. Prodlužování semenáčků rýže po aplikaci různého množství giberelinu. Množství giberelinu v roztoku, kterým byly ošetřeny semenáčky, ukazují čísla v dolní části obrázku.

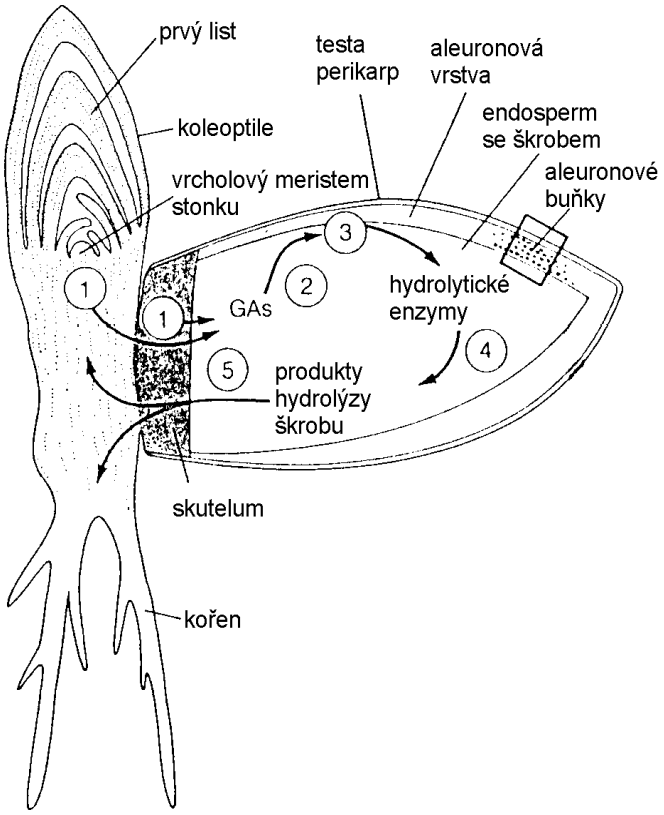
Gibereliny vyvolávají vybíhání stonku a přechod do reproduktivní fáze (**obr. 2-19**). U rostlin s růžicovitým vegetativním růstem giberelin vyvolává prodlužování stonku a může následovně vyvolat kvetení. Gibereliny jsou jedinou skupinou fytohormonů, které mohou nahradit fotoperiodickou květní indukci. Týká se to skupiny dlouhodenních rostlin se zkráceným stonkem ve vegetativní fázi (viz kapitolu 12). Prodlužování stonku začíná buněčným dělením v subapikální oblasti vrcholového meristému stonku (**obr. 2-20**). Dělení buněk je orientováno téměř výlučně směrem, který přispívá k prodlužování stonku. Za dělením buněk postupuje jejich prodlužování. Směr růstu a dělení buněk souvisí s působením giberelinu na uspořádání mikrotubulů: je kolmé na směr růstu.

Obr. 2-19. *Brassica oleracea*, var. *capitata* ve vegetativní fázi a kvetoucí po ošetření giberelinem



Obr. 2-20. Postupné přibývání mitóz a prodlužování subapikální části stonku po dodání giberelinu rostlinám blínu ve fázi přízemní růžice listů. Každá tečka zobrazuje mitózu.

Působení giberelinů při klíčení obilek (**obr. 2-21**) je velmi dobře prostudovaný proces. Zdrojem giberelinů v obilce je embryo, které hromadí dostatečnou zásobu vázaných giberelinů během svého vývoje na mateřské rostlině. V prvních fázích klíčení nastává transport uvolněných giberelinů z embrya do vrstvy aleuronových buněk, která se nachází mezi endospermem a obaly obilky. Tam giberelin indukuje produkci enzymů, mobilizujících zásobní látky, potřebné pro růst klíční rostliny. Nejdůležitější je produkce α-amylázy, která se vylučuje do endospermu a tam hydrolyzuje škrob. Cukr je pak transportován do embrya. Odstranění embrya (tj. zdroje giberelinů) před klíčením a náhrada odstraněného embrya dodaným giberelinem umožňuje studovat experimentálně celý sled dějů indukce tvorby α-amylázy giberelinem v buňkách aleuronové vrstvy: expresi skupiny genů pro α-amylázu, transkripci mRNA, translaci a opracování prekursoru na aktivní enzym α-amylázu. Celý tento proces trvá několik hodin. Část produkce enzymu se může kontrolovaně provádět *in vitro*, s izolovanou DNA, ale giberelin musí být předtím dodán živým aleuronovým buňkám. Giberelin patrně nemůže působit přímo na jadernou DNA, ale až po reakci s nějakou regulační bílkovinou z cytoplazmy.



Obr. 2-21. Sled dějů při regulaci klíčení obilky giberelinem

KOMERČNÍ VYUŽITÍ

Gibereliny se využívají pro stimulaci růstu plodů, při úpravě morfologie plodů (hroznové víno, jablka), pro zkrácení juvenilní periody u konifer, ve šlechtitelském procesu pro zkrácení vegetační doby u dvouletých rostlin. Byla vyvinuta řada inhibitorů biosyntézy giberelinu, které se používají proti nežádoucímu prodlužování v okrasném zahradnictví, při výrobě trávníkových koberců, proti poléhání a při úpravách struktury parkových porostů.

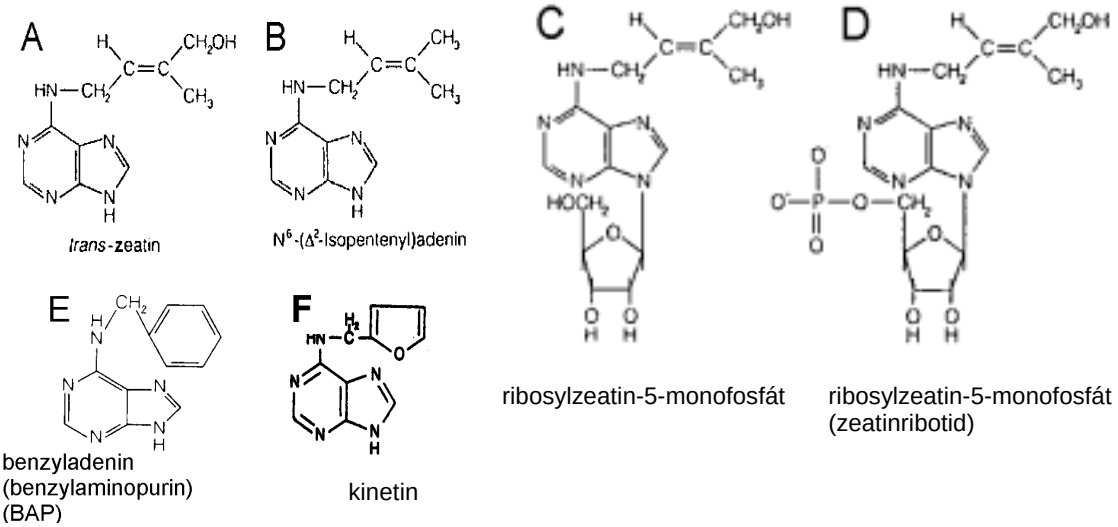
Gibereliny jsou skupinou fytohormonů, které mají mnoho funkcí v regulaci ontogeneze. Ovlivňují klíčení semen, nástup kvetení, podílí se při determinaci pohlaví, regulují vývoj plodů (viz Kapitoly 12 a 13).

2.4. CYTOKININY

Objev cytokininů byl vyvolán velkým rozvojem studia tkáňových kultur a potřebou najít náhradu za kokosové mléko používané ve 30tých letech 20.století v tkáňových kulturách rostlin pro iniciaci buněčného dělení. V roce 1950 F. Skoog zjistil, že autoklávovaná DNA z rybího spermatu má pozitivní vliv na dělení buněk v kulturách *in vitro*. Aktivní látkou byl produkt tepelného rozkladu DNA, derivát adeninu, kinetin. Zjistilo se, že podobné deriváty adeninu jsou přirozenými látkami v rostlinách. Tyto látky byly nazvány cytokininy. Po několika letech byl v Austrálii z extraktu nevyvinutého endospermu kukuřice extrahován a identifikován **zeatin**.

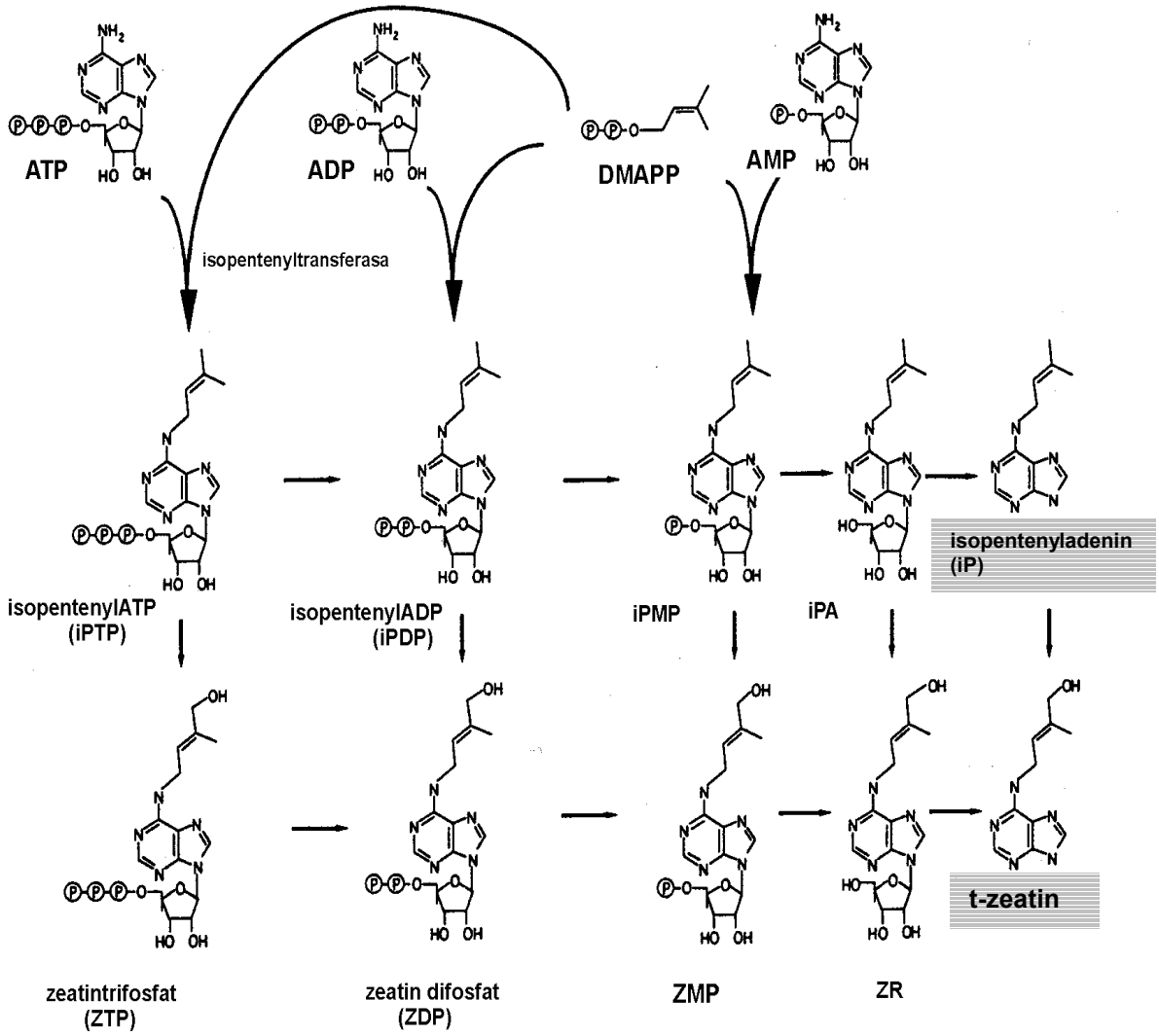
CHARAKTERISTIKA (chemická struktura)

Nejrozšířenější přirozený cytokinin je zeatin . Přirozené cytokininy jsou deriváty adeninu se substitucí v poloze N^6 a s dvojnou vazbou na postranním řetězci (**obr. 2-22**). Cytokininy mohou se vázat s cukrem ribosou na ribosidy (**obr. 2-22C**), které se dále mohou fosforylovat na ribotidy (**obr. 2-22D**) a mohou se také konjugovat s glukosou na glukosidy. Vázané cytokininy mají podstatně nižší cytokininovou aktivitu než volné. Nejpoužívanějším syntetickým cytokininem je benzylaminopurin (BAP) (**obr. 2-22E**).



BIOSYNTÉZA

Vychází z adeninmonofosfatu (AMP) u mikroorganizmů (*Agrobacterium tumefaciens*) a z adenindifosfatu (ADP) nebo adenintrifosfatu (ATP) u vyšších rostlin (*Arabidopsis thaliana*). Enzym isopentenyltransferasa katalyzuje připojení isopentenylu za vzniku isopentenyladeninu, který je dále metabolizován na aktivní cytokininy isopentenyladenin a zeatin (**obr. 2-23**).

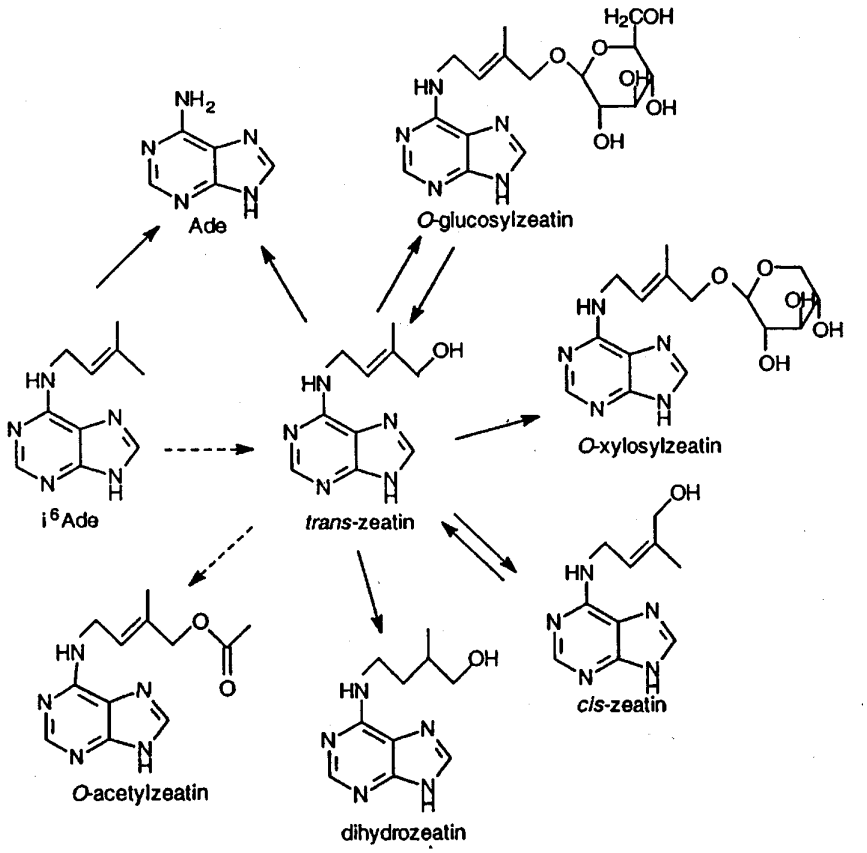


Obr. 2-23. Model biosyntézy cytokininů. Klíčovou reakcí u mikroorganizmů je připojení fosforylovaného isopentenylového řetězce (DMAPP) na adeninmonofosfat (AMP), kdežto u vyšších rostlin je klíčovou reakci připojení DMAPP na adenindifosfat (ADP) nebo adenintrifosfat (ATP). Odštěpením fosfátu a ribosy vzniknou aktivní cytokininy isopentenyladenin (iP) a *t*-zeatin.

METABOLIZMUS

Metabolismus cytokininů zahrnuje biosyntézu, reverzibilní přeměny postranních řetězců a reverzibilní tvorbu ribosidů a ribotidů. Tímto způsobem vzniká několik desítek více či méně aktivních cytokininů (**obr. 2-24**)

Ireverzibiní inaktivace cytokininů se děje pomocí oxidas cytokininů (s uvolněním adeninu) nebo glykosylací na purinovém jádru. Metabolismus cytokininů velmi citlivě reaguje na vnější signály, např. na světlo.



Obr. 2-24. Některé přeměny cytokininů: modifikace postranního řetězce. U většiny těchto přeměn jsou dnes známy enzymy (plné šipky).

TRANSPORT

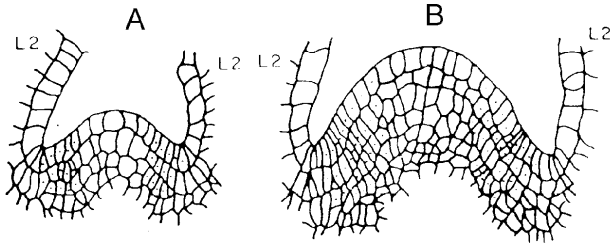
Za hlavní místo biosyntézy cytokininů jsou považovány kořenové vrcholy. Odtud se cytokininy transportují xylemem a floemem do jiných částí rostliny (ale syntetický cytokinin BAP, dodaný zvenčí, je v rostlině málo pohyblivý). Zdrojem přirozeného cytokininu mohou být nejen kořeny, ale i vyvíjející se embrya a pupeny, distribuce a působení je pak spíše lokální. Cytokininy se vyskytují ve zvýšeném množství v rostoucích nadzemních orgánech, především v pupenech. Hromadí se rovněž v semenech.

Pozoruhodná je schopnost kultur některých tkání, pocházejících z nadzemních orgánů "naučit se " syntetizovat vlastní cytokinin a stát se nezávislými na přidání cytokininu do živné půdy. Tomuto jevu se říká **habituace**. U habituovaných kultur probíhá v přítomnosti auxinu dělení buněk i bez přidání cytokininů do živného media.

FYZIOLOGICKÉ ÚČINKY

Cytokininy stimulují buněčné dělení. Aktivují geny buněčného cyklu při přechodu z fáze G2 do mitozy a regulují také (spolu s auxinem) přechod z G2 do fáze replikace DNA neboli syntetické fáze buněčného cyklu. Cytokininy stimulují buněčného dělení nejen při dodání do tkáňových a buněčných kultur, ale i v celistvé rostlině. Dodaný cytokinin může

např. zrychlit buněčné cykly ve vrcholu stonku a stimulovat organogenezi (**obr. 2-25**). V některých pletivech (v dělohách) cytokininy **stimulují objemový růst buněk.**



Obr. 2-25. Růst vrcholu stonku *Chenopodium rubrum* po dodání cytokininu kinetinu (1.10^{-4} M) na vrcholový pupen rostliny (**B**) ve srovnání s kontrolou (**A**).

Cytokininy snižují apikální dominanci. Mohou probudit spící úžlabní pupeny nebo urychlit růst v nepříliš aktivních pupenech. Cytokinin zvyšuje v buňkách pupenu transport iontů. Zvyšuje také množství auxinu v pupenech. Mobilizace sinků za součinnosti obou těchto fytohormonů znamená větší přísun živin a dalších regulačních látek do pupenů a podporuje růst pupenů.

Interakce cytokininu s auxinem v tkáňových kulturách umožňuje regeneraci celých rostlin z izolovaných částí (viz kapitolu Organogeneze). Supraoptimální množství cytokininu (tj. zvýšený poměr cytokinin/auxin v živné půdě) vyvolává překotnou regeneraci pupenů a brání tvorbě kořenových vrcholů.

Cytokininy zpomalují degradaci bílkovin a destrukci chloroplastů. Prodlužují životnost chloroplastů a oddalují stárnutí listů (**obr. 2-26**). Účinek světla a cytokininu je často podobný: pozitivně regulují genovou expresi a aktivují proteosyntézu. Aktivují mimo jiné enzym nitratreduktasu a tím **zvyšují příjem a využití dusíku z půdy.**

Cytokininy v nadměrném množství zpomaluji ontogenezi a oddalují stárnutí celých rostlin. Mutanti s nadprodukcí cytokininů (po vnesení bakteriálního genu pro isopentenyltransferasu z *Agrobakterium tumefaciens*) mají tmavší zelenou barvu a zpomalenou senescenci listů, mají opožděné kvetení a senescenci celých rostlin. Mají také redukovanou apikální dominanci, zvýšenou tvorbu listů, zkrácená internodia a redukovaný růst kořenů.

Obr. 2-26. Genetickými manipulacemi lze v rostlině zvýšit produkci cytokininů a tím oddálit stárnutí listů a přechod ke kvetení a vyvolat nadměrné větvení. A – Vegetativně rostoucí tabák s funkčními zelenými listy ve srovnání s kontrolou, která kvete a její listy již odumírají. B – Abnormální větvení a setrvávání ve vegetativním stavu u petunie ve srovnání s kontrolní kvetoucí rostlinou

KOMERČNÍ VYUŽITÍ

je především v biotechnologiích při množení rostlinného materiálu. Jsou činěny pokusy použít syntetický cytokinin pro snížení potřeby dusíku v půdě.

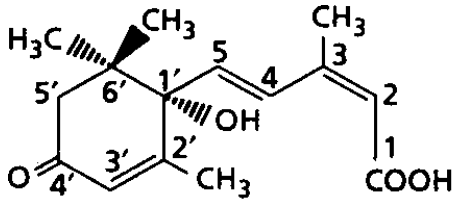
Cytokininy jsou důležité pro hormonální regulaci dělení buněk v tkáňových a buněčných kulturách, ale i ve vrcholech stonku u celistvých rostlin. Snižují apikální dominanci a spolu s auxinem umožňují regeneraci rostlin v tkáňových kulturách. Podporují vegetativní růst, zpomalují ontogenezi a stárnutí

2.4. ABSCISOVÁ KYSELINA

Látky způsobující dormanci semen a pupenů byly známy již v době vrcholícího studia auxinu ale až chromatografické metody v 50tých letech umožnily identifikaci látky zodpovědné za inhibice. Název abscisová kyselina vznikl chybnou interpretací opadu (abscise) listů, o němž se dnes již ví, že je vyvolán etylénem. Znalosti o tomto fytohormonu se od té doby značně rozšířily a zahrnují zejména reakce, spjaté s odolností rostlin vůči nepříznivým faktorům. Obsah abscisové kyseliny v pletivech výrazně (až o 1-2 řády) stoupá při nedostatku vody, zasolení, chladu, poranění, infekci. Je proto považována za fytohormon signalizující stres. Druhou významnou oblastí působení ABA je její účast v embryogenezi.

CHARAKTERISTIKA (chemická struktura)

Identifikovaná v mnohých rostlinných orgánech, které mají chloroplasty nebo amyloplasty. Kyselina abscisová (*angl*. abscisic acid, **ABA**) má asymeterický uhlík v poloze 1', který umožňuje výskyt ve dvou enantiomerních formách: S (+) a R (-). Přirozeně se v rostlinách vyskytuje forma S ve dvou konformačních izomérech: *cis* a *trans*, které mohou do sebe navzájem přecházet, ale fyziologicky aktivní je pouze *cis*- izomer.



Obr.2-27. (S)-*cis*- ABA – přirozeně se vyskytující aktivní forma ABA

BIOSYNTÉZA

Prekursorem biosyntézy ABA u vyšších rostlin jsou terpenoidy. Část biosyntetické cesty je společná s karotenoidy a také s xantofyly.

METABOLIZMUS

Inaktivace ABA se děje buď oxidací nebo reverzibilní konjugací s cukrem na glukosylester. Konjugovaná ABA je zásobní formou. Je uložena obvykle ve vakuole a připravena jako mobilizovatelná rezerva.

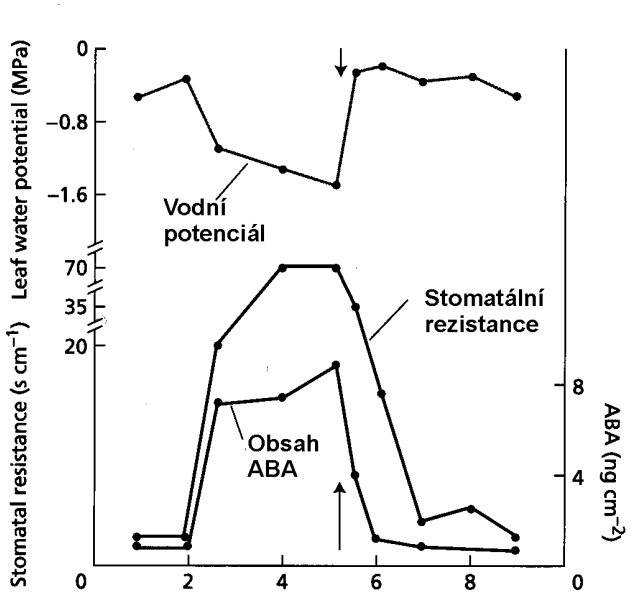
TRANSPORT

ABA je syntetizovaná v kořenech, hlavně při nedostatku vody v půdě. Zdrojem ABA v kořenech jsou především kořenové špičky. ABA je pravděpodobně produkována také všemi orgány rostliny, které trpí vodním stresem. Soudí se, že místem její biosyntézy v zelených částech rostliny jsou plastidy.

Transportuje se xylémem a hlavně floémem všemi směry, pohyb v buňkách je závislý na pH buněčných struktur. Cílovými buňkami jsou např. buňky průduchů, které velmi citlivě reagují i na malé změny koncentrace ABA. Hromadí se ve velkých množstvích ve zrajících semenech.

FYZIOLOGICKÉ ÚČINKY

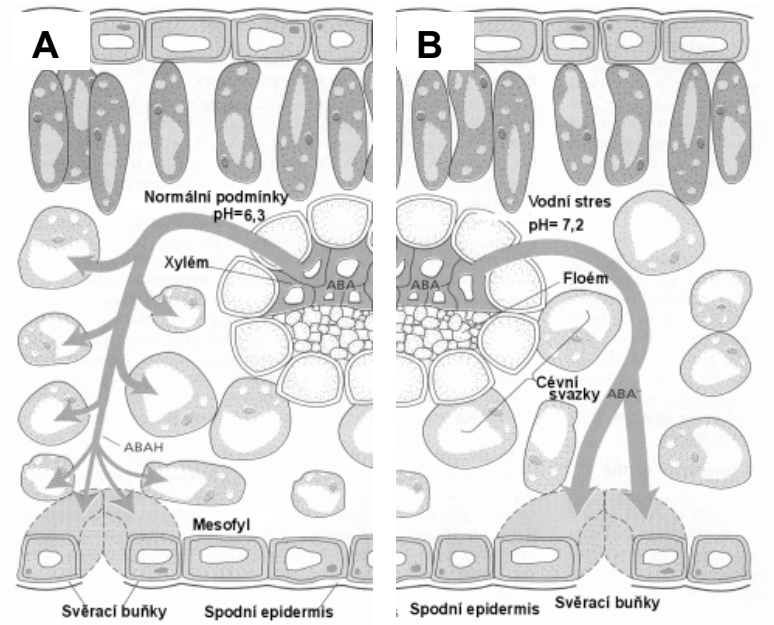
ABA snižuje transpiraci při nedostatku vody. Při nedostatku vody v půdě stoupá biosyntéza ABA v kořenech a zvyšuje se její transport xylémem do rostliny. Příjemcem signálu o nedostatku vody v rostlině a o nutnosti omezit její výdej jsou svěrací buňky průduchů. Účinek ABA v těchto buňkách spočívá ve zvýšení výtoku draslíkových iontů a tím v redukci turgoru a v zavírání průduchů (**obr. 2-28**). To vše je důsledkem vyvolaných změn v propustnosti iontových kanálů v plazmatické membráně a v tonoplastu. Tyto změny zahrnuji složitý program otevíraní a zavírání kanálů pro Cl^-, Ca^{2+} a K^+.



Obr. 2-28. Změny ve vodním potenciálu, stomatální resistanci a obsahu ABA u kukuřice v závislosti na vodním stresu. Zalévání bylo přerušeno na začátku pokusu a obnoveno v době označené šipkou v obrázku.

Průduchy reagují velmi citlivě na signál ABA. Zavírají se již po několika minutách zvýšení ABA, proto k zavírání průduchů a ke snížení transpirace dochází dříve, než rostliny začínají vadnout. Když se obnoví zásobení rostlin vodou, normalizuje se v nich obsah ABA v průběhu několika hodin. Reakce průduchů na odstranění nadbytku ABA pak může odeznít po dalších 20-30 minutách. Mutantům s poruchou biosyntézy ABA chybí regulace zavírání průduchů. Vadnou již při relativní vlhkosti, kterou normální rostliny vnímají jako dostatečnou.

ABA zvyšuje alkalitu buněk a akumuluje se v alkalickém prostředí. Zvýšení alkality je rovněž signálem pro zavírání průduchů. Působení ABA v listovém pletivu znázorňuje **obr. 2-29.**

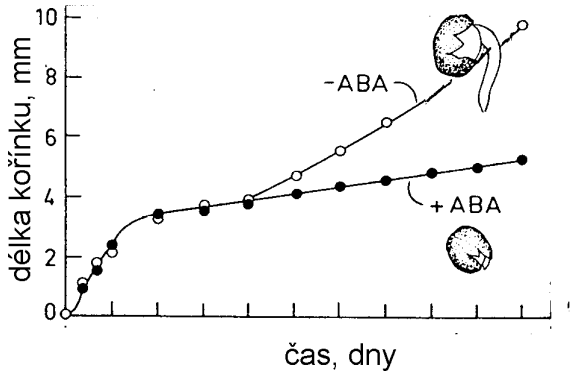


Obr. 2-29. ABA z transpiračního proudu je metabolizovaná v mezofylových buňkách listů (A). Při vodním stresu se zvyšuje pH v xylému, tato alkalizace podporuje disociaci ABA a snižuje možnost průniku plazmatickou membránou. Proto se méně ABA ztratí po cestě mezofylovým pletivem a větší množství ABA se dostane do buněk průduchů (B), kde způsobí jejich zavření.

ABA zvyšuje odolnost cytoplazmy vůči ztrátě vody při dlouhodobém suchu, a také **při zasolení, chladu, či jiném poškození**. Je to následek její působení na genovou expresi, při níž se indukuje biosyntéza nových druhů proteinů. Jsou to menší velmi hydrofilní a termostabilní bílkovinné molekuly. Jejich funkce spočívá v ochraně životně důležitých proteinů (vážou se na ně) a v udržování struktury a životaschopnosti cytoplazmatických membrán. Odolnost vůči dlouho trvajícímu suchu či jiným dlouhodobým stresům pak zajišťují tyto specializované proteiny se stabilizační funkcí, nikoliv už jen samotná přítomnost ABA.

ABA stimuluje růst laterálních kořenů a tím podporuje tvorbu mohutnější kořenové soustavy. Zároveň ABA inhibuje růst nadzemní části rostliny. V tom je účinek ABA opačný než účinek giberelinu. Tento účinek ABA patří rovněž do syndromu reakcí rostliny na nedostatek vody.

ABA se účastní regulace embryogeneze a zrání semen, kdy ztráta vody je nejen tolerována, ale je součástí vývoje semene a embrya. Hromadění ABA ve zrajících semenech předchází dehydrataci semen. V této fázi ABA v nich indukuje tvorbu malých hydrofilních proteinů LEA (Late Embryogenesis), které mají v buňce stabilizační funkci. **ABA indukuje také biosyntézu zásobních proteinů v semeni.**



Obr. 2-30 Inhibice klíčení bobu po přidání kys. abscisové.

ABA indukuje dormanci semen a pupenů. Mutanti s poruchou biosyntézy ABA mají porušenou dormanci semen, projevující se jako "viviparie", tj. klíčení na mateřské rostlině. Dormance semen často koreluje se zvýšeným obsahem ABA. Ošetření semen touto látkou inhibuje klíčení (**obr. 2-30**). Dodání ABA působí inhibičně na celý proces indukce klíčení giberelinem, tj. na transkripci a syntézu α-amylázy a rovněž na její sekreci z aleuronových buněk do endospermu. Pomocí dodané abscisové kyseliny je možné zesílit dormanci u bramborových hlíz.

ABA se spoluúčastní regulace stárnutí a opadu (abscission) listů a květů. Odtud pochází její název. Auxin a etylén mají v těchto procesech primární roli, účinek ABA spočívá ve zvýšení biosyntézy etylénu.

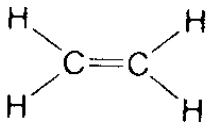
ABA je významným hormonem v **embryogenezi a dormanci.** Pozitivní a negativní regulace genové exprese na jedné straně a **regulace transpirace** na straně druhé jsou základem fyziologických reakcí růstu a vývoje při kolísání hladin ABA.

2.5. ETYLÉN

Již v 19. století se o etylénu vědělo, že má vliv na růst, na opad listu a na zrání plodů. V roce 1910 Cousin zjistil, že etylén je přirozeným produktem rostlin, který je vylučován ve velkých množstvích zrajícími plody. V roce 1934 byl etylén chemicky identifikován a už tehdy se o něm uvažovalo jako o hormonální látce. Nicméně v té době se soudilo, že rostliny mají jen jediný hormon, auxin, odpovědný za všechny regulace v rostlině. Uznání etylénu jako fytohormonu přišlo s poznáním jeho biosyntézy a mechanizmu účinku.

CHARAKTERISTIKA (chemická struktura)

Etylén je plynný uhlovodík produkovaný téměř všemi částmi rostlin, avšak nejproduktivnější jsou rostoucí časti rostlin. Výrazný nárůst produkce etylénu nastává během zrání plodů, stárnutí a opadu plodů a květů. Při stresu nebo poranění dochází v průběhu půl hodiny až k několikanásobnému nárůstu produkce etylénu. Biologicky aktivní je i v malých koncentracích.



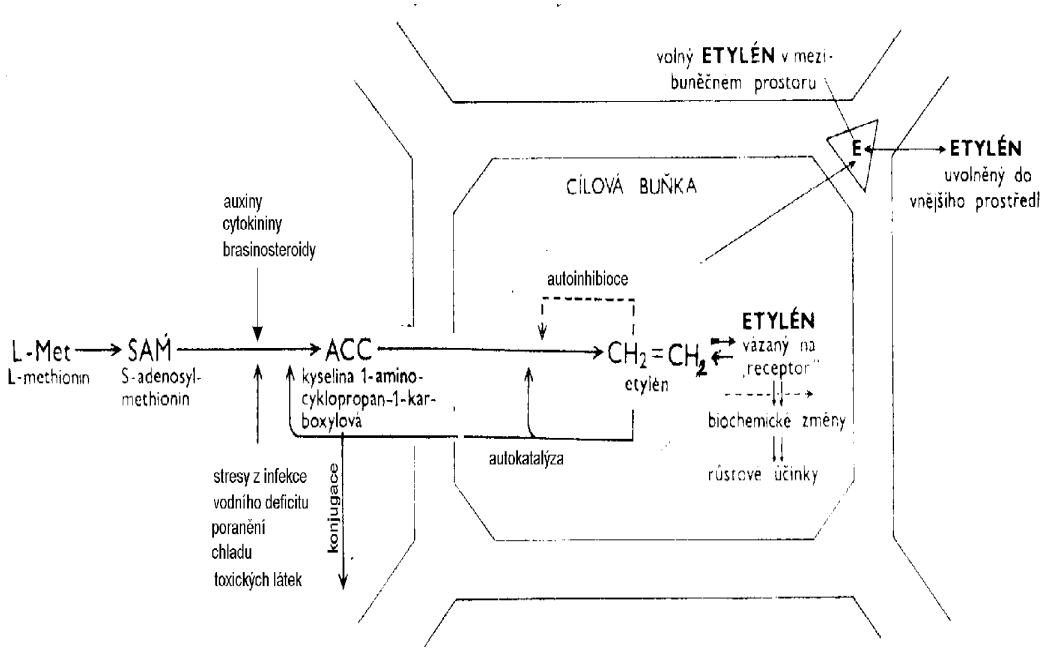
Obr. 2-31. Etylén

BIOSYNTÉZA A METABOLIZMUS

Biosyntéza u vyšších rostlin a u většiny nižších rostlin vychází z aminokyseliny L-methioninu. Prvním meziproduktem je S-adenosylmethionin (SAM), který je dále přeměněn na kyselinu 1-aminocyklopropan-1-karboxylovou (ACC). ACC je oxidována za vzniku etylénu, CO_2 a HCN (**obr. 2-32**). Tvorba etylénu podléhá regulacím, např. biosyntéza ACC je regulováná auxiny, cytokininy, brasinosteroidy, zvyšuje se při stresech, poranění a působení toxických látek. Přeměna ACC na etylén podléhá pozitivní zpětněvazebné regulaci, tj. zvýšené množství etylénu stimuluje produkci etylénu.

TRANSPORT

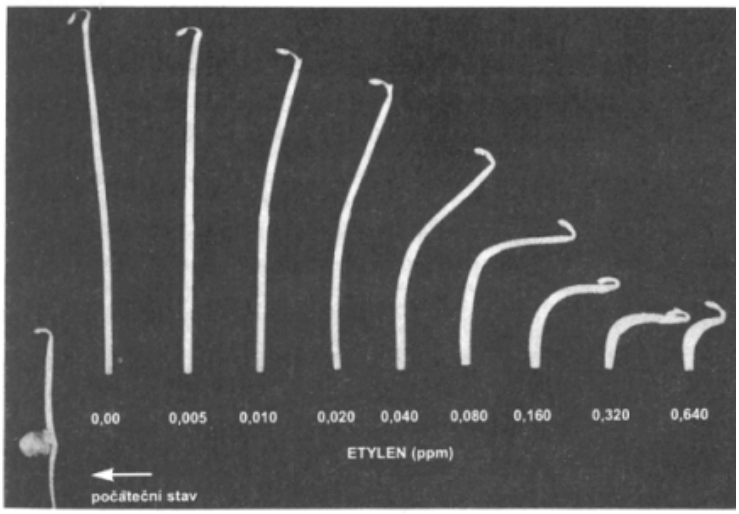
V rostlině se transportuje prekurzor etylénu, ACC, a ten může konjugovat a z konjugátu zase uvolňovat, zatím co většina etylénu difunduje z buňky do mezibuněčných prostorů a dále průduchy do atmosféry. Jen malá část se váže v buňce. Biologický účinek etylénu je dán vazbou etylénu v buněčných strukturách.



Obr. 2-32. Biosyntéza a metabolismus etylénu v buňce

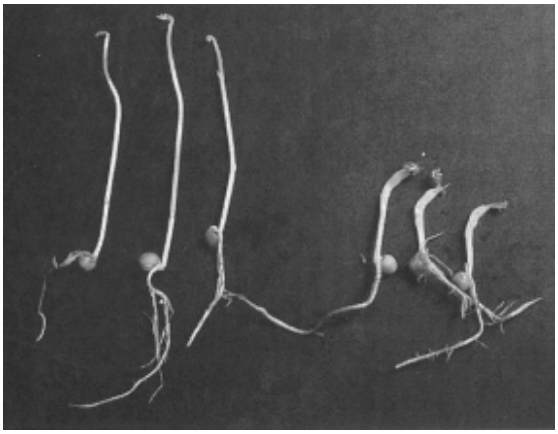
FYZIOLOGICKÉ UČINKY

Charakteristická pro etylén je tzv. trojí reakce (*angl.* triple response): inhibice prodlužovacího růstu, stimulace radiálního růstu a porucha gravitropické reakce (**obr. 2-33**).

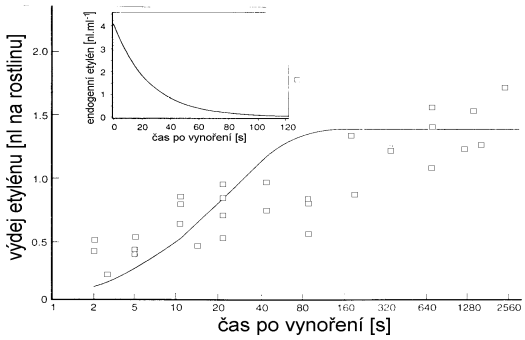


Obr. 2-33. Projevy "trojí reakce" při zvyšující se koncentraci etylénu. Vlevo dole kontrolní rostlina.

Etylén inhibuje dlouživý růst stonku a podporuje jeho růst do šířky (**obr. 2-34**). Změna směru růstu souvisí se změnou uspořádání mikrotubulů a mikrofibril celulózy. S tímto účinkem souvisí také podpora laterální organogeneze, např. odnožování obilovin, tj. typické snížení apikální dominance.



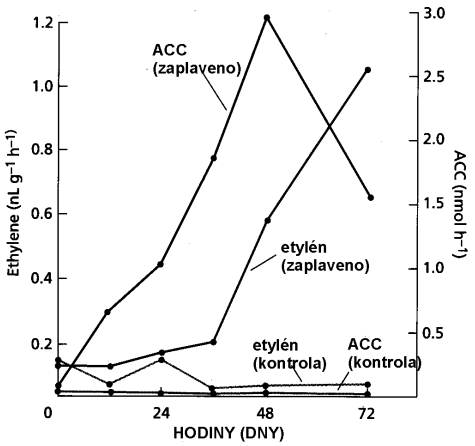
Obr. 2-34. Zkrácení a tloustnutí stonku u hrachu etylénem v porovnání s kontrolou (pokus na etiolovaných rostlinách).



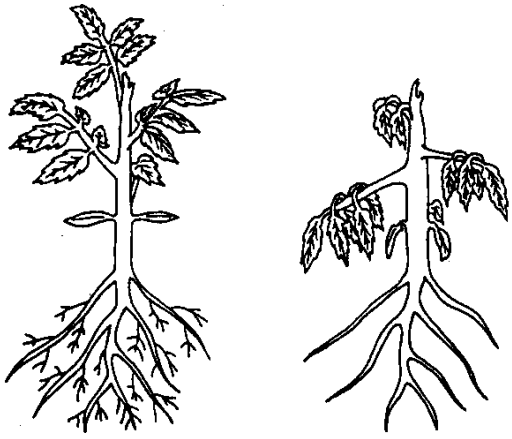
Obr. 2-35. Průběh uvolňování etylénu po vytažení vodní rostliny na vzduch (nahoře vlevo měření v rostlině, dole měření v okolním vzduchu.

Naproti tomu u vodních rostlin etylén stimuluje dlouživý růst stonků pod vodou (**obr. 2-35**). Hydrofobní etylén totiž nemůže unikat do vody a proto se hromadí v rostlině ve velkém množství. Teprve když vynese stonek své listy nad vodu a etylén může unikat do ovzduší, prodlužovací růst se zastaví.

Etylén vyvolává epinastie. V případě zaplavení nebo v anearobních podmínkách v kořenové zóně se zvyšuje syntéza etylénu v prýtu (**obr. 2-36**), která vede k epinastii, horní (adaxialní) strana listů roste rychleji než spodní (abaxialní) strana (**obr. 2-37**). Při zaplavení rostliny je z kořenů transportován xylémem prekurzor etylénu (ACC) ve zvýšeném množství. U submersních rostlin, běžně vystavovaných zaplavení, etylén v stoncích indukuje hydrolytické enzymy, které narušují buněčné stěny a umožňují lepší provzdušnění celé rostliny.

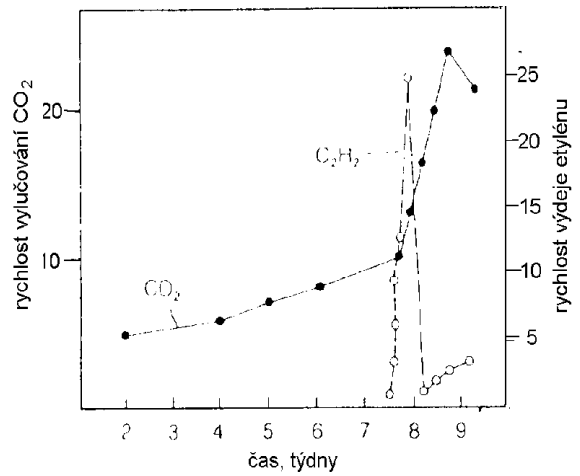


Obr. 2-36 Změny koncentrace ACC a etylénu v petiole rajčete po zaplavení.



Obr. 2-37 Vlevo normální rostlina, vpravo epinastie způsobená etylénem po zaplavení rostliny.

Etylén se účastní procesů stárnutí. Tvoří se velkém množství při **zrání klimakterických plodů** (**obr. 2-38**). Jako plyn uniká do ovzduší a jeho přítomnost dokáže mnohonásobně zvýšit produkci etylénu v rostlinných buňkách, kde vyvolává genovou expresi pro tvorbu hydrolytických enzymů, které dezintegrují buněčné stěny. Podobný je mechanizmus působení etylénu při **stárnutí, opadu listů, květů a plodů** (viz. kap. 13 Ontogeneze III).



Obr. 2-38. Změny ve výdeji CO_2 a v produkci etylénu při zrání banánů.

Klimakterické plody jsou, např.
rajčata
jablka,
hrušky
broskve
olivy
mango.

Etylén podobně jako ABA signalizuje fyziologický stres a vyvolává ochranné reakce proti stresům. Tvoří se ve větším množství při výkyvech teploty, při nedostatku kyslíku, vody, při poranění nebo při infekci. Objevuje se při hojení ran, při vzniku rezistence a při takovém růstu, který napomáhá uniknout ze stresu.

Etylén reguluje **zrání plodů** a **stárnutí rostlin**. Ve velkých množstvích se tvoří při **fyziologickém stresu** (zaplavení, poranění), kde vyvolává obranné reakce. Ovlivňuje **utváření anatomické a morfologické struktury**.

2.6. JINÉ PŘIROZENÉ LÁTKY REGULUJÍCI RŮST ROSTLIN

Mnoho produktů metabolismu v rostlinách má vlastnosti regulátorů růstu a vývoje se stimulačními nebo inhibičními účinky. Uvádíme nejvýznamnější z nich, které se již řadí mezi fytohormony.

Brassinosteroidy jsou steroidní látky, které stimulují růst (dělení a růst buněk). Jsou hojně zastoupeny v plodech, v pylu, ale také v rostoucích vegetativních orgánech. Interagují s fytohormony při vyvolávání fyziologických reakcí růstu, např. zvyšují množství IAA a snižují množství ABA v rostlinách.

Jasmonová kyselina inhibuje klíčení a růst, účastní se senescence, zavírání průduchů a indukce tuberizace. Podobně jako ABA některé geny vypíná a indukuje transkripci některých genů a reguluje biosyntézu enzymů, které se účastní metabolismu polysacharidů buněčné stěny. Obsah jasmínové kyseliny v rostlině stoupá během stárnutí a při stresu.

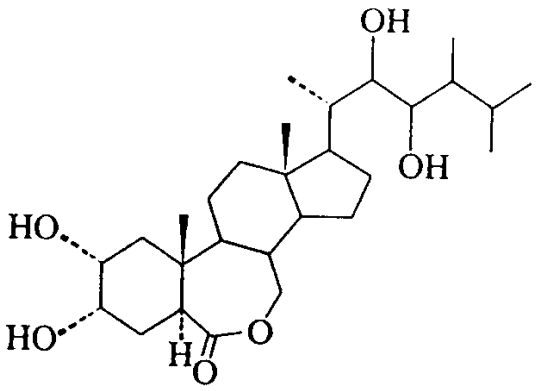
Polyaminy jsou hojně zastoupeny v rostlinách, hlavně tam, kde se odehrává buněčné dělení. Stimulují klíčení, růst klíčních rostlin, růst kalusu, květní diferenciaci, tuberizaci apod. Obsah polyaminů stoupá při aktivaci růstu a při stresu. Předpokládá se, že jejich fyziologická funkce spočívá ve vazbě na regulační bílkoviny, ve změně transportních vlastností membrán, možná též představují zdroj dusíku. Mají protisenescenční účinky.

POLYAMINY

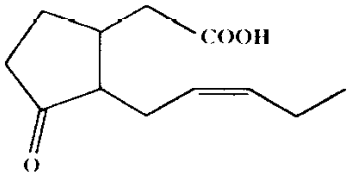
putrescin $H_3\overset{+}{N}\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}\overset{+}{N}H_3$

spermidin $H_3\overset{+}{N}\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}\overset{+}{N}H_2\text{-}CH_2\ CH_2\text{-}CH_2\text{-}\overset{+}{N}H_3$

spermin $H_3\overset{+}{N}\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}H_2\overset{+}{N}\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}\overset{+}{N}H_2\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}\overset{+}{N}H_3$



brassinolid



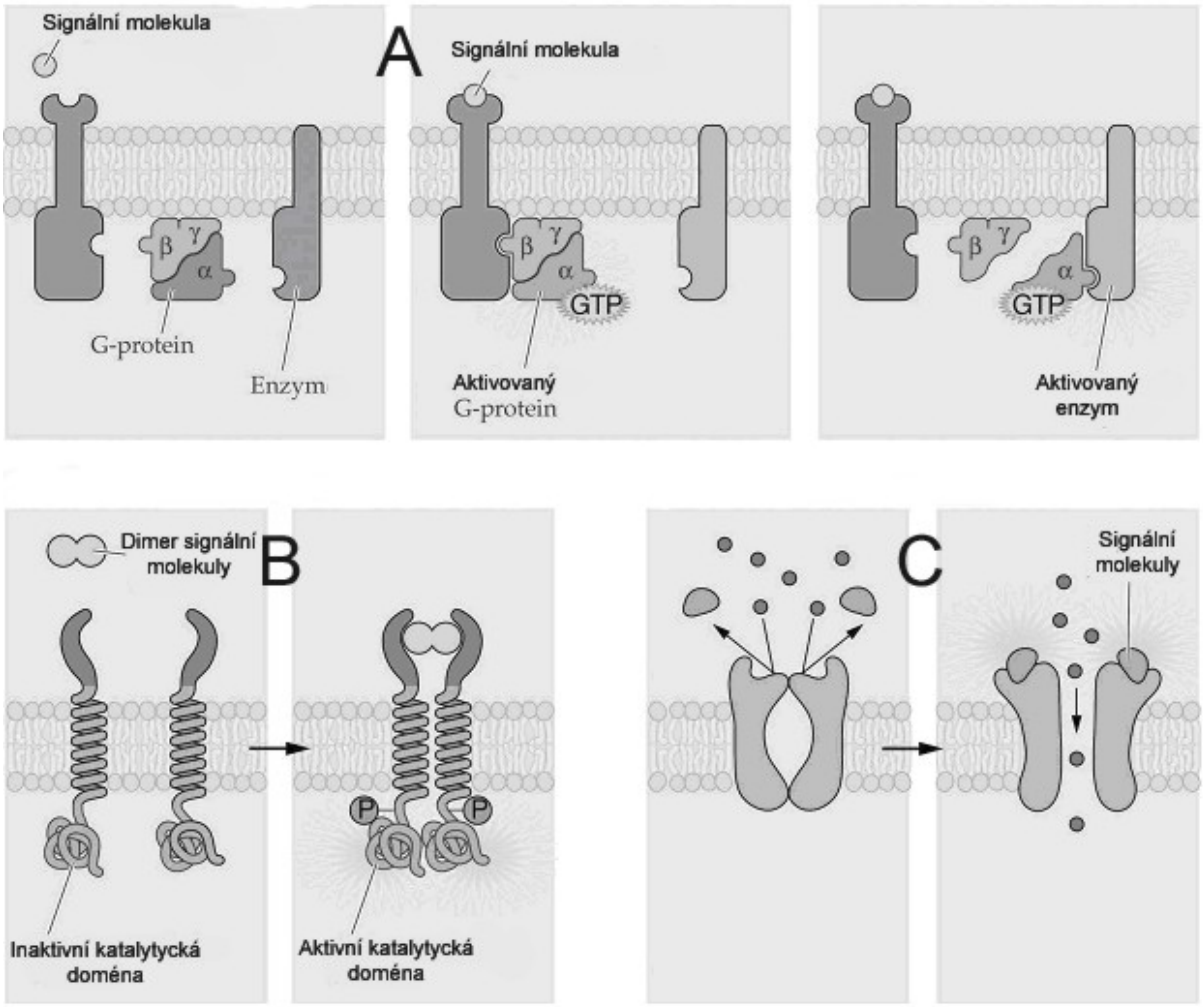
kyselina jasmínová
jasmonic acid (JA)

Seznam látek účinných v regulacích u rostlin lze ještě dále rozšířit o některé cukry, oligopeptidy, salicylovou kyselinu a další.

2.7. PŘÍJEM A PŘENOS SIGNÁLU

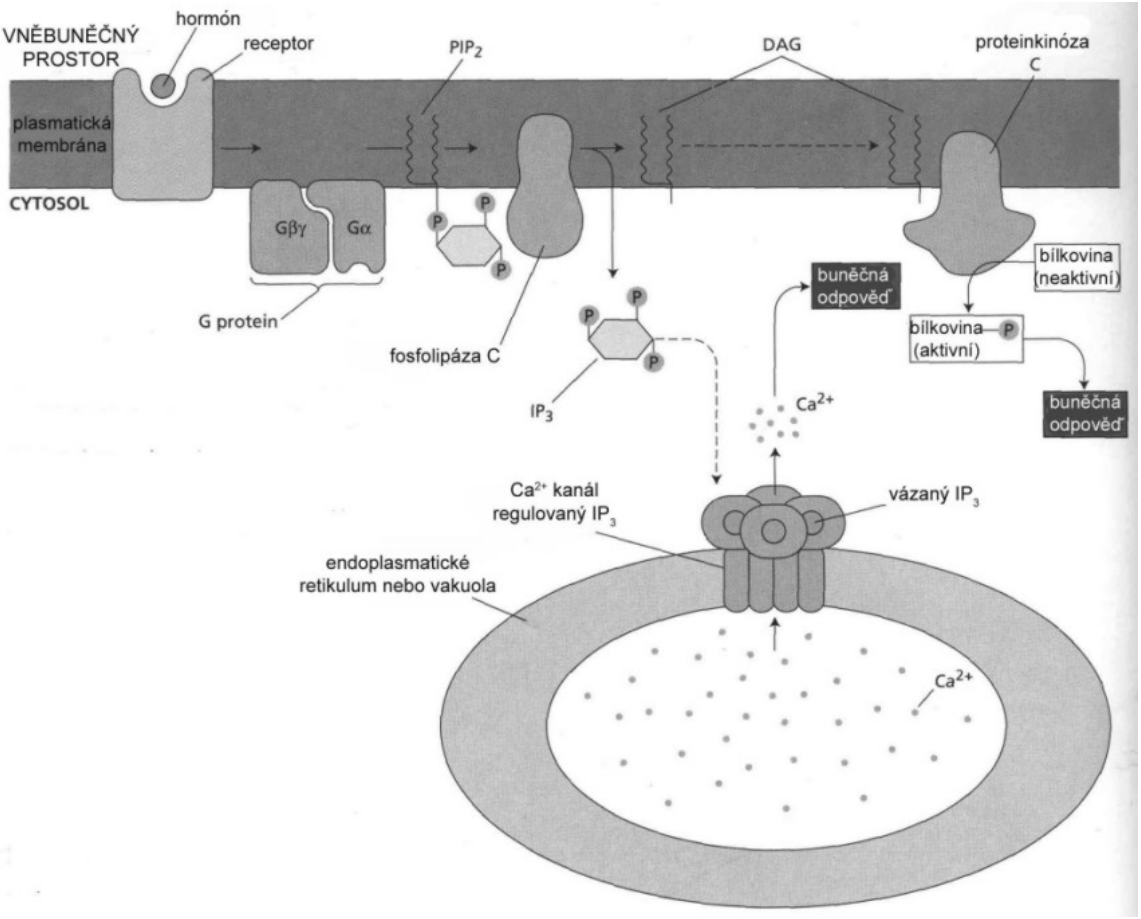
Rostlina vnímá signály ze svého okolí a reaguje na ně. Jsou to zemská tíže, světlo, fotoperioda, teplota, složení vzduchu, voda a minerální živiny, mechanické překážky, patogeny apod. Buňky v rostlině reagují také na signály, které přijímají ze sousedních buněk a kterým říkáme signály vnitřní. Jsou to fytohormony, cukry a dusíkaté látky, peptidy a proteiny, voda a minerální látky, mechanické tlaky, elektrické signály, teplota, světlo, poranění a další.

Signály (nejen) hormonální jsou přijímány **receptory**, tj.specifickými proteiny s vazebnými místy pro určitý signál. Receptory se nacházejí v plazmatické membráně nebo uvnitř buňky (**obr. 2-39**). **Mezi příjmem signálu a reakcí buňky nebo rostliny probíhá složitý proces přenosu signálu.** Představuje změny transportu iontů mezi kompartmenty, regulaci metabolických cest a distribuci metabolitů, regulaci exprese genů, změny v cytoskeletu, v hormonální regulaci a nakonec změny růstových parametrů. Na funkci jednotlivých složek příjmu a přenosu signálu závisí **citlivost k fytohormonům**, která vedle jejich **koncentrace** spoluurčuje **fyziologické reakce na fytohormony**.



Obr. 2-39. Typy receptorů hormonálních signálů, které byly popsány u živočichů a byly také nalezeny nebo se předpokládají i u rostlin:
A.- Receptor v plasmatické membráně spolupracuje s G-proteinem**:** signál přijatý receptorem aktivuje G-protein, který se skládá ze tří pod jednotek, α, β, γ, přitom GDP se vymění za GTP a podjednotka α se odštěpí a aktivuje enzym v membráně (nebo v cytosolu).
B. – Receptor má enzymatickou aktivitu charakteristickou pro proteinkinasy (katalysují přenos fosfátu): po přijetí signálu dojde k fosforylaci a k dimerizaci a k dalšímu předávání fosfátu a k aktivaci dalších proteinů.
C. – Receptor, který je zároveň proteinem iontového kanálu v membráně, otevírá po přijetí signálu jednosměrnou cestu pro průnik specifických iontů přes membránu.

Tato kapitola pojednává především o hormonálních signálech. O příjmu světelných signálů pojednává kap. 11 (Ontogeneze I: Vegetativní fáze. Fotomorfogeneze). **Příjem těchto signálu** začíná rozpoznáním signálu receptorem a vazbou signální molekuly na protein receptoru. Důsledkem je změna konformace receptoru a schopnost aktivovat s nim interagující proteiny. Některé receptory mohou regulovat genovou expresi přímo. V naprosté většině případů však receptor zahajuje jeden nebo více sledů biochemických reakcí, které přenášejí signál od receptoru k cílovým molekulám. Tyto sledy reakcí se nazývají cesty přenosu signálu. Byly nejdříve a nejlépe prozkoumány u mikroorganizmů a u živočichů. U těchto systémů soubor znalostí dává jakýsi přehled o posloupnostech při přenosu signálů. U rostlin bylo nalezeno mnoho prvků signálních cest a jednotlivých kroků, které jsou totožné nebo podobné těm, které jsou součástí známých cest přenosu signálů u jiných organizmů (**obr. 2-40** až **2-42**).



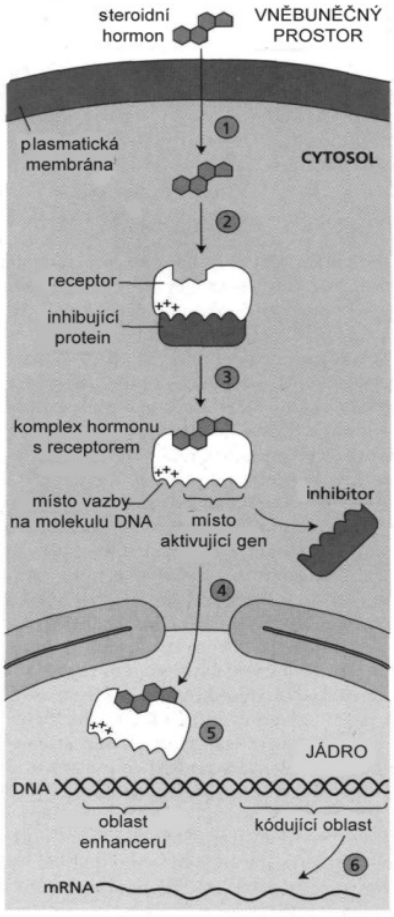
Obr. 2-40. Schéma přenosu signálu přijatého receptorem: odštěpení podjednotky α z G-proteinu a aktivace enzymu fosfolipasy C; aktivovaná fosfolipasa C hydrolyzuje fosfatidylinositol-4,5-bisfosfát (PIP_2) na inositol-1,4,5- trisfosfát (IP_3 **),** který se uvolňuje do cytosolu a diacylglycerol (DAG), který zůstává v membráně; IP_3 se váže na receptor iontového kanálu pro Ca^{2+} a stává se tak signálem pro vypouštění Ca^{2+} do cytosolu ; Ca^{2+} aktivuje Ca-dependentní enzymy a vyvolává další reakce v buňce. DAG aktivuje proteinkinasu C, která zahajuje řetěz fosforylací.

Přenos signálu začíná změnou konformace receptoru (**obr. 2-39**). Nejčastější cesta vede přes receptorem aktivovaný G-protein, odštěpení jeho α podjednotky a následnou aktivaci fosfolipas. Fosfolipasy v membráně štěpí membránové fosfolipidy, jejich produkty se podílejí na regulaci buněčných procesů. Specifická fosfolipasa C v aktivní formě vstupuje do vratných fosforylací minoritního membránového fosfolipidu fosfatidylinositolu: štěpí fosfatidylinositol-4,5-bisfosfat (PIP_2) na inositol-1,4,5-trisfosfat (IP_3) a diacylglycerol (DAG). Oba tyto produkty se účastní přenosu signálu. Do cytoplazmy uvolněný IP_3 se váže na proteiny kanálů pro Ca^{2+} ve vnitrobuněčných membránách, umožňuje otvírání těchto kanálů a uvolňování Ca^{2+} z vnitrobuněčných kompartmentů (endoplazmatické retikulum, vakuoly) do cytosolu. Tím se v cytosolu zvýší koncentrace Ca^{2+}, která je jinak udržována na velmi nízké úrovni (je aktivně vypuzována z cytoplasmy). Některé enzymy v buňce (např. calmodulin) jsou Ca-dependentní, tj. fungují teprve po vazbě s Ca^{2+} a teprve pak mohou aktivovat další proteiny a tím zahajovat řetězovou reakci fosforylací v cytoplazmě. Zvýšení koncentrace Ca^{2+} také zpětně aktivuje fosfolipasy. Druhý produkt fosfolipasy C, DAG, aktivuje proteinkinasy v membráně a zahajuje štafetu fosforylací proteinů.

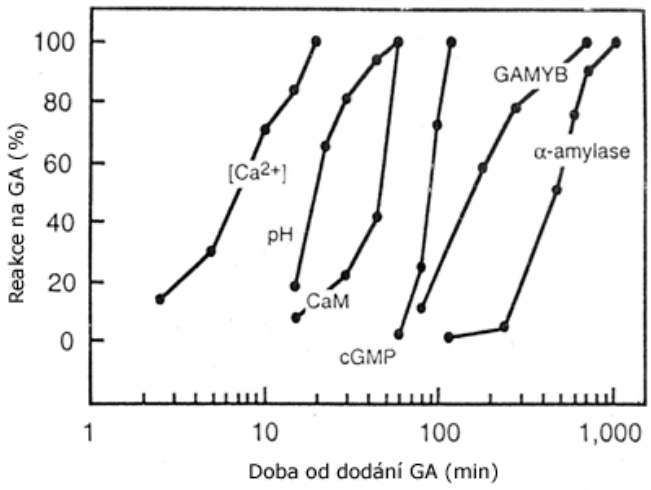
Pro IP_3 a Ca^{2+} se používá pojem **druhý posel** *(angl*. **second messenger**) pro jejich mimořádný význam v přenosu a v amplifikaci signálu. Po vyvolání reakce se molekula druhého posla opět uvolňuje a může tak rychle po sobě aktivovat mnohonásobek molekul příjemce. Druhým poslem u rostlin také může být cyklický guanosinmonofosfat (cGMP) a cyklický adenosinmonofosfat (cAMP), který je schopen reagovat s G-proteinem.

Proteinkinasy je velká skupina příbuzných proteinů, které katalyzují přenos fosfátů na specifická místa jiných proteinů a vytvářejí tak v buňce řetěz fosforylací. Aktivované proteiny, které se vyskytují v jádře, mohou se vázat na jaderné proteiny a regulovat transkripci. Proteiny a proteinové komplexy, které přímo interagují s promotory genů a regulují jejich transkripci jsou **transkripční faktory.**

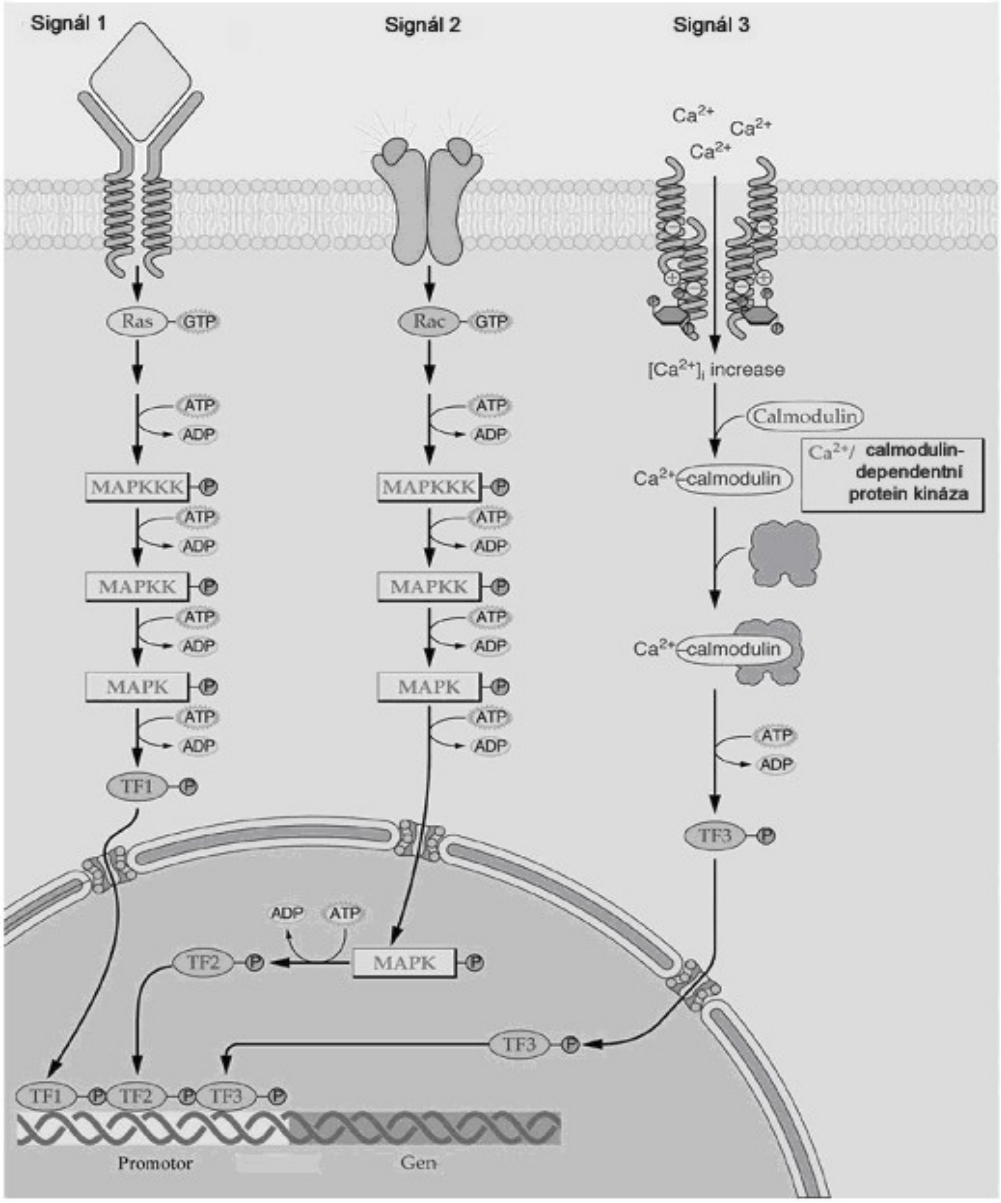
Specifičnost reakce na různé signály, zprostředkované např. zvýšenou koncentrací cytosolického Ca^{2+} je dána specifickou lokalizací prvků signalizace, různým trváním signálu a dosahem do různých částí buňky při krátkodobých signálech. Jen ty složky signální cesty, které se mohou setkat v buňce se svými interagujícími partnery (např. s druhým poslem) mohou plnit funkci přenosu signálu. Důležitá je také frekvence změn koncentrace cytosolického Ca^{2+}.



Obr. 2-42. Posloupnost přenosu signálu GA od zvýšení koncentrace Ca^{2+} až po syntézu α-amylasy



Obr.2-41 Příjem signálu receptorem rozpustným v cytosolu (**1,2**), uvolnění inhibitoru po vytvoření komplexu hormon-receptor (**3**) vstup do jádra a působení jako transkripční faktor (**4, 5**)



Obr.2-43. Schéma tří cest přenosu tří různých signálů, přijatých třemi různými receptory, které se mohou sejit na promotoru téhož genu. Komplex signál-receptor aktivuje protein (Ras, Rac nebo Ca^{2+} kanál); dále v samostatných sledech specifických fosforylací jsou produkovány tři proteiny, které ve své aktivované formě fungují v jádře na jednom promotoru jako transkripční faktory TF1,TF2 TF3 ; označení MAP (Mitogen-Activated Protein) se používá pro protein aktivovaný molekulou regulující buněčné dělení a obecně také regulující růst. MAPKKK je kinasa, která fosforyluje kinasu MAPKK, která je donorem fosfátu pro další kinasu, MAPK.

Studium signálních cest fytohormonů je v současné době ve středu pozornosti vědeckých týmů, zabývajících se hormonální regulací u rostlin. Postupně se potvrzují mnohé obecné znaky příjmu a přenosu signálů. Jsou ověřovány jednotlivé kroky a současně zjišťovány specifické rozdíly pro jednotlivé fytohormony a jimi řízené fyziologické procesy. Výsledkem jsou stále se doplňující představy o mechanizmech přenosu signálu u rostlin.

Pro **auxin** byly nalezeny vazebné proteiny s funkcí receptorů IAA. Ty např. mohou zvýšit transmembránový potenciál během 1-2 minut od aplikace IAA. Při indukci dlouživého růstu IAA byla potvrzena účast druhých poslů, Ca^{2+}, cGMP a produktů

fosfolipasy A. V systémech indukce buněčného dělení auxinem projevuje se signalizace přes proteinkinasy. Výsledkem je v obou případech změna exprese auxinem indukovaných genů a o něco později změny růstu. Pro **cytokininy** byly identifikovány receptory proteinkinasového typu. Známými prvky signalizace cytokininů jsou ionty Ca^{2+} a proteinkinasy závislé na calmodulinu a některé další proteinové složky přenosu signálu. Výsledkem jsou změny exprese genů, např. těch, které řídí buněčný cyklus, funkci chloroplastových proteinů a metabolizmus dusíku. Při přenosu signálu **giberelinu** pro indukci α-amylasy a klíčení obilek je důležitým krokem odstranění proteinu blokujícího transkripční faktor GAMYB. V signalizaci **ABA** se uplatňuje IP_3 a Ca^{2+}. Signál pro **etylén** je přijímán pěti známými receptory proteinkinasového typu (**obr. 2-39 B**) a přenáší se v interakcích s dalšími známými proteiny, přitom dalšími kroky jsou inaktivace inhibitoru, aktivace transkripčního faktoru a změna genové exprese.

Fyziologické reakce jsou regulovány pomocí interakcí mezi signálními cestami. Taková „ křížová komunikace“ (*angl*. cross-talk) mezi signálními cestami může nastat na více místech cest přenosu signálu, a třeba také až na úrovni transkripce, jak ukazuje **obr. 2-43**, ale i mnohem blíže k příjmu signálu. Probíhá také mezi cestami přenosu signálů vnitřních (hormonálních) a vnějších, což má význam pro koordinaci vývoje s podmínkami okolí. Na příklad kvetení je regulováno světlem a giberelinem a cesty přenosu signálu se setkávají v regulaci jednoho květního genu *LFY* (viz kapitoly Ontogeneze). Také interakce cytokininu a světla je zprostředkována společnými regulátory (*angl*. Response Regulators). Signalizační cesty giberelinu a abscisové kyseliny se kříží při indukci a inhibici syntézy α-amylasy v obilce.

Mnohonásobné propojení signalizace představuje u rostlin systém jakéhosi vzájemného jištění a umožňuje přežití v proměnlivých podmínkách. Čím více známe podrobnosti o jednotlivých složek cest přenosu, tím více vystupuje do popředí provázanost těchto cest.