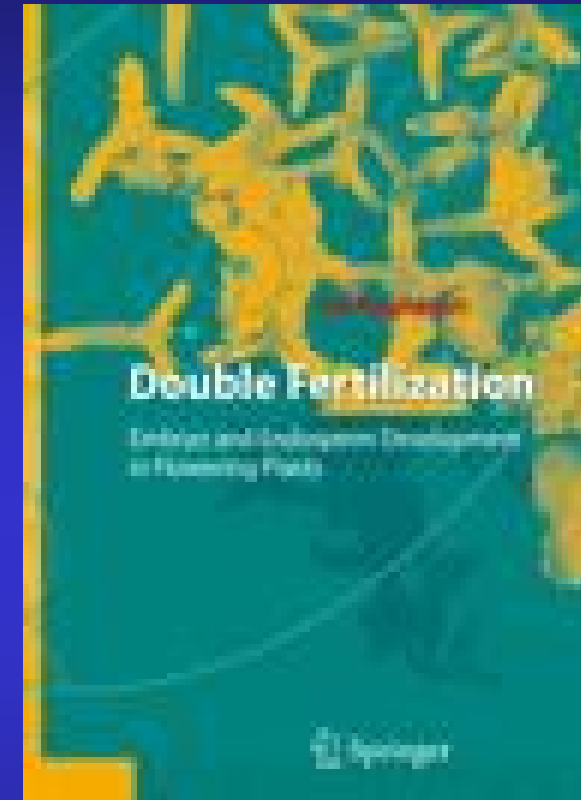


3) Růst a vývoj

- a) Embryogeneze a cytokineze
- b) Meristém a vývoj rostliny
- c) Vývoj listů a kořenů



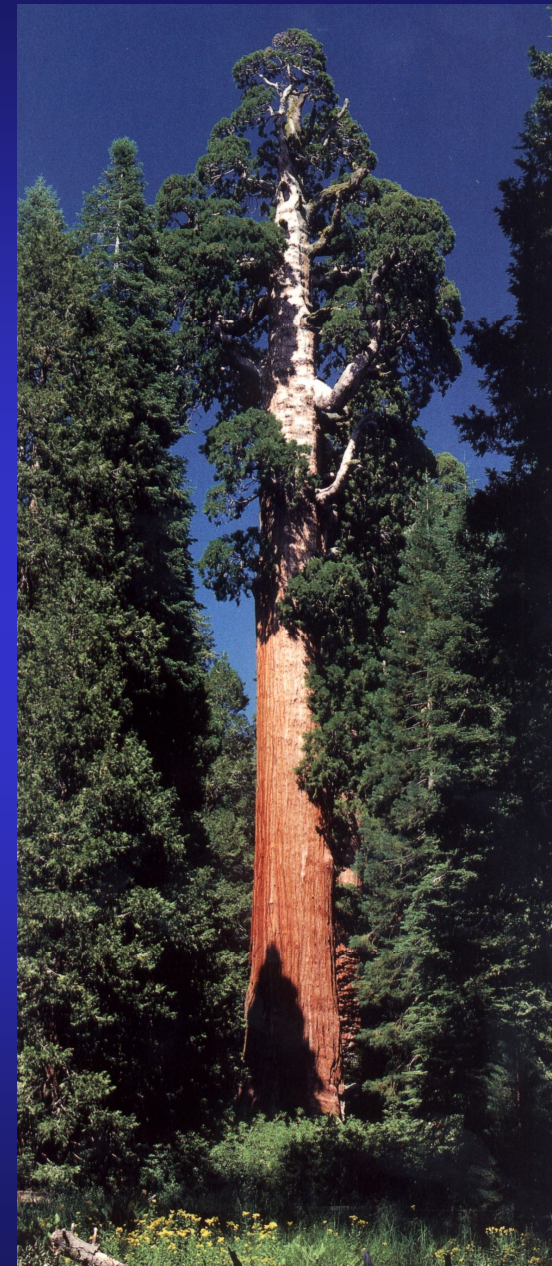
Raghavan V (2006) Double Fertilization. Embryo and Endosperm Development In Flowering Plants. Springer.

<http://www.springer.com/west/home?SGWID=4-102-22-56228670-0&changeHeader=true&referer=springer.com&SHORTCUT=www.springer.com/3-540-27791-9>

a) Embryogeneze a cytokineze

Vývoj rostliny, na rozdíl od živočichů, je stále probíhající proces. U rostlin, embryogeneze zakládá organizaci rostlinného těla a formuje meristémy, které generují orgány dospělé rostliny. Většina rostlinného vývoje je postembryonická a začíná z meristémů.

Vegetativní meristémy jsou vysoce repetitivní = stále vytváří stejné či podobné struktury = **nedeterminovaný růst** (*Arabidopsis* – jeden měsíc, sekvoje tisíc let).



Vaječná buňka + 1. spermatická buňka = zygota => vývoj embrya

Embryogeneze = transformace jednobuněčné zygoty na multibuněčnou mikroskopickou a embryonální rostlinu.

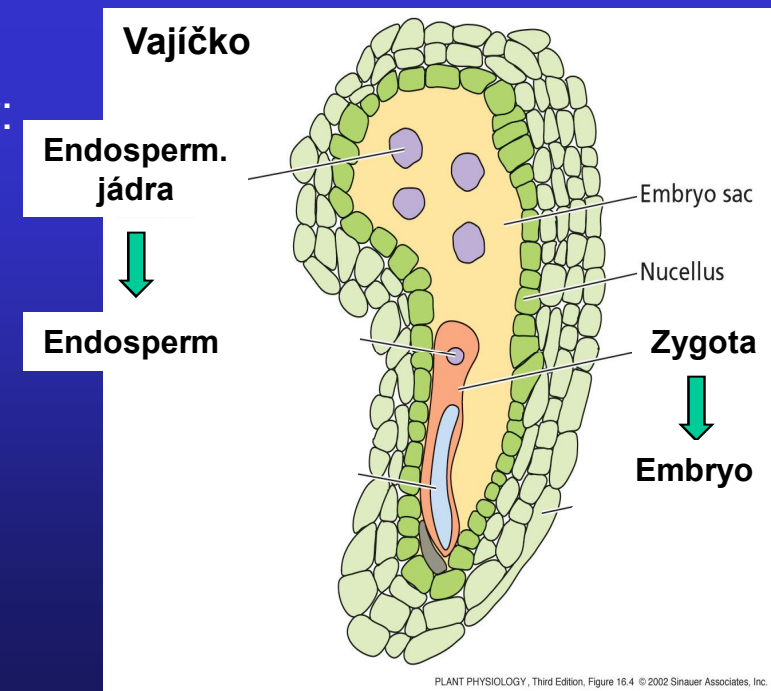
U rostlin je oplodnění dvojitě = 2. spermatická buňka splyne s dvěma polárními jádry a vzniká triploidní endospermové jádro. Z něj se vyvíjí endosperm, který zásobuje embryo živinami.



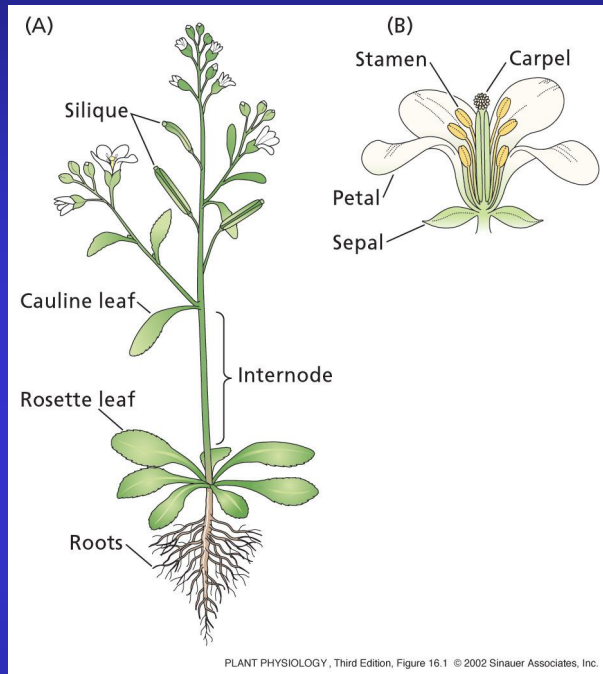
U rostlin dvojitě oplodnění iniciuje 4 procesy:

- **embryogeneze**
- vývoj endospermu
- vývoj semene
- vývoj plodu

Vývoj zygoty je geneticky naprogramovaný a buněčné dělení, růst a diferenciace jsou koordinovány.



Modelová rostlina *Arabidopsis* => 1. Přednáška KFZR

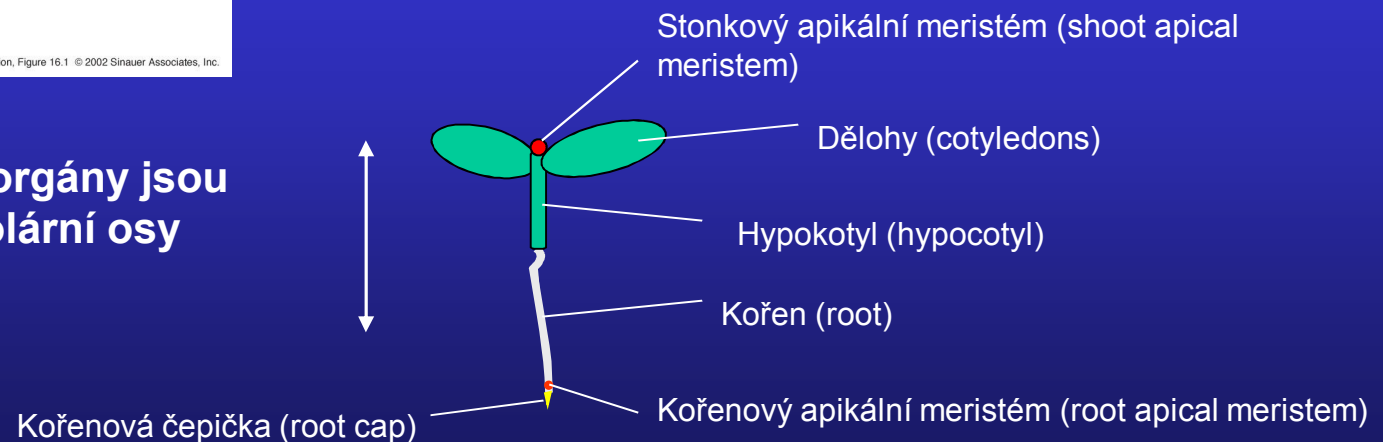


Embryogeneze zakládá nezbytné části rostliny. Na rozdíl od živočichů **ne**generuje přímo orgány či tkáně dospělé rostliny.

Embryogeneze zakládá:

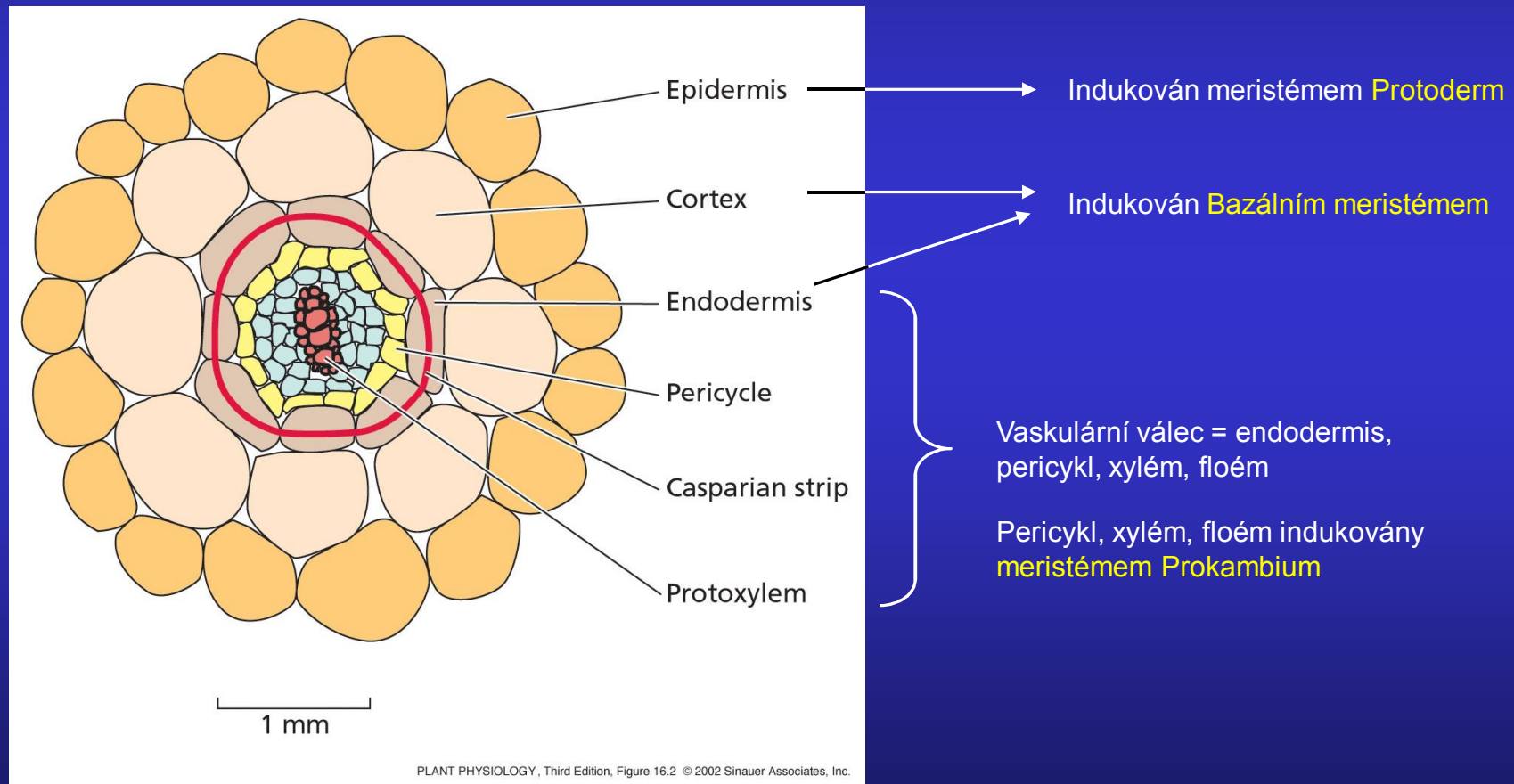
- axiální (apical-basal) orientaci rostliny
- radiální podobu rostliny
- meristémy - aktivní až po klíčení

Axiální polarita – orgány jsou seřazeny podél polární osy

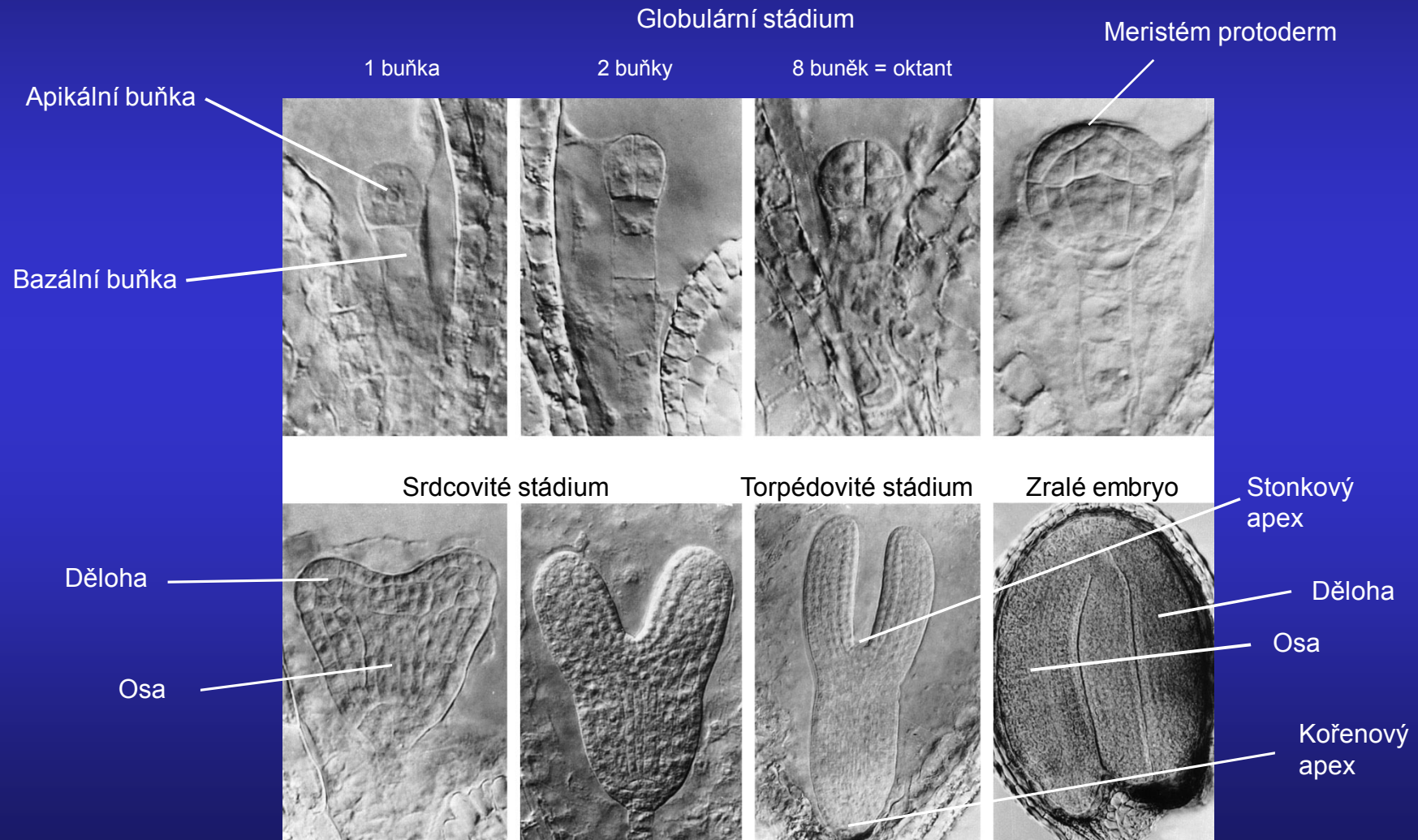


Radiální struktura rostliny

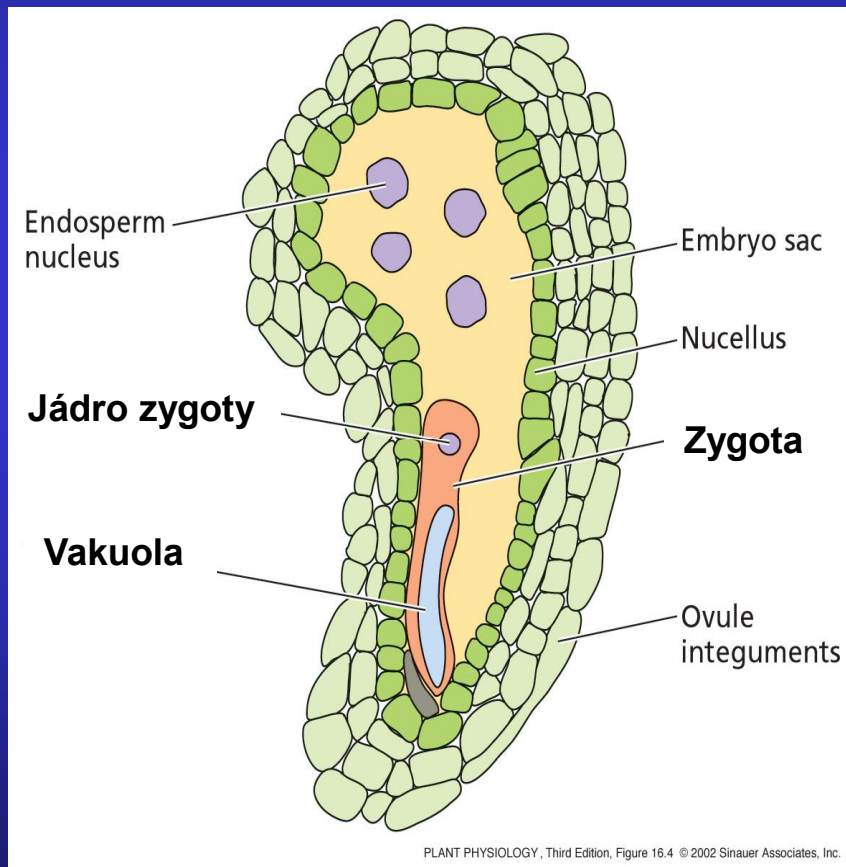
Kořen *Arabidopsis*



Embryo *Arabidopsis* prochází ve svém vývoji 4 stádii



Embryo získává axiální (= apikálně-bazální) charakter během 1. buněčného dělení zygoty



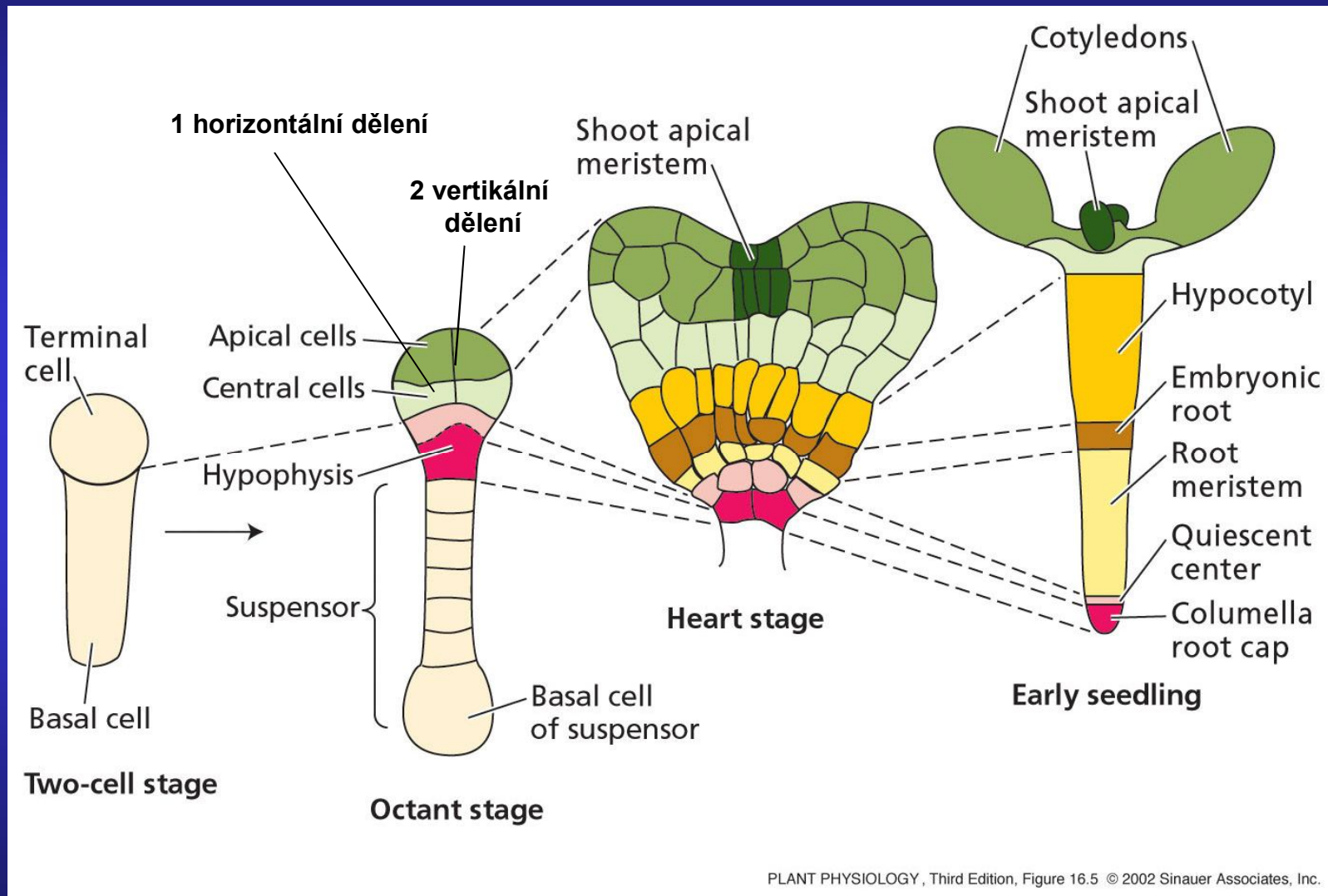
Zygota se stává polarizovaná ještě před 1. dělením. Prodlouží se až 3x.

Vrchní třetina zůstává cytoplasmatická = budoucí apikální buňka.

Spodní dvě třetiny mají vakuolu = budoucí bazální buňka.

1. Dělení zygoty je asymetrické. Vzniká apikální a bazální buňka. Osudy těchto buněk jsou velice rozdílné.

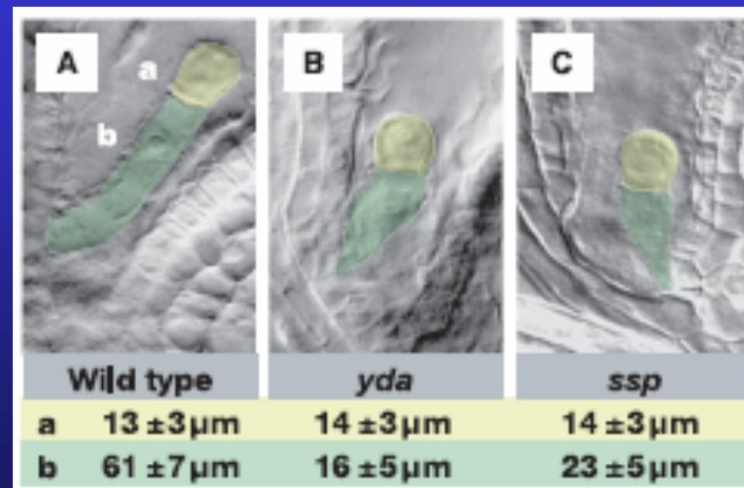
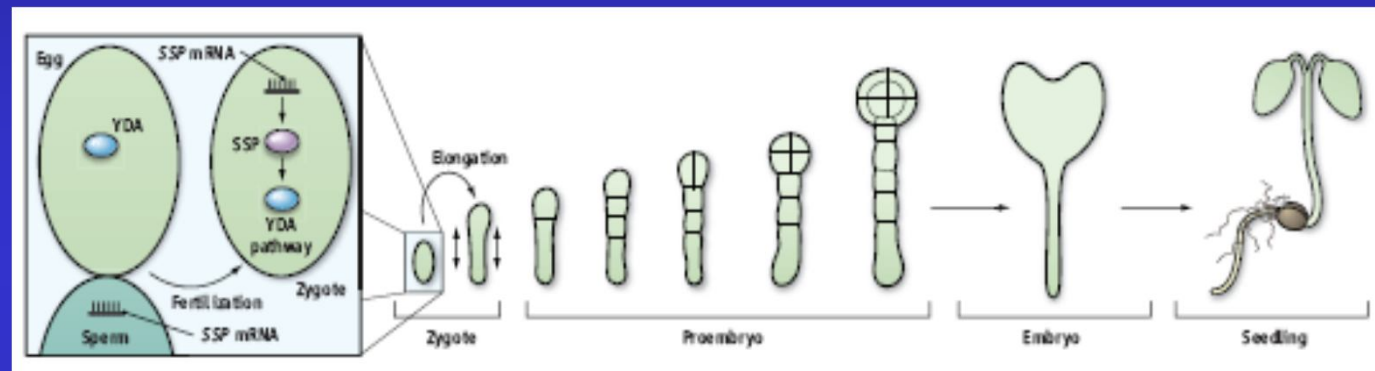
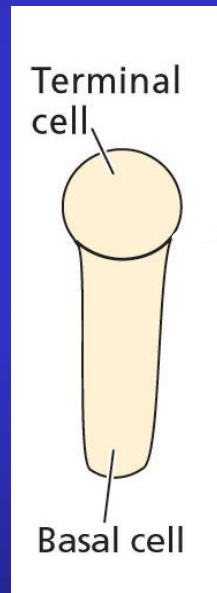
Axiální organizace embrya a klíčící rostliny



Update 2009

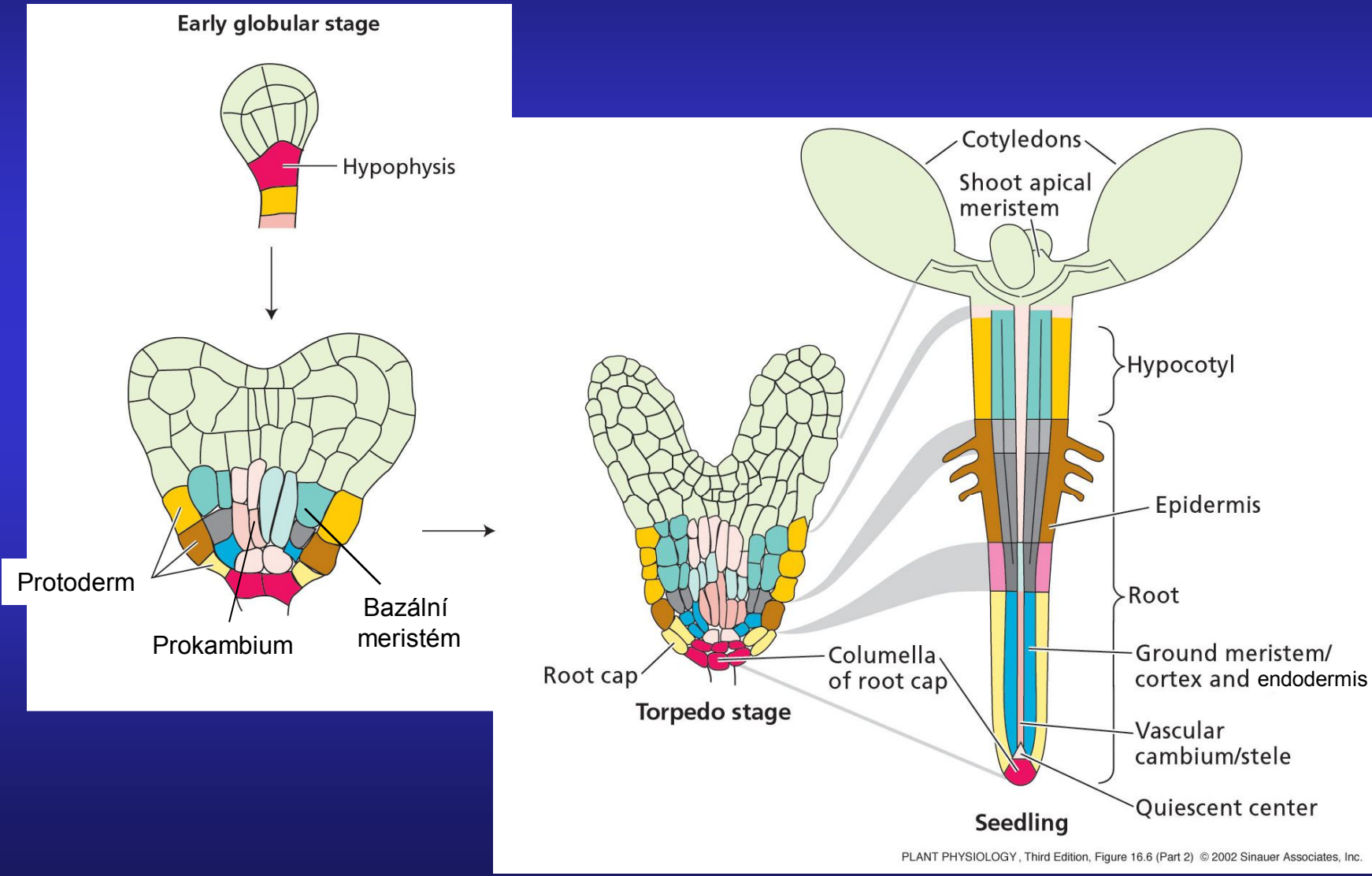
Bayer M et al. (2009) Science 323: 1485-1488

Gen *SSP* ve spermatické buňce kóduje interleukin-1 receptor associated kinázu/Pelle-like kinázu. Enzym SSP aktivuje kinázovou signální dráhu v zygote (tzv. YDA signální dráha) - spouští prodlužování zygoty a vývoj suspensoru.



Grossniklaus U (2009)
Science 323: 1439-1440

Radiální uspořádání pletiv u embrya a klíčící rostliny



Některé geny určující vývoj embrya

PLETHORA (PLT) – hraje roli v určení pozice kořenových kmenových buněk

Proteiny PLETHORA - transkripční faktory - udržují aktivitu kmenových buněk

Proteiny PLT1 – PLT4 spolu interagují – síla interakce (= gradient exprese) určuje osud kmenových buněk

Hladina exprese PLT genů: **Vysoká** - udržování identity kmenových buněk

Nízká - stimulace mitotické aktivity dceřiných kmenových buněk

Nejnižší - diferenciaci kmenových buněk

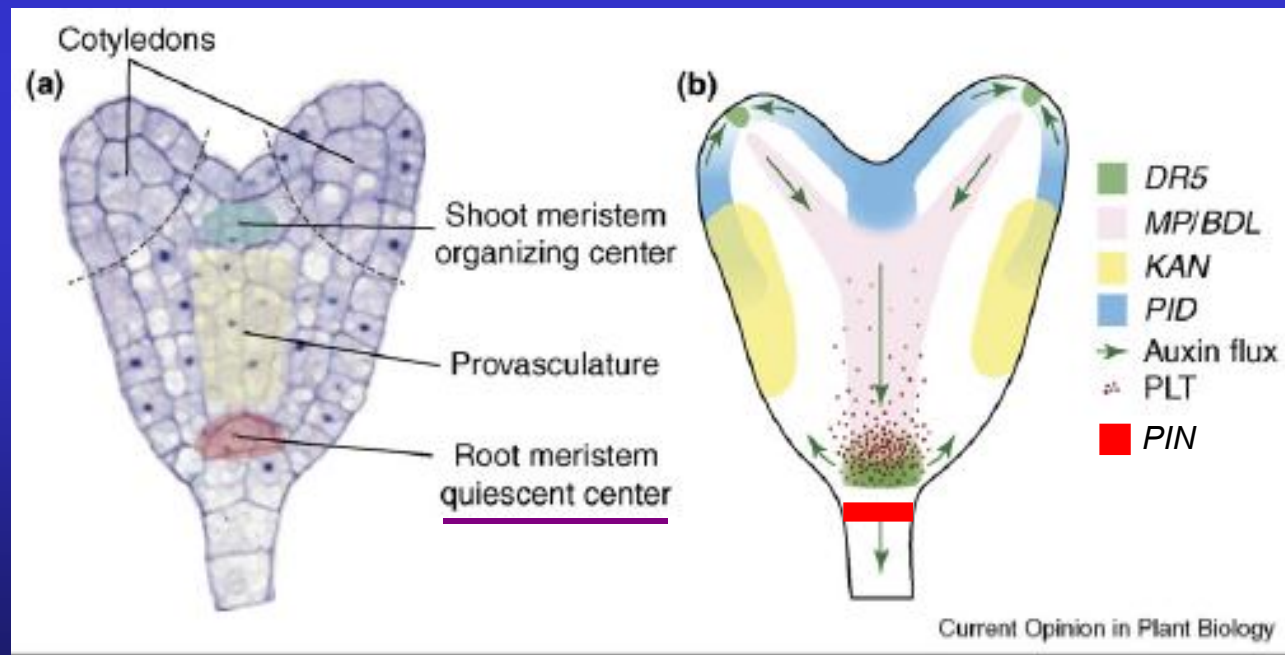
PLT1 - PLT3 kontrolují expresi genů **PIN** **PLETHORA** → **PIN**

UPDATE 2008

Nawy T et al. (2008) *Curr Opin Plant Biol* 11: 28-33

Maximum akumulace proteinů PLETHORA v **quiescent centru** – gradient akumulace určuje osud kmenových buněk

Exprese *PLETHORA* – pravděpodobně určována auxinem prostřednictvím *MONOPTEROS*



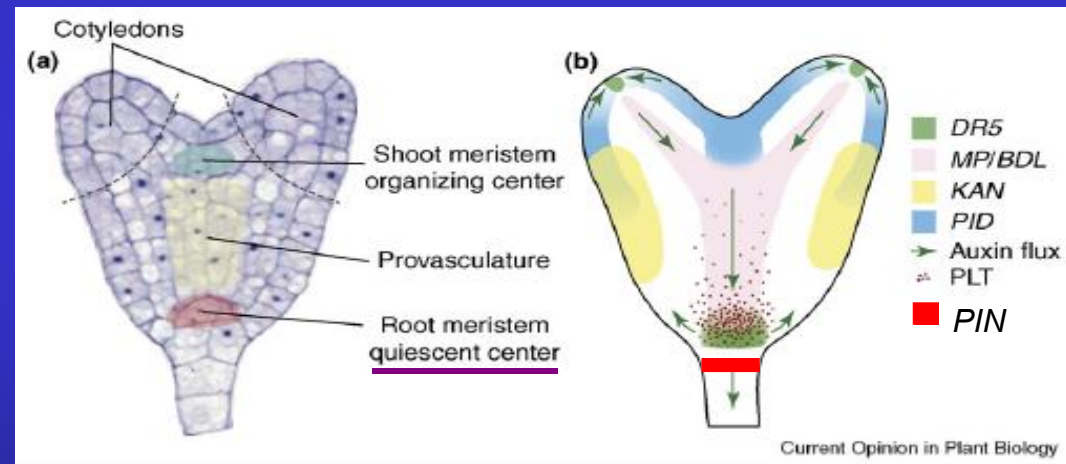
UPDATE 2007

Izhaki A, Bowman JL (2007) *Plant Cell* 19: 495-508

KANADI – kontroluje radiální polaritu embrya

Časová a prostorová exprese **KANADI** je kontrolována auxinem prostřednictvím PIN proteinů

KANADI potlačuje citlivost k auxinu na okrajích děloh



UPDATE 2008

Meinke D et al. (2009) TIPS 13: 483-491

Databáze genů nezbytných pro vývoj embrya: <http://www.seedgenes.org>

SeedGenes Project
Essential Genes in Arabidopsis Development

OSU syngenta VBI

SeedGenes Query

Welcome to the **Query Page** for the SeedGenes Project. Search here for information on specific genes and associated mutant alleles. Click on highlighted terms for definitions and additional information.

Gene Query

[Browse Genes](#) | [Go to list of all genes](#)

Obtain SeedGenes Profile
Enter one or more standard gene symbols or locus identifiers (e.g. TTNS or At2g18390):

Query Gene Information

Gene Class:

Chromosome:

Gene Identity Confidence:

Second Allele Available:

FLcDNA Sequenced:

Protein Function Keyword:

Mutant Query

[Browse Mutants](#) | [Go to list of all mutants](#)

Query Mutant Information

Mutant Class:

Gene Identity Confidence:

Original Seed Source:

Terminal Phenotype [Drawings](#):

Special Feature:

Nomarski Images:

Mutagen Type:

Ecotype:

Tagged Insertion Mutant:

Border Recovery Rank:

Initial Ratio R:S Seedlings:

Aberrant Segregation:

Aberrant Distribution:

Seed Color:

Embryo Color:

Address comments to David Meinke, Project PI (dmeinke@osu.edu)

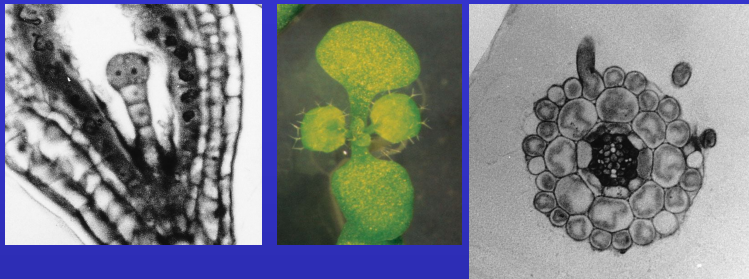
TRENDS in Plant Science

Úloha **cytokineze** ve správném formování rostlinných orgánů

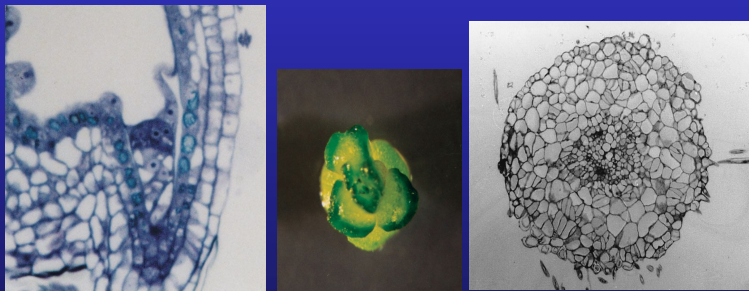
Přesně orientované buněčné dělení (**tzv. stereotypní**) vede ke správné organizaci pletiv. Toto dělení generuje řady buněk, které se hromadí od meristému směrem k bázi rostliny a tvoří tak pletivo.

Mutace v genu **TON** a **FASS** ruší stereotypní buněčné dělení. Mutanti nemají cytoplazmatickou strukturu = preprofázní vřeténko mikrotubulů, které je nezbytné pro správnou orientaci buněčného dělení.

WT



ton



↓
Rostliny jsou malé, zvláštní tvar listů, sterilní.

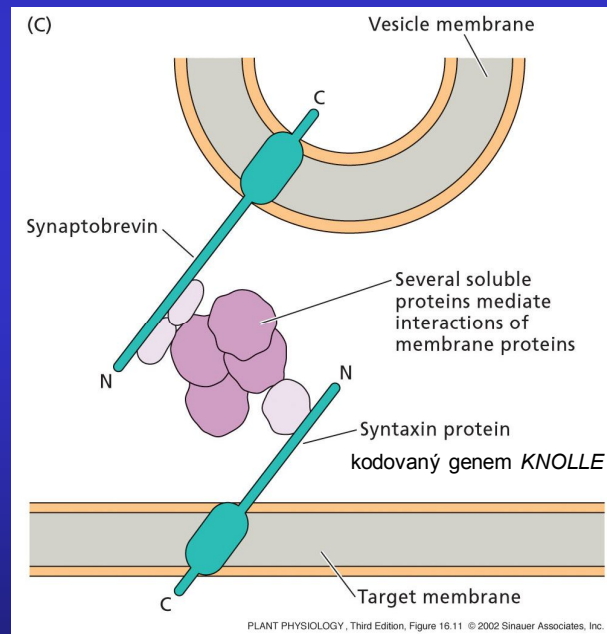
ALE POZOR!! Uchovávají si stále radiální orientaci.

↓
Stereotypní dělení není nezbytné pro radiální uspořádání

Mutant **knolle** má defekt v cytokinezi, a to na konci mitózy, kde se začíná tvořit nová stěna oddělující jádra do dceřiných buněk => nedostatečná tvorba buněčné destičky => buňky nejsou separované. Určitá separace buněk a komunikace mezi nimi pomocí plazmodezmat je nutná pro jejich správné uspořádání.



Mutant **knolle** má narušenu radiální symetrii.



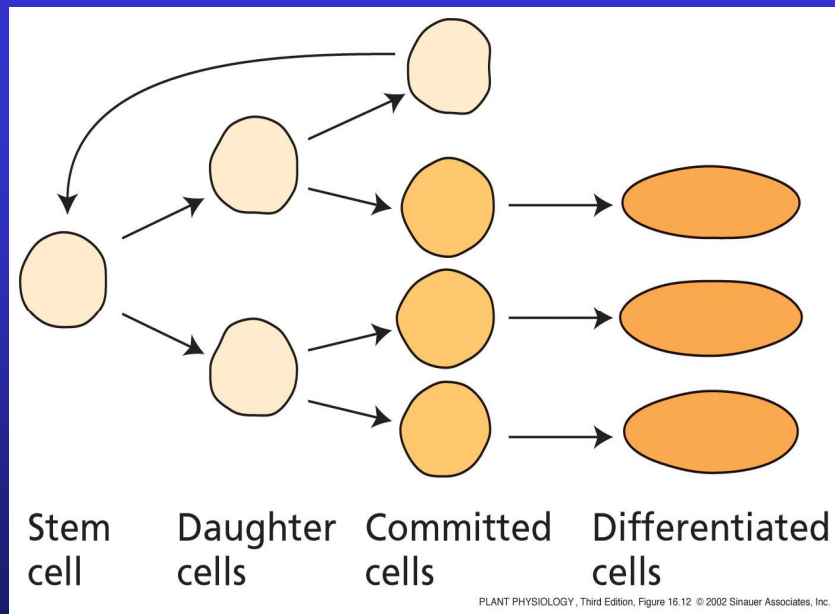
Gen **KNOLLE** kóduje syntaxin-like protein. Syntaxin je protein v membráně, umožňující fúzi vezikul s membránou. Tato fúze vezikul je nutná pro normální cytokinezi, tj. pro tvorbu buněčné destičky

Mutace **knolle** zabraňuje separaci dceřiných buněk, protože vážne komunikace mezi buňkami pomocí plazmodezmat.

b) Meristém a vývoj rostliny

Meristém = populace malých izodiametrických buněk.

Některé z meristémových buněk jsou schopny se stále dělit a nejsou nuceny k diferenciaci = **kmenové buňky (stem or initial cells)**.



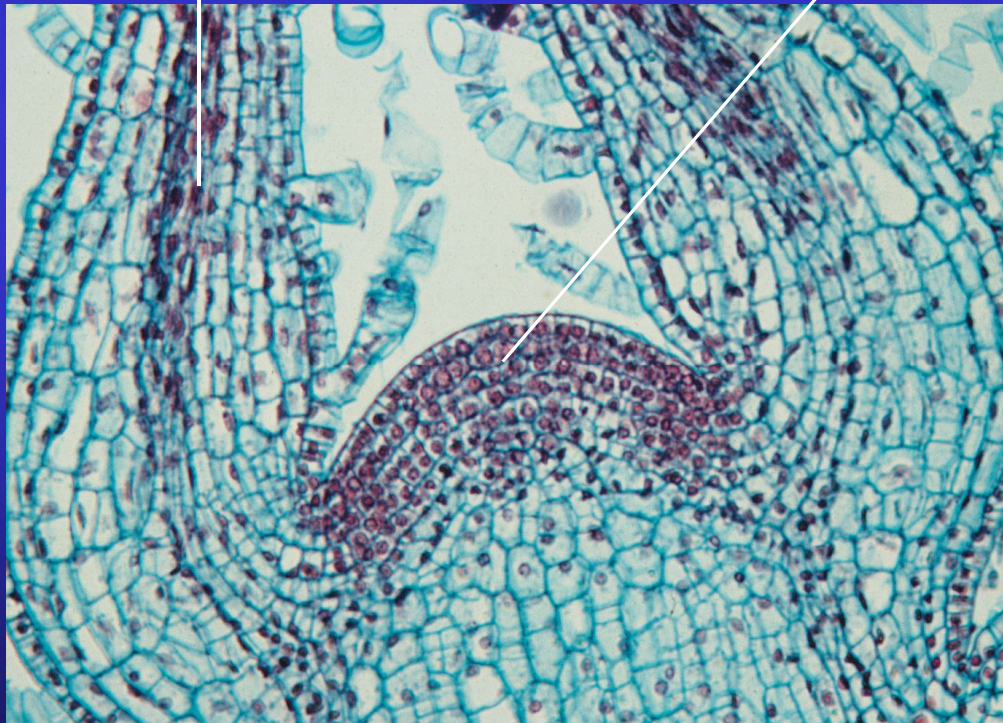
Při dělení kmenových buněk vždy jedna dceřiná buňka zůstává identická s mateřskou, ostatní se dělí specifickým způsobem a diferencují se.

Kmenové buňky reprezentují zdroj všech buněk v meristému a v celé rostlině.

Stonkový apikální meristém generuje stoněk a laterální orgány (listy, pupeny).
Je lokalizován na špičce výhonku a je obklopen nevyvinutými listy.

Nevyvinuté listy

Stonkový apikální meristém



Stonkový apikální meristém:

- má 100 –1000 tenkostěnných buněk s hustou cytoplazmou, bez centrální vakuoly
- má 100 –300 μm v průměru
- ukazuje sezónní aktivitu

Mutanti v genu **SHOOTMERISTEMLESS (STM)** nevytváří stonkový apikální meristém. Místo toho se všechny buňky meristému diferencují.



Funkční gen **STM** je specificky exprimován v buňkách, které se mají stát stonkovým apikálním meristémem.



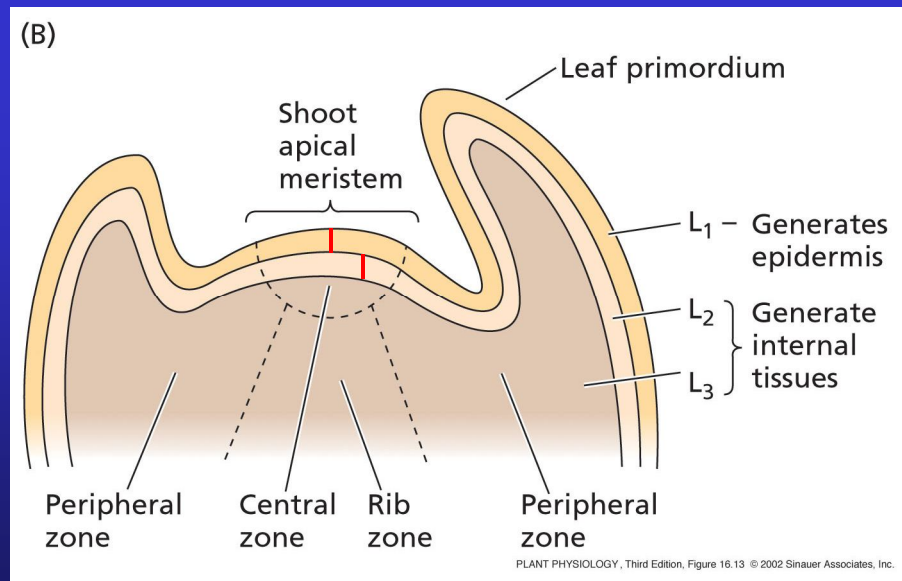
Funkční protein **STM** potlačuje buněčnou diferenciaci ve stonkovém apikálním meristému, tak aby byla zajištěna **Nediferenciace** meristému. Je rovněž nutný pro udržení identity meristému u dospělé rostliny.

Členění shoot apikálního meristému

Funkční zóny: L1, L2, L3

L1 – povrchová vrstva; v **L1** a **L2** probíhá **antiklinální** dělení buněk (= nová buněčná stěna oddělující dceřiné buňky je orientovaná kolmo k povrchu meristému).

L3 = vnitřní zóna; dělení méně přesně orientované



Cytohistologické zónování – jednotlivé zóny se liší velikostí, stupněm vakuolizace, a expresí genů:

Centrální zóna – velké vakuoly; obsahuje zásoby kmenových buněk

Periferní zóna – malé vakuoly; buněčné dělení vedoucí k tvorbě listových primordií

Rib zóna – buněčné dělení dává vznik stonku

Funkční zóna **L1** – nutná k udržení **Indeterminovanosti** v zónách L2 a L3

L1 ovlivňuje funkce meristému – ovlivňuje transportní dráhy auxinů

Semidominantní mutant kukuřice *xcl1* (*extra cell layers1*) - protein **XCL1** je overexprimován => vytváří několikanásobné epidermální vrstvy; velikost meristému je redukována.



1. **XCL1** poskytuje spojení mezi dělením buněk v L1, hormonálními cestami a udržováním meristému - koordinuje účinky hormonů s účinky genů ve stonkovém apikálním meristému.
2. Normální vývoj zóny **L1** je nezbytný k normálnímu fungování stonkového apikálního meristému.

UPDATE 2008

Goldstein SS et al. (2008) *Current Opinion in Plant Biology* 11: 42-48

Epidermální buňky v L1 stimulují i potlačují růst stonkového meristému tak, že posílají signály (fyzikální a chemické) do vnitřních vrstev L2 a L3.

Postembryonálně vznikající meristémy

Primární meristémy = vznikají v průběhu embryogeneze; po klíčení generují primární pletiva a orgány.

Sekundární meristémy = vytváří se během postembryonálního vývoje:

- **axilární (úžlabní) meristém**
- **interkalární (vmezeřený) meristém**
- **meristémy laterálních kořenů**
- **druhotné meristémy (vaskulární kambium a dřevní kambium)**
- **meristém květního stvolu**
- **květní meristém**

Axilární meristém = tvoří se v úžlabí listů; dává vznik vedlejším stonkům

Interkalární (vmezeřený) meristém = tvoří se v orgánech, blízko báze; dovolují listům a stonkům trav růst i po spasení kravami.

Meristémy laterálních kořenů = tvoří se z buněk pericyklu v primárním kořenu

Druhotné meristémy

Vaskulární kambium - tvoří se podél vaskulárních pletiv z prokambia; produkuje dřevnatá pletiva ve stonku a kořeni; obsahuje 2 typy kmenových buněk:

- fuziformní kmenové buňky – dlouhé, dávají vznik buňkám sek. floému a xylému
- letokruhové kmenové buňky – dávají vznik letokruhům

Dřevní kambium - meristemické vrstvy, které se tvoří mezi buňkami kortexu a sekundárního floému; dávají vznik korkovým buňkám, které tvoří periderm (kůru).

Meristémy květního stvolu a květní meristémy jsou variantami vegetativního stonkového apikálního meristému.

Vegetativní stonkový apikální meristém:

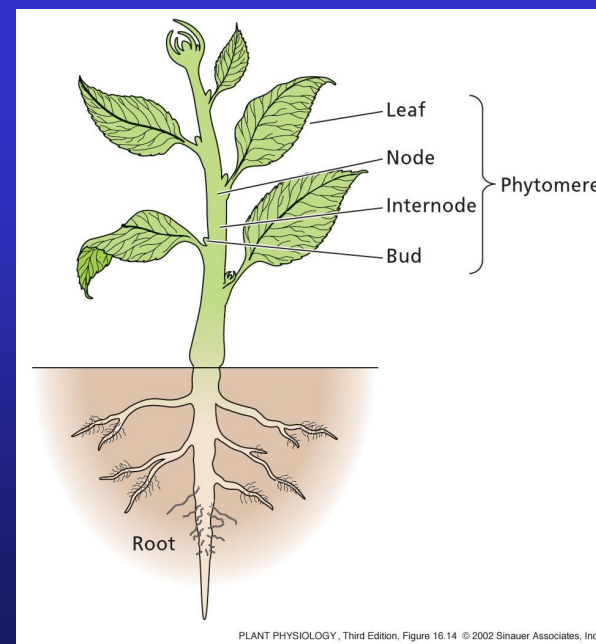
- determinovaný – má geneticky naprogramovaný omezený růst
- nedeterminovaný – nemají předem daný omezený růst, roste tak dlouho, dokud má rostlina zdroje

Vegetativní stonkový apikální meristém je obvykle nedeterminovaný tzn., opakovaně formuje tzv. **fytomery**. Fytomera je vývojová jednotka obsahující:

- 1 nebo více listů
- node (nodium, kolénko)
- internodium
- axilární pupeny; jsou sekundárními meristémy

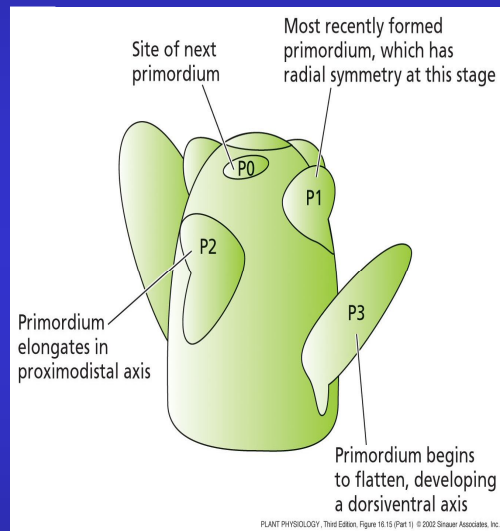
Vegetativní

Meristém květního stvolu – produkuje determinovaný **květní meristém**, který dává vznik květním orgánům



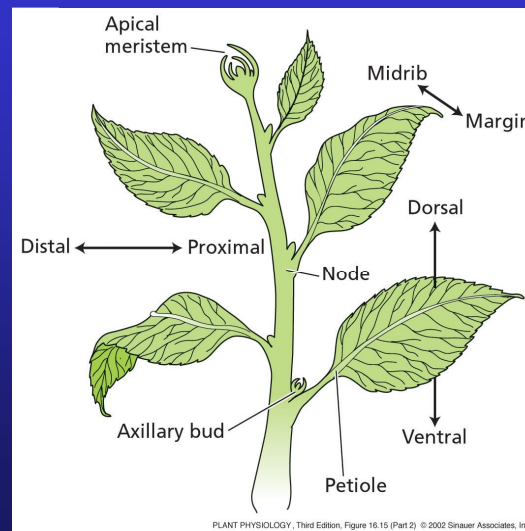
c) Vývoj listu a kořene

Vývoj listu List je hlavní fotosyntetický orgán rostliny; dorso-ventrální polarita (dorsální = vrchní, ventrální = spodní)



Stádia vývoje listu

1. stádium – ve vrstvách L1 a L2 se tvoří oblast rychle se dělících buněk, které získávají listovou identitu. Tvoří se listové primordium (P1 -). Primordia mají rovněž vrstvy L1 – L3.



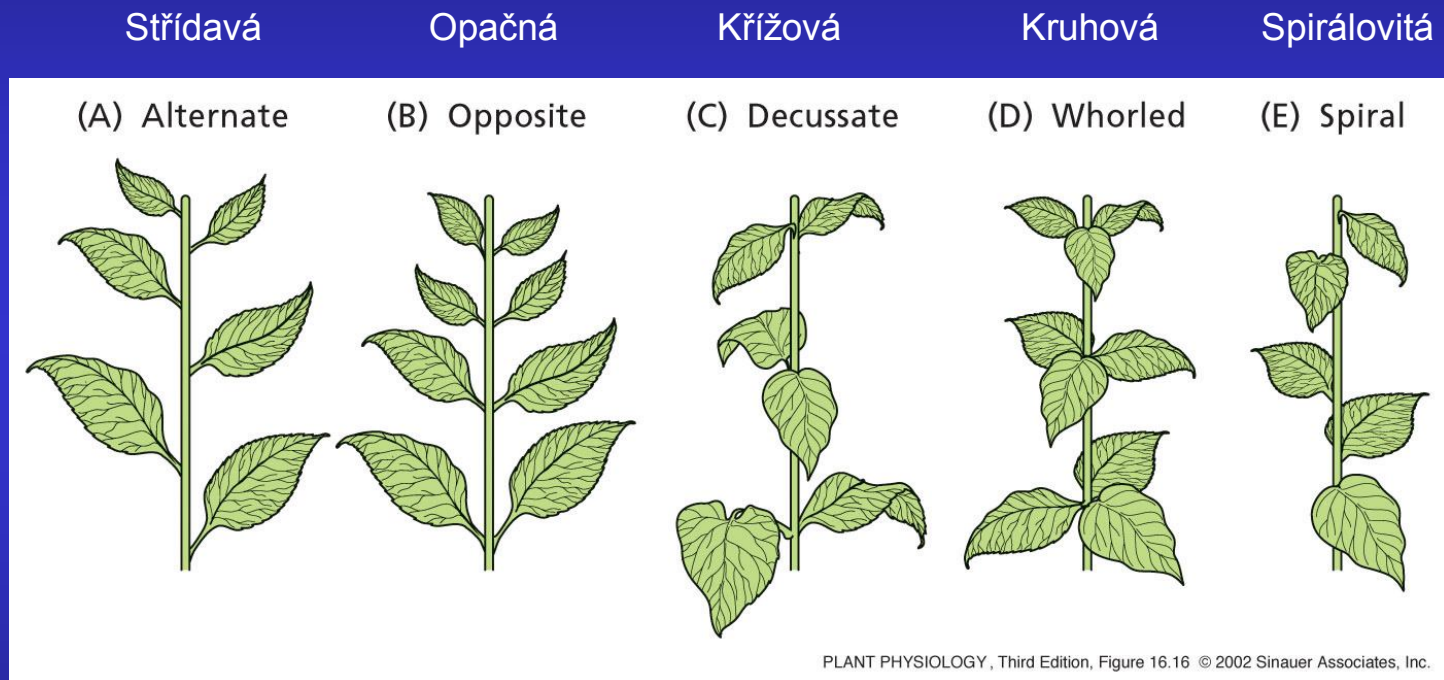
2. stádium – diferenciace listového primordia ve třech osách:

- dorso-ventrální (vrchní-spodní)
- proximo-distální (= apikální-bazální)
- laterální (= okraj listu – midrib)

3. stádium – buňky odvozené z L1 se diferencují v epidermis, L2 – fotosyntetické mezofylové buňky, L3 – buňky vodivých pletiv

Uspořádání listových primordií je geneticky naprogramováno

Počet a pořadí formování listových primordií se odráží v uspořádání listů kolem stonku = **fylofaxe**



UPDATE 2008

Bainbridge et al. (2008) Genes and Development 22: 810 - 823

AUX1 – auxin influx carrier: klíčová role ve stabilizaci fylofaxe – AUX1 řídí transport auxinu do buňky => reguluje hladinu auxinu a polarizaci PIN1

Vývoj kořene

Kořeny – adaptované k růstu v půdě a absorpci vody a minerálních látek

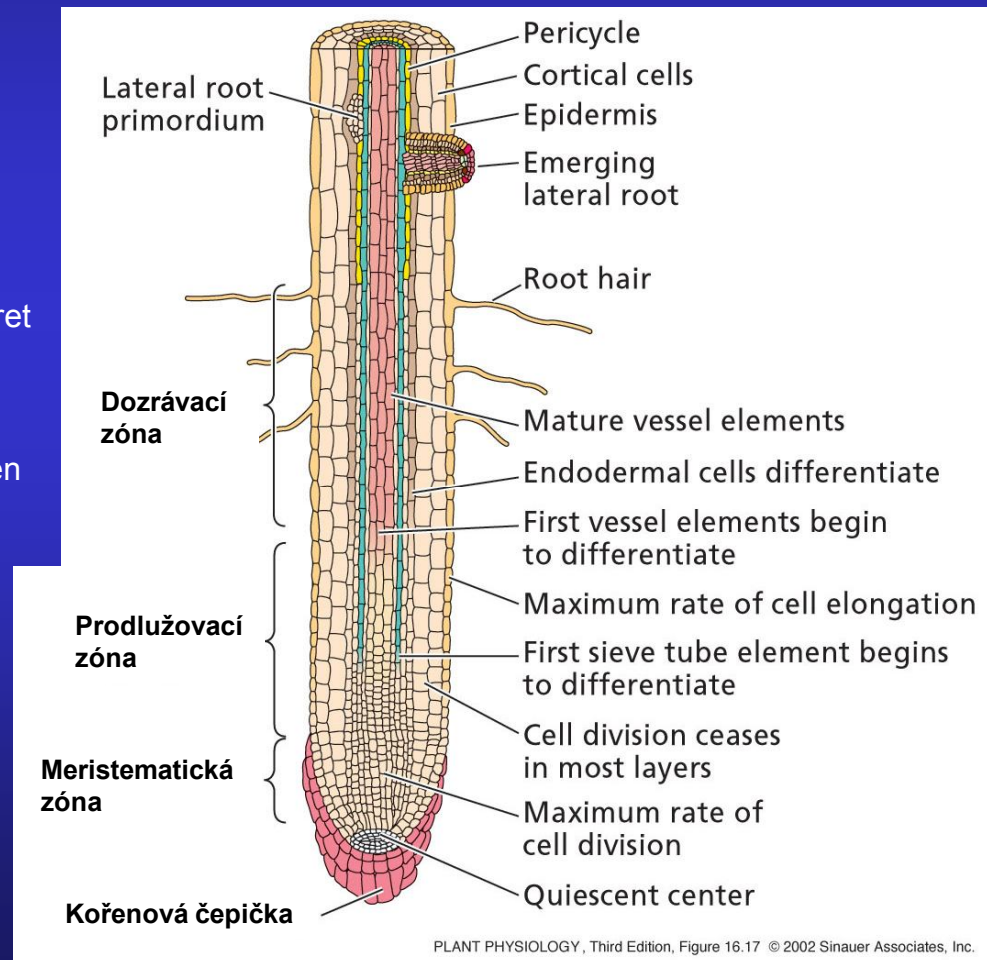
Kořenová špička (~ 1 mm) má čtyři vývojové zóny:

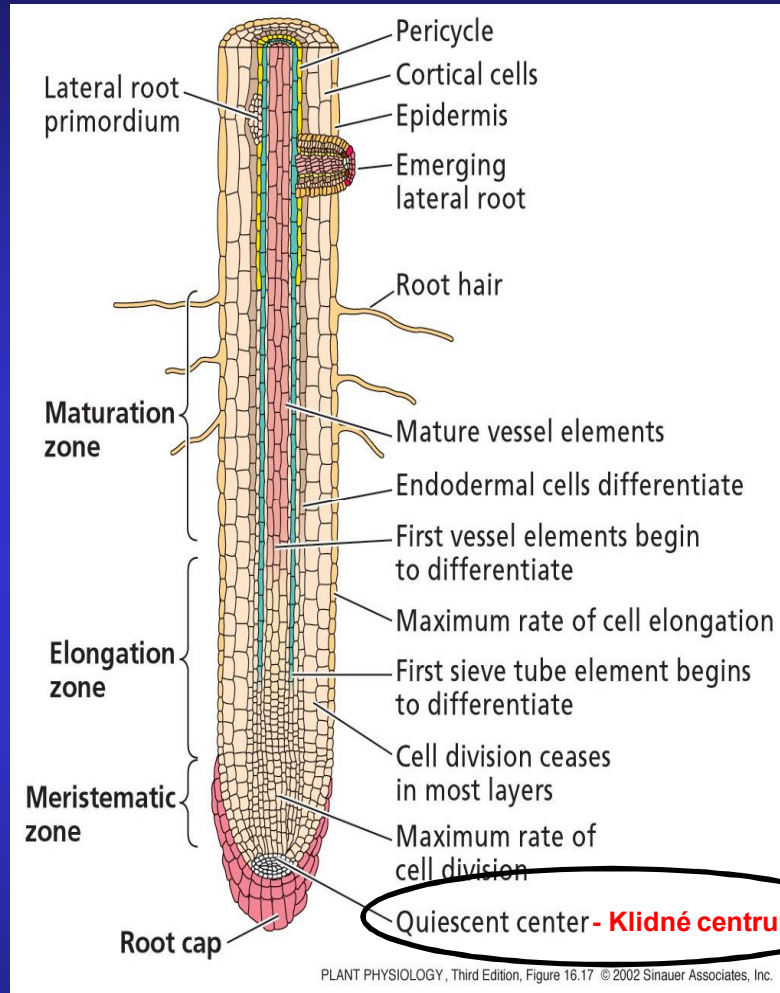
1) **Kořenová čepička** – chrání apikální meristém; některé buňky se specializují: gravistimulace, sekret

2) **Meristematická zóna** – generuje primární kořen

3) **Prodlužovací zóna**

4) **Dozrávací zóna** – buňky se diferencují => => radiální symetrie kořene





Quiescent (klidné) centrum kořenového meristému = centrální buňky meristému, které se dělí pomaleji než buňky okolní.

Dělení buněk kořenové špičky:

Dělení **antiklinální** = rovina cytokineze kolmá k ose kořene; dělení zvětšuje délku kořene

Dělení **periklinální** = rovina cytokineze rovnoběžná s osou kořene; zakládá nové buněčné soubory

Klidné centrum je obklopeno kmenovými buňkami

SCR, SHR, JACKDAW, MAGPIE, PLT, polární transport auxinů – regulace pozice a aktivity kmenových buněk

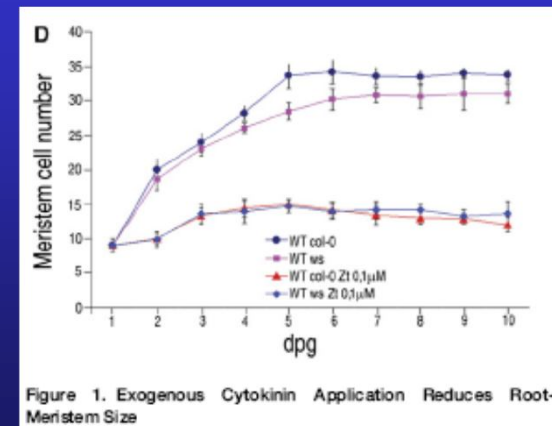
Dělení kmenových buněk je regulováno **etylénem**

Kontrola diferenciacie meristematických buněk



Cytokiny – regulují rychlost diferenciacie meristematických buněk; působí proti auxinům

Ioio et al. (2007) Current Biology 17: 1 - 5



Update 2008

Müller B, Sheen J (2008) Nature 453: 1094-1098

Ranné globulární embryo - **hypofýza** - exprese genů indukovaných **cytokininy**

Pozdní globulární embryo

- **Apikální buňka** - trvá exprese **cytokininy** indukovaných genů
- **Bazální buňka** - exprese genů indukovaných **auxiny** – potlačení genů indukovaných cytokininy

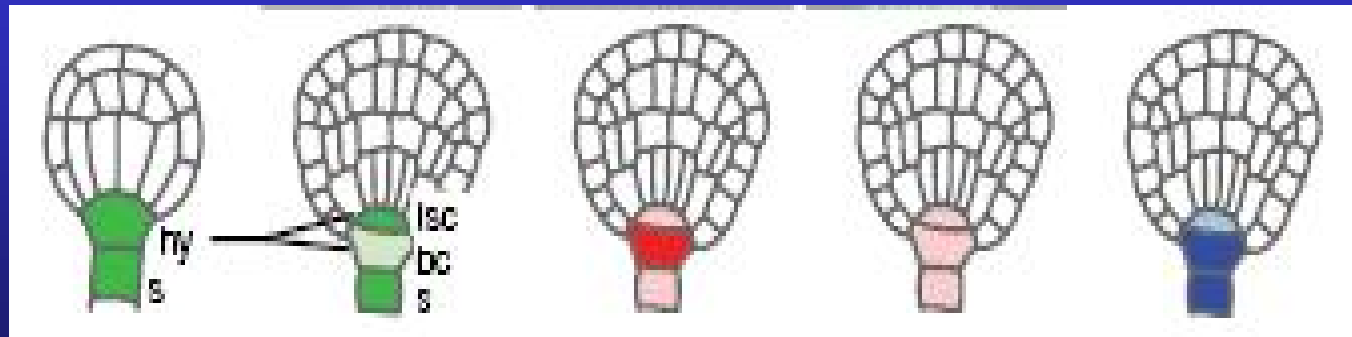
Expres: TCS

TCS

ARR7

ARR15

DR5



Struktura kořenového apikálního meristému *Arabidopsis* a typy kmenových buněk

