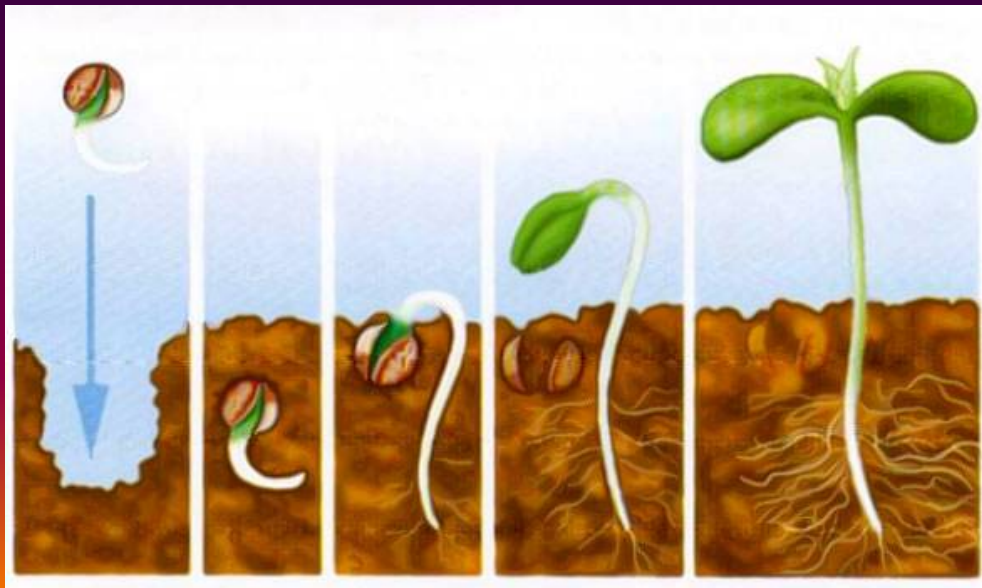


5) Klíčení semen a mobilizace rezerv

- a) Dormance
- b) Klíčení semen
- c) Mobilizace rezerv



Nejnovější review:

Yan A, Chen Z (2020) The Botanical Review 86: 39–75

Yang L et al. (2020) Journal of Integrative Plant Biology 62: 1310-1326

Martin Fellner

Laboratoř růstových regulátorů

PřF UP v Olomouci a ÚEB AVČR

a) Dormance

Dormance semen je kontrolní bod (stav), který chrání zralá semena před klíčením v nevhodných podmínkách. Vhodné podmínky pro klíčení semen zahrnují, kromě dostatku vody, především optimální teplotu a světelné podmínky.

Embryo semene se stává **dormančním**, když je ukončen proces jeho zrání. Aby se buňka dostala do dormance musí dojít k vysychání semene a následné syntéze proteinů spojených s tolerancí k vysychání. Exprese těchto genů je indukována ABA.

- heat-shock proteiny
- LEA proteiny
- proteiny příbuzné LEA – geny obsahují ABRE motiv

Mechanismus tolerance
k vysychání?



LEA proteiny mohou vázat buněčné komponenty formováním amorfních spirál, chránících obsah buňky před poškozením.

Syntéza těchto proteinů se zvyšuje v embryu torpédovitého stádia, kdy se syntéza zásobních proteinů snižuje.

Živá semena, která za vhodných podmínek neklíčí (voda, kyslík) jsou ve stavu **dormance** (klid). Jako jiné dormantní struktury (dormantní pupeny), dormantní semena vyžadují další stimuly k tomu, aby klíčila.

Ekodormance

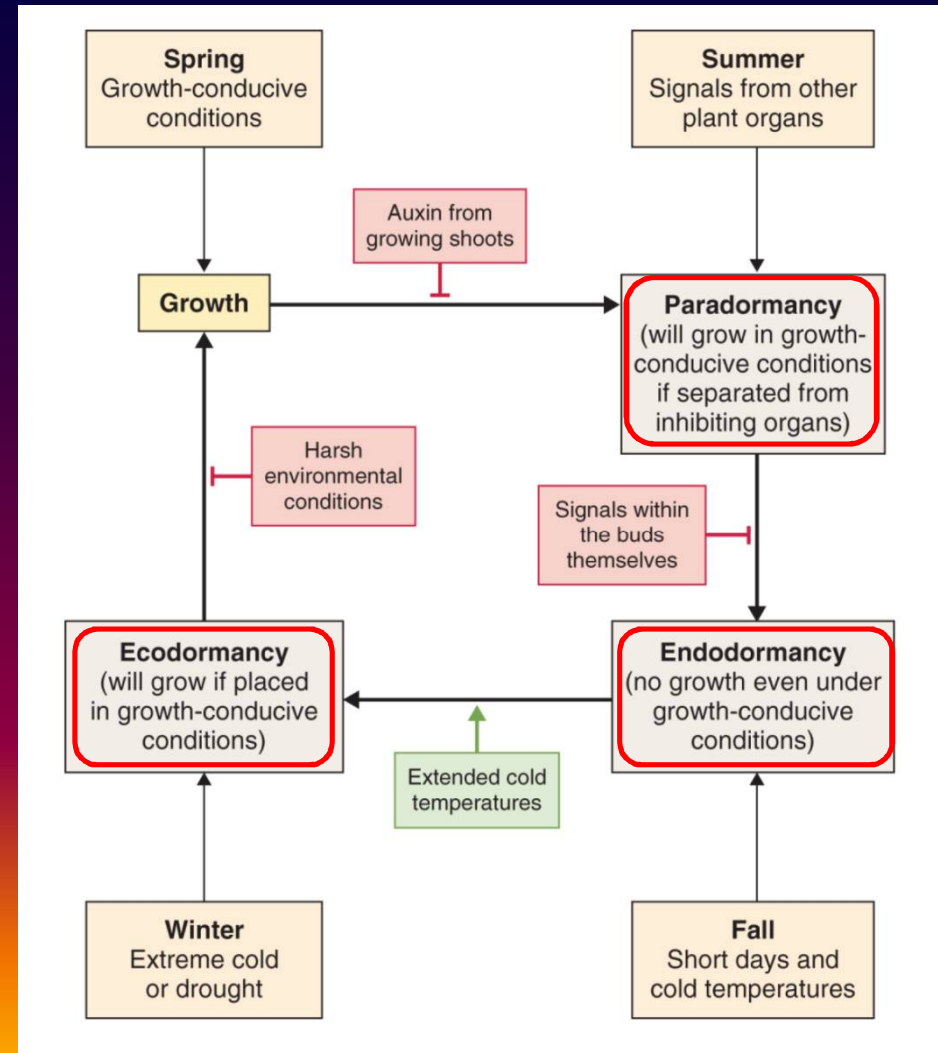
- dormance, způsobená nedostatkem vhodných vnějších faktorů indukujících klíčení

Endodormance

- inhibice sídlící v samotné dormantní struktuře

Paradormance (letní dormance)

- inhibice růstu vlivem jiných částí rostliny



Typy semenné dormance:

Primární dormance - semena jsou dormantní již v době, kdy se oddělují od mateřské rostliny; neklíčí ani při vhodných podmínkách

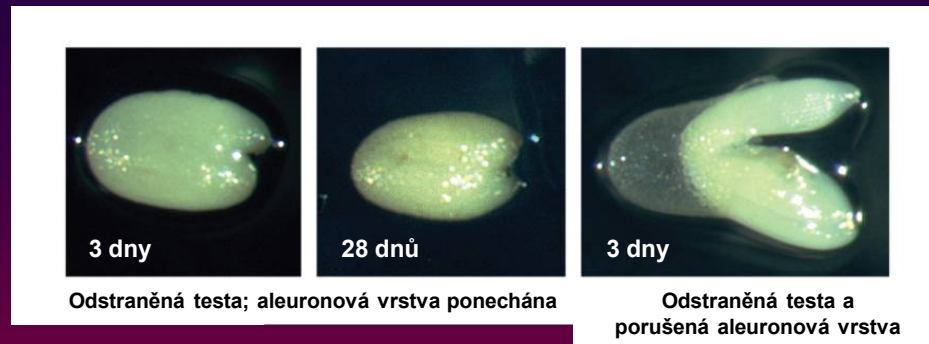
– pojistka, že semena nevyklíčí předčasně, pokud jsou spojena s mateřskou rostlinou

Sekundární dormance - semena ji získávají jako reakci k vnějším podmínkám, se kterými se semeno setká, když se oddělí od mateřské rostliny (vysoká teplota, přítomnost či naopak absence světla)

– zpožďuje klíčení, dokud vnější podmínky nejsou pro klíčení a růst příznivé

Dormantní vlastnosti mohou mít obaly semene nebo embryo

Seed coat-enhanced dormance - obalem řízená dormance; *Arabidopsis*, ječmen, salát, rýže, oves; když je embryo z dormantního semene odděleno od semených obalů a vloženo do vody, tak je schopno růst a vyvinout se v rostlinu.



Mechanizmy:

- mechanické omezení embryo
- nepropustnost semenných obalů pro vodu a plyny
- obaly fungují jako bariéra zabraňující odstranění inhibičních komponent ze semene (ABA)
- kombinace těchto mechanismů

Embryo dormance – embryonální dormance; po odstranění obalů embryo neroste => řízena ABA z děloh (líška, jasan, broskev, cibule), po odstranění děloh normální růst

Podmínky prostředí, které mohou zrušit dormanci

Table 6.14 Termination of dormancy by various factors.

Species	Factor		
	After-ripening	Chilling (stratification)	Light
Colonial bent grass (<i>Agrostis tenuis</i>)	+		+
Wild oat (<i>Avena fatua</i>)	+	+	
Barley (<i>Hordeum</i> spp.)	+	+	
Annual bluegrass (<i>Poa annua</i>)		+	+
Wheat (<i>Triticum aestivum</i>)	+	+	
Sycamore (<i>Acer pseudoplatanus</i>)	+	+	
White birch (<i>Betula pubescens</i>)	+	+	+
Lamb's quarters (<i>Chenopodium album</i>)	+		+
Hazel nut (<i>Corylus avellana</i>)	+	+	
Lettuce (<i>Lactuca sativa</i> ; some cultivars)	+	+	+
Tobacco (<i>Nicotiana tabacum</i>)			+
Plum (<i>Prunus domestica</i>)	+	+	
Apple (<i>Malus domestica</i>)	+	+	(+)?
Scotch pine (<i>Pinus sylvestris</i>)		+	+

+, effective in dormancy breaking.

Dormantní semena mohou za působení určitých vnějších podmínek klíčit:

- nízká teplota
- světlo
- dlouhé skladování v suchu (after-ripening; pokojová teplota, 10 měsíců)

Update 2018

Sun M et al. (2018) Plant Signaling & Behavior 28: article no: e1411449

Uvolnění semen pšenice z dormance po after-ripening období vede během imbibice k expresi genů kódujících α -amylázu (AMY2) a α -glukosidázu (AGL1). Při dormanci je exprese těchto genů potlačena.

Update 2015

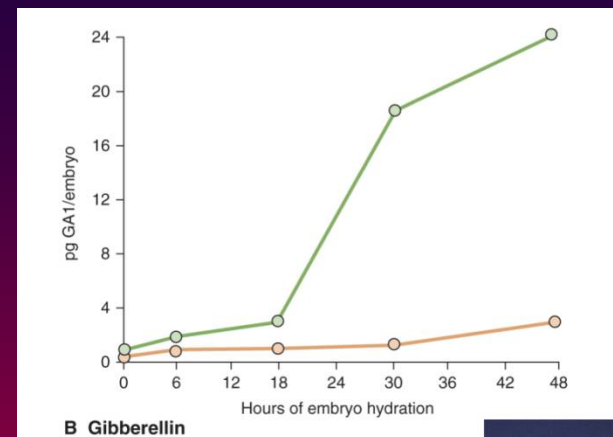
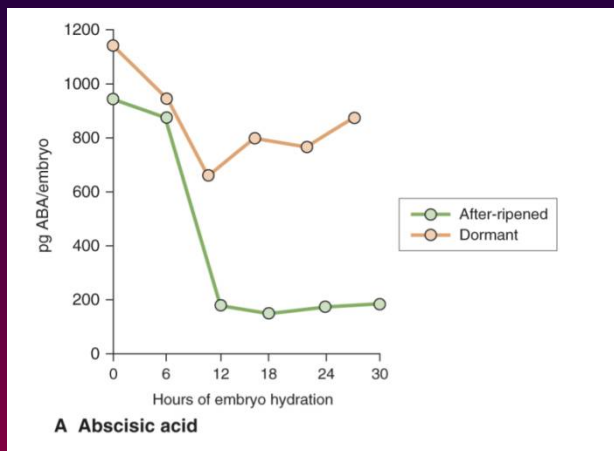
Hauvermale AL et al. (2015) Plant Cell Physiology 56: 1773-1785

Uvolnění semen *Arabidopsis* z dormance je spojeno se zvýšenou akumulací giberelinového receptoru GID1.

Rostlinné hormony hrají důležitou roli v udržování a překonání dormance

Mutanti s nadprodukcí GAs či konstitutivní reakcí k GAs
 Mutanti s deficitem ABA či necitlivostí k ABA } Dormance chybí

Hladina ABA a GAs se dramaticky mění u semen dlouho skladovaných v suchu (after-ripened) a dále po imbibici. Reciproční změny v hladině ABA a GAs v dormantních a nedormantních embryích vedou k porušení dormance.



Jak jsou změny v koncentracích ABA a GAs přeloženy do růstu kořene v dormantních semenech?

V semenech ošetřených GAs mají endospermové buňky redukovanou (měkkou) buněčnou stěnu, zatímco přidání ABA naopak brání změknutí této buněčné stěny. Narušením buněčné stěny zmizí bariéra pro růst kořene.



Vztah mezi nezralostí embrya a kapacitou klíčení je ovlivněn ABA

Semena některých druhů rostlin jsou dormantní, protože jejich embryo je nezralé, ještě v době, kdy se semeno odděluje od mateřské rostliny (sasanka, jasan – vývoj embrya potřebuje vhodnou teplotu a vlhkost)



V raných a středních fázích zrání je dominantní aktivita ABA sekretované z mateřských pletiv.

Izolování vyvíjejícího se embrya od vlivu ABA vede k předčasnému klíčení (**precocious germination**) - ABA inhibuje předčasné klíčení – **viviparii**.

U ABA-deficientních mutantů (*vp2*, *vp5*, *vp7*, *vp9*, *vp14*) dochází k parciální obnově fenotypu po aplikaci ABA.

Mutant *vp1* – narušena signalizace ABA a syntéza antokyanů – klíčící viviparní zrna jsou nepigmentovaná

Zapojení dalších hormonů v dormanci rostlin

Auxiny – stimulují dormanci; znalost molekulárních mechanismů je velice omezená. Jeden zjištěný mechanismus.

Auxin → TIR1 —| IAA17 —| ARF10/16 → Gene expression

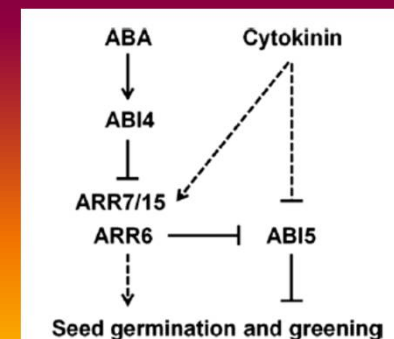
Zesílení auxinové signalizace nebo biosyntézy stimuluje dormanci semen prostřednictvím signální dráhy TIR1-IAA17-ARF10/16.

Auxiny rovněž stimulují dormanci prostřednictvím ABA nebo zasolení.

Ethylén – uvolňuje z dormance; blokuje syntézu a signalizaci ABA

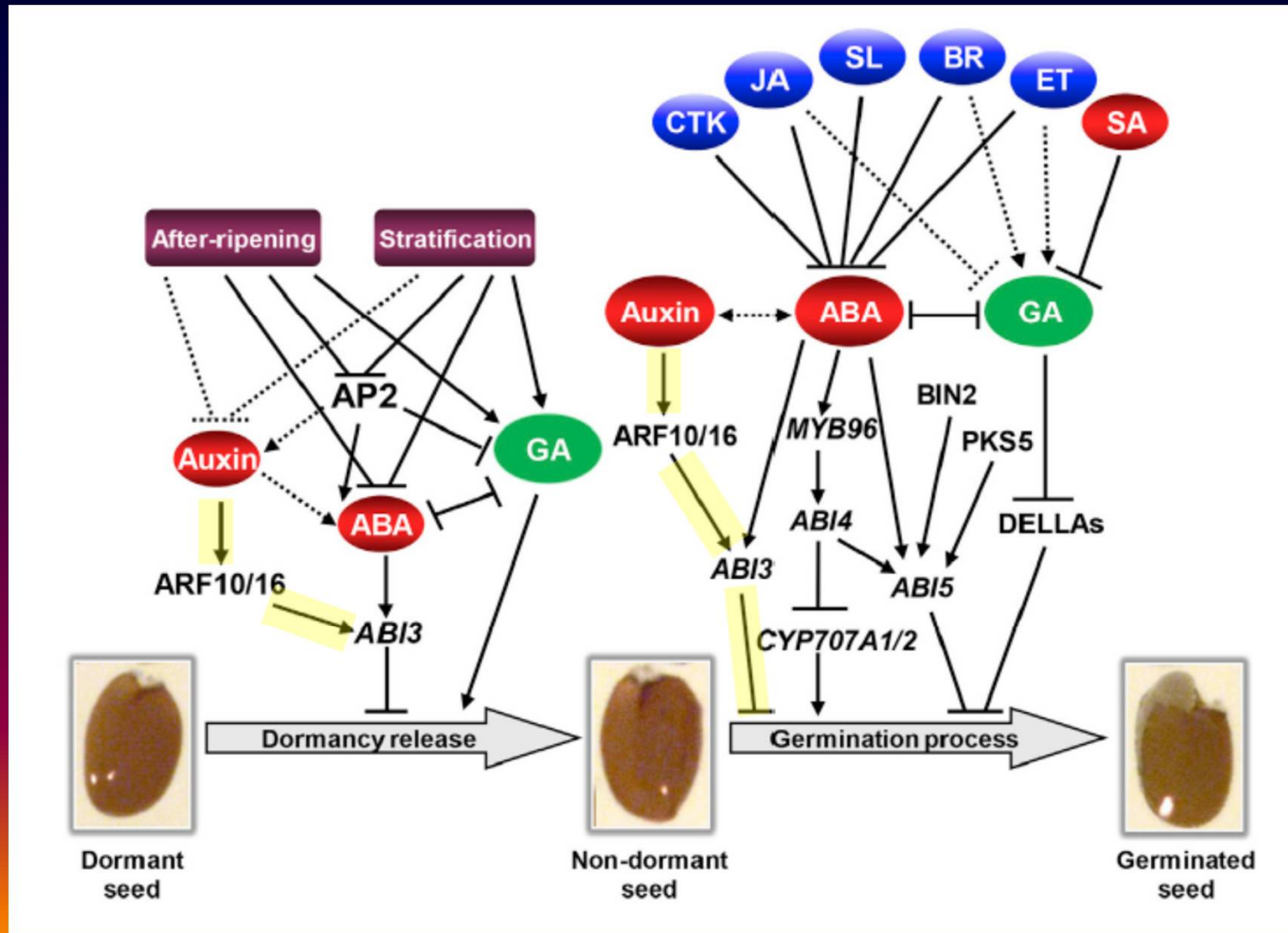
Brassinosteroidy – uvolňují z dormance; podporují prasknutí endospermu; aktivují GA geny a inaktivují ABA signalizaci; mutant over-exprimující BRI1 klíčí rychleji

Cytokininy – uvolňují z dormance - potlačují ABA signalizaci



Update 2016

Shu K et al. (2016) Molecular Plant 9: 34-45



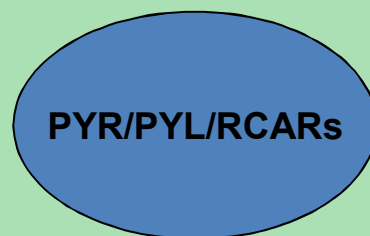
PYR = PYrabactin Resistance

PYL = PYR-Like

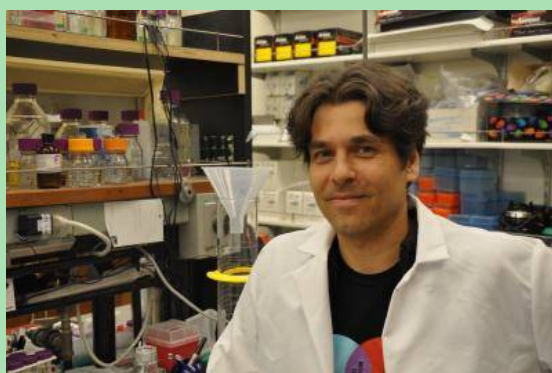
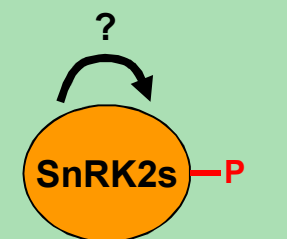
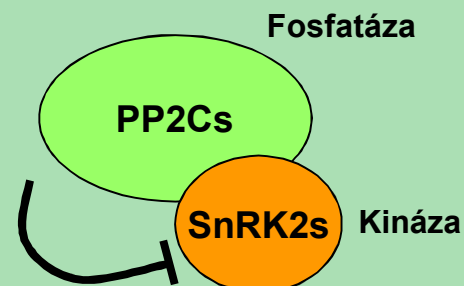
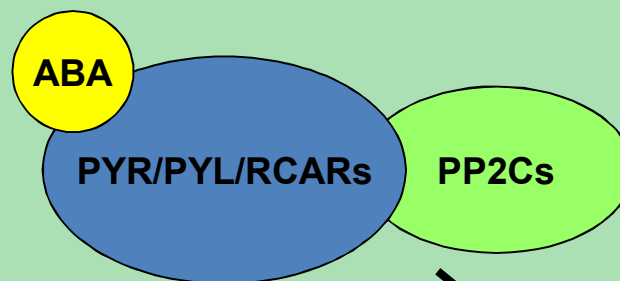
RCARs = Regulatory Component of ABA Receptors

Receptory ABA

- ABA



+ ABA



Sean Cutler

Aktivace ABA-zprostředkované
exprese genů (v jádře)

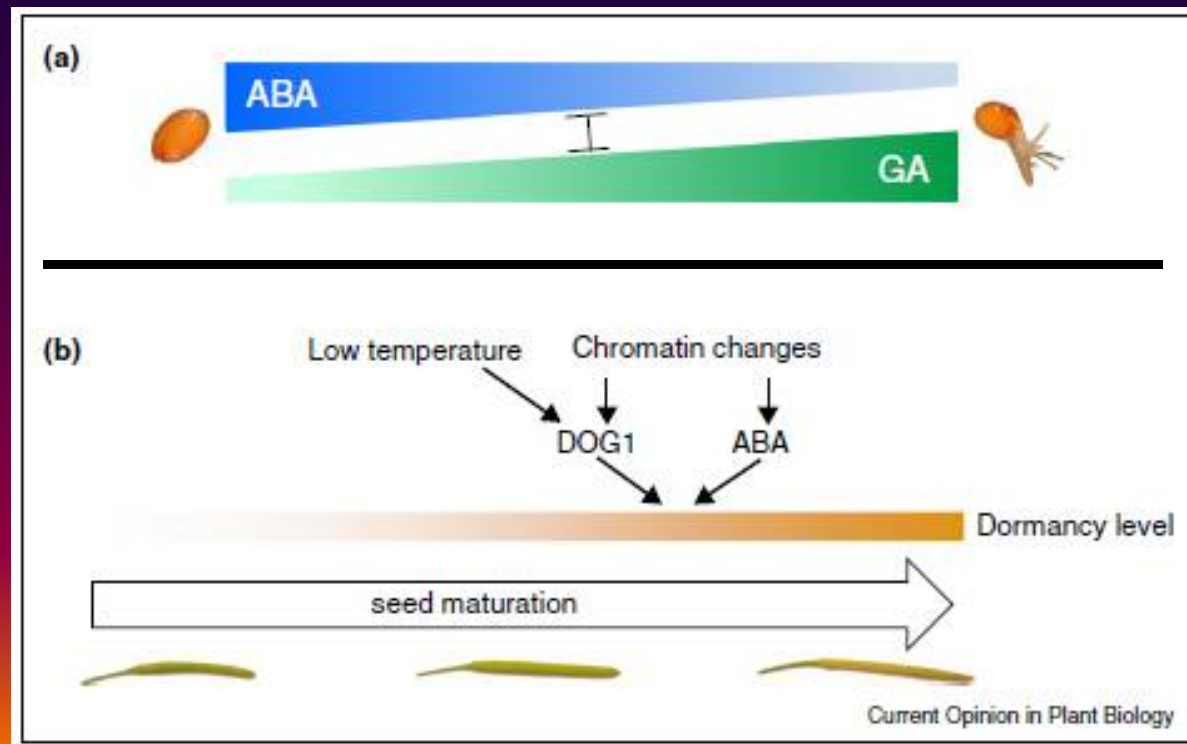
Aktivace pomalých
aniontových kanálů

Inhibice K⁺ kanálů

Geny specifické pro dormanci

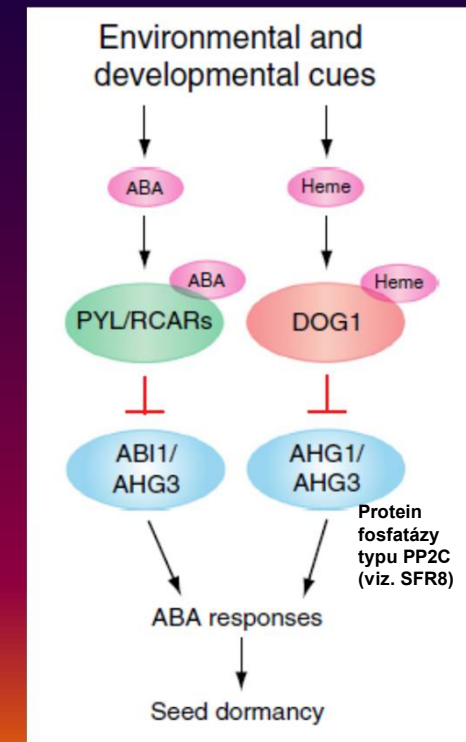
DOG1 = DELAY OF GERMINATION 1 – *Arabidopsis*; zesiluje dormanci indukovanou nízkou teplotou; konzervovaný gen; DOG1 zvyšuje dormanci zvyšováním citlivosti k ABA.

DOG1 a ABA jsou nezbytně nutné pro indukci dormance semen => signální dráhy DOG1 a ABA se setkávají v nějakém společném bodě; DOG1 působí i prostřednictvím jiných mechanismů než vlivem AHG1.



Update 2017

Née G et al. (2017) Current Opinion in Plant Biology 35: 8-14



Update 2018

Nishimura N et al. (2018)
Nature Communications 9, art. No:
2132

RDO5 = REDUCED DORMANCY 5 – kóduje pseudofosfatázu, která ovlivňuje fosfoproteom během rané imbibice semen; množství RDO5 koreluje s úrovní semenné dormance.

MFT = MOTHER OF FT AND TFL1 – *Arabidopsis*; kóduje protein patřící mezi fosfatidyl ethanolamin binding proteiny (PEBP); funkce není známa, má však negativní zpětnou vazbu v ABA signalizaci.

REVEILLE1, REVEILLE2 – *Arabidopsis*; kóduje Myb-like transkripční faktory, které stimulují dormanci semen; potlačují expresi GA3ox2 => potlačení biosyntézy GAs

DEP – *Arabidopsis*; kóduje C3HC4 RING finger

AtHB20 – *Arabidopsis*; kóduje Homeobox TF

CBF – *Arabidopsis*; kóduje AP2 TF; funkce v chladové toleranci

FLC – *Arabidopsis*; kóduje MADS-box TF; represor iniciace kvetení

MYB96 – *Arabidopsis*; kóduje TF, pozitivně reguluje ABA-biosyntetické geny *NCED2*, 5, 6 a 9 a negativně GA biosyntetické geny *GA3ox1*, *GA20ox1*; MYB96 se přímo váže k promotorům *NCED2* a 6

Update 2017

Chahtane H et al. (2017) *Journal of Experimental Botany* 68: 857-869

Review o mechanizmech primární dormance

Metody použité ke zmírnění dormance

Methods	Examples	Putative effects	References
Stratification	4 d at 4 °C in the dark	Enhanced GA biosynthesis and signaling	Debeaujon <i>et al.</i> (2000); Yamauchi <i>et al.</i> (2004)
Scarification	Removing the seed coat (testa+endosperm)	Removing ABA release from the endosperm	Bethke <i>et al.</i> (2007); Lee <i>et al.</i> (2010)
ABA inhibitor	Norflurazon; fluridone	Inhibition of ABA biosynthesis	Ali-Rachedi <i>et al.</i> (2004); Lee <i>et al.</i> (2010)
Nitrate	KNO ₃	Decreased ABA content	Ali-Rachedi <i>et al.</i> (2004); Matakias <i>et al.</i> (2009)
Nitrite	NaNO ₂	Unknown	Bethke <i>et al.</i> (2006a, b)
NO	SNP vapor	Decreased ABA content	Liu <i>et al.</i> (2009)
Cyanide	Fe(II)CN vapor; Fe(III)CN vapor; KCN vapor	Probably decreased ABA content (cyanide is the primary dormancy-breaking compound produced by SNP)	Bethke <i>et al.</i> (2006a, b)
Karrikin	KAR ₁ ; KAR ₂	Enhanced GA biosynthesis and signaling	Nelson <i>et al.</i> (2009, 2011)
Strigolactone	GR-24	Enhanced karrikin signaling and GA signaling	Nelson <i>et al.</i> (2009, 2011)
ROS	ROS donor: methylviologen; menadione	Unknown	Leymarie <i>et al.</i> (2012)

Update 2021

Baskin JM, Baskin CC (2021) *Seed Science Research* 1-29

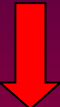
Nejnovější review o mechanizmech regulace dormance o nové klasifikaci semenné dormance

b) Klíčení semen

Vysychající semeno: [ABA]  => citlivost k ABA 

Rehydratace: suché semeno přepíná vývojový program na program klíčící



mRNAs spojené s klíčícím programem 
mRNAs spojené s vývojovým programem 

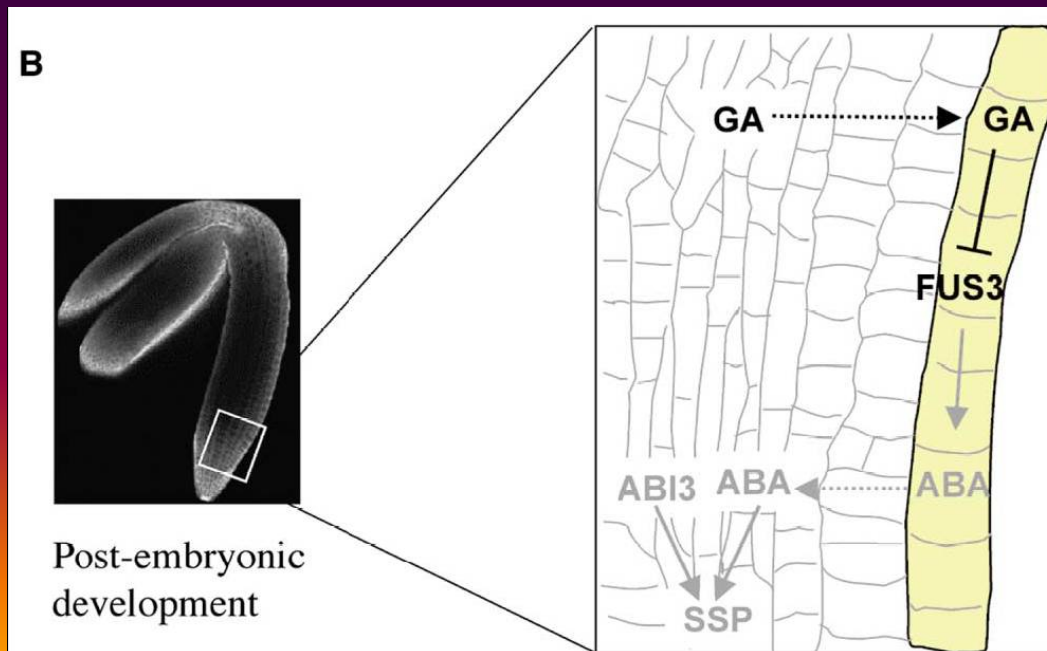
Přepínání programů je regulováno několika cestami, včetně regulací
změn v citlivosti genů k ABA

Klíčení – začíná tehdy, když klidné a suché semeno začne nabírat vodu = **imbibice**

Imbibice = fyzikální proces spočívající v hydrataci zásobních polymerů => imbibice probíhá u živých i mrtvých semen.

Proud vody do semene začíná především prostřednictvím mykropyle, což je nejtenčí část testy.

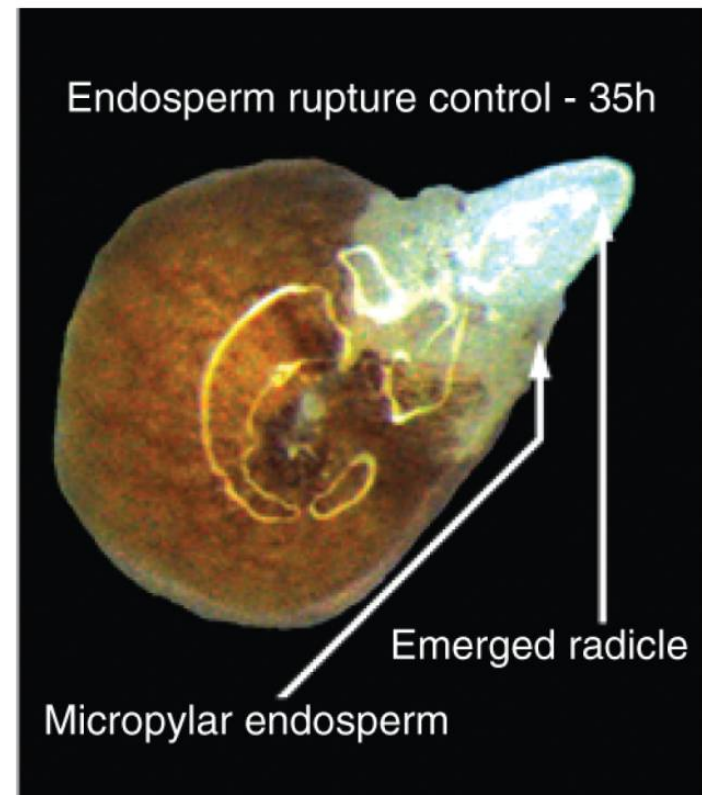
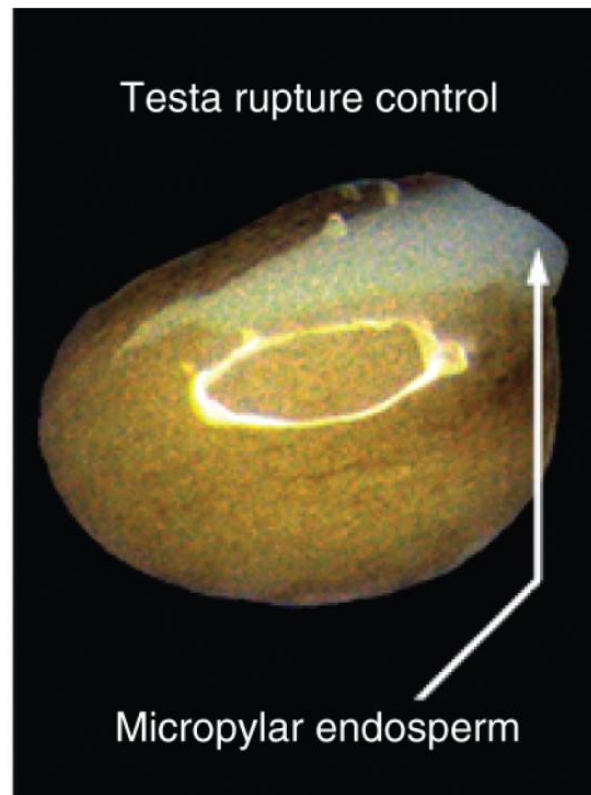
Funkce **FUS3** během postembryonického vývoje - klíčení embrya



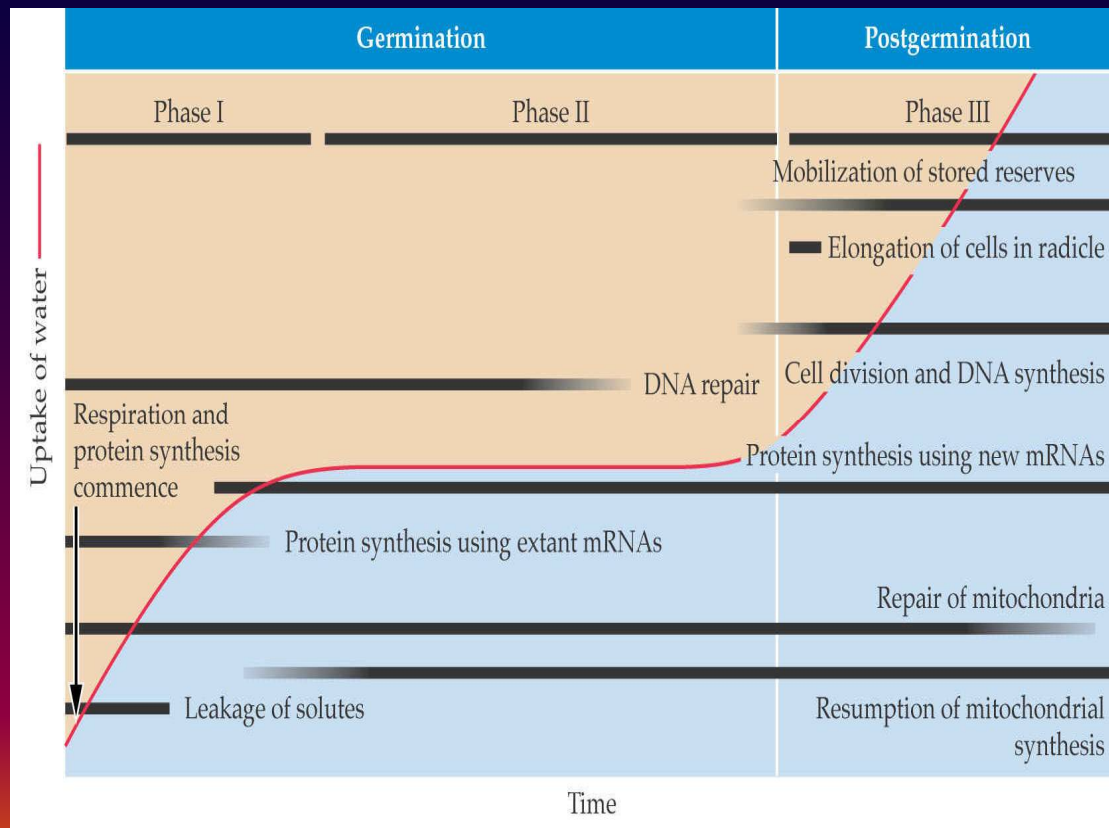
Viditelné klíčení je ukončeno tehdy, když struktury obklopující embryo jsou protrženy embryonickým kořínkem.

Po ukončení klíčení jsou rezervy v zásobních pletivech mobilizovány – podpora růstu rostliny.

Protržení testy rostoucím kořínkem



Časový sled událostí spojených s klíčením a fází po ukončení klíčení



Fáze I

Rychlé nasátí vody semenem => výtok rozpuštěných látek a metabolitů

Fáze II

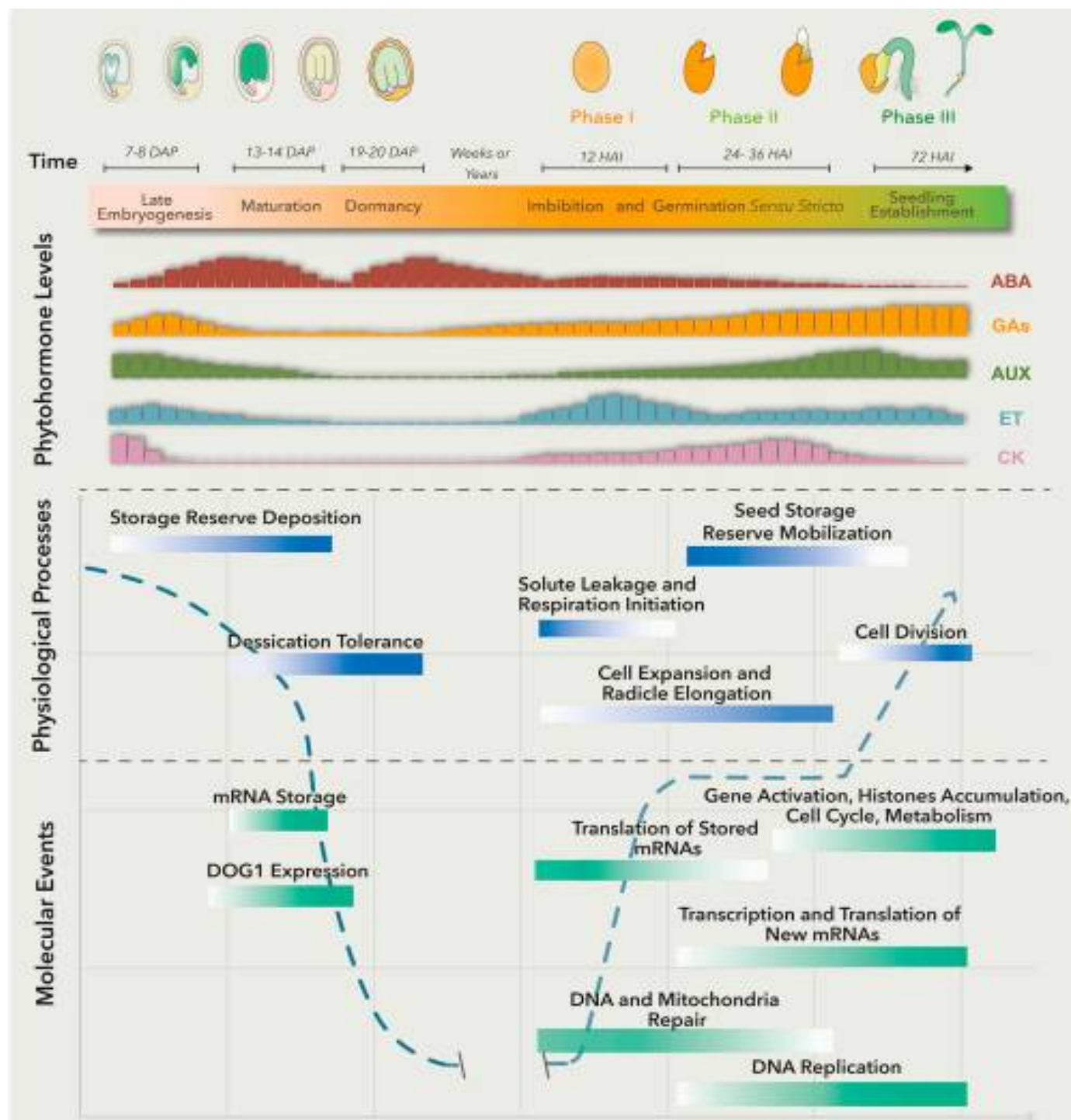
Stabilizace množství vody v semeni => výtok ustává

Oprava mitochondrií a opětovné zahájení jejich syntézy

Syntéza proteinů z nově vzniklé mRNA

Fáze III

Buněčné dělení a prodlužování, syntéza DNA, mobilizace rezerv => zvyšování FW semen



Update 2021

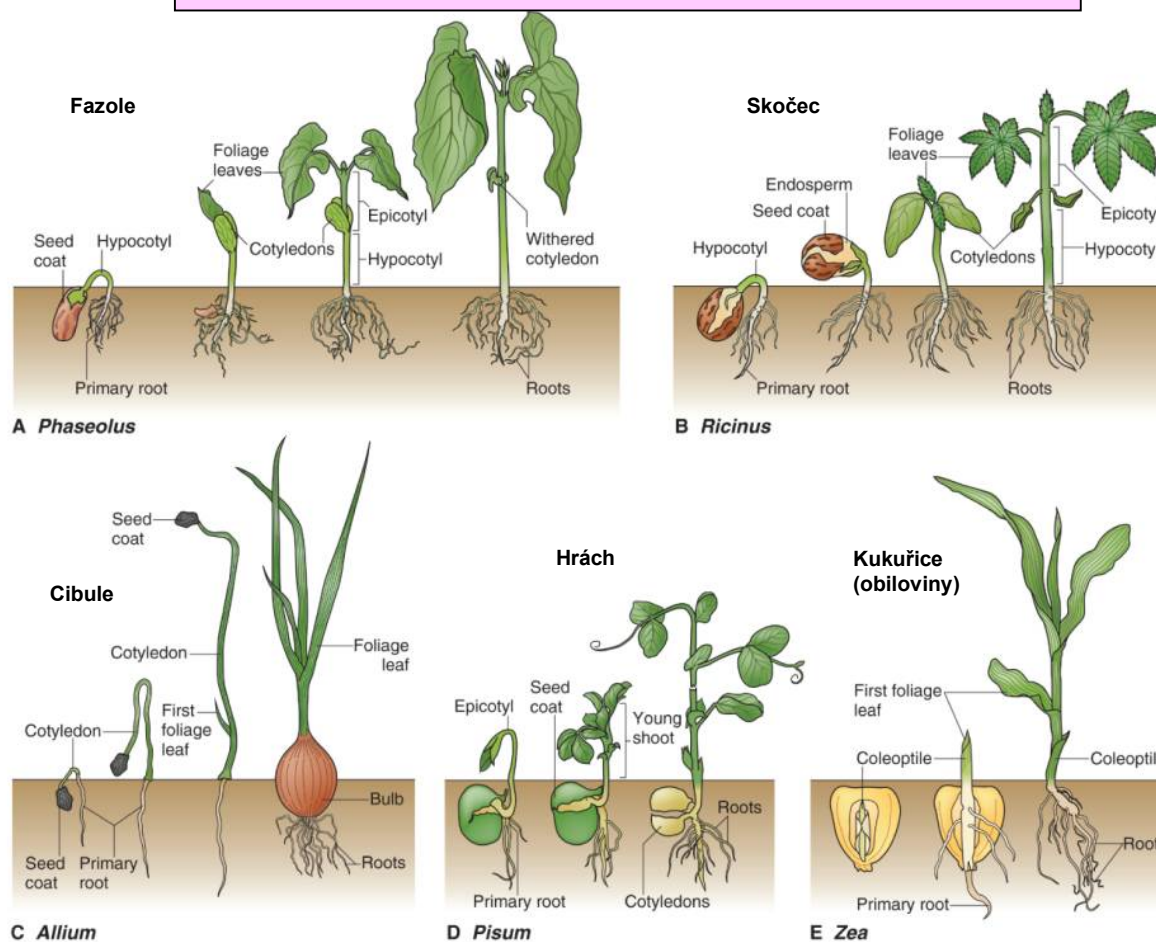
Luján-Soto E, Dinkova TD (2021)
Plants 10: 236

Prodlužování rostlinky:

Epigeal - prodlužování probíhá v hypokotylu => dělohy jsou nad zemí

Hypogeal - prodlužování probíhá v epikotylu => dělohy zůstávají pod zemí

Epigeal – prodlužování probíhá v hypokotylu (fazole, skočec, cibule)



Hypogeal – prodlužování probíhá v epikotylu (hrách, kukuřice)

Indukce klíčení semen (porušení dormance) světlem

Table 6.15 Illumination conditions required for the breaking of dormancy.

Illumination conditions	Examples
Seconds or minutes	Colonial bentgrass (<i>Agrostis tenuis</i>) Lamb's quarters (<i>Chenopodium album</i>) Lettuce (<i>Lactuca sativa</i> cv. Grand Rapids) Tobacco (<i>Nicotiana tabacum</i>)
Several hours	Pig nut (<i>Hyptis suaveolens</i>) Purple loosestrife (<i>Lythrum salicaria</i>)
Days	<i>Epilobium cephalostigma</i> <i>Kalanchoe blossfeldiana</i>
Long days	<i>Begonia evansiana</i> White birch (<i>Betula pubescens</i>) (at 15 °C) Jerusalem oak (<i>Chenopodium botrys</i>) (at 30 °C)
Short days	Jerusalem oak (>30 °C) Eastern hemlock (<i>Tsuga canadensis</i>) White birch (>15 °C)

Světlo je velice důležitý faktor spouštějící klíčení.

Psineček obecný

Merlík bílý

Salát

Tabák

Hyptis

Vrbice

Vrbovka

Kolopejka

Begónie

Bříza pýřitá

Merlík hroznový

Merlík hroznový

Jedlovec jedovatý

Bříza bělokorá

Efekt červeného světla (R; 650-680 nm) je eliminován červeným světlem o větší vlnové délce (FR; 710-740 nm)



Dark



R



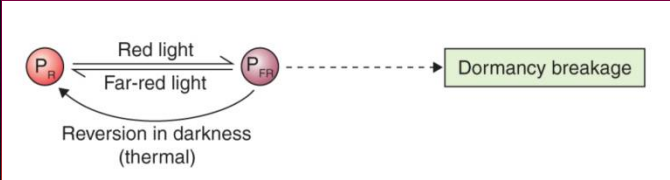
R FR



R FR R

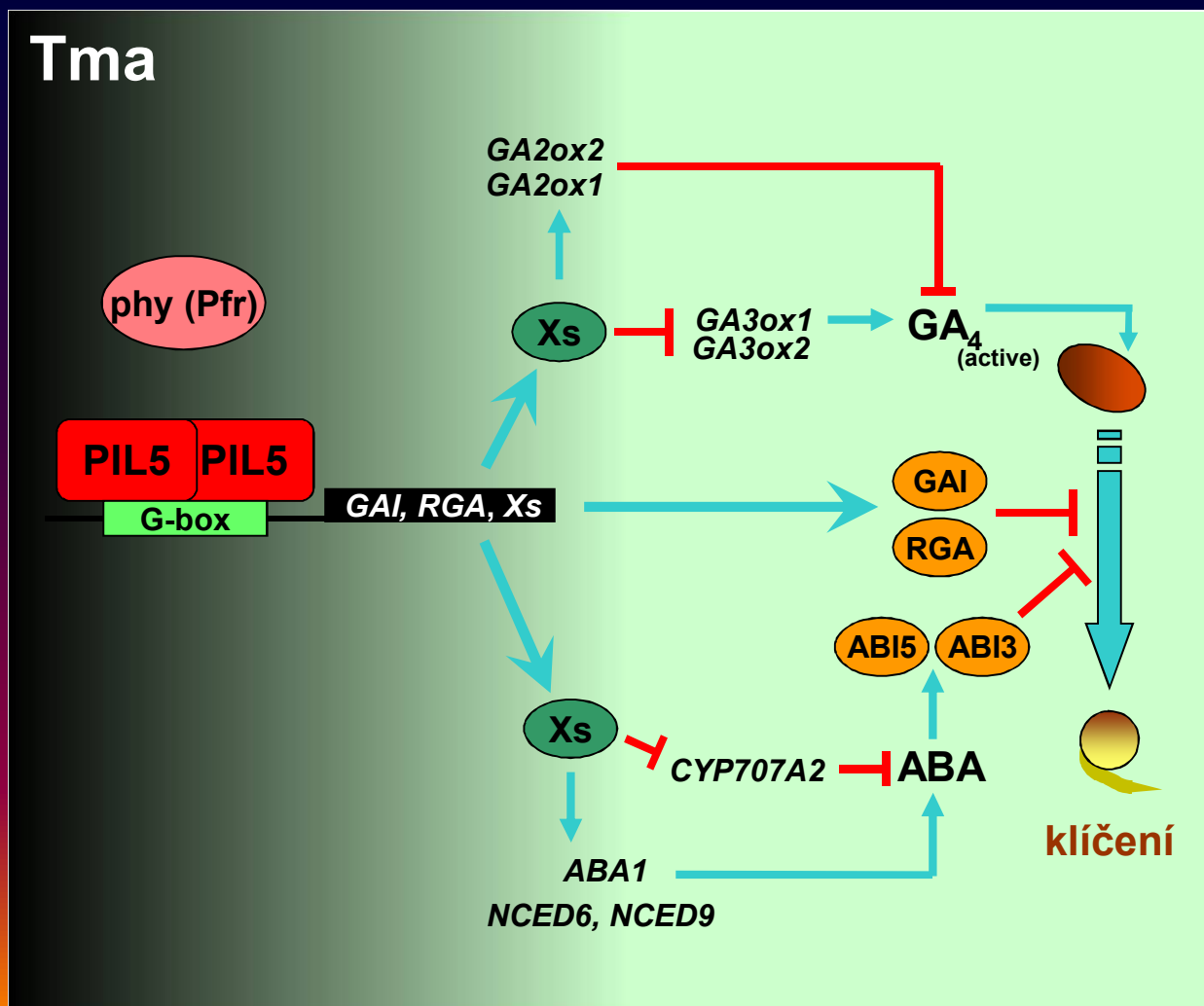


R FR R FR



Indukce klíčení světlem - regulace biosyntézy a signalizace giberelinů a ABA (*Arabidopsis*)

Tma



PIL5

Transkripční faktory (aktivátory) (*syn.* PIF1)

Xs

Neznámý faktor X

GA2ox2
GA2ox1

GA deaktivující geny

GA3ox1
GA3ox2

GA biosyntetické geny

GAI

RGA

DELLA proteiny

ABA1

NCED6

NCED9

ABA biosyntetické geny

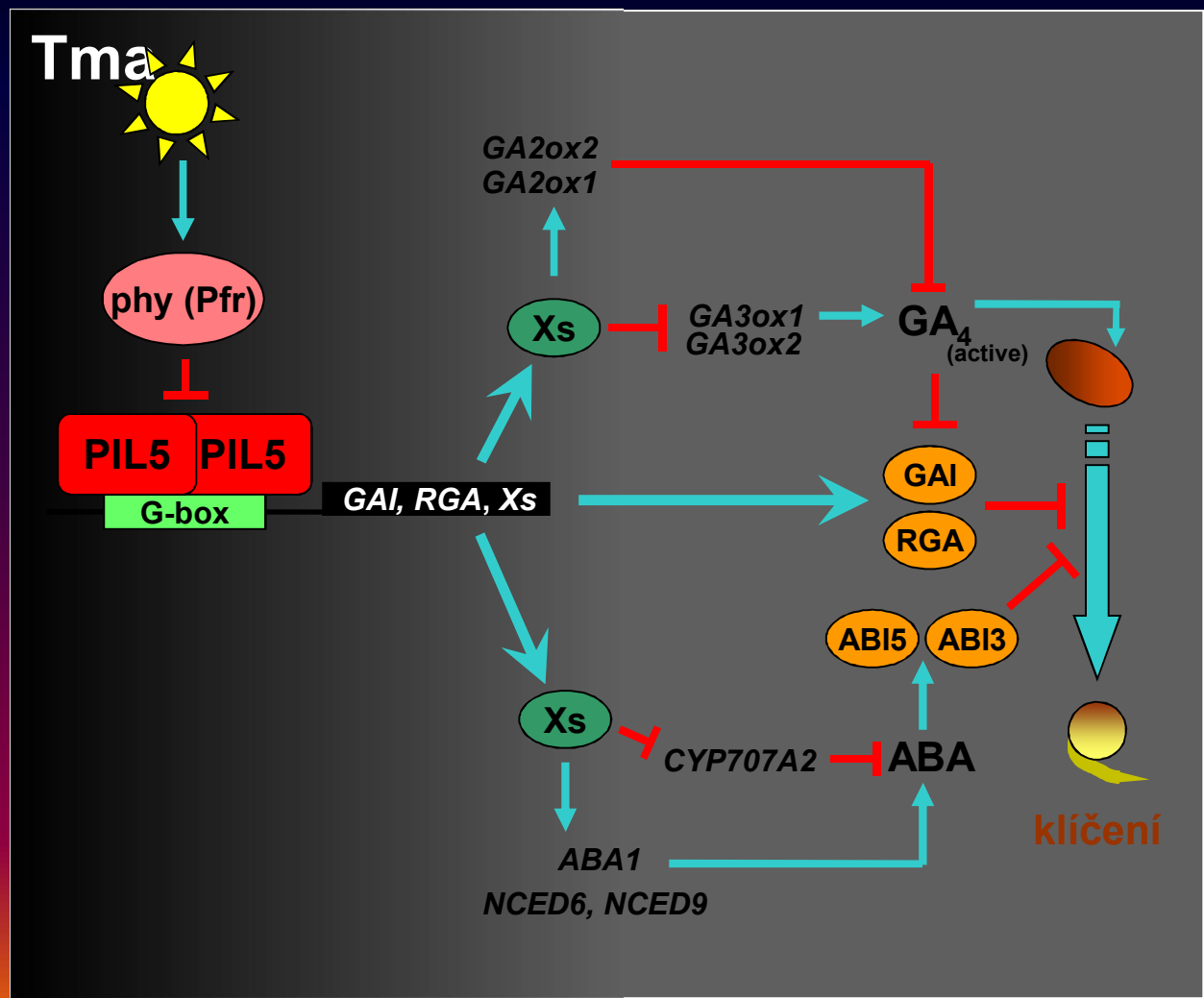
ABI5

ABI3

Transkripční faktory indukované ABA

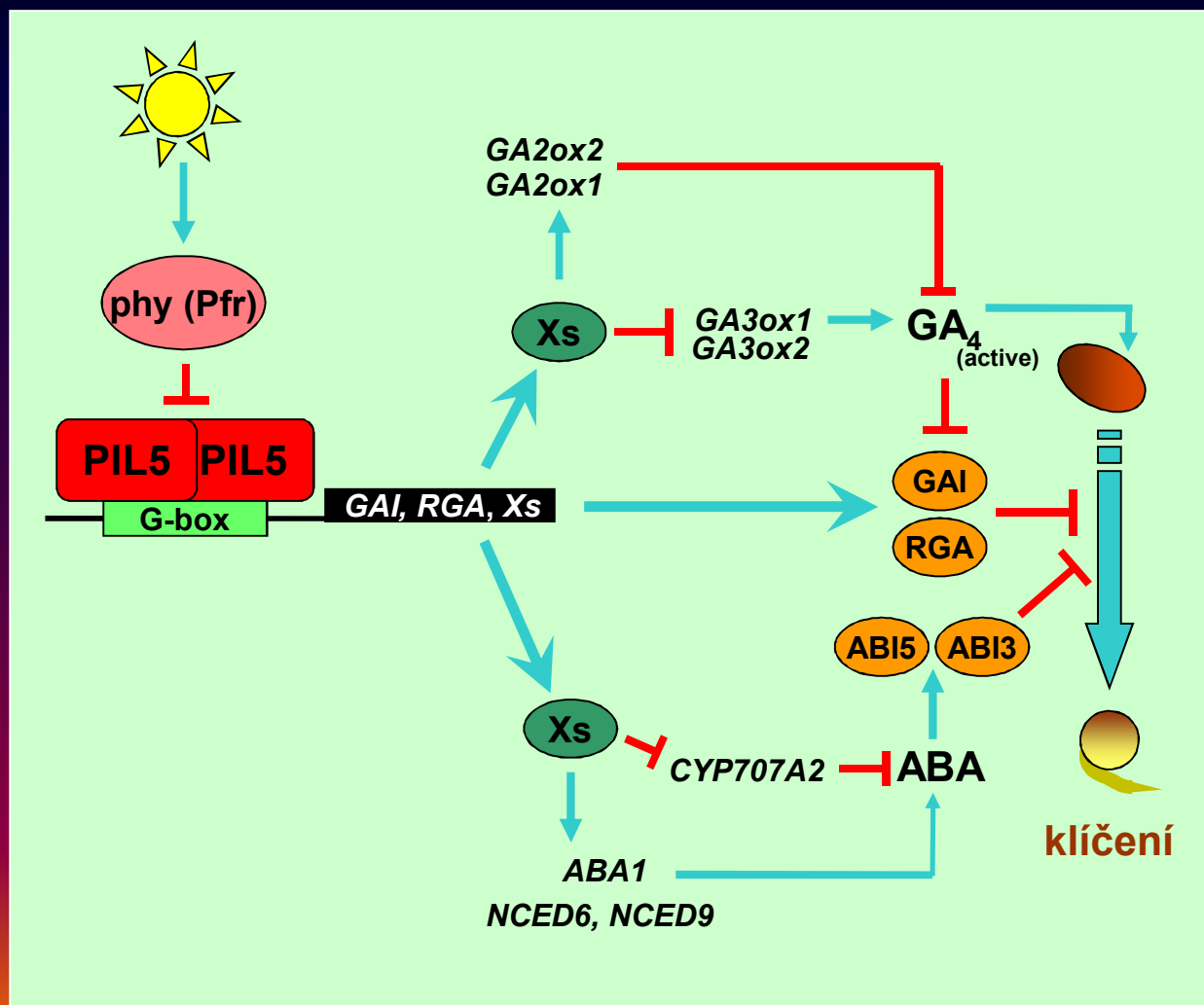
CYP707A2

ABA katabolický gen



- PIL5** Transkripční faktory (aktivátory) (*syn. PIF1*)
- Xs** Neznámý faktor X
- GA2ox2**
GA2ox1 } GA deaktivující geny
- GA3ox1**
GA3ox2 } GA biosyntetické geny
- GAI**
RGA } DELLA proteiny
- ABA1**
NCED6
NCED9 } ABA biosyntetické geny
- ABI5**
ABI3 } Transkripční faktory indukované ABA
- CYP707A2** ABA katabolický gen

Upraveno podle: Oh *et al.* (2007) Plant Cell 19: 1192-1208

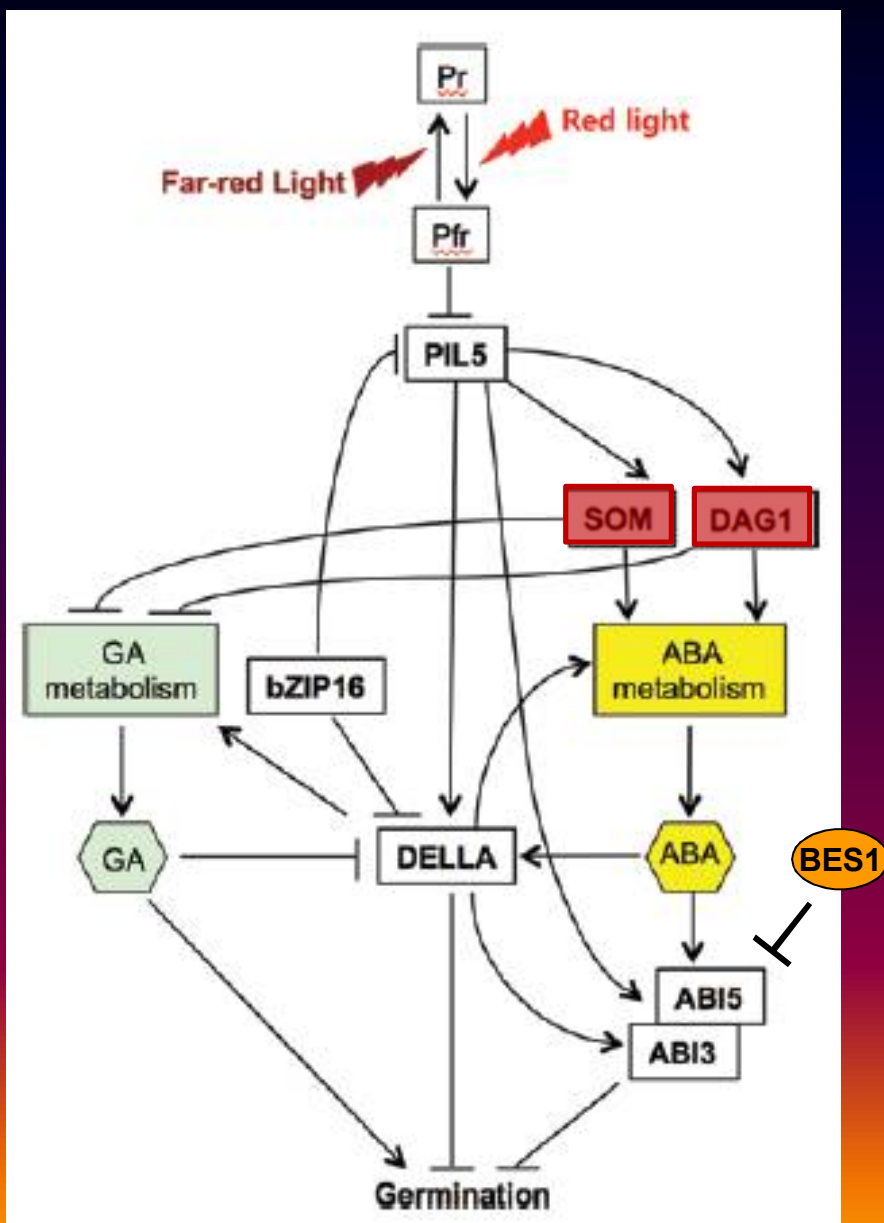
**PIL5**Transkripční faktory
(aktivátory) (*syn. PIF1*)**Xs**

Neznámý faktor X

GA2ox2
GA2ox1GA deaktivující
genyGA3ox1
GA3ox2GA biosyntetické
geny**GAI****RGA**

DELLA proteiny

ABA1**NCED6****NCED9**ABA biosyntetické
geny**ABI5****ABI3**Transkripční faktory
indukované ABA**CYP707A2**ABA katabolický
gen



Interakce ABA a GA při klíčení semen indukovaném světlem prostřednictvím PIL5/PIF1

Update 2015

Gazzarrini S, Tsai AY-L (2015) Essays Biochem 58: 151-164

SOM = *SOMNUS* – kóduje CCH-typ zinc-finger protein

DAG1 = *DOF AFFECTING GERMINATION1* – kóduje transkripční faktor

Update 2019

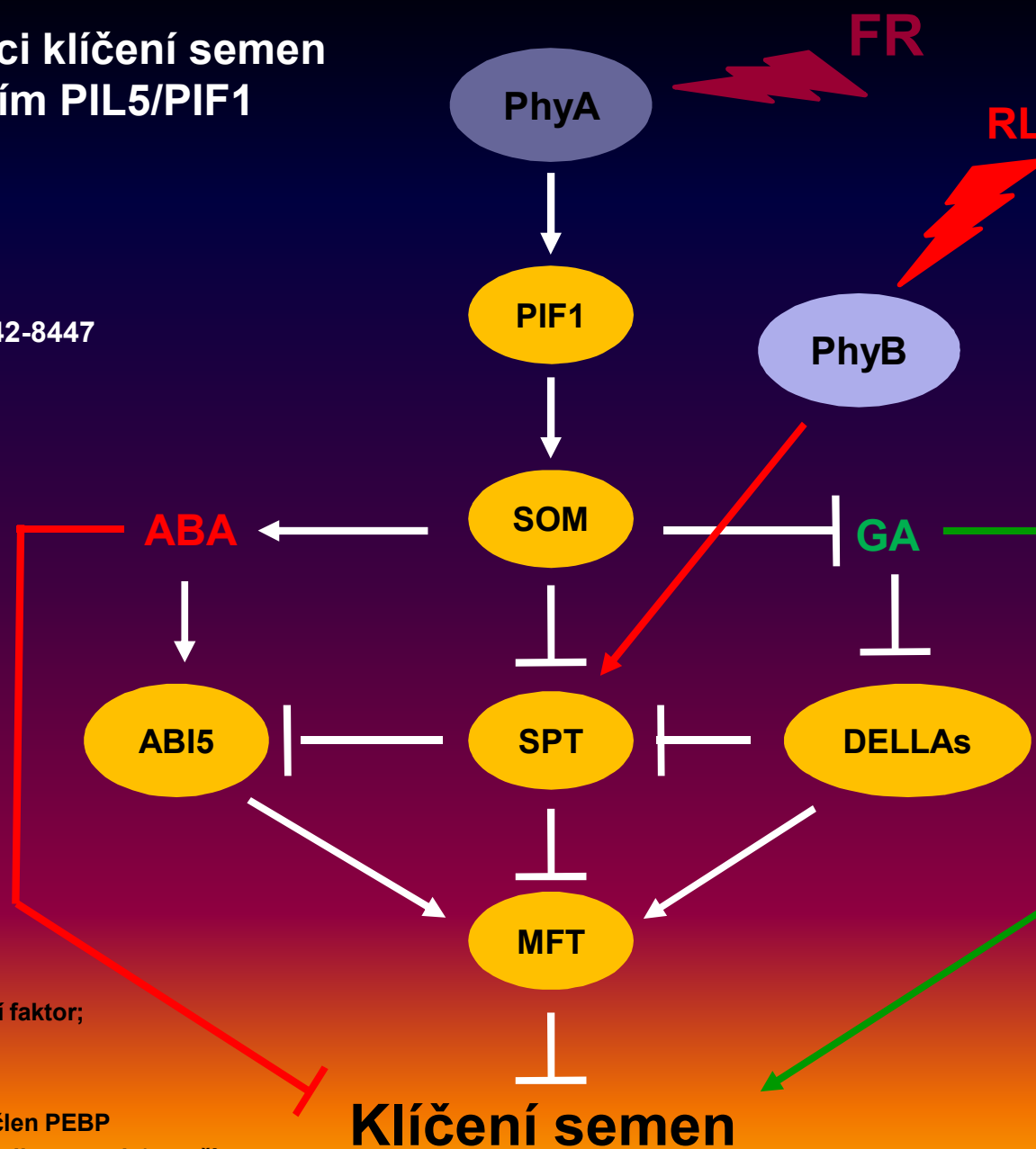
Zhao X et al. (2019) New Phytologist 221: 908-918

BES1 = *BRINSENSITIVE1 (BRI1)-EMS-SUPPRESSOR* – kóduje transkripční faktor v BR signalizaci

Nové informace o inhibici klíčení semen vlivem FR prostřednictvím PIL5/PIF1

Update 2018

Vaistij FE et al. (2018) PNAS 115: 8442-8447



SPT

= SPATULA, bHLH transkripční faktor;
příbuzný k PIF1

MFT

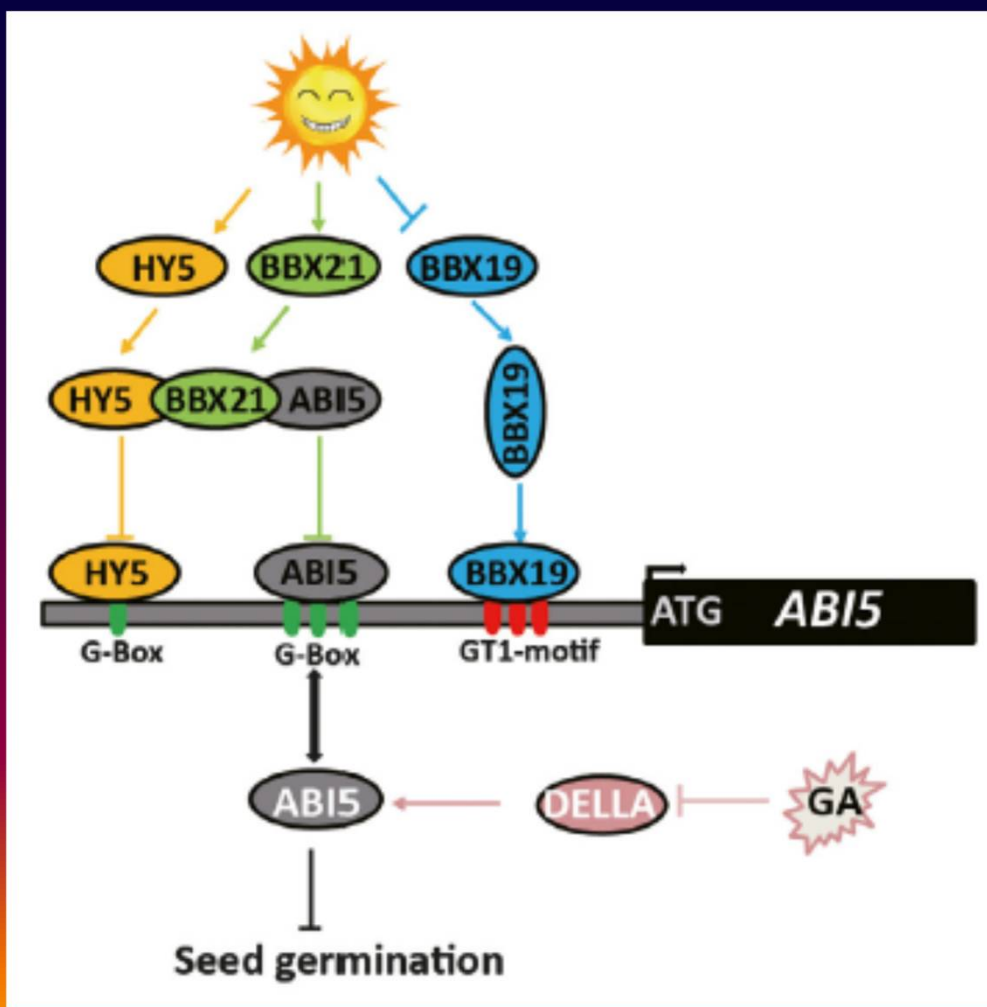
= MOTHER-OF-FT-AND-TFL1, člen PEBP
(phosphatidylethanolamine-binding protein); patří
sem např. proteiny FT a TFL1

Klíčení semen

Update 2019

Bai M et al. (2019) Plant Journal 99: 1192-1202

Schematický model interakcí regulujících klíčení semen – zapojení BBX proteinů



BBX protein – proteiny s B-boxem; zinc-finger proteiny; zapojeny pozitivně či negativně ve fotomorfogenezi

1) Aktivace HY5 světlem => vazba BBX21 => blokace ABI5

2) Blokace BBX19 světlem

3) Blokace DELLA proteinů gibereliny

BBX19-negativní regulátor fotomorfogeneze

BBX21-pozitivní regulátor fotomorfogeneze

Update 2019

Sánchez-Montesino R et al. (2019) Molecular Plant 12: 71-85

Model expanze endospermových buněk

Endosperm působí jako fyzická bariéra pro růst kořene, především v blízkosti mikropyle. Proto po imbibici dochází ke zvětšování buněk endospermu a jejich následné separaci. Tím se uvolní prostor pro vysunutí kořínku.

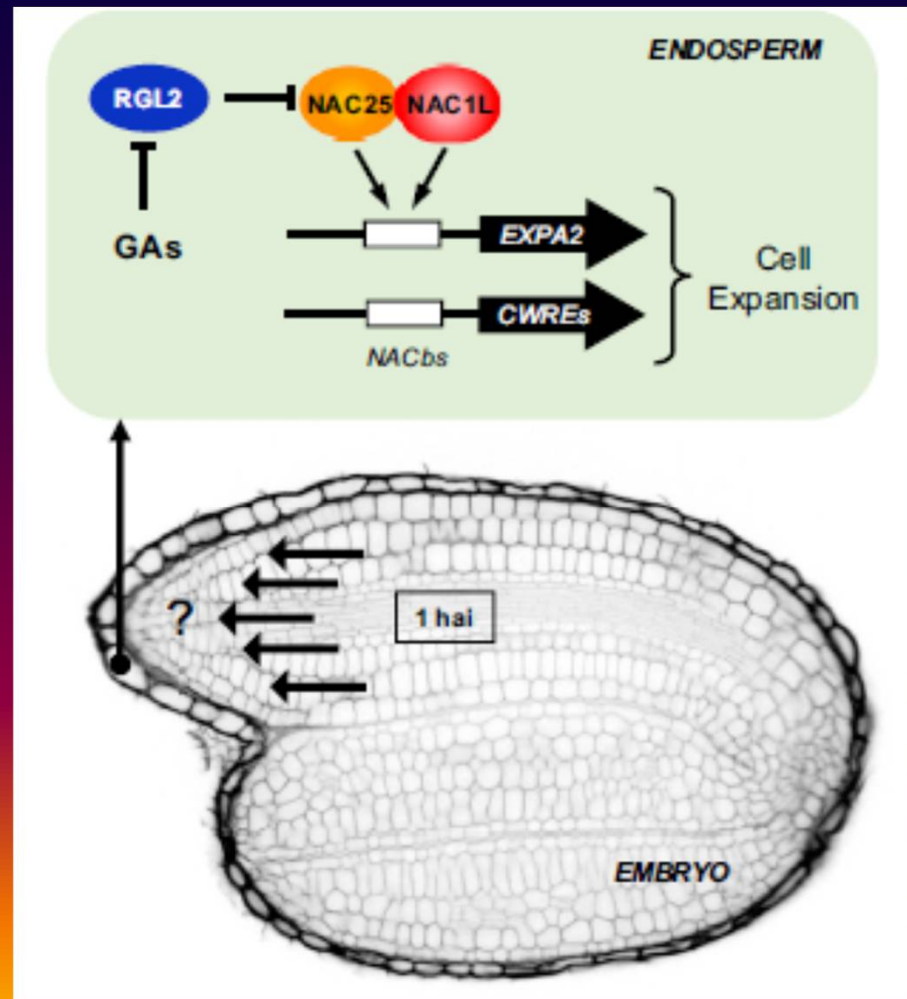
RGL2 = DELLA protein – inhibuje klíčení semen

NAC25, NAC1L = transkripční faktory s NAC doménou

CWRE = Cell-Wall REmodeling enzyme

EXPA2 = Expansin, spojený s expanzí buněčné stěny

hai = hodiny po imbibici

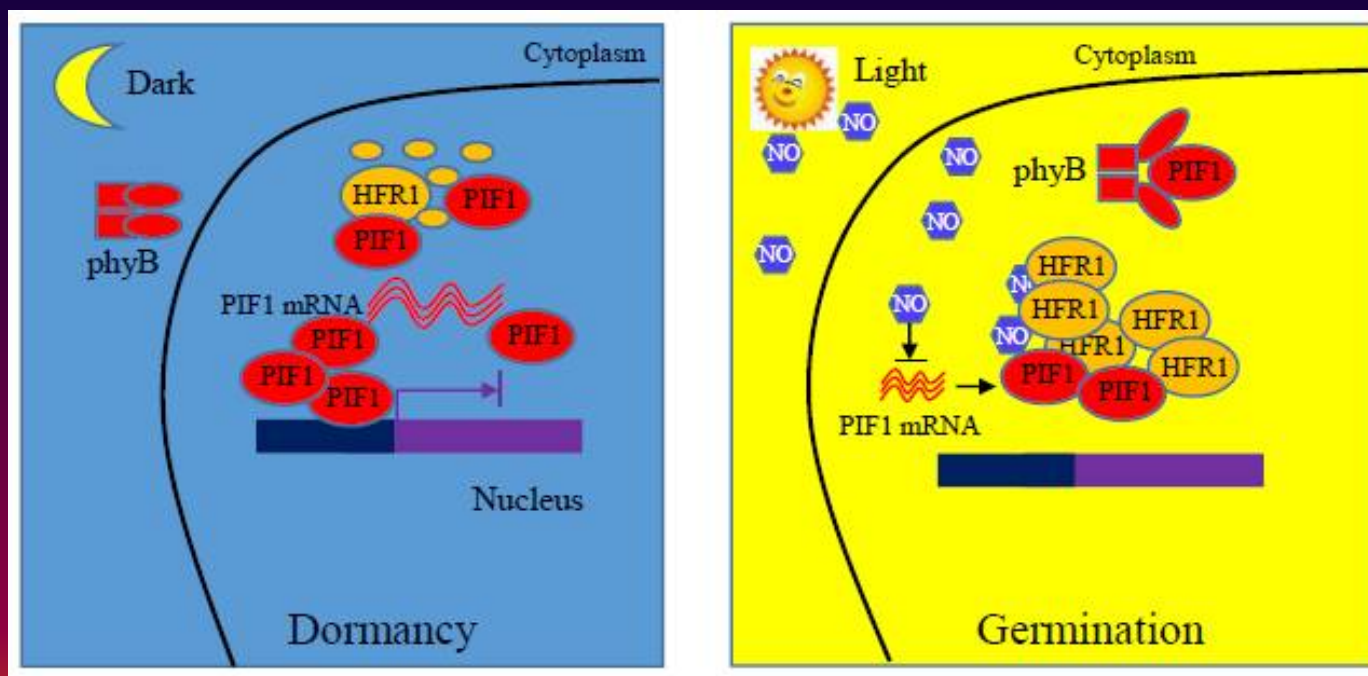


Update 2018

Li R et al. (2018) Plant Physiology and Biochemistry 123: 204-212

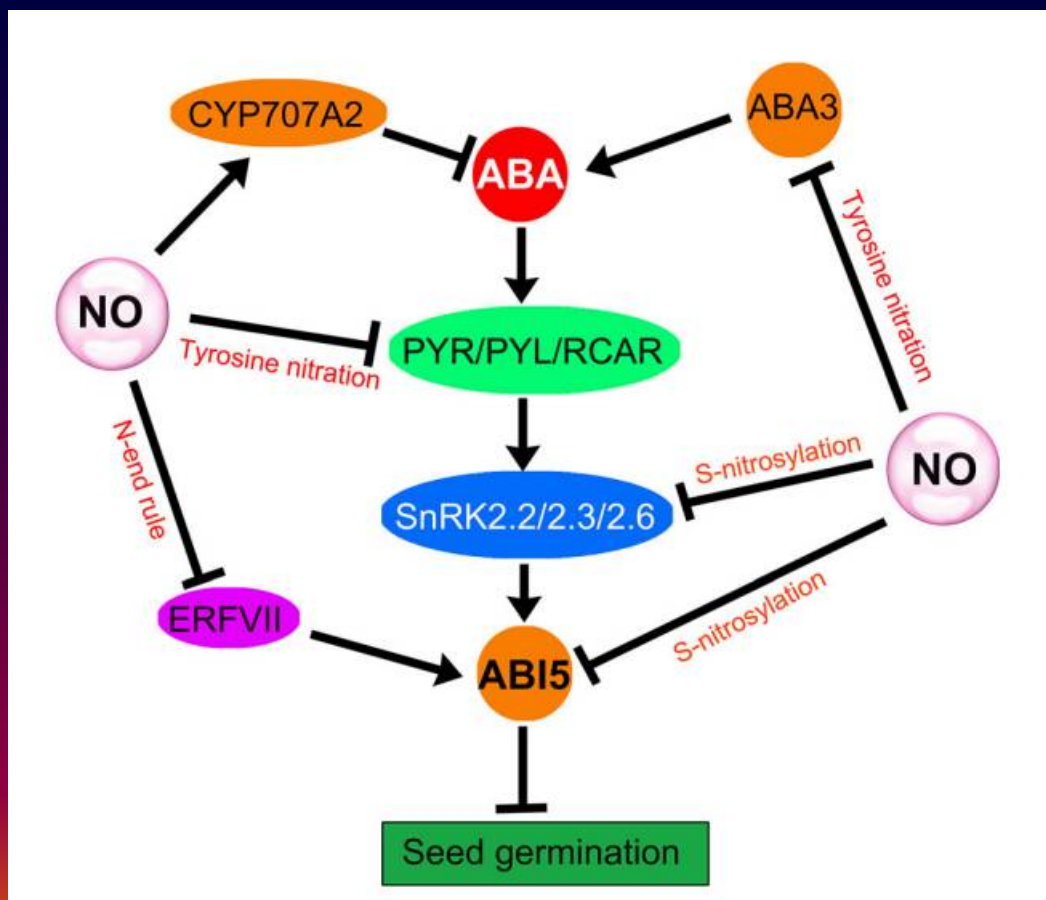
Zapojení NO do indukce klíčení světlem

Další mechanismus indukce klíčení světlem – blokace transkripčního faktoru PIF1/PIL5 a zapojení NO



Ve tmě PIF1 blokuje expresi genů zapojených v indukci klíčení. Světlo aktivuje PhyB – PhyB váže PIF1 a stimuluje jeho degradaci. Světlo současně stimuluje nitrátreduktázu – vzniká NO, který blokuje transkripci PIF1 a stabilizuje transkripční faktor HFR1. HFR1 interaguje s PIF1, vzniká heterodimer, který brání PIF1 blokovat expresi genů zapojených v indukci klíčení.

Vliv NO na klíčení semen potlačením signální dráhy ABA



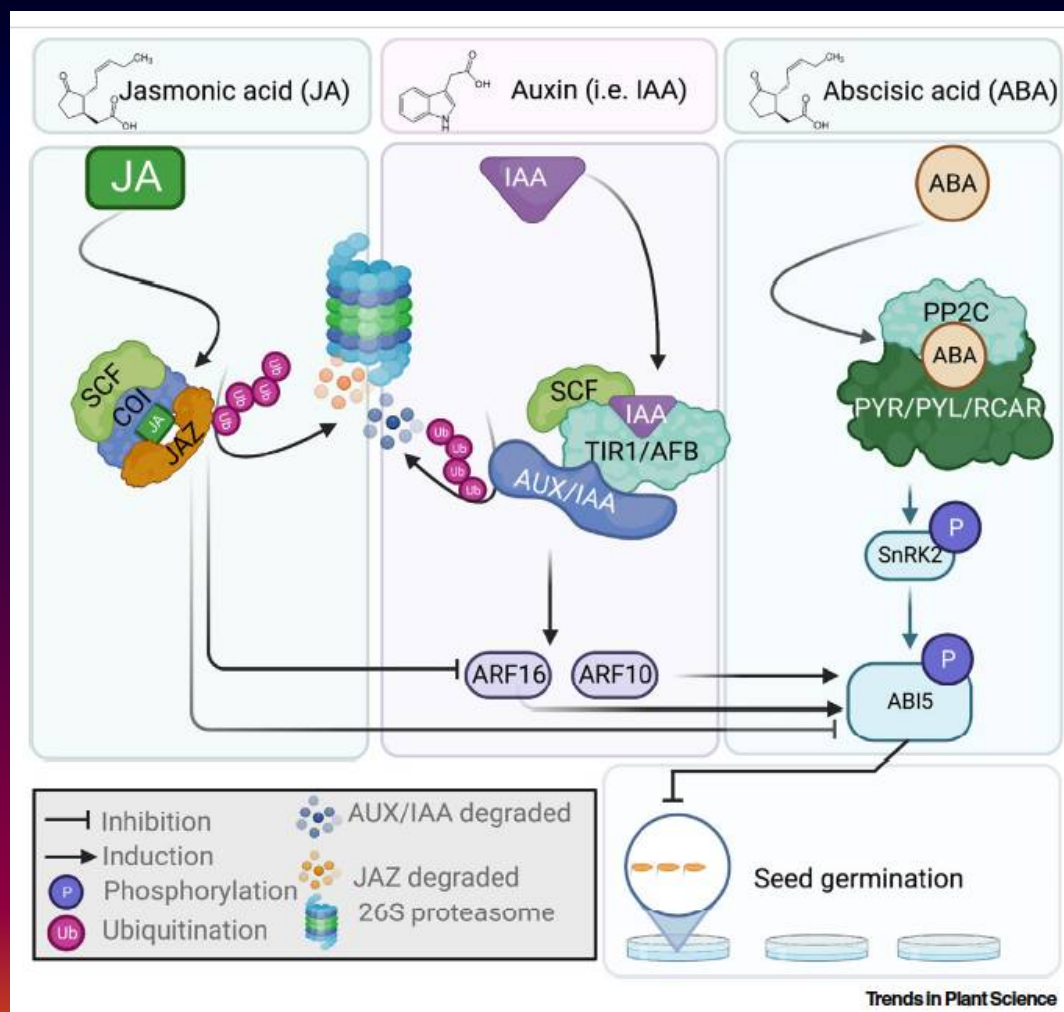
NO stimuluje klíčení semen deaktivací jednotlivých částí ABA signalizace.

NO rovněž redukuje hladinu ABA buď upregulací enzymu CYP707A2, nebo downregulací enzymu ABA3.

ERFVII – VII ET transkripční faktor = skupina proteinů, které vnímají NO = NO senzory

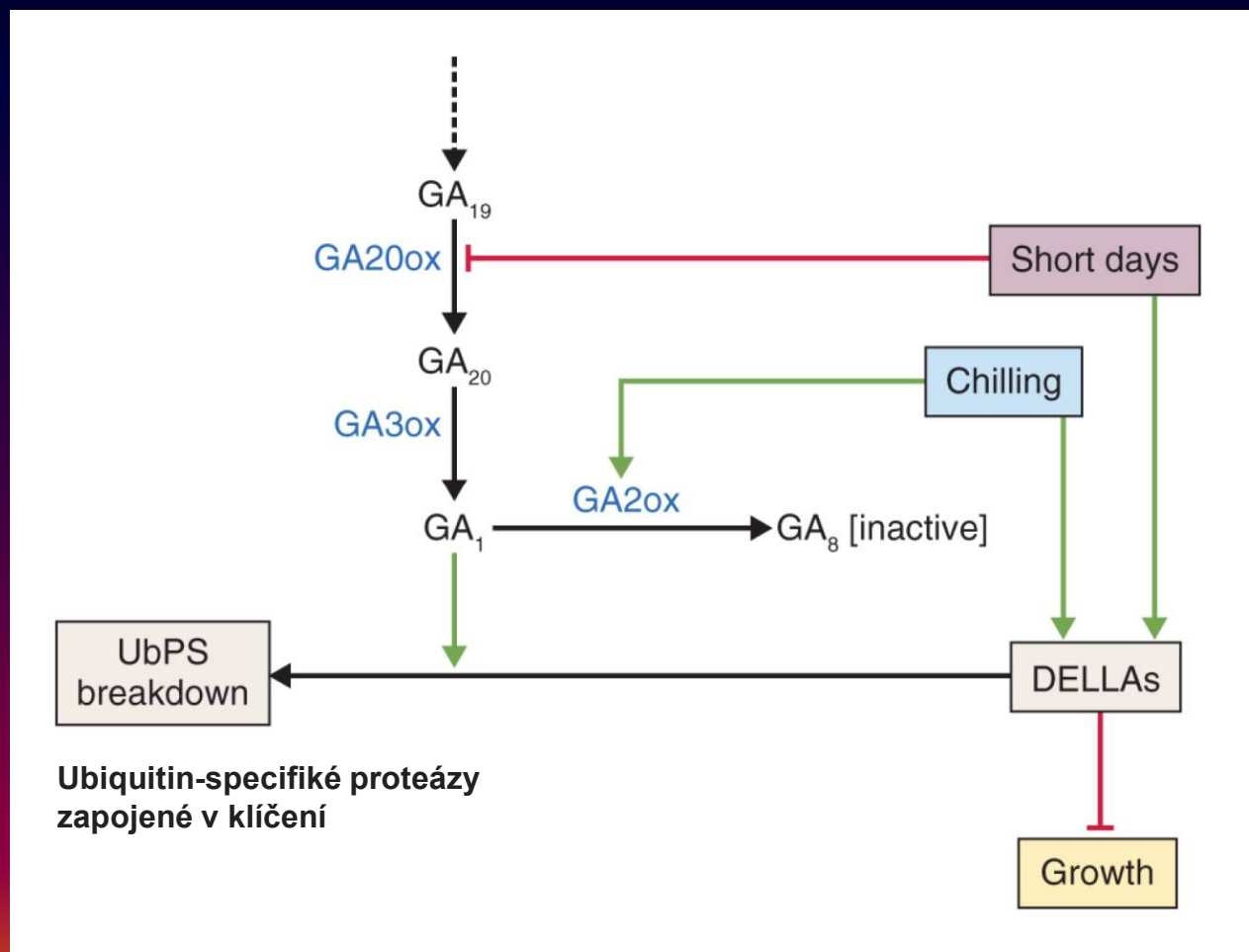
Update 2018

Yan A, Chen Z (2020) The Botanical Review 86: 39–75



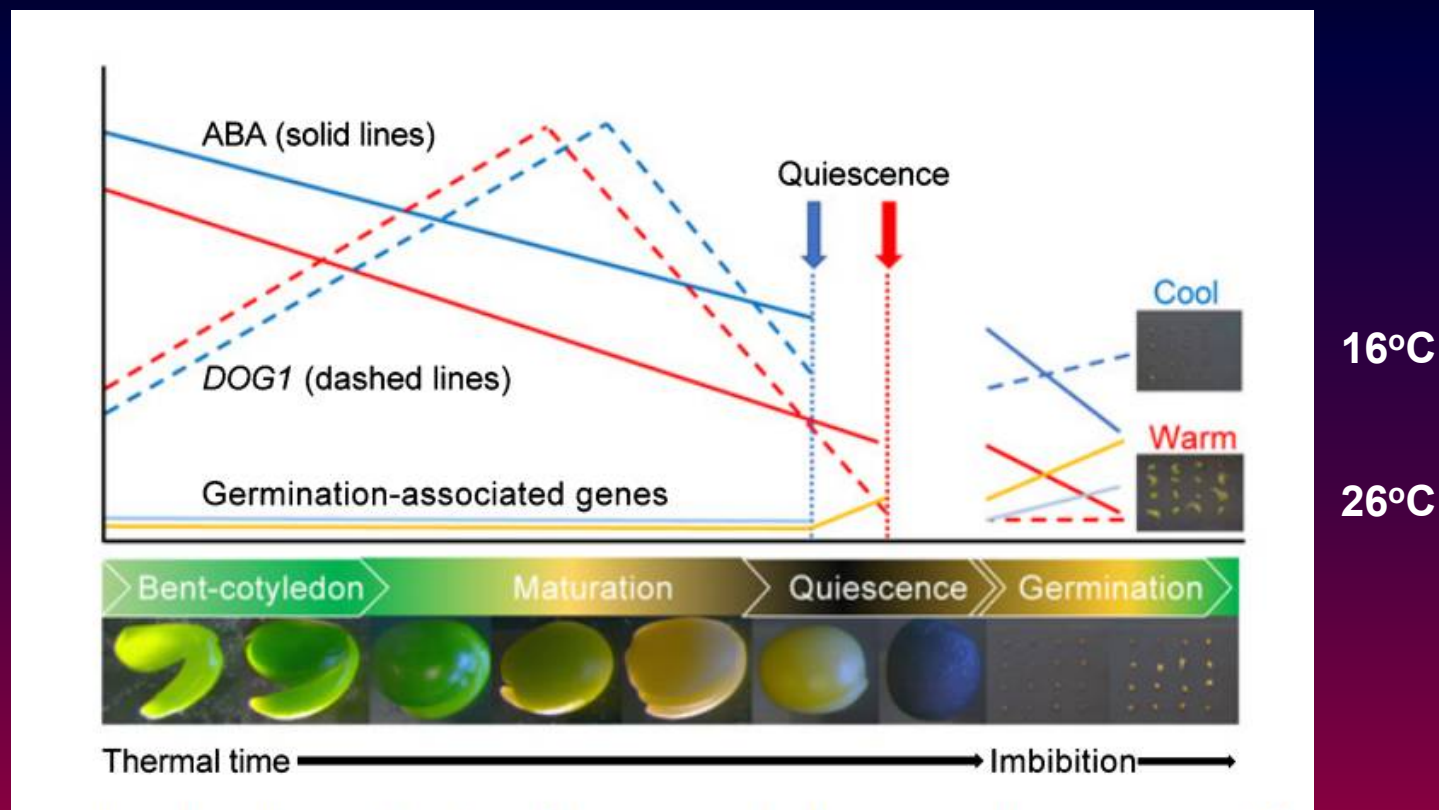
ABI5 protein (transkripční faktor) je centrálním elementem v ABA signalizaci a propojuje signální dráhy, které regulují klíčení semen vlivem ABA, JA a auxinů.

Interakce délky dne a teploty v indukci klíčení



Klíčovým bodem je regulace biosyntézy GAs a proteinů DELLA.

Vliv teploty při zrání semene na klíčení semen



Nízká teplota (16°C) vede k udržování hladiny ABA v endospermu prostřednictvím slabšího katabolizmu. Navíc, ve zralém endospermu se při nízké teplotě akumuluje více mRNA genu DOG1.

Update 2021

Chen X et al. (2021) New Phytologist 232: 1311-1322

c) Mobilizace rezerv

Semena obsahují:

- zásobní proteiny
- karbohydráty
- lipidy
- minerály - zdroj prvků, např. P, K, Mg a Fe

} zdroj energie a uhlíkového skeletu

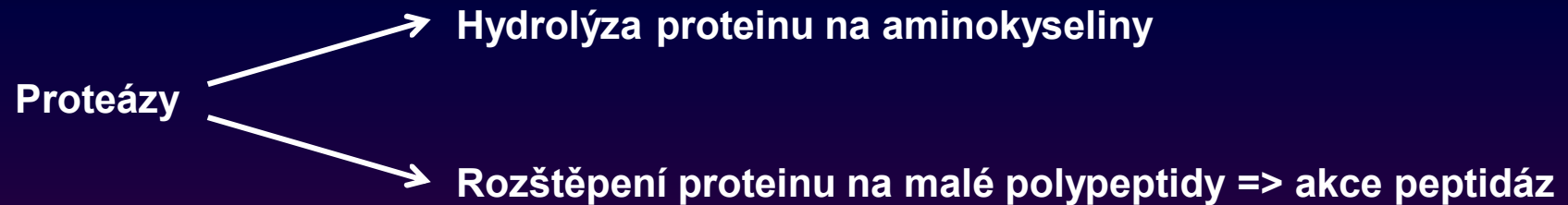
Během raného stádia růstu rostliny mobilizace proteinů zahrnuje enzymatické rozštěpení proteinů na AK

Aminokyseliny – pro růst nepostradatelné

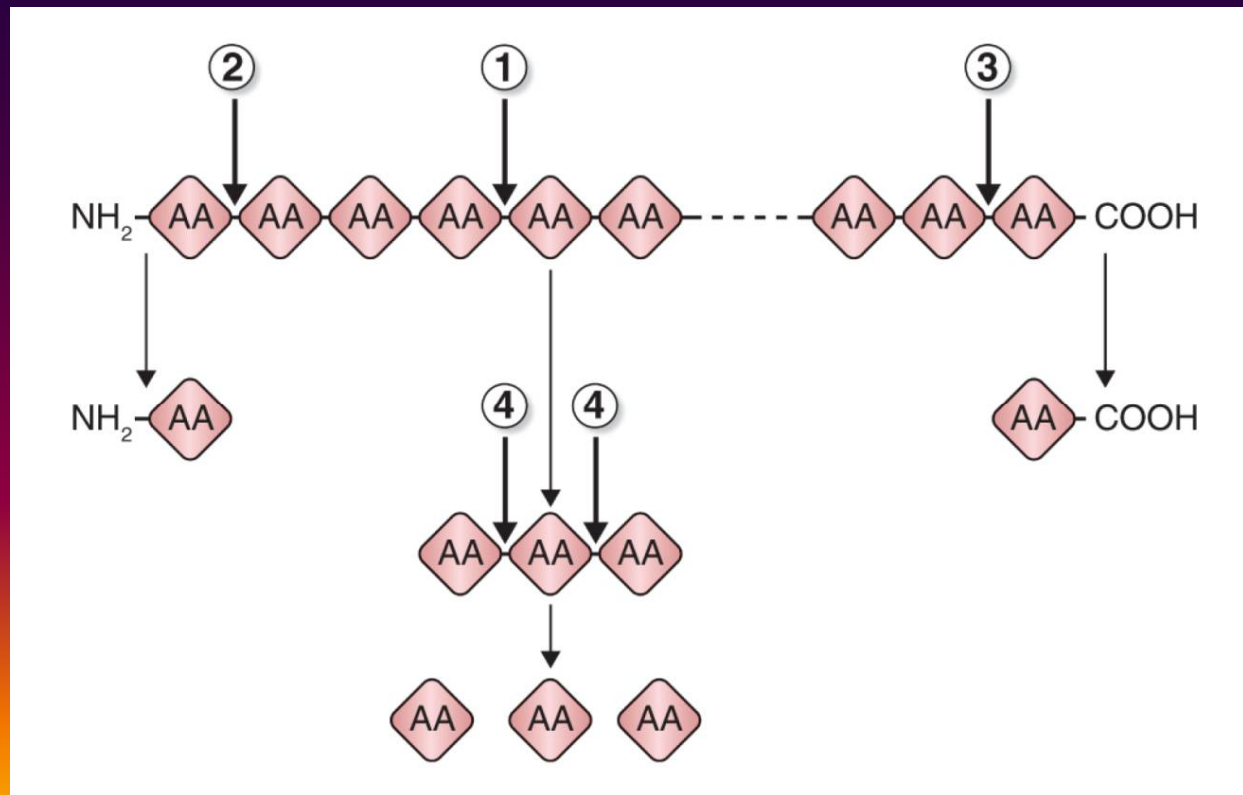
Syntéza proteinů

Ztráta aminoskupiny,
oxidace => uvolnění energie

Hydrolýza **zásobních proteinů** na aminokyseliny vyžaduje aktivitu různých proteáz.



- 1) Endopeptidázy
- 2) Aminopeptidázy
- 3) Karbopeptidázy
- 4) Peptidázy



Thioredoxin - regulační disulfidový protein - usnadňuje mobilizaci proteinových a karbohydrátových rezerv ve vyvíjející se rostlině

Příklad: Obilný endosperm

Thioredoxin je redukován pomocí NADPH a flavinového enzymu NADP-thioredoxin reduktázy



Redukovaný thioredoxin následně redukuje disulfidické skupiny (S-S) mnoha terčových semenných proteinů.



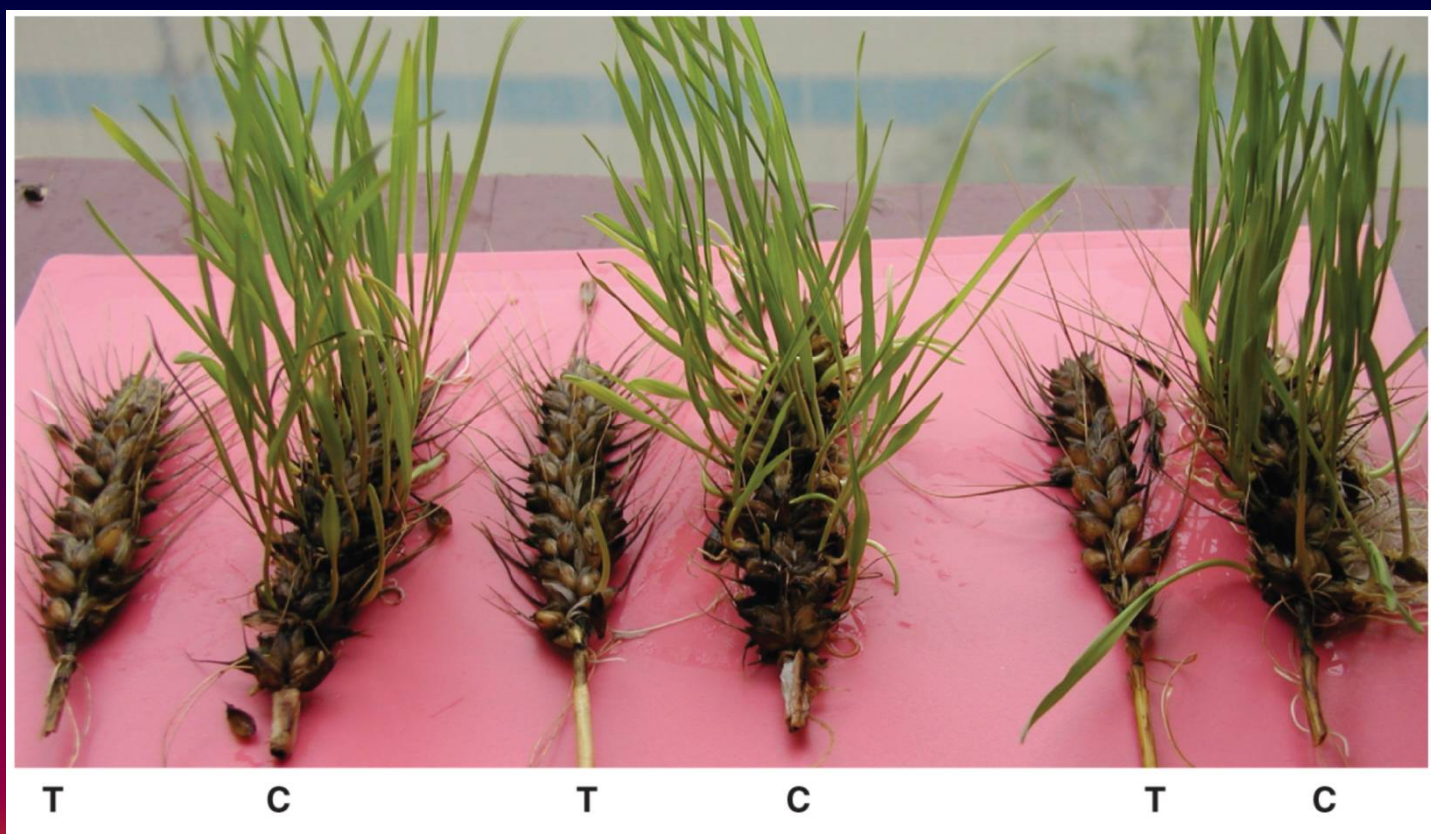
Thioredoxin – redukuje zásobní proteiny => zvyšuje se jejich rozpustnost => citlivější k proteolýze.

Thioredoxin – redukuje enzymy => zvyšuje jejich aktivitu

Transgenní rostliny

Overexprese thioředoxinu – rychlé klíčení

Snížená exprese thioředoxinu – pomalejší klíčení



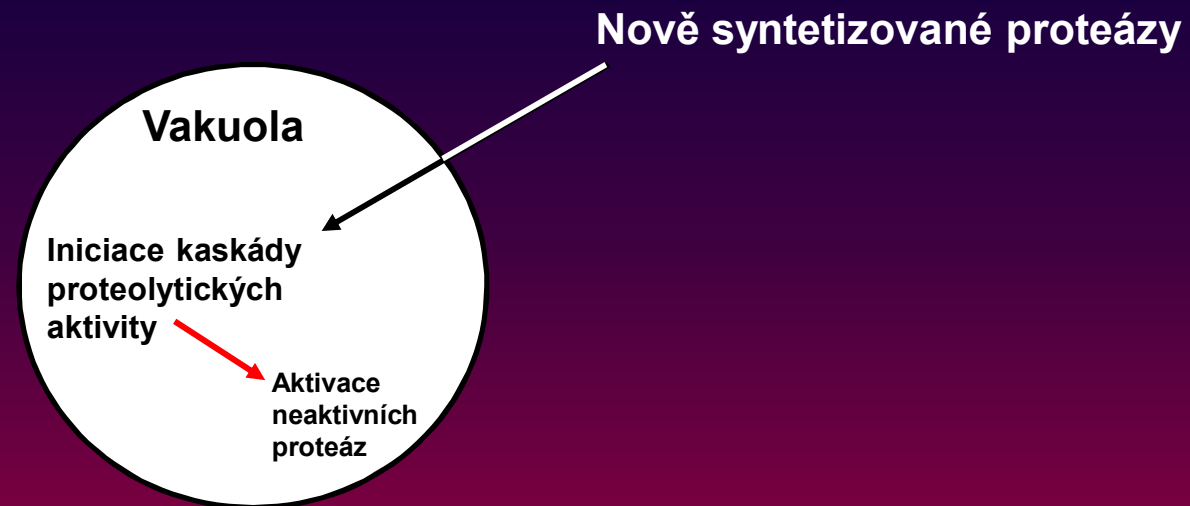
**Předčasné klíčení pšenice (preharvest sprouting) – problém v zemědělství
(Čína – 10 až 20 %)**

T – transgenní rostliny s redukovanou expresí thioředoxinu

Mobilizace **zásobních proteinů** u dvouděložných probíhá v živých buňkách

Dělohy a endosperm dvouděložných rostlin - živé buňky – rezervy jsou lokalizovány ve vakuolách

Hypotéza:



pH ve vakuole – důležitý faktor v regulaci degradace zásobních proteinů

VPE - vakuolární procesní enzym - syntetizován v ER jako neaktivní prekurzor; je samo-aktivován při kyselém pH především ve vakuole; VPE aktivuje další proteázy

Mobilizace **zásobního škrobu** - hlavní karbohydrátová rezerva

Škrob = **amylóza** + **amylopektin**

Štěpení škrobu:

1) Fosforolytické enzymy

- používají P_i k rozštěpení glykosidických vazeb (glukóza-glukóza)

2) Hydrolytické enzymy

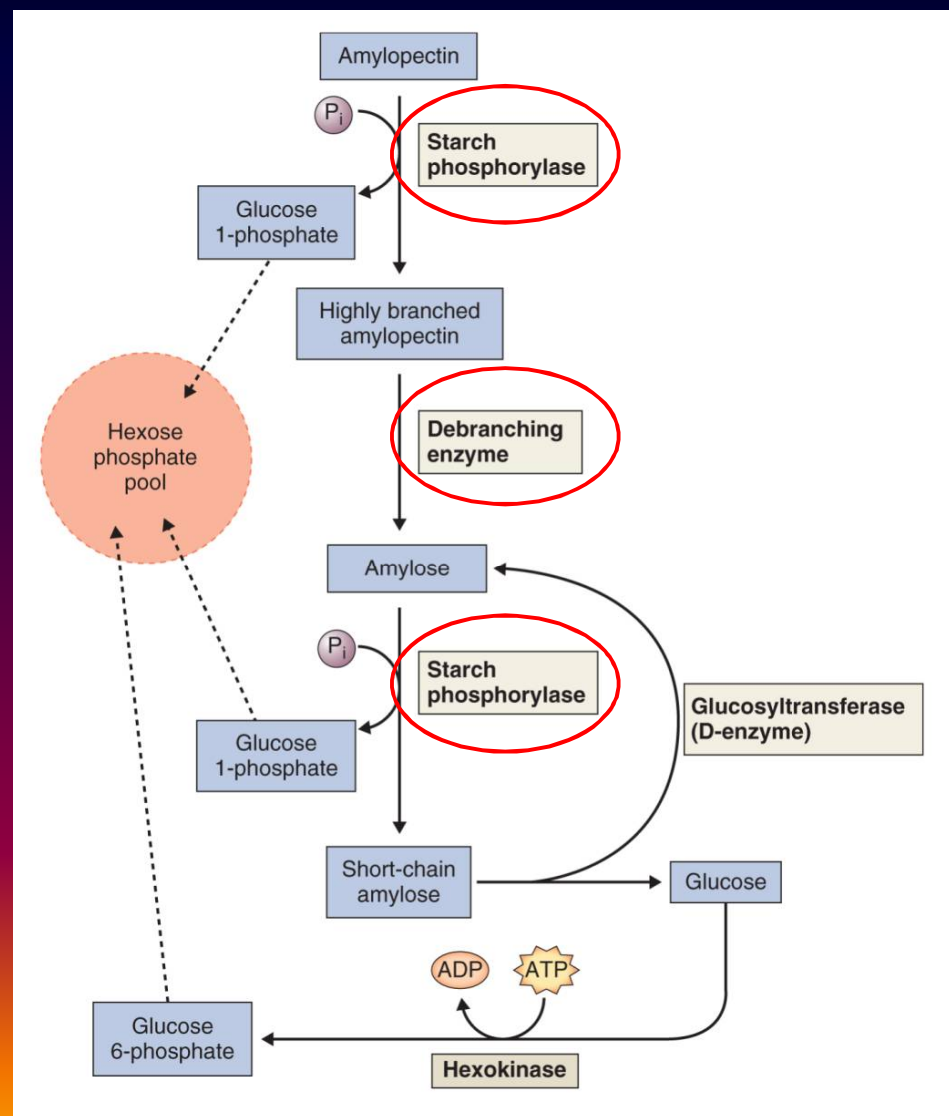
- které využívají vodu k rozštěpení těchto vazeb

Fosforolytická degradace škrobu:

3 enzymy:

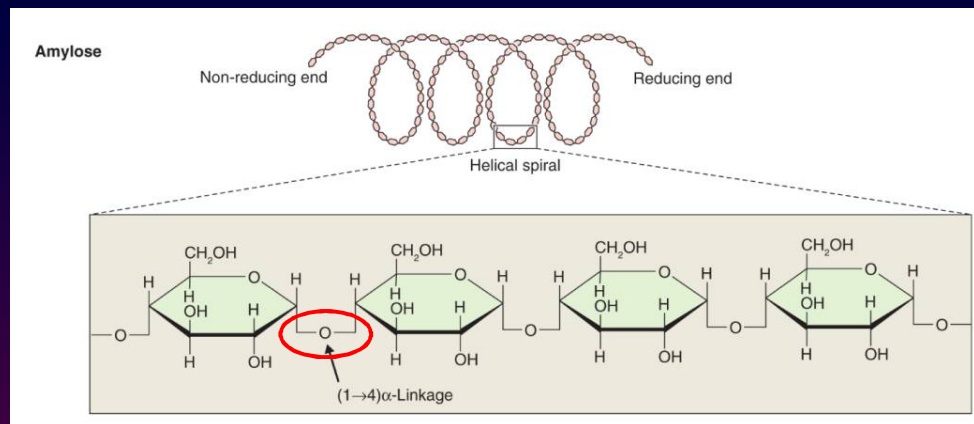
- **škrobová fosforyláza** (odštěpuje individuální glukózová rezidua od neredukujícího konce molekuly škrobu a vytváří glukóza-1-fosfát)
- **odvětovací enzym** (pullunáza, R-enzym); štěpí $\alpha(1-6)$ vazby amylopektinu
- **škrobová fosforyláza**

Regulace aktivity škrobové fosforylázy u rostlin není známa - dostupnosti anorganického fosfátu P_i ?

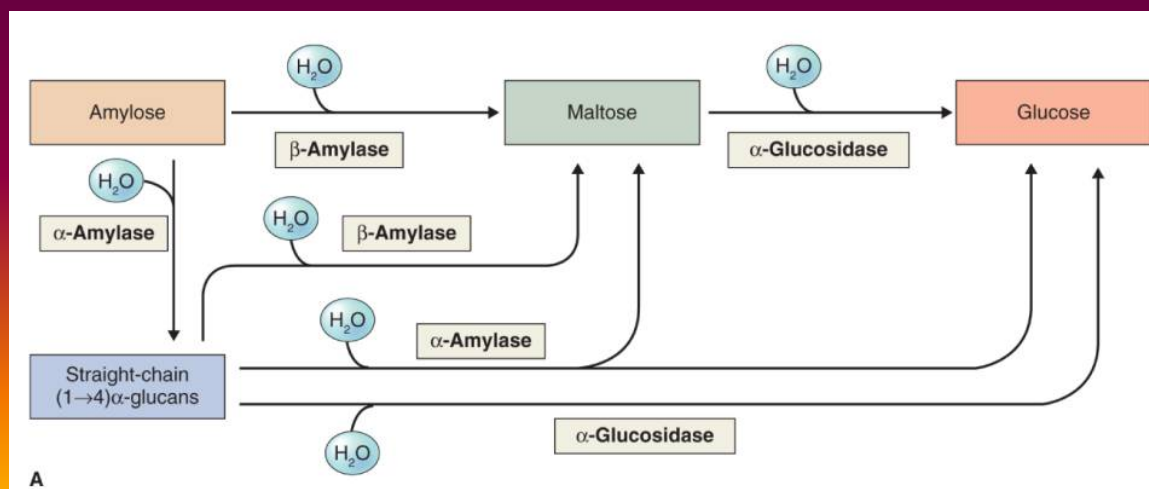


Úloha amyláz ve štěpení škrobu - štěpí linerární $\alpha(1-4)$ -glukany

α -amyláza - katalyzuje rozštěpení vnitřních glukosidických vazeb $\Rightarrow$ krátké glukany (dextriny)



β -amyláza - hydrolyzuje škrob odštěpením maltózových zbytků z ne-redukujícího konce molekuly škrobu. Maltóza a krátké glukany - degradovány na molekuly glukózy tzv. α -glukosidázou.



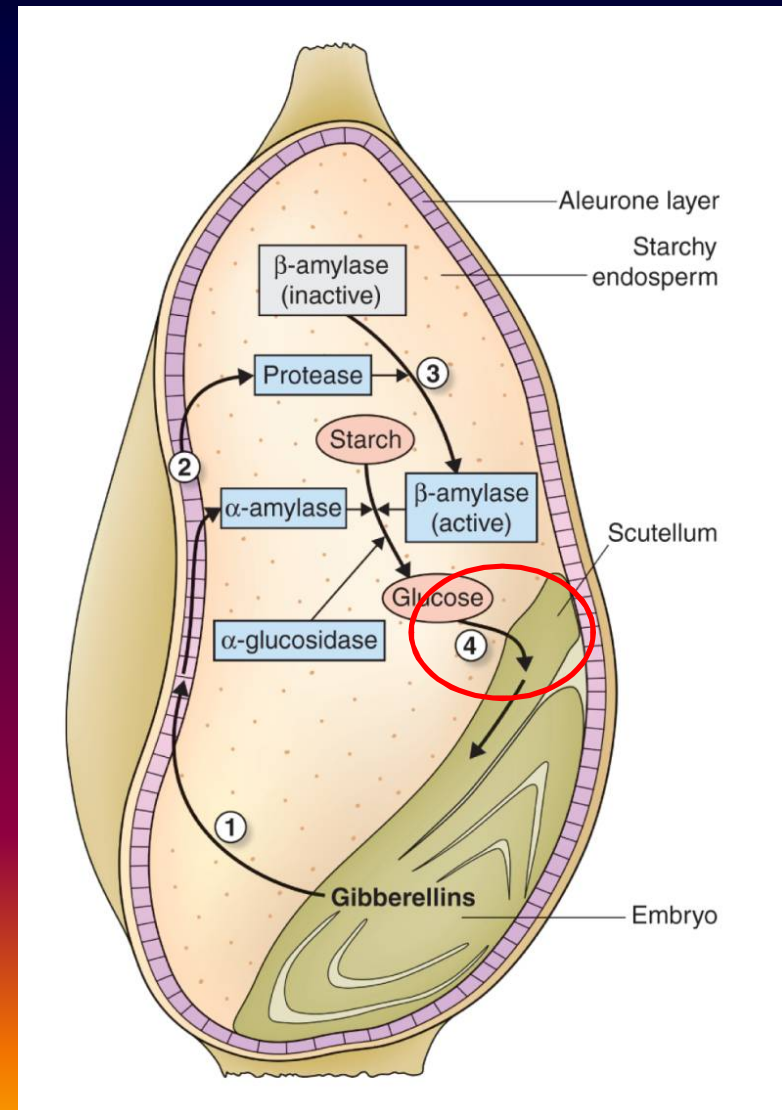
Klíčení obilovin - rozklad škrobu v endospermu α -amylázou

De novo syntéza α -amylázy – aleuron;
stimulována GAs, potlačována ABA

Syntéza probíhá na ER a transport do exteriéru buňky je realizován vezikuly produkovanými v Golgiho aparátu.

β -amyláza obilných zrn není syntetizována *de novo* aleuronovou vrstvou - prekursor se nachází ve vázané formě ve škrobovém endospermu ještě před klíčením; aktivována thioedoxinem (3)

Dělohy - škrobové zásoby v chloroplastech.



Buněčná stěna - hlavní zdroj zásobních polysacharidů v semenech některých rostlin

Dvouděložné rostliny

Semena s endospermem - enzymy, rozkládající buněčnou stěnu endospermu (např. mananázy), jsou sekretovány do buněčné stěny z živých buněk

Arabidopsis, salát, řěřicha - zeslabování buněčné stěny digestivními enzymy přerušuje dormanci a umožňuje klíčení

Buněčné stěny zásobních děloh jsou také silně degradovány – enzymy jsou syntetizovány *de novo* v cytozolu a sekretovány do buněčné stěny.

Jednoděložné rostliny

Obiloviny - aleuron a skutelum sekretují i glukanázy - rozkládají buněčnou stěnu endospermových buněk

Mobilizace **zásobních lipidů**

Klíčení a ranný růst – triacylglyceroly jsou degradovány a konvertovány do glukózy a dalších metabolitů

V buňkách zásobních pletiv - triacylglyceroly jsou konvertovány do sacharózy pro transport do dalších pletiv

Místa mobilizace triacylglycerolu:

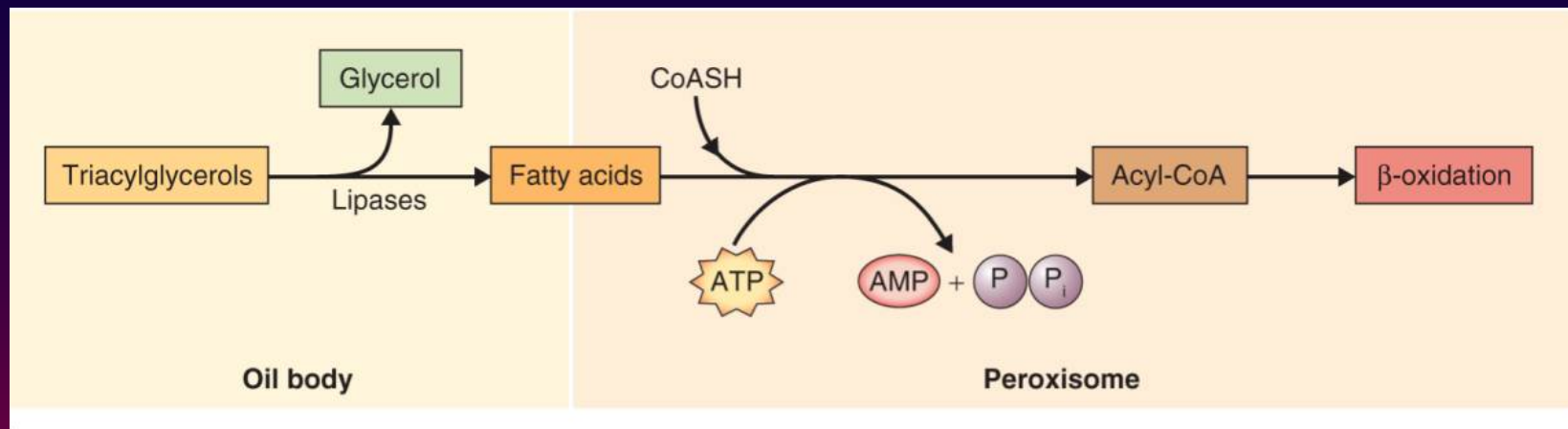
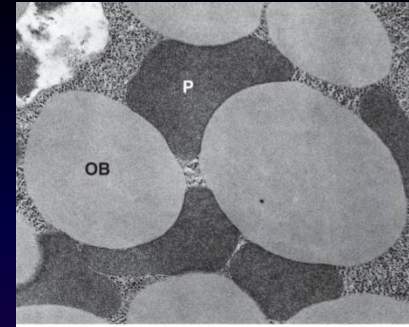
1) Olejová tělíska (oleozómy) - zásobní triacylglycerol konvertován na glycerol a mastné kyseliny

2) Specializované peroxizómy (glyoxyzómy) - mastné kyseliny konvertovány na Acyl-CoA a po té β -oxidací na acetyl-koenzym A (Acetyl-CoA) a následně sukcínovány glyoxylátovým cyklem => sukcínát => cukry

3) Mitochondrie - sukcínát respirován nebo konvertován na malát - transportován do cytozolu k finální konverzi na hexózy reakcemi glukogeneze

Olejová tělíska (oleozómy) – zásobárna triacylglycerolu

Triacylglycerol – ve vodě nerozpustný => hydrolýza na glycerol a mastné kyseliny



Glycerol – konvertován v cytozolu na triózafošfáty - použity k syntéze sacharózy procesem glukoneogeneze.

Mastné kyseliny – transfer do peroxizomů; aktivovány přidáním koenzymu A použitím enzymu fatty acid-CoA syntáza; β -oxidace – 4 kroky (v 1. kroku vzniká H_2O_2 => rozštěpen katalázou na vodu a kyslík)

Zásobní minerály jsou mobilizovány rozložením kyseliny fytové

Minerální prvky v semenech – uchovávány v komplexu kyseliny fytové:
myo-inositol kyselina hexafosforečná (IP6)

Klíčení semen – IP6 hydrolyzován enzymem fytázou = fosfatáza – uvolňuje fosfát a chelatované kationty; hladina fytáz se zvyšuje => dostupnost P a minerálů => růst a vývoj embrya

Hydrolýza IP6 – vznik série inositol fosfátů (např. IP3 – signální molekula)

Proteinové, škrobové a lipidové rezervy jsou mobilizovány a konvertovány do aminokyselin, jednoduchých cukrů a acetyl-CoA – transport ze zásobních pletiv do rostoucích pletiv.

Obiloviny – skutellum – prominentní úlohu v přenosu roztoků z endospermu do rostoucích výhonů a kořenů.