

## 12. Fytohormony a regenerace rostlin

Rostliny jsou **mnohobuněčné organizmy**. **Buňky** tvoří **pletiva** sestavená v **orgány**, orgány tvoří funkčně koordinovaný **celek** – **organizmus**. Celék **vzniká postupně** z buňky jediné dle svého **genetického programu** a **možností prostředí**, s nímž je rostlina v neustálé dynamické interakci. Se zvětšujícím se počtem buněk a jejich funkční specializací roste **potřeba koordinace** růstových, vývojových i metabolických procesů.

Rostliny, přisedlé organizmy a zdroj potravy pro mnoho dalších organismů (kap. 7.6.), jsou vystaveny daleko větší pravděpodobnosti poškození než organizmy schopné pohybu z místa na místo. Jako adaptace na tento selekční tlak se u rostlin vyvinula vysoká schopnost **regenerace**. Regeneraci lze definovat jako **doplňování a nahrazování ztracených částí těla** vedoucí k **zachování a obnově** vyváženosti funkcí jednotlivých částí organismu, tj. k **celistvosti** neboli **integritě** rostliny. Podstata této schopnosti spočívá především v existenci **totipotence** většiny buněk u rostlin a vnitřní **signální sítě** organismu.

U rostlin se vyvinul specifický **system signálních látek** – **fytohormonů**, který hraje významnou úlohu v koordinaci vývoje rostliny.

### 12.1. Fytohormony

■ Existence těchto morfogenních látek byla předpokládána již na konci 19. století, první fytohormony byly fyziologicky prokázány ve 20. letech minulého století a v dalších desetiletích pak chemicky identifikovány.

**Fytohormony** jsou **obecně se vyskytující organické nízkomolekulární látky, s funkcí endogenních signálních látek**. Tyto **přirozené metabolity** jsou v rostlinách přítomny ve velmi **nízkých koncentracích** ( $10^{-6}$  až  $10^{-9}$ M) a slouží k **přenosu informací** mezi pletivy a orgány v rostlině. Jsou **transportované** na krátké vzdálenosti především buněčným transportem, na dlouhé vzdálenosti vodivými pletivy.

**Charakter informace** je v zásadě určen jejich **chemickou strukturou**. Klasicky se uvádí **pět základních kategorií** fytohormonů – **auxiny, cytokininy, gibereliny, kyselina abscisová a etylén**. V posledních desetiletích se objevují další signální látky fytohormonálního charakteru – kyselina jasmonová, kyselina salicylová, brassinosteroidy a polypeptidy a oligopeptidy, např. systemin.

**Efekt** fytohormonů je dále dán **schopnostmi buňky signál rozeznat a reagovat na něj**. Signál je rozeznáván specifickými **receptory**, jejichž množství určuje citlivost buňky k signálu. Schopnost na signál reagovat je dána **stavem buňky**, závisí na stupni diferenciaci i aktuál-

ních trofických poměrech buňky. Efekty fytohormonů jsou proto **velmi různé – pleiotropické**.

**Síla signálu** fytohormonu odpovídá jeho hladině (koncentraci). Hladina fytohormonu je řízena na mnoha úrovních – především **intenzitou jeho biosyntézy** a **degradace** v místě jeho vzniku, rychlostí **transportu** do místa odpovědi a intenzitou **odbourávání** nebo **reverzibilní inaktivace** v místě působení.

**Růstové a vývojové procesy** u rostlin jsou značně komplexní a **odrážejí vzájemné působení fytohormonů**. Detailní poznávání těchto vztahů je dlouhodobě aktuální problém fyziologie rostlin.

Vedle přirozených metabolitů existují **chemicky připravené látky** se strukturou podobnou fytohormonům, které, jsou-li vpraveny do rostliny, vážou se na receptory fytohormonů a simulují jejich signál. Další látky mohou ovlivňovat signál na úrovni **transportu fytohormonů** v rostlině. Tyto látky mají růstové a vývojové efekty a spolu s fytohormony se označují jako **růstové látky, růstové regulátory** nebo **morforegulátory**. Pro látky, které **nejsou přirozenými metabolity** rostlin, se **termín fytohormon nepoužívá**.

Růstové látky jsou **běžně využívány** v experimentální práci i v zahradnické a agronomické praxi.

▲ Úloha a působení fytohormonů se studuje mnoha přístupy, např. stanovením jejich endogenní hladiny, aplikací látky nebo jejího strukturního analogu na intaktní rostlinu nebo do media kultury *in vitro*, analýzou mutantů nebo transgenních rostlin, u nichž je tvorba fytohormonu zvýšena, snížena nebo u nichž je změněna citlivost k signálu daného fytohormonu. Pro ověření fytohormonální aktivity růstových regulátorů je nezbytné sledovat jejich efekty na citlivý rostlinný materiál v tzv. biotestech.

*V odborné literatuře lze nalézt množství efektů fytohormonů a růstových látek, které nelze obsáhnout. Empirické poznatky si často protirečí. Fyziologické odpovědi jsou velmi komplexní, mechanismy působení růstových látek jsou velmi různé a poznané zatím jen nedostatečně. To všechno ztěžuje interpretaci popisovaných jevů.*

### 12.1.1. Auxiny

**Auxiny** byly objeveny ve 20. letech minulého století na základě jejich schopnosti stimulovat prodlužování buněk. **Přirozené auxiny** představuje malá skupina strukturně podobných látek: kyselina **indolyl-3-octová – IAA** (z angl. *indole-3-acetic acid*), kyselina **indolyl-3-máselná – IBA** (z angl. *indole-3-butyric acid*), kyselina 4-chlorindolyl-3-octová – **4-Cl-IAA** a kyselina fenylloctová – **PAA** (z angl. *phenylacetic acid*), jejíž výskyt však není obecný (obr. 12-1.). Strukturních analogů je celá řada, např. kyselina 2,4-dichlorfenoxyoctová (2,4-D), kyselina  $\alpha$ -naftyloctová (NAA; z angl. *naphtaleneacetic acid*).

**IAA se tvoří v mladých rychle se dělících buňkách** – v apikálním meristému stonku, mladých listech, vyvíjejících se květech a plodech, v embryích i v meristémech kořene. Hladinu auxinu často ovlivňují gibereliny.

**Biosyntéza** může probíhat **několika cestami**. Jedna z nich vychází z tryptofanu a má několik větví, druhá, tzv. cesta nezávislá na tryptofanu, vychází z indolyl-3-glycerofosfátu. Výchozí látka je různá v různých typech pletiv i v jejich různých vývojových stádiích. Také cest **destrukce IAA** je několik. Vedle odbourávání může být IAA **reverzibilně inaktivována** konjugací s *myo*-inositem, s kyselinou asparagovou, s řetězcem glukóz (7 až 50) nebo s glykoproteiny. Konjugáty jsou lokalizovány v cytosolu.

**Transport auxinů na krátké vzdálenosti** (mezi buňkami) je především **membránový** (transport auxinu symplastem, pokud existuje, je minimální) a **polární**. Auxin je jediný fytohormon transportovaný mezi buňkami polárně - ve stonku bazipetálně, v kořeni akropetálně. Ve stonku a listech je auxin takto transportován parenchymem vodivých pletiv. **Na dlouhé vzdálenosti** je transportován **floémem nepolárně**. Oba typy transportu spolu souvisejí. Auxin je z vodivých pletiv transportován také **laterálně** (radiálně) do vnějších vrstev primární kůry a do epidermis. Tyto povrchové vrstvy jsou pro zvětšování buněk vnitřních pletiv určující.

**IAA je slabá kyselina**. V kyselém prostředí buněčné stěny je disociovaná asi polovina přítomných molekul, v cytosolu je disociace IAA vyšší. V **nedisociovaném stavu** může molekula IAA **překonat membránu** a vstoupit do cytosolu. V **disociovaném stavu** – jako anion  $\text{IAA}^-$  – může do buňky **vstoupit jen symportem s dvěma  $\text{H}^+$** . Transport je zprostředkován **přenašečovým proteinem AUX1**, který je v plazmatické membráně rozmístěn v podstatě rovnoměrně. Směrem do apoplastu může anion  $\text{IAA}^-$  překonat membránu jen pomocí transportního proteinu. **Transportní proteiny** přenášející  $\text{IAA}^-$  z cytosolu do apoplastu se značí **PIN** (*pin* je název mutantu u *Arabidopsis*, který má deformovaný základ květenství tvaru jehlice – *pin-shaped*). **Bazipetální transport** auxinu mezi buňkami ve stonku je dán lokalizací přenašeče PIN v proximální (bazální) oblasti plazmalemy (obr. 12-2.). Aktivita přenosu je řízena dalšími specifickými proteiny s regulační funkcí, které se na proteiny PIN vážou. Lokalizace proteinů PIN na bazální straně buňky je **zajišťována transportem vezikulů** směřovaným **aktinovými mikrofilamenty**. Proteiny PIN jsou nestabilní, jejich obnova je velmi dynamická a zajišťuje možnost rychlých reakcí na signály, indukující změny směru prodlužování buněk.

**Auxin působí prodlužování buněk**. Účinné koncentrace pro buňky stonkových internodií jsou  $10^{-5}$  až  $10^{-6}$ M. Prodlužování buněk kořene auxin v těchto koncentracích inhibuje, dloužení buněk kořene vyvolá auxin v koncentracích o několik řádů nižších ( $10^{-9}$  až  $10^{-10}$ M). Na

auxin však reagují jen buňky dlužení schopné, které ještě nenabýly konečné velikosti, (tj. buňky ve fázi dluživého růstu nebo buňky, které mají jen primární buněčnou stěnu). Předpokládá se, že auxin v těchto buňkách **stimuluje aktivitu  $H^+$ ATPáz**, které působí snížení pH v buněčné stěně a následnou aktivaci mechanismů, které působí rozvolnění buněčné stěny (tzv. kyselý růst). Auxin působí stimulaci  $H^+$ ATPáz **v komplexu s proteinem ABP1** (z angl. *auxin binding protein*), na který se váže. Zdá se, že auxinový signál působí nejen aktivaci přítomných  $H^+$ ATPáz, ale také zvýšení jejich počtu syntézou *de novo*.

Vliv auxinu na prodlužování buněk hraje významnou úlohu **v pohybových reakcích**, které odrážejí pozici zdroje vnějšího podnětu. Směřovaná reakce na světlo se nazývá **fototropismus**, na zemskou tíži **gravitropismus** a na podráždění pevným předmětem **thigmotropismus**. Tyto reakce jsou způsobeny **nerovnoměrným laterálním transportem auxinu** v pletivu.

Světelný signál pro **fototropickou reakci** je přijímán v senzitivních pletivech (prodlužovací zóna koleoptile, hypokotylu nebo internodia) **fototropinem** (kap. 7.2.1.). Předpokládá se, že gradient fosforylace fototropinu indukuje laterální transport auxinu a vytvoří jeho gradient ve směru opačném ke gradientu fosforylace fototropinu. Vyšší koncentrace auxinu na „stinné“ straně způsobí v této oblasti rychlejší prodlužování buněk a ohyb orgánu ke zdroji světla.

Stejně je vysvětlován i **gravitropismus**, stimulus je však jiného charakteru. Gravitace je vnímána jako přemístování určitých struktur – **statolitů** v buňkách senzitivních ke gravitaci – **statocytech**. Jako statolity mohou působit amyloplasty (škrobová zrna; kap. 3.3.4.) nebo buněčné organely (např. jádro). V kořeni jsou statocyty především v kořenové čepičce (obr.12-3.). Pohyb statolitů je signálem pro **cytoskelet**, který informaci interpretuje změnami ve **vnitrobuněčném transportu**. **Změny lokalizace proteinů PIN**, provázející fototropické i gravitropické reakce, byly prokázány. Stejný princip se předpokládá i u reakcí na mechanický podnět v thigmotropických odpovědích, které jsou důležité např. pro kontakt kořenových vlásků s částicemi půdy nebo při zachycování lodyh a úponků na pevných oporách.

**Auxin inhibuje vývoj axilárních meristémů** v pupeny a postranní stonky (patrně nikoli vznik meristému samého). Tento vztah mezi apikálním pupenem a pupeny axilárními se označuje jako **apikální dominance**. Dekapitace, tj. mechanické odstranění apikálního pupenu, vede k uvolnění axilárních meristémů a pupenů z inhibice a k jejich aktivaci. Nahrazení apikálního pupenu auxinem, aplikovaným např. v agarovém bločku, však obvykle inhibici revertuje jen částečně. Inhibice axilárních pupenů je **velmi komplexní proces**, zahrnující působení dalších signálů přicházejících z jiných částí rostliny, např. z listu i kořenů. V ontogenezi se apikální dominance mění, se zvětšující se vzdáleností mezi apikálním a axilárním pu-

penem inhibiční vliv apikálního pupenu klesá, apikální dominance se snižuje obvykle také při nástupu kvetení. Vývoj axilárních pupenů ovlivňují **další fytohormony** – cytokinininy a kyselina abscisová. Auxinový signál, vycházející z apikálního pupenu, inhibuje biosyntézu cytokininů v axilárních pupenech. Apikální dominanci ovlivňují také **faktory trofické**, např. přednostní transport asimilátů do apikálního pupenu nebo aktivně rostoucího listu, a **stav pupenu** (typ dormance; kap. 11.4.). Při aktivaci axilárního pupenu endogenní hladina IAA v jeho buňkách stoupá a provází i vznik postranního stonku.

**Auxin stimuluje tvorbu laterálních i adventivních kořenů.** Auxin indukuje dělení buněk **pericyklu**, které vytvoří meristém a základ postranního kořene. Také pro další růst kořene je auxin nezbytný. **Adventivní kořeny** jsou kořeny, které se zakládají druhotně v pletivech jiných než kořenových – nejčastěji ve stoncích nebo řapících – rediferenciací buněk kambia nebo parenchymu. Růstové regulátory charakteru auxinu se používají běžně v zahradnické praxi pro **zakořeňování řízků při vegetativním množení rostlin**.

**Auxin stimuluje diferenciaci vodivých pletiv a aktivitu kambia.** Pro tato konstatování existuje mnoho experimentálních dokladů z intaktních rostlin i z materiálu kultivovaného *in vitro*. Tyto fyziologické fenomény, stejně jako ostatní efekty auxinu, jsou procesy **komplexní** a je v nich také doložena úloha **cytokininů**.

**Auxin oddaluje opad listů** (abscisi listů). Listy se oddělují v zóně, která se nazývá abscisní (oddělovací), v abscisní vrstvě. Stěny buněk oddělovací vrstvy jsou enzymaticky narušeny a ztrácejí pevnost. Tyto procesy jsou inhibovány auxinem, který se tvoří hojně v čepeli mladých listů, s jejich stárnutím produkce auxinu klesá a v senescenci zcela ustává.

**Auxin ovlivňuje růst plodů.** Předpokládá se, že zdrojem auxinu je nejprve **vyvíjející se oplodí**, potom **endosperm** a posléze **embryo**. Auxin je v embryích tvořen již ve velmi časných vývojových stádiích a je **nezbytný pro polarizaci embryí**. Při růstu plodů je úloha auxinů velmi komplexní. Spočívá ve stimulaci dělení buněk vznikajícího oplodí, v jejich prodlužování i v diferenciaci vodivých pletiv, která zajišťují transport asimilátů a dalších látek k pletivům vznikajících semen a oplodí.

Informace o **přenosu signálu auxinu** jsou značně neúplné. Z reakcí a procesů, které proběhnou mezi identifikací signálu receptorem a fyziologickou odpovědí, jsou zatím známy jen některé kroky a složky. Protein **ABP**, na který se IAA váže, je významným **receptorem auxinu**, patrně však **není jediný**. Je prokázáno, že auxin **ovlivňuje expresi řady genů**. Geny, které jsou regulovatelné auxinem musí mít v promotoru **příslušné cis-elementy** (kap. 8.2.5.1.; např. AuxREs, z angl. *auxin-response elements*; TGTCTC). Jedním z velmi časných kroků v přenosu signálu IAA je **aktivace určitých již přítomných proteinů**, které působí jako **tran-**

**skripční faktory** nebo **regulátory exprese určitých genů**. Tyto geny se označují jako **časné** a jejich exprese se projeví během krátké doby. Regulace může být **pozitivní** i **negativní**. Produkty některých těchto genů ovlivňují expresi dalších genů, označovaných jako **pozdní**.

▲ **Produkty časných genů mají různé funkce**. Některé fungují jako **transkripční faktory a regulační proteiny**, které ovlivňují expresi dalších genů, které se označují jako **pozdní** (jejich funkce se obvykle projeví po několika hodinách i později a k jejich expresi je třeba syntéza proteinů *de novo*). Mezi **časné geny patří** např. gen *CDC2*, kódující základní jednotku cyklin dependentní kinázy (kap. 9.1.1.) nebo gen pro enzym, který katalyzuje syntézu **ACC** (kyseliny 1-aminocyklopropan-1-karboxylové). ACC je prekurzorem **etylénu, dalšího fytohormonu** (kap. 12.1.5.).

Transkripční faktory a regulační proteiny, aktivující nebo reprimující časné geny jsou produkty několika genových rodin. Jednou z nich jsou geny *AUX/IAA*, kódující **malé nukleární hydrofobní regulační proteiny**, které prostřednictvím dalších proteinů, značených **ARFs** (z angl. *auxin response factors*) působí aktivaci nebo represi některých genů. Hladina proteinů *AUX/IAA* je regulována specifickou ubikvitinovou ligázou (kap. 8.2.5.1.; obr. 12-4.).

Další produkty časných genů ovlivňují růstové a vývojové reakce, např. tropizmy nebo diferenciaci buněk, mohou sloužit k tlumení signálu (inaktivaci *IAA* – glutathion-S-transferázy; kap. 6 2 6.), jiné slouží přenosu signálu do dalších buněk.

### 12.1.2. Cytokininy

**Cytokininy** byly objeveny v 50. letech minulého století díky jejich schopnosti vyvolávat dělení buněk. **Základním přírodním cytokininem je zeatin** a cytokininy jsou obvykle definovány jako látky, které mají podobné biologické účinky jako zeatin. Většina cytokininů jsou aminopuriny (adeniny) substituované v pozici N<sup>6</sup> řetězcem pěti atomů C (zeatin) nebo aromatickým jádrem (benzyladenin), které může být dále modifikováno (3-hydroxybenzyladenin = topolin). Kinetin – chemicky furfuryladenin – obsahuje pětičlenný kruh s atomem kyslíku. V postranním řetězci zeatinu je dvojná vazba a zeatin se může vyskytovat ve formě *cis*- nebo *trans*-, obě formy jsou přírodní a enzymaticky konvertovatelné. Forma *trans* je fyziologicky efektivnější (obr. 12-5.). Další přirozené cytokininy jsou **dihydrozeatin (DZ)** a **izopentenyladenin (iP)**. V současnosti je známo více než 200 přirozených a synteticky připravených látek s cytokininovou aktivitou.

**Biosyntéza zeatinu** vychází z ATP nebo ADP, na který je v pozici N<sup>6</sup> navázána izopentenylolová skupina (má charakter izoprenů; kap. 3.2.1.). Reakci katalyzuje enzym **izopentenyl transferáza – IPT** (u *Arabidopsis* je kódována devíti různě regulovanými geny). Z produktu této reakce je odvozen zeatin a další cytokininy.

Cytokininy jsou **nevratně odbourávány cytokinin oxidázou**, která odštěpuje postranní řetězec (formy *trans*- i *cis*-). Všechny úrovně regulace exprese genu kódujícího tento enzym představují významnou oblast řízení vývojových procesů.

Zeatin, stejně jako ostatní cytokininy, je v rostlině přítomen **volný** nebo **konjugovaný**. Hormonálně **aktivní** jsou jen **volné cytokininy**. **Konjugace** se sacharidy cytokininy **reverzibilně**

**inaktivuje** a má regulační charakter. Konjugáty mohou mít formu **ribosidu** (v pozici N<sup>9</sup> je na adeninové jádro vázána ribóza), **ribotidu** (ribóza nese fosfát) nebo **glykosidu** (glukóza je vázaná na N<sup>3</sup>, N<sup>7</sup> nebo N<sup>9</sup>). Volné cytokininy mohou být z různých konjugovaných forem různě rychle uvolňovány (dle charakteru konjugátu). Také některé tRNA obsahují *cis*-zeatin.

**Cytokininy se tvoří** v kořenech, embryích, mladých listech a plodech, všude tam, kde se **buňky dělí**. Z hlavního místa jejich tvorby - **kořenového apikálního meristému** – jsou **transportovány xylémem** do nadzemní části ve formě **inaktivních sacharidových konjugátů**. Zdá se, že cytokininy nejsou mezi buňkami aktivně transportovány.

**Fyziologické efekty** jsou velmi různé. Cytokininy mají zásadní význam pro **dělení buněk**. Hladina zeatinu se zvyšuje v mitóze a fázi G1. Cytokininy aktivují expresi genu *CYCD3*, který kóduje **cyklin typu D** (kap. 7.6.2.).

Cytokininy ovlivňují **celkový habitus rostliny**. Stimulují vývoj axilárních pupenů a výrazně **snižují apikální dominanci**. **Zvětšují plochu listu** tím, že stimulují objemový růst jeho buněk, naopak inhibují prodlužování buněk internodií a kořenů.

Cytokininy významně působí na **transportní procesy v rostlině**, atrahují asimiláty i aminokyseliny (jev zvaný mobilizace živin indukovaná cytokininy). Ovlivňují **diferenciaci vodivých pletiv** kořenu, především floému. Urychlují **diferenciaci chloroplastů** při deetiolaci, stimulují syntézu fotosyntetických pigmentů a proteinů fotosystému II i I. **Oddalují senescenci listu**, zpomalují odbourávání chlorofylu, inhibují tvorbu superoxidu a hydroxylových radikálů, čímž snižují oxidaci membránových lipidů a stabilizují thylakoidy.

Některé **patogenní bakterie, hmyz** nebo **nematoda** vylučují volné cytokininy nebo v rostlinách silně aktivují jejich biosyntézu, indukují dělení buněk a vznik charakteristických struktur, např. tumorů nebo čarovníků. Ti plazmid *Agrobacterium tumefaciens* nese geny pro syntézu cytokininů (kap. 7.6.2.). Geny pro biosyntézu cytokininů, nesené T-DNA, jsou exprimovány i v těch pletivech, kde je biosyntéza vlastních cytokininů reprimovaná.

**Receptorem cytokininů**, který byl spolehlivě prokázán, je protein **CRE1** (z angl. *cytokinin receptor*). Existuje však patrně více strukturně si blízkých receptorů. CRE1 je **integrální protein plazmatické membrány** a vazba cytokininu na jeho doménu ležící na vnější straně plazmalemy má za následek změny v expresi řady genů.

▲ **CRE1** má funkcií **dvousložkové histidinové kinázy**. Vazba cytokininu vyvolá fosforylaci histidinu v cytosolové části receptoru. Fosfát je z histidinu přenesen na aspartát v další cytosolové doméně CRE1. V této podobě má receptorový protein CRE1 schopnost fosforylovat mobilní složky signální cesty (proteiny AHP; z angl. *Arabidopsis histidine phosphotransfer*), které z cytosolu vstupují do jádra. V jádře jsou fosforylovány další proteiny (ARR typu A a B; z angl. *Arabidopsis response regulator*), které působí jako transkripční faktory (obr. 12-6). Pozitivně ovlivňují transkripci genů, vedoucích k interpretaci cytokininového signálu.

### 12.1.3. Gibereliny

**Gibereliny** byly objeveny v druhé polovině 20. let minulého století v Japonsku jako produkt houby *Gibberella fujikuroi*, která napadá rýži, působí její abnormální prodlužování a snižuje produkci semen a výnos (choroba zvaná *bakanae*).

**Obecně** se vyskytující aktivní gibereliny jsou **kyselina giberelová**, značená jako giberelin A<sub>3</sub> – GA<sub>3</sub> a giberelin GA<sub>1</sub> (obr.12-7.). V současnosti je známo více než 125 přirozených a uměle připravených látek s různou fytohormonální aktivitou (všechny se značí GA s číselným indexem). Gibereliny jsou látky **odvozené z diterpenů** (čtyři izoprenoidní jednotky), základní struktura tvořená čtyřmi kruhy se často označuje jako **gibanový skelet**. Většina giberelinů má 20 atomů C, některé mají jen 19 atomů C. U jednotlivých druhů rostlin se vyskytují jen určité typy giberelinů. Gibereliny tvoří **konjugáty** se sacharidy, nejčastěji s **glukózou**, které jsou biologicky neaktivní.

Gibereliny jsou **syntetizovány v mladých semenech**, vyvíjejících se **plodech** a dalších **aktivně rostoucích orgánech** – mladých listech, pupenech a internodiích. Určité množství giberelinů je syntetizováno také v kořenech.

▲ **Biosyntéza** probíhá v třech buněčných kompartmentech. První fáze – syntéza základních izoprenových jednotek – probíhá v plastidech (kap. 3.2.1.), kde vzniká důležitý meziprodukt **ent-kauren**. Další fáze probíhají na endoplazmatickém retikulu, kde se biosyntéza rozchází do dvou větví, které určují další charakter giberelinů. Jedna vychází z GA<sub>12</sub>, druhá z GA<sub>53</sub>. Konečné fáze biosyntézy probíhají v cytosolu.

**Hladina giberelinů** zpětně ovlivňuje **jejich biosyntézu a degradaci**. Je ovlivňována také **auxinem**, teplotou a světelnými podmínkami.

**Gibereliny** tvořené v nadzemní části rostliny jsou **transportovány floémem**. Gibereliny tvořené v kořenech jsou do nadzemní části transportovány **xylémem**.

**Fyziologické efekty** jsou velmi různé a často **druhově specifické**. K základním projevům patří **stimulace růstu stonku**. Deficience giberelinu se projevuje vznikem zakrslých rostlin (trpasličích, angl. *dwarf*). Podstatou prodlužování stonku je aktivace **dělení buněk v meristémech** i **zvětšování buněk**. U trav gibereliny aktivují činnost interkalárních meristémů v internodiích, u jiných druhů rostlin stimulují dělení a prodlužování buněk v oblasti subapikální. **Dělení buněk** je ovlivněno na úrovni exprese genů kódujících cyklin-dependentní kinázy (9.1.1.), na úrovni přechodu z fáze G1 do fáze S a z fáze G2 do mitózy. **Prodlužování buněk** je podmíněno **rozvolňováním složek buněčné stěny** (kap. 9.2.1.1.). Gibereliny působí rozvolňování jiným mechanismem než auxiny, které snižují pH v buněčné stěně (kap. 12.1.). Předpokládá se, že gibereliny usnadňují pronikání **expanzinů** do buněčné stěny. Auxiny a gibereliny půso-



bí při objemovém růstu buňky **synergicky**. Na buňky kořenů mají gibereliny menší vliv než na buňky stonku. Analýza mutantů ukázala, že některé procesy, související s dlouhivým růstem buněk, jsou na úrovni transkripce určitých genů aktivně reprimovány. Složky giberelinové signální dráhy tuto **represi odstraňují**.

Gibereliny hrají významnou úlohu při **klíčení semen a překonávání dormance** u semen i pupenů. Během **klíčení** mohou gibereliny ovlivňovat různé procesy. Jedním z nich je **prodloužení buněk** hypokotylu. V obilkách gibereliny aktivované v embryu **mobilizují zásobní látky** v endospermu, tím, že stimulují tvorbu hydroláz, zejména  **$\alpha$ -amyláz**, v aleuronové vrstvě (kap. 10.2.1.; obr. 12-8.). Tvorba hydroláz je regulována na úrovni transkripce. Promotory genů, které hydrolázy kódují, mají elementy regulovatelné složkami giberelinové signální cesty. Na ně se vážou transkripční faktory, které jsou produkty tzv. časných giberelinových genů. Ke zvýšení exprese hydroláz je třeba syntéza proteinů *de novo*.

Gibereliny ovlivňují **ukončení juvenilní fáze a přechod do fáze generativní**. Efekt může být **pozitivní i negativní**. Pozitivní působení je obzvláště významné u dlouhodobých rostlin rozetového typu, u nichž gibereliny stimulují růst stonku. U *Arabidopsis* bylo zjištěno, že gibereliny pozitivně ovlivňují transkripci genu *LFY*, který určuje meristém jako květní. Jeho produkt, transkripční faktor LEAFY, ovlivňuje transkripci dalších genů *API* a *AG* (kap. 11.1.3.). Aplikace giberelinů může **nahradit jarovizaci**. U jiných typů rostlin, např. u břečťanu, však může aplikace giberelinu naopak juvenilní stav prohloubit. U konifer stimuluje nástup generativní fáze aplikace giberelinů  $GA_4+GA_7$ ,  $GA_3$  je však bez efektu.

Vliv na **pohlaví květů** je také **druhově specifický**. U kukuřice, která má květy jednopohlavné ale květenství obou typů jsou na jedné rostlině, gibereliny podporují vznik samičích květů v samčím květenství. Funkce giberelinů u kukuřice patrně spočívá v negativním vlivu na vývoj tyčinek. U okurek, špenátu a konopí je efekt giberelinů opačný – podporují tvorbu samičích květů.

**Receptor giberelinů** je **na vnější straně plazmalemy**, na přenosu jeho signálu se podílejí heterotrimerický **G-protein** (kap.8.2.5.2.) a cyklický GMP.

▲ V cytoplazmě je signál giberelinu přenášen nejméně dvěma cestami (obr. 12-9.). V jedné cestě se aktivují přítomné proteinové složky signální cesty, vstupují do jádra, kde inaktivují represory genů, kódujících určité transkripční faktory (GA-MYB). Geny *GA-MYB* jsou transkribovány, kódovaný protein je translatován na cytoplazmatických ribozomech a transportován do jádra, kde aktivuje další geny. V buňkách aleuronové vrstvy jsou to geny kódující hydrolázy, např.  $\alpha$ -amylázu. Translace mRNA pro hydrolázy probíhá na hrubém endoplazmatickém retikulu a proteiny jsou transportovány ve vezikulech do buněčné stěny. Transport hydroláz z buněk aleuronové vrstvy do mumifikovaného endospermu je řízen druhou cestou přenášející giberelinový signál. Jedním z mechanismů přenosu signálu v této cestě je zvýšená hladina  $Ca^{2+}$  v cytosolu a působení kalmodulinu (kap. 6.2.3.).

Gibereliny nebo naopak inhibitory jejich biosyntézy se **využívají v praxi**. Látky s charakterem **aktivních giberelinů** se používají při výrobě sladu v pivovarnictví, v zahradnické praxi ke zvýšení násady květů a jejich zvětšení, k prodlužování hroznů u bezsemenných odrůd révy vinné, jejichž hrozny jsou příliš kompaktní a omezují vývoj bobulí. **Inhibitory giberelinů** se používají proti poléhání obilí u odrůd, které mají k poléhání přirozený sklon, nebo když k němu dojde vlivem nepříznivých klimatických podmínek na jaře.

#### 12.1.4. Kyselina abscisová

**Kyselina abscisová – ABA** (z angl. *abscisic acid*) – byla na základě fyziologických efektů, tj. schopnosti navodit dormanci, původně nazvána **dormin**. Chemicky byla v 60. letech identifikována a bylo shledáno, že je totožná s látkou známou jako **abscisin** (obr. 12-10.), jejíž hladina výrazně stoupá v opadávajících plodech bavlny.

Abscisová kyselina je významný **všudypřítomný fytohormon**, který řídí **dlouhodobé růstové a vývojové procesy i aktuální stresové reakce**. Vyskytuje se obecně u všech rostlin, **ve všech pletivech a téměř ve všech buňkách**. Ve většině případů působí antagonisticky ke giberelinům, cytokininům i auxinům.

**Biosyntéza** je spojena s plastidy a vychází z karotenoidu violaxantinu (kap. 3.2.1.). ABA vzniká z dalšího produktu metabolismu karotenoidů – **neoxantinu**, odštěpením **řetězce s 15 atomy C** a oxidací vzniklého aldehydu na kyselinu abscisovou. ABA se vyskytuje **v cytosolu** a její **koncentrace je dramaticky proměnlivá**. **Degradace ABA** má oxidační charakter, probíhá v cytosolu a při ní vzniká kyselina fazeová. **Konjugace** s monosacharidy, především glukózou, působí inaktivaci kyseliny abscisové, konjugáty jsou ukládány ve vakuole.

**K transportu** z listů je využíván floém směrem do kořenů i do apikální části stonku, z kořenů je ABA transportována xylémem volná i v konjugované formě. ABA je slabá kyselina a v apoplastu je její disociace nižší než v cytosolu. Do cytosolu vstupuje nedisociovaná ABA spontánně, **aniont** je transportován **aktivně přenašeči** v plazmalemě.

ABA má základní význam pro regulaci **nástupu a trvání dormance semen** (kap. 10.1.2.) i **pupenů** (kap. 11.4.) a pro řízení průběhu **stresových reakcí**, především reakcí způsobených **nedostatkem vody** (kap. 7.3.1.). Během **zrání embrya** může hladina ABA v několika dnech stoupnout o dva řády. Vzestup hladiny ABA v embryu při nástupu jeho zrání je indukován signálem přicházejícím z mateřského sporofytu. ABA zajišťuje schopnost pletiv překonat výrazné snížení obsahu vody tím, že stimuluje transkripci genů kódujících **ochranné strukturální proteiny** LEA. Výrazně ovlivňuje také složení a ukládání **zásobních proteinů** v embryu během jeho zrání. Zabraňuje vyvinutému embryu v dalším vývoji, tj. **navozuje stav**

**dormance** a v dalších fázích **udržuje embryo v dormanci**. V té době je ABA ve zvýšeném množství přítomna obvykle v dělohách. Současně je výrazně snížena hladina aktivních gibberelinů a auxinů. Překonání dormance snížením hladiny kyseliny abscisové mohou způsobit nízké teploty nebo vysoký stupeň dehydratace. Podobně působí ABA v **dormanci pupenů**, zvýšení její hladiny provází snížení hladiny cytokininů a gibberelinů. ABA inhibuje tvorbu enzymů, které jsou třeba k degradaci zásobních látek. Působí represi transkripce genů (*GA-MYB*), která je odstraňována složkami signální cesty gibberelinů (kap. 12.1.3.; obr. 12-9.).

ABA hraje významnou úlohu také při stresových reakcích, především při **stresu z nedostatku vody**, ať je způsoben suchem, mrazem nebo vysokou koncentrací solí v půdním roztoku (kap. 7.3.1.1.; kap. 7.3.1.2.). V těchto případech může hladina ABA stoupnout až 50-krát během několika hodin. Významná je její úloha v **aktuální stresové reakci při zavírání průduchů** (obr. 12-11.) i při dlouhodobé **ontogenetické adaptaci na nízký vodní potenciál půdního roztoku**. Za těchto podmínek inhibuje růst nadzemní části rostliny a stimuluje růst kořenů. Růst kořenů je stimulován tím, že je snížena tvorba etylénu, který působí jeho inhibici.

U některých druhů rostlin ABA **podporuje senescenci a abscisi** listů nebo jiných částí rostliny. Hlavní signální molekulou v těchto procesech je však ve většině případů molekula **etylénu**.

Zdá se, že v jedné buňce je **několik typů receptorů** kyseliny abscisové, které jsou lokalizované na **vnějším povrchu plazmalemy** i v **cytosolu**. Předpokládá se, že receptory jsou proteiny. Dále se ukazuje, že v buňce existuje **několik drah**, které přenášejí signál kyseliny abscisové. Jejich složkami je změna hladiny  $Ca^{2+}$ , fosfáty inozitolu, cyklická ADPribóza, kinázy i fosfolipáza C. Signál kyseliny abscisové působí **změnu exprese řady genů**, především na úrovni transkripce. Mezi geny řízenými signálem kyseliny abscisové jsou geny kódující LEA proteiny (kap. 10.1.2.), proteiny teplotního šoku, enzymy sacharidového metabolismu a syntézy kompatibilních solutů.

### 12.1.5. Etylén

**Etylén** je **plynná látka hydrofobní povahy**, která může být tvořena prakticky ve všech částech rostliny. Nejvyšší produkce je v oblastech meristematických, hladina etylénu se zvyšuje během senescence a opadu listů, zrání plodů, při stresu a po poranění.

**Biosyntéza** vychází z **metioninu**, bezprostředním **prekurzorem je ACC** – kyselina 1-aminocyklopropan-1-karboxylová. K přeměně ACC na etylén je třeba kyslík, reakci katalyzuje enzym ACCoxidáza. **Hladina ACC je hlavním místem regulace tvorby etylénu**. Vznik ACC katalyzuje nestálý enzym – ACC syntáza, reakce probíhá v cytosolu. Tento enzym, stej-

ně jako ACCoxidáza je kódován početnou heterogenní rodinou genů, jejichž transkripce je řízena různými signálními cestami. ACC může však být vedle oxidace **ACC oxidázou** také **konjugována s glukózou** (obr. 12-12.). Syntéza ACC a její oxidace a konjugace představují mechanismy regulace hladiny etylénu. Za stresových podmínek, způsobených nedostatkem kyslíku při zaplavení, je z kořenů do nadzemní části transportována xylémem ACC a na etylén oxidovaná v nezaplavené části. V některých fyziologických procesech je produkce etylénu ovlivňována auxinem, cytokininem nebo kyselinou abscisovou.

Významná je schopnost etylénu urychlovat **zrání dužnatých plodů** spojené s obdobím zvýšené respirace, tzv. **klimakterickým dýcháním**. Vyskytuje se např. u banánů, jablek, hrušek, rajčat, fíků, manga, broskví a avokáda. Tato skutečnost dává možnost ovlivňovat zrání plodů během skladování. Etylén pozitivně ovlivňuje další vývojové reakce, např. u některých druhů rostlin **zkracuje dormanci** semen (např. u podzemnice olejné) nebo pupenů (např. u hlíz bramboru).

Z růstových efektů je významné působení etylénu při vzniku **zakřivení stonkové části** pod apikálním pupenem u **etiolovalých dvouděložných rostlin** a prodlužování stonků u některých vodních rostlin, např. pryskyřníku (*Ranunculus sceleratus*) a hvězoše (*Callitriche platycarpa*).

**Receptor signálu** je integrální protein **membrány endoplazmatického retikula** (etylén je hydrofobní malá molekula schopná překonat plazmatickou membránu). Receptor se značí ETR1 (z angl. *ethylene resistant*, neboť mutant je necitlivý k aplikovanému etylénu). Etylén se na něj váže pomocí specifického kofaktoru, k vazbě je třeba atom Cu. Receptor je u *Arabidopsis* kódován několika geny (asi pěti). Receptor má charakter dvousložkové histidinové kinázy (podobný receptor mají cytokininy na plazmalemě). Není-li na receptor vázaný etylén, receptor aktivuje mobilní složky, které **blokuji cestu k odpovědi na etylén**. Naváže-li se etylén na receptor, blokádu je odstraněna.

▲ Signál etylénu ovlivňuje expresi celé řady genů, např. celulózu (štěpí celulózu během zrání plodů u některých druhů rostlin). Geny regulovatelné etylénem mají v promotoru elementy značené **EREs** (z angl. *ethylene responsive elements*). Na ně se vážou transkripční faktory – **proteiny ERF** (z angl. *ethylene responsive factor*). Proteiny ERF jsou produkty jiných genů, jejichž transkripce je pozitivně ovlivňována homodimery transkripčních faktorů EIN3 (z angl. *ethylene insensitive*). Transkripční faktory EIN3 jsou aktivovány poté, co se molekula etylénu naváže na receptor a **ustává aktivní blokáda** cesty k reakci na signál etylénu (obr. 12-13.).

#### 12.1.6. Další látky fytohormonální povahy

▲ **Brassinosteroidy** je skupina asi třiceti látek, které se vyskytují především v nadzemní části rostliny. Významně ovlivňují dlouhivý růst a zvyšují odolnost rostliny k působení nízkých teplot a suchu (kap. 7.6.1.2.; obr. 12-14.).

**Jasmonáty** představuje kyselina jasmonová a její metylester (obr. 7-17.). Biosyntéza vychází z kyseliny linolenové, hladina jasmonátů stoupá především při stresových reakcích, např. po poranění nebo napadení patogenem. Kyselina jasmonová stimuluje expresi genů, které kódují inhibitory proteáz. Proteázy může do buňky vylučovat patogen nebo škůdce. Vedle bezprostřední vlastní obrany tvoří inhibitory proteáz potravu pro herbivory obtížně stravitelnou (kap. 7.6.3.).

**Polyaminy** jsou jednoduché organické látky s několika aminoskupinami – putrescin, spermin (obr. 12-14.) a spermidin. Jejich biosyntéza vychází z argininu nebo ornitinu. Polyaminy stimuluji dělení buněk, jejich funkce v regulaci buněčného cyklu je však zatím nejasná. Jejich hladina stoupá ve stresových situacích.

**Oligosachariny** jsou oligosacharidy, které vznikají rozkladem buněčné stěny rostliny při napadení patogenem nebo stěny patogenní houby při obranné reakci rostliny. Stimulují obranné reakce a zároveň inhibují dlouhivý růst buňky, což lze považovat za součást obranné strategie (kap. 3.3.4.; kap. 7.6.2.1.).

**Systemin** je peptid tvořený 18 aminokyselinami, který se uvolňuje do apoplastu při poranění. Je transportován floémem. V buňkách vybavených příslušným receptorem na plazmalemě indukuje biosyntézu kyseliny jasmonové (kap. 7.6.3.).

## 12.2. Totipotence a regenerace

**Totipotence buňky** je obvykle definována jako její schopnost dát vznik všem typům buněk v organismu. Je dána nejen zachováním **úplné genetické informace** ale také schopností ji aktivovat a projevit - exprimovat. Většina diferencovaných buněk rostliny je totipotentní. K tomu, aby byla tato genetická informace exprimována ve správný čas na správném místě a v míře odpovídající vnitřním i vnějším podmínkám, musí být funkční také **signální síť** organismu (kap. 8.2.5.2.). Významnou roli v těchto procesech hraje skupina **vnitřních signálních látek** označovaná souborně jako **fytohormony**.

**Regenerace** má u rostlin mnoho morfologických podob, které lze rozdělit do dvou základních typů – restituce a regenerace. **Restituce** je obnova a náhrada ztracené části v místě poranění. Tento typ regenerace je u rostlin **omezen na meristémy a velmi časná stádia vývoje embrya** (globulární stádium). **Regenerace** je obnova organismu jako celku, při níž náhrada za poškozený orgán vzniká na jiném místě než je rána (rána se zhojí; kap. 7.6.1.1.). Nový orgán může vzniknout **ze základu, který byl na rostlině přítomen**, ale nevyvíjel se (paradormance; kap. 11.4.), nebo se orgán **zakládá de novo** a jeho vznik je spojen s **rediferenciací buněk**, které již byly funkčně specializované. Rediferenciaci je spojena se zásadní změnou vývojového programu buněk a umožněna podstatnými změnami exprese genů. Orgány, které se zakládají *de novo* v části rostliny, kde se normálně netvoří, např. kořeny v nodech, internodiích nebo řapících, pupeny v řapících nebo čepelích listů, se označují jako **orgány adventivní**.

Schopnost **regenerace** je **pro přežití rostliny** v přírodních podmínkách naprosto **nezbytná**. Je však také záměrně **využívána člověkem** k nejrůznějším cílům. Nejčastěji se jedná o **vegetativní množení rostlin** v zahradnické praxi. Neméně významné je však také využívání rege-

nerace v experimentální výzkumné práci. V **podmínkách *in vitro*** lze získat kompletního rostlinného jedince z velmi malých fragmentů pletiv, dokonce jen z protoplastu.

### 12.3. Kultury rostlin *in vitro*

Termín *in vitro* v nejširším významu znamená **ve skle** (nebo v průhledných umělohmotných nádobách). Termín **kultura *in vitro*** označuje dvě základní věci – dlouhodobý **způsob kultivace** rostlinného materiálu **na živných mediích za sterilních podmínek** i **materiál** tímto způsobem kultivovaný. V těchto podmínkách mohou být kultivovány kompletní rostliny, embrya v různých fázích vývoje, organizované části rostliny – jednotlivé orgány nebo pletiva, neorganizovaná pletiva (kalusy), shluky buněk, jednotlivé buňky a za určitých podmínek i protoplasty. Oddělená část rostliny (fragment), použitý ke kultivaci, se nazývá **explantát**. Ve většině případů je konečným cílem kultivace *in vitro* získat kompletního jedince určitých vlastností.

**Kultivační medium** musí vždy obsahovat **vodu** a **všechny esenciální minerální prvky – makro- i mikroelementy**. Dle charakteru explantátu a podmínek kultivace *in vitro* (na světle, ve tmě) je medium doplňováno sacharidy, vitaminy, aminokyselinami a dalšími složkami. Medium může být zpevněno agarem, explantát může být kultivován v tekutém mediu provzdušňovaném pohybem nebo na porézním materiálu, po němž medium vzlíná. Dle záměru a cíle kultivace medium může obsahovat růstové látky nebo jejich směsi. S přijatelnou mírou zobecnění lze říci, že aktivaci vývoje dormantních pupenů a zakládání pupenů *de novo* pozitivně ovlivňují cytokininy, vznik adventivních kořenů auxiny. Gibereliny podporují růst založených orgánů, kyselina abscisová navozuje zpomalení jejich růstu a útlum jejich vývoje. Kultivace rostlin *in vitro* je **interdisciplinární metoda**, jejíž použití může sloužit nejrůznějším záměrům. Kultivace *in vitro* je používána v praxi především k **vegetativnímu množení rostlin**, tj. **mikropropagaci**. Vhodnými postupy lze v krátkém čase nezávisle na ročním období získat značný počet nových, avšak malých, jedinců, jejichž vlastnosti jsou stejné jako vlastnosti rodičovské rostliny. Dalším častým záměrem kultivace *in vitro* je **ozdravení materiálu**. Regenerací z meristémů a použitím vhodných kultivačních podmínek (teplotních změn, aplikace antibiotik nebo virostatik) lze zbavit materiál virů nebo jiných patogenů. Kultivace fragmentů pletiv, buněk nebo protoplastů *in vitro* je nezbytná pro **genové manipulace a transformace** rostlin. Regenerace jedinců z mikrospor umožňuje **získat haploidní jedince** a jejich diploidizací **homozygotní jedince** – materiál cenný pro šlechtitele. Podmínky *in vitro* umožňují **studovat řadu fyziologických procesů**, např. regulaci embryogeneze nebo dormance, mykorhizu nebo produkci sekundárních metabolitů.

**Cesty** vedoucí k získání kompletního jedince v kultuře *in vitro* jsou v podstatě dvě – **organogeneze** a **somatická embryogeneze**. Orgány mohou vzniknout z již **přítomného** dormantního **základu** nebo jako orgány **adventivní**.

**Adventivní orgány** nebo **embrya** mohou vznikat **přímo z rediferencovaných buněk** explantátu nebo **nepřímo z neorganizovaného pletiva**, které se označuje jako **kalus**. Kalus vzniká za normálních podmínek v ranách jako hojivé pletivo (označuje se též jako zával nebo svalec). V kulturách *in vitro* může vzniknout spontánně nebo je jeho vznik vyvolán růstovými látkami, např. vhodným poměrem auxinů a cytokininů. Poměr závisí na druhu rostliny, typu explantátu i stavu rostliny, z níž byl explantát odebrán neboť různé explantáty mají různý obsah endogenních fytohormonů i citlivost k nim.

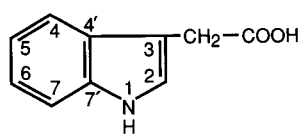
Při regeneraci cestou **organogeneze** se vhodnými kultivačními podmínkami, především přítomností **cytokininů**, indukuje přímo na organizovaném pletivu explantátu nebo na kalusu **tvorba pupenů**, které odrůstají v prýty. V dalším období kultivace na jiném typu media s obsahem auxinů se vyvolá **tvorba adventivních kořenů**.

Druhá cesta k získání kompletního jedince je cesta **somatické embryogeneze**. Při tomto typu regenerace se předpokládá, že nový jedinec vzniká z jedné somatické buňky odpovídající zygotě. Od počátku se nový jedinec vyvíjí jako **struktura se stonkovým a kořenovým pólem** a prochází stadii, která odpovídají stadiím zygotické embryogeneze. Somatická embrya se nejnáze odvozují z nezralých zygotických embryí, z mladých klíčnic rostlin, ze suspenzních nebo buněčných kultur. Podmínky vedoucí k jejich vzniku jsou závislé na genotypu rostliny i na charakteru explantátu. Významný je nejen obsah růstových látek v mediu ale i vnější podmínky kultivace. Vznik embryí ze somatických buněk může být indukován např. teplotním šokem.

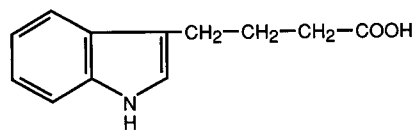
Poprvé byla somatická embryogeneze pozorována v 50. letech minulého století v suspenzní kultuře odvozené z kalusu, který se vytvořil na explantátech kořene mrkve. Shluky buněk (mikrokalusy) dlouhodobě pěstované v tekutém mediu, které obsahovalo růstovou látku charakteru auxinů - 2,4-D (kyselinu 2,4-dichlórfenoxyoctovou), byly přeneseny do media bez 2,4-D. Na povrchu mikrokalusů se vytvořila adventivní neboli somatická embrya.

Předpokladem úspěšného vyžití kultur *in vitro* je převedení získaných rostlin do přirozených podmínek.

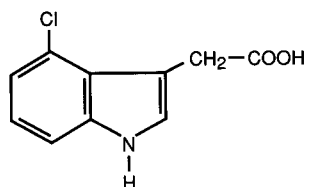
Obr. 12-1. Auxiny.



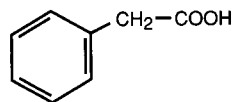
kyselina indolyl-3-octová



kyselina indolyl-3-máselná



kyselina 4-chlorindolyl-3-octová

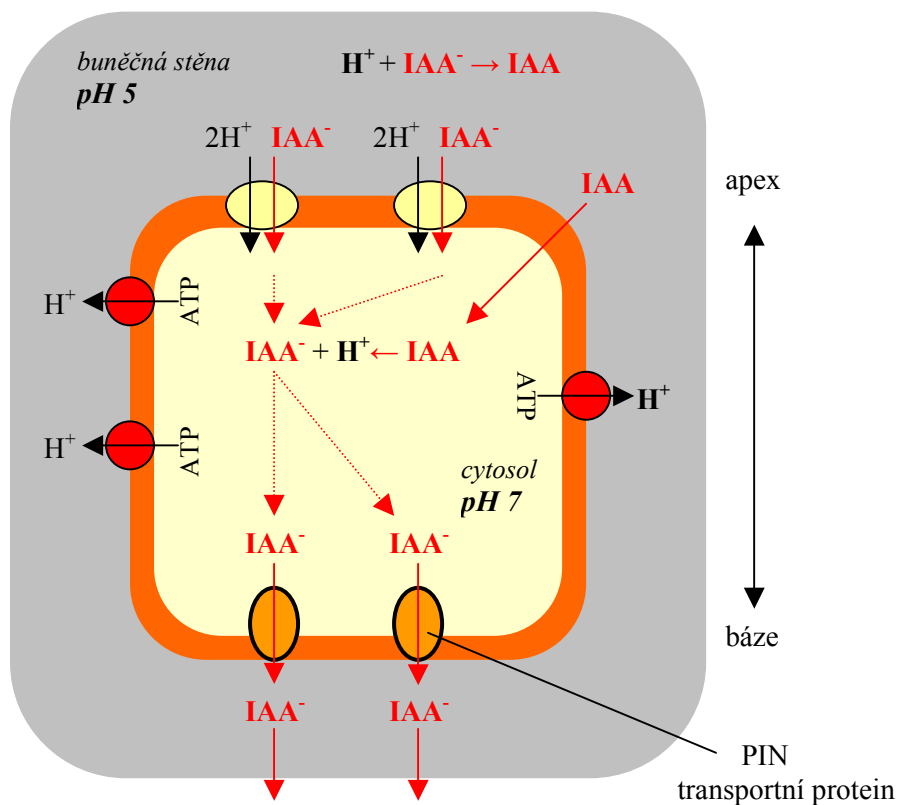


kyselina fenyloctová

*zpět do textu*



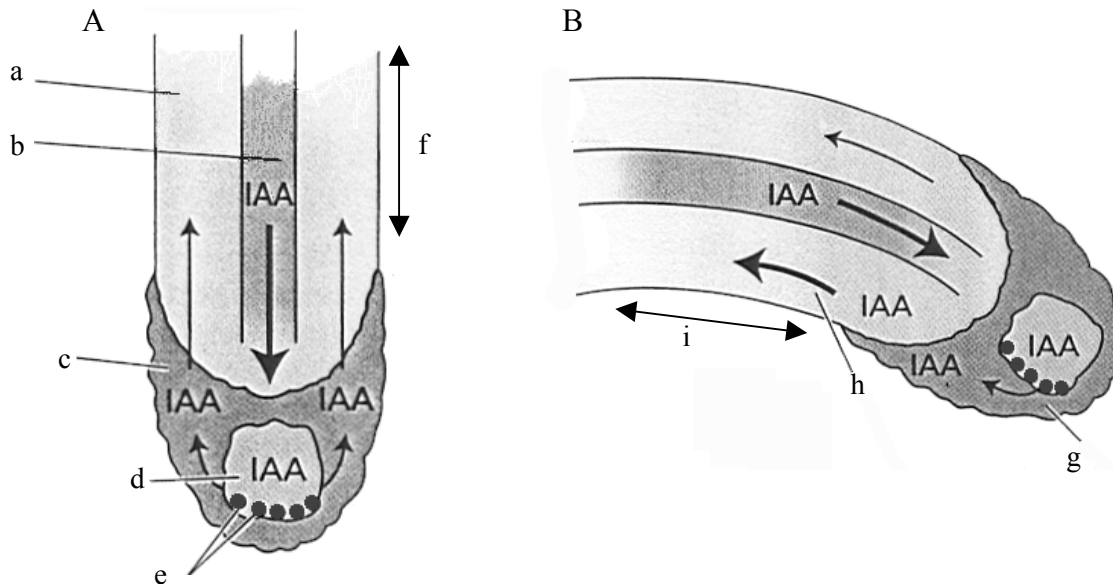
Obr. 12-2. Polární transport auxinu.



*zpět do textu*

IAA je v buněčné stěně (pH 5) částečně disociovaná a do protoplastu může vstoupit pasivně jako anion IAA<sup>-</sup> sekundárním aktivním transportem s dvěma H<sup>+</sup> nebo v nedisociované formě jako IAA. V cytosolu (pH 7) je disociace IAA vyšší než v buněčné stěně a IAA je transportována z buňky jako anion IAA<sup>-</sup> transportním proteinem PIN, který je lokalizován v plazmatické membráně na bazální straně buňky.

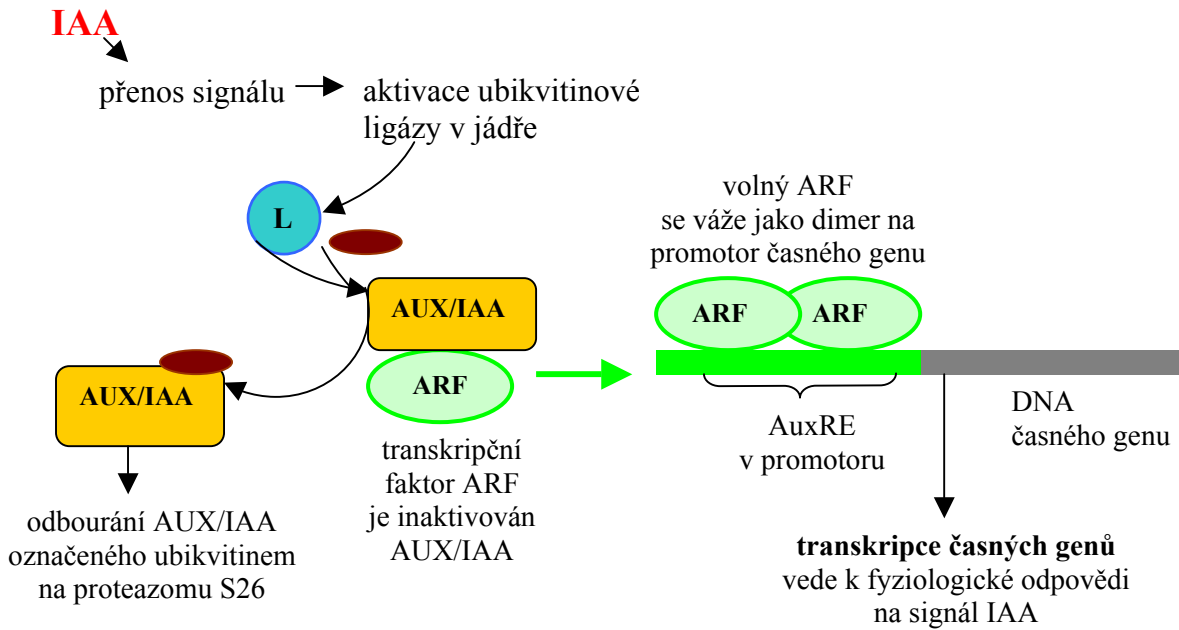
Obr. 12-3. Gravitropizmus – model redistribuce auxinu (Podle Hasenstein K.H., Evans L.M.: Effects of cations on hormone transport in primary roots of *Zea mays*. – Plant Physiol 86:890 – 894, 1988. - Schéma podle Taiz L., Zieger E.: Plant Physiology. – Sinauer Associates, Inc., Publishers, Sunderland, Massachusetts 2002. Upraveno). a – primární kůra, b – stélé, c – kořenová čepička, d – statocyt (zvětšený), e – statolity, f – růstová (prodlužovací) zóna kořene, g – oblast zvýšené koncentrace IAA v kořenové čepičce, h – oblast zvýšené (supraoptimální) koncentrace IAA v primární kůře, i – oblast, v níž je prodlužování buněk inhibováno.



*zpět do textu*

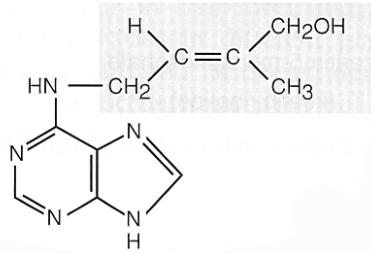
Auxin je z nadzemní části rostliny transportován vodivým pletivem stélé do kořene a dále do buněk kořenové čepičky, z nichž je transportován do primární kůry kořene, kde ovlivňuje prodlužování buněk růstové zóny. Je-li kořen ve vertikální poloze (A), je auxin z buněk kořenové čepičky transportován rovnoměrně. Je-li kořen ve vertikální poloze (B), statolity (amyloplasty se škrobovými zrny nebo organely) mění ve statocytech polohu. Tento signál ovlivňuje lokalizaci proteinů transportujících  $\text{IAA}^-$  do apoplastu v plazmalemě – v oblasti plazmalemy, k níž přiléhají statolity, se transport auxinu do apoplastu zvyšuje. Auxin je v čepičce distribuován nerovnoměrně a nerovnoměrně je transportován také do buněk primární kůry. Do primární kůry spodní strany kořene se transportuje více auxinu, než do strany horní. Zvýšená koncentrace auxinu na spodní straně se stává inhibiční a prodlužování buněk v této oblasti se snižuje – kořen se ohýbá směrem dolů.

Obr. 12-4. Jednoduché schéma regulace transkripce časných genů auxinem. L – ubikvitinová ligáza, ● ubikvitin. Další podrobnosti v textu.

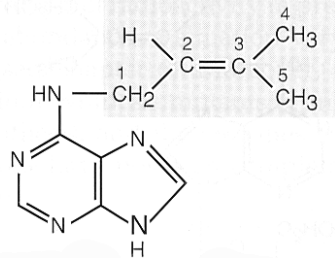


*zpět do textu*

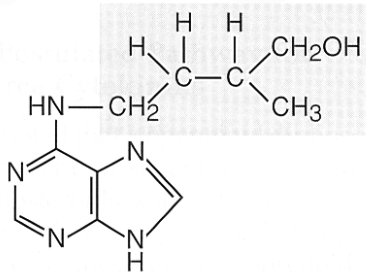
Obr. 12-5. Cytokininy.



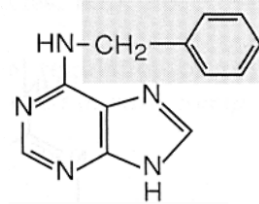
*trans*-zeatin



izopentenyladenin



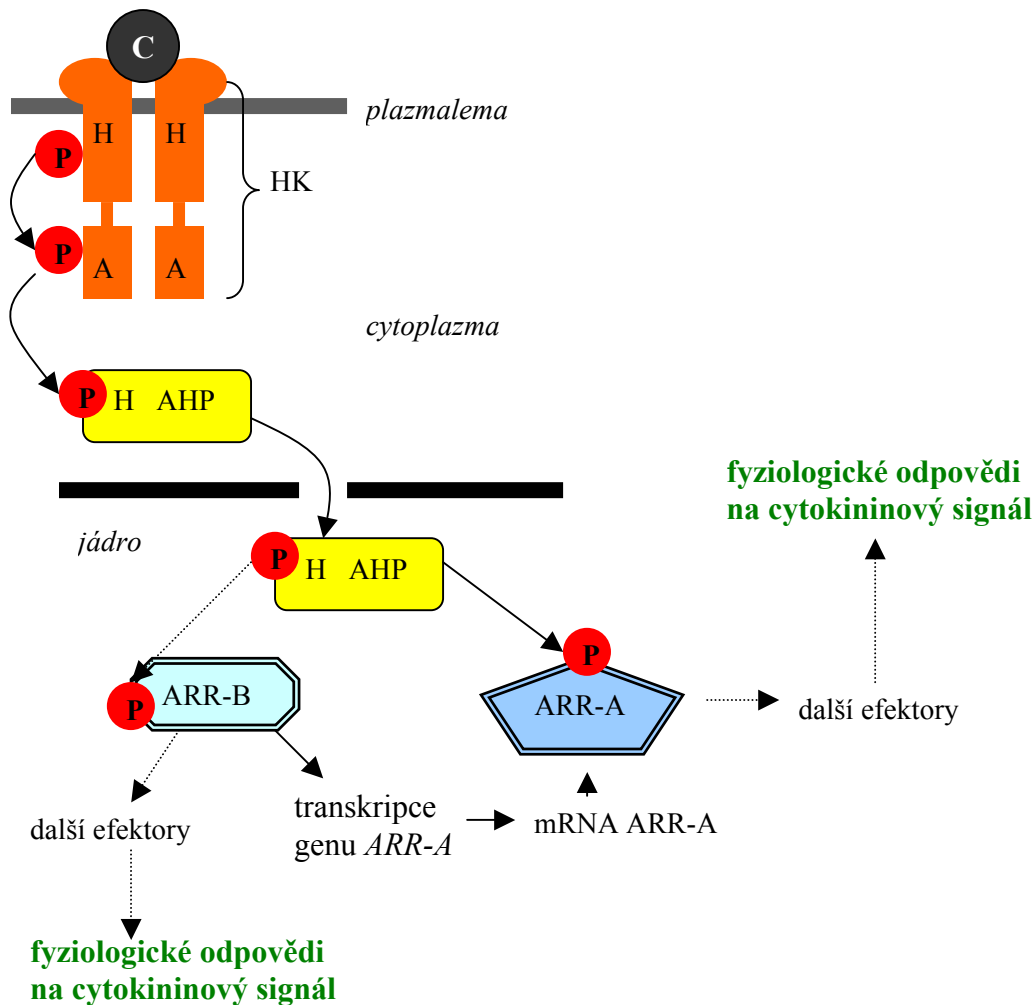
dihydrozeatin



benzylaminopurin

*zpět do textu*

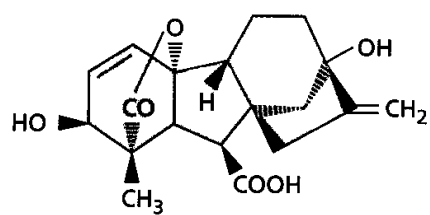
Obr. 12-6. Zjednodušené schéma přenosu signálu cytokininů.



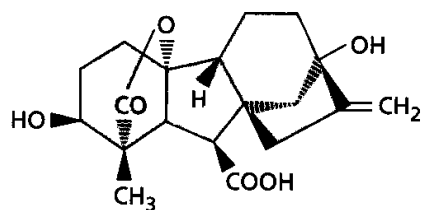
*zpět do textu*

Signál cytokininů (C) přijímá dvousložková histidinová kináza (HK), lokalizovaná v plazmatické membráně. Navázání cytokininu vyvolá fosforylaci histidinového zbytku (H) v cytoplazmatické části kinázy, z něhož je fosfát přenesen na zbytek aspartátu (A) v další doméně cytoplazmatické části kinázy. V této podobě je kináza schopna fosforylovat zbytek histidinu na mobilních složkách přenosu signálu, např. proteinu AHP. Ten ve fosforylovaném stavu vstupuje do jádra, kde fosforyluje další složky, např. proteiny ARR typu A, které přenášejí signál na další efekторы, zajišťující interpretaci signálu. Fosforylovaný protein AHP aktivuje (patrně fosforylací) také proteiny ARR typu B, které indukují (mimo jiné) transkripci genů kódujících proteiny ARR typu A.

Obr. 12-7. Gibereliny: kyselina giberelová (GA<sub>3</sub>) a giberelin A<sub>1</sub>.



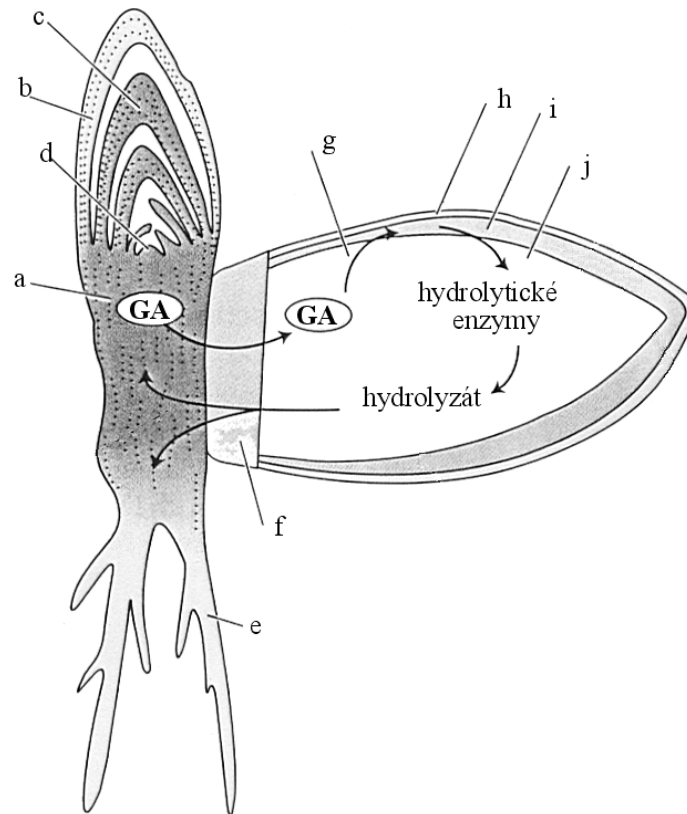
kyselina giberelová



giberelin A<sub>1</sub>

*zpět do textu*

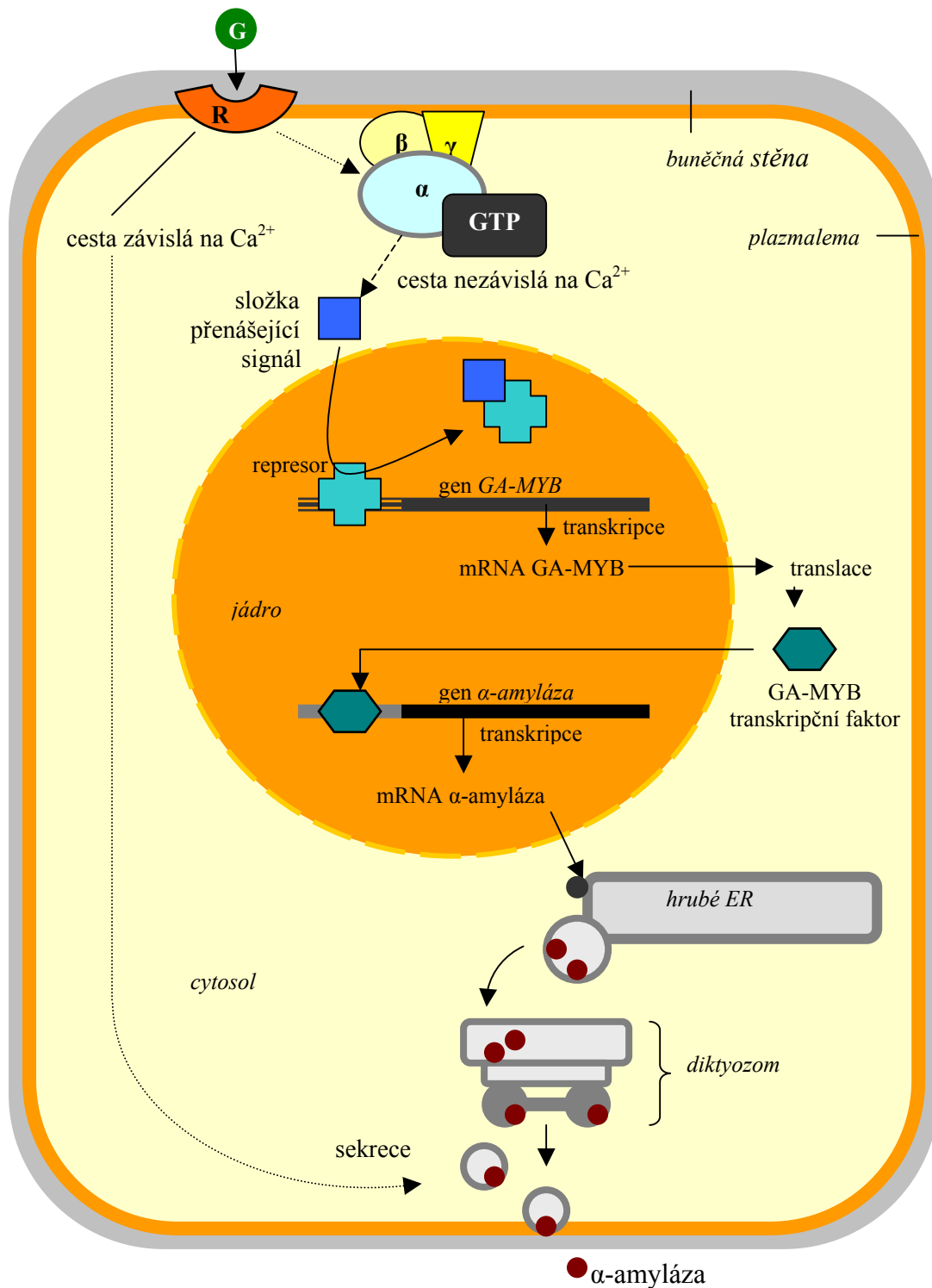
Obr. 12-8. Funkce giberelinů při mobilizaci zásobních látek v obilce. (Podle Taiz L., Zieger E.: Plant Physiology. – Sinauer Associates, Inc., Publishers, Sunderland, Massachusetts 2002. Upraveno.). a – embryo, b – koleoptile, c – první list, d – stonkový apikální meristém, e – kořeny, f – štítek (lat. *scutellum*), g – transport giberelinů do aleuronové vrstvy, h – osemení srostlé s oplodím (testa), i – aleuronová vrstva, j – endosperm.



*zpět do textu*

V embryu se tvoří gibereliny, které jsou transportovány do aleuronové vrstvy (živé buňky, které obklopují mumifikovaný endosperm). Gibereliny ( $GA_1$ ) v buňkách aleuronové vrstvy aktivují syntézu  $\alpha$ -amyláz a dalších hydroláz i jejich transport do endospermu. Látky vzniklé hydrolýzou jsou transportovány do embrya, kde slouží jako zdroj energie a dalších metabolitů nezbytných k růstu.

Obr. 12-9. Jednoduché schéma přenosu signálu giberelinů (G) v buňkách aleuronové vrstvy. Jedna cesta vede k odstranění represe genů kódujících faktory nezbytné pro transkripci genu pro  $\alpha$ -amylázu. Druhá cesta, v níž působí  $\text{Ca}^{2+}$  a kalmodulin, ovlivňuje sekreci  $\alpha$ -amylázy do endospermu. R – receptor (heterotrimerický G-protein).



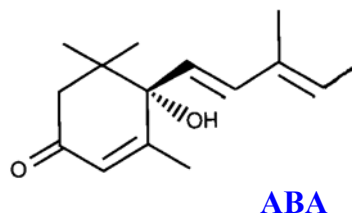
*zpět do textu na str. 9*

*do textu na str. 11*



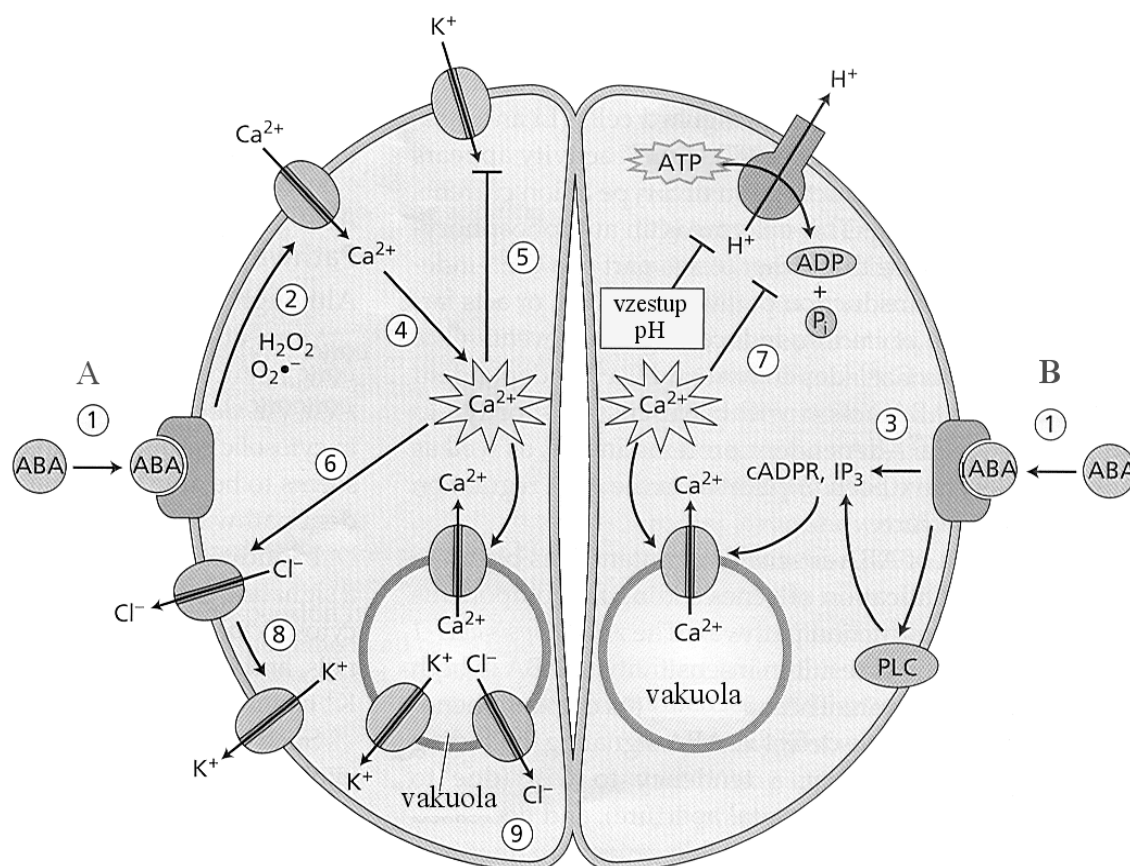


Obr.12-10. Kyselina abscisová.



*zpět do textu*

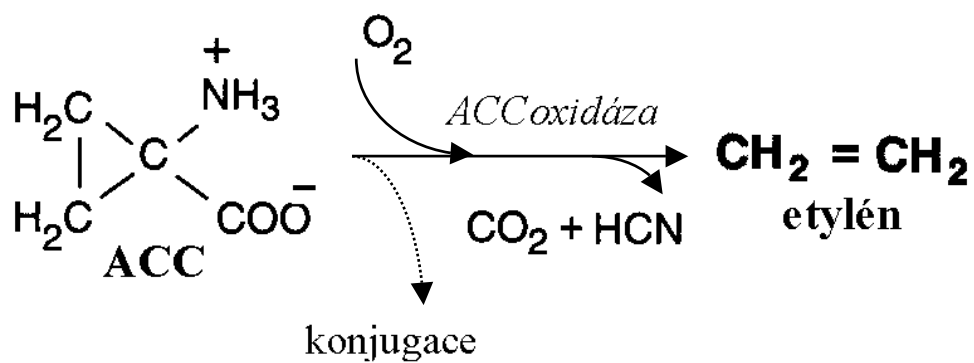
Obr. 12-11. Zjednodušené schéma signálních cest působení kyseliny abscisové (ABA) při zavírání průduchů. (Podle Taiz L., Zieger E.: Plant Physiology. – Sinauer Associates, Inc., Publishers, Sunderland, Massachusetts 2002. Upraveno.)



*zpět do textu*

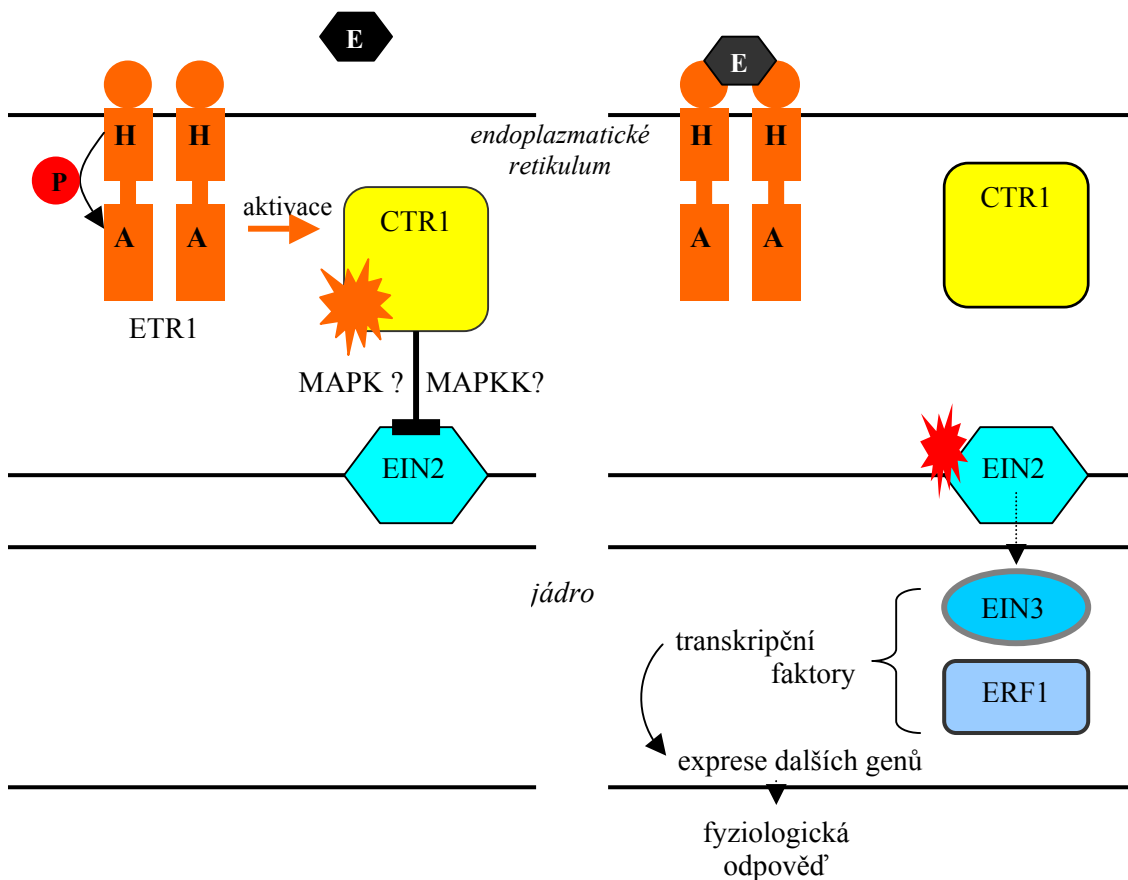
Obě cesty vedou ke zvýšení koncentrace  $\text{Ca}^{2+}$  v cytoplasmě. 1 – ABA se váže na receptor v plazmatické membráně. Vazba ABA na receptor vyvolá vznik  $\text{H}_2\text{O}_2$  a superoxidu - cesta **A**. Tyto složky přenosu signálu aktivují kanály pro vstup  $\text{Ca}^{2+}$  do cytosolu, které jsou lokalizované v plazmatické membráně (2). Vzestup  $\text{Ca}^{2+}$  v cytosolu aktivuje další kanály pro vstup  $\text{Ca}^{2+}$  do cytosolu, které jsou lokalizovány v tonoplastu (4). K aktivaci kanálů v tonoplastu, jimiž  $\text{Ca}^{2+}$  vstupuje do cytosolu, vede i druhá cesta **B**, jejímiž složkami jsou  $\text{IP}_3$  a cyklická ADP-ribóza (cADPR). Zvýšená hladina  $\text{Ca}^{2+}$  blokuje kanály pro vstup  $\text{K}^+$  do cytosolu (5) a stimuluje otevření kanálů pro výstup aniontů  $\text{Cl}^-$  (a malátu<sup>2+</sup> - neznačen) do apoplastu (6). Zvýšená hladina  $\text{Ca}^{2+}$  inhibuje také protonové pumpy ( $\text{H}^+$ -ATPázy; 7). Výsledkem těchto procesů je depolarizace plazmatické membrány, která aktivuje kanály pro výstup  $\text{K}^+$  do apoplastu (8). Ionty opouštějící protoplast se uvolňují ze zásob ve vakuole (9). Snížený obsah iontů vede ke ztrátě vody z protoplastu a zmenšení jeho objemu – průduch se zavírá. Vedle těchto cest, které využívají jako druhého posla  $\text{Ca}^{2+}$ , existují další signální cesty ABA, které mechanismus působení  $\text{Ca}^{2+}$  při zavírání průduchů nezahrnují.

Obr. 12-12. Vznik etylénu. Etylén vzniká oxidací kyseliny 1-aminocyklopropan-1-karboxylové (ACC), reakci katalyzuje enzym ACCoxidáza. ACC může být také konjugována (s glukózou). Vznik kyseliny ACC a její konjugace jsou, vedle aktivity ACCoxidázy, místa regulace hladiny etylénu.



*zpět do textu*

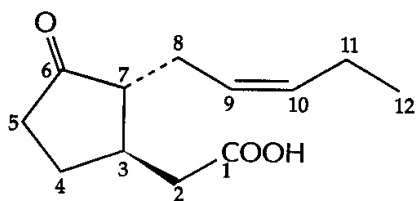
Obr. 12-13. Zjednodušené schéma signální cesty etylénu.



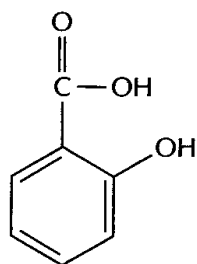
[zpět do textu](#)

Receptor etylénu ETR1 (dimer) má charakter dvoukomponentní histidinové kinázy a je vázán v membráně endoplazmatického retikula. Není-li na něj vázána molekula etylénu, receptor aktivuje cestu, která blokuje odpovědi na etylén. Na počátku cesty je kináza CTR1, dalšími složkami jsou patrně MAPKK. Blokovaná je aktivita složky EIN2 (transmembránový protein), která umožní aktivaci transkripčních faktorů EIN3 a ERF1 v jádru. Je-li na receptor vázána molekula etylénu, není kináza CTR1 aktivována a blokáda je odstraněna. Receptor pro etylén v buňce má několik izoforem, všechny složky signálních cest ani všechny mechanismy působení identifikovaných složek nejsou zatím známy.

Obr. 7-17. Kyselina jasmonová a kyselina salicylová.



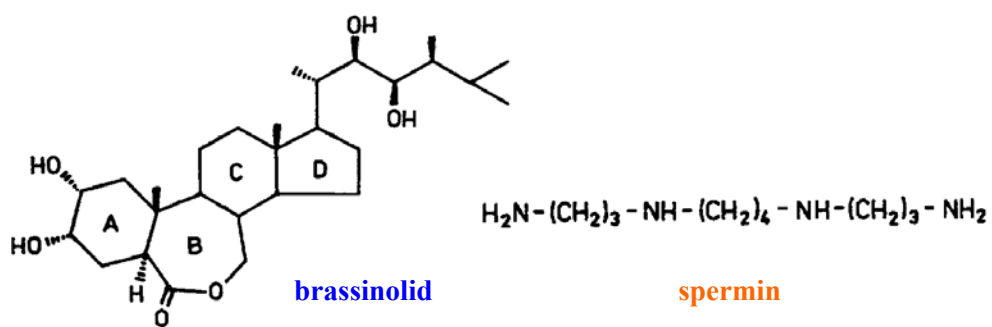
**kyselina jasmonová**



**kyselina salicylová**

*zpět do textu*

Obr. 12-14. Další látky fytohormonální povahy.



*zpět do textu na str. 12*

*do textu na str. 13*







