

Fyziologie rostlin

Učební text k přednášce Bi4060 na přírodovědecké fakultě MU v Brně.
Určeno pouze ke studijním účelům. Autor textu Jan Gloser.

3. ČÁST - RŮST A VÝVOJ

Obecné problémy růstu a vývoje

I velmi dokonalé znalosti fyzikálních a biochemických principů fyziologických procesů (transportních procesů, metabolismu) nejsou ještě dostatečné k tomu, abychom vysvětlili vznik dospělé rostliny z oplozeného vajíčka. Je sice pravda, že tvorba nových buněk je závislá na dostatku stavebního materiálu z biochemických procesů, ale pro život rostliny zdaleka nepostačuje jen hromadění nových buněk - je nutná i jejich tvarová a funkční specializace, a kromě výměn hmoty a energie i výměna informací. Jen tak mohou vznikat odlišná pletiva i celé orgány, které rostlina potřebuje ke svému životu. Ty základní informace jak budovat tělo rostliny jsou zapsány v genomu každé buňky, ovšem jejich realizace může být velmi modifikovaná celou řadou vnitřních i vnějších faktorů..

Růst rostlin je velmi široce používaný termín, obvykle označující postupné zvětšování hmotnosti, délky, objemu či počtu buněk, orgánů i celých rostlin. Kvalitativní změny, které provázejí růst zejména při specializaci buněk a pletiv na rozdílné funkce, nazýváme **diferenciace**. Společným působením obou těchto procesů dochází k postupným tvarovým změnám (**morfogenezi**), které provázejí rostlinu po celý její život, tedy v průběhu jejího ontogenetického vývoje. Zastřešujícím termínem **vývoj** pak označujeme celou posloupnost převážně kvalitativních změn, které ovšem jsou těsně spojeny se změnami kvantitativními.

Průběh růstových procesů u většiny rostlin není pevně určen, jak tomu bývá u živočichů. Přesto lze pozorovat jisté obecné znaky růstu rostlin. K nim patří např. zřetelná orientace nově tvořených struktur podle jisté osy (**axiální charakter růstu**) a opakování některých strukturních jednotek (**modulární charakter růstu**). Zvláště významnou úlohu hraje u rostlin **polarita** buněk i celých orgánů, projevující se nestejnými vlastnostmi protilehlých, zdánlivě stejných struktur. Na buněčné úrovni se jedná zejména o rozdílné funkční vlastnosti protilehlých částí plasmatické membrány, a cytoskeletu.

Růstové procesy můžeme studovat na různé úrovni- od buněčné až po úroveň populační. V následujících kapitolkách této části učebního textu se zaměříme hlavně na procesy spojené s **regulací růstu a vývoje** rostlin v průběhu ontogeneze, počínaje oplozením a tvorbou embrya, přes vegetativní fázi až k přechodu do fertilmního stádia a stárnutí. Seznámíme se s mechanismem působení hlavních vnitřních (hormonálních) regulátorů růstu a vývoje, i s modifikujícím vlivem faktorů vnějšího prostředí.

Růstové procesy na buněčné úrovni

Růst závisí v první řadě na zmnožení počtu buněk a na zvětšení jejich rozměrů do konečného stavu. Na rozdíl od živočichů probíhají tyto procesy jen v úzce vymezených zónách zvaných **meristémy**. Již v embryonálním stavu se vyčleňují dva typy primárních meristémů, jeden pro růst kořenů a druhý pro růst nadzemních částí (výhonku, prýtu). Tyto meristémy se udržují aktivní v apikálních částech kořene a výhonku prakticky po celý život rostliny. Kromě toho se u většiny rostlin dodatečně zakládají sekundární meristémy mimo apikální zóny (interkalárně, např. kambium). Meristemické buňky jsou poměrně malé, s velkým jádrem, s tenkou buněčnou stěnou a bez velké centrální vakuoly.

Dělení buněk (*cytokineze*) je prvním růstovým projevem. V dělicích se buňkách dochází k několika nápadným a pravidelně se opakujícím změnám, které označujeme jako fáze buněčného cyklu:

- a) **interfáze**, u které lze rozlišit tři časové etapy
G₁ - *presyntetická* (narůstá jádro i cytoplazma),
S - *syntetická* (dochází k replikaci DNA),
G₂ - *postsyntetická* (příprava na mitózu).

b) **mitóza**, která se tradičně člení se na čtyři úseky: *profáze, metafáze, anafáze, telofáze*. Na rozdělení jádra rychle navazuje tvorba střední lamely, a k ní přiléhající buněčné stěny. Materiál pro stavbu těchto součástí je transportován především ve váčcích z Golgiho komplexu. Orientace střední lamely určuje, zda k rozdělení buněk dojde ve směru kolmém k povrchu orgánu (*antiklinálně*) či ve směru rovnoběžném s nejbližším vnějším povrchem (*periklinálně*), což má pro výsledný tvar rostoucího orgánu zásadní význam. Neméně významné je i řízení růstu primární stěny (směr ukládání mikrofibril celulózy). Na něm závisí větší či menší roztažitelnost jednotlivých úseků buněčné stěny, a tedy i směr, ve kterém se buňka nejvíc prodlužuje. V obou případech jsou hlavními řídicími prvky uvedených syntéz mikrotubuly. Jakým systémem přenosu informací jsou však řízeny vlastní mikrotubuly, není dosud uspokojivě vysvětleno.

Po ukončeném dělení jedna ze dvou dceřinných buněk vstupuje do dalšího cyklu (celý cyklus trvá obvykle 8 - 24 hodin), zatímco druhá obvykle přechází do prodlužovací fáze a více už se nedělí. Někdy však dochází i u těchto buněk k další syntéze a k replikaci DNA, která však není provázena dělením. Tak vznikne místo běžné diploidní buňky buňka tetraploidní. Obvykle mívá i větší rozměry.

Prodlužovací fáze buněčného růstu následuje hned po dělení v blízkosti meristému. U nově vytvořených buněk dochází nejen k podstatnému zvětšení jejich objemu, ale také ke změnám vnitřní stavby (zmnožení organel, vznik centrální vakuoly).

Zvětšování objemu buňky je složitý biofyzikální proces, který je v poslední době intenzivně zkoumán. Ukazuje se totiž, že právě tato růstová fáze je mimořádně citlivá na různé vnější i vnitřní regulace. Dřívější teorie prodlužovacího růstu buněk vycházely z primární úlohy tvorby a včleňování nového stavebního materiálu do buněčné stěny. Příjem vody byl chápán jen jako průvodní jev - zaplňování nových prostor. Podle našich současných znalostí právě příjem vody a vzniklý turgorový tlak má naprosto nezastupitelnou aktivní úlohu při růstu buněk - bez násilného rozpínání buněčné stěny není její zvětšování možné.

Fyzikální mechanismy prodlužovacího růstu buněk mají dva řídicí komplexy:

- řízení velikosti turgorového tlaku,
- řízení roztažnosti buněčné stěny.

Velikost turgorového tlaku závisí v první řadě na osmotickém tlaku buňky, a tudíž i na funkci transportních proteinů v plazmatické membráně, které řídí vstup osmoticky aktivních látek do buňky. Je dobré si uvědomit, že při poklesu turgorového tlaku (v důsledku růstu buněčné stěny) dojde i k poklesu vodního potenciálu v buňce. To má za následek zrychlený příjem vody do buňky, spojený se zvýšením turgoru. K udržování turgoru na původní výši je však nutné udržovat i původní hodnotu osmotického tlaku dalším příjmem osmoticky aktivních látek (hlavně iontů solí).

Experimentálně bylo dokázáno, že k dlouhivému růstu buňky dochází až po dosažení jisté prahové hodnoty turgorového tlaku (p_0). Při dalším zvyšování turgoru (p) se úměrně zvyšuje i rychlost růstu (r):

$$r = x (p - p_0)$$

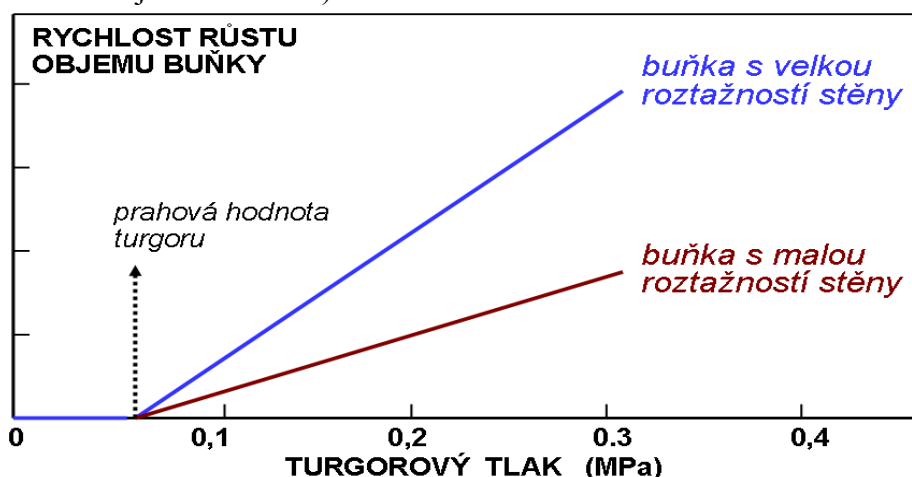
kde koeficient x vyjadřuje roztažnost (extenzibilitu) buněčné stěny. Relativní rychlost růstu (r) je zde chápána jako rychlost zvětšování objemu buňky.

Roztažnost buněčné stěny závisí nejen na orientaci a zřasení mikrofibril celulózy a na četnosti vodíkových můstků mezi nimi, ale i na zastoupení dalších výplňových složek (pektiny, xyloglukany, extensin atd.). Je také známo, že hodnotu roztažitelnosti může rostlina v jistých mezích rychle měnit účinkem specifických látek - fytohormonů (především působením auxinů a giberelinů, jak bude blíže uvedeno v dalších kapitolách.

Dosud nejsou známy všechny mechanismy řídicí dlouhivý růst buněk. Ovšem již z toho co víme, lze odvodit, že tento *růst se nutně musí zpomalit až zastavit*:

- *při poklesu turgoru* pod prahovou úroveň, což může být způsobeno jak nedostatečným zásobením rostliny vodou (špatnou dostupností vody v půdě či velkým výparem), tak i malým obsahem osmoticky aktivních látek v buňkách (neboť ty vznik turgorového tlaku osmotickým příjmem vody podmiňují).
- *při snížené roztažnosti* buněčné stěny, např. vratným působením zpevňujících bílkovin typu extensinů, či kondenzací fenolických látek typu ligninu (což už je proces nevratný).

Je velmi pravděpodobné, že rostliny mohou také regulovat hodnotu prahové úrovně turgoru (nejspíš pomocí látek hormonálního charakteru), což může ve svých důsledcích vést k rozdílu v citlivosti k nedostatku vody (tedy při jak velké ztrátě vody a tudíž i snížení turgorového tlaku se již zastaví růst).



Grafické znázornění závislosti rychlosti prodlužovacího růstu buňky na hodnotě turgorového tlaku a na roztažnosti buněčné stěny.

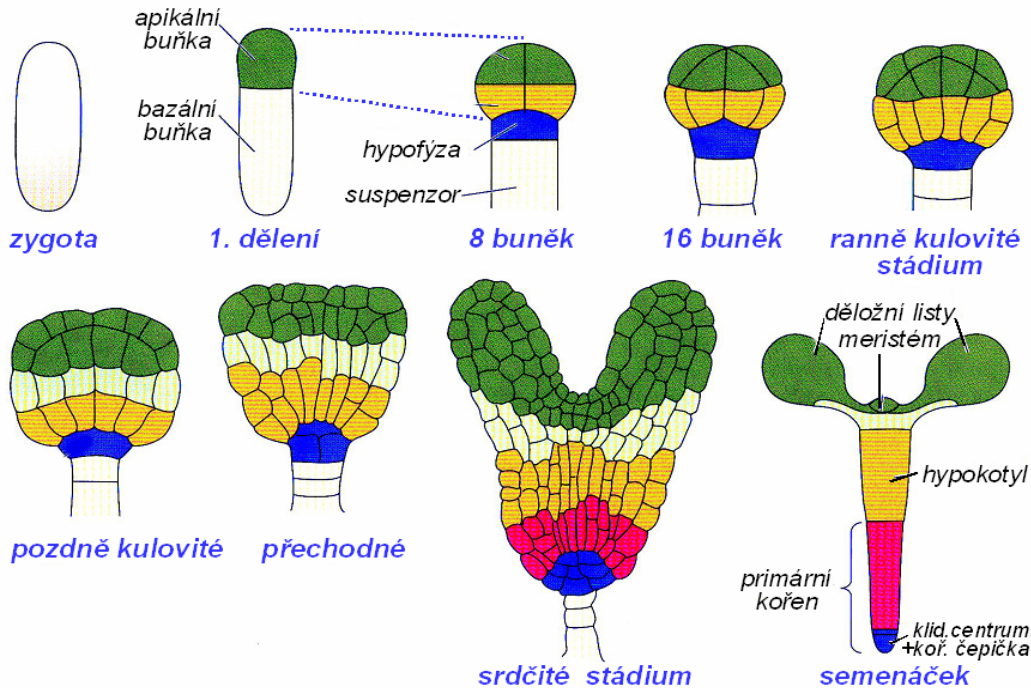
Růst a diference embrya

Vznik nového jedince pohlavní cestou u rostlin, stejně jako u živočichů, začíná splynutím haploidních jader samičí (vaječné) a samčí (spermatické) pohlavní buňky, ale jisté specifické odlišnosti přece jen existují. Vaječná buňka je uložena u krytosemenných rostlin ve zvláštní struktuře označované jako zárodečný vak, ve které jsou uzavřeny ještě dvě další haploidní jádra. Oplození se účastní současně dvě samčí buňky. Splynutí jádra jedné z nich s jádrem vaječné buňky dává vznik diploidní zygotě a z ní pak následně embryu. Splynutím jádra druhé samčí buňky se dvěma jádry zárodečného vaku vede k tvorbě triploidního zásobního pletiva – endospermu. Endosperm sice roste v další fázi mnohem rychleji než embryu, ovšem růst embrya je nejen podstatně důležitější, ale i složitější.

Strukturní (anatomické) změny při růstu embrya, znázorněné na následujícím obrázku, jsou již známy dosti dlouho. První příčné dělení protáhlé zygoty je asymetrické, přičemž menší dceřiná buňka (označovaná jako apikální) vzniká z metabolicky aktivnější části zygoty vyplněné hustou cytoplazmou, zatím co větší (bazální) dceřinná buňka vzniká z protilehlé části, ve které se nalézá velká vakuola.

Apikální buňka z prvního dělení zygoty během asi 30 hodin po oplodnění dává vznik kulovitému útvaru složenému z osmi buněk (*oktant*). Ten je však už zřetelně rozlišen na dvě

vrstvy po čtyřech buňkách, jejichž osudy jsou v dalším vývoji zcela odlišné. Z horní vrstvy buněk se postupně diferencuje apikální meristém a základy děložních lístků, zatímco ze spodní vrstvy hypokotyl a větší část primárního kořene včetně meristému nad klidovým centrem. Z příčného dělení bazální buňky se vytváří sloupeček suspensoru, napojující embryo k zárodečnému vaku, ovšem nejvrchnější buňka této struktury (*hypofýza*) se vyvíjí zcela odlišně a v plně diferencovaném embryu jsou z ní vytvořeny základy meristému kořenové čepičky a přiléhajícího klidového centra. Ve finální fázi vývoje embrya dochází k dalšímu prodloužení základu děložních lístků (stádium označované jako *torpédo*), následuje řízená ztráta vnitrobuněčné vody a společně s dehydratovaným endospermem vstup do dormantního stavu ve zralém semenu.



Vývojová stádia při růstu embrya modelové rostliny *Arabidopsis thaliana*. Barevně je odlišena lokalizace skupin buněk shodného původu při postupné diferenciaci embrya a mladé rostliny.

Růst a diferenciacie embrya je i v současné době předmětem intenzivního výzkumu, ovšem již nikoli observačně anatomického. Hlavní pozornost je nyní orientovaná k poznání *regulačních mechanismů*, které řídí diferenciaci jednotlivých skupin buněk v rostoucím embryu. Intenzivní výzkum se provádí na modelových rostlinách (hlavně *Arabidopsis thaliana*) pomocí nejmodernějších molekulárních metod, neboť detailní znalost mechanismů řídicích růst a vývoj embrya může mít klíčový význam pro pochopení regulačních procesů, které se obdobným způsobem mohou odehrávat v průběhu dalších, postembryonálních vývojových stádií rostliny v orgánech s růstovou aktivitou. Není nutno zdůrazňovat, že poznatky v tomto směru by mohly mít značné praktické využití při záměrném řízení růstu užitkových rostlin. Dosud získané výsledky nejsou ještě zdaleka uspokojivé, ale přesto již mohou sloužit jako názorný příklad dokumentující složitost celé problematiky.

Z obecných znaků (předpokladů), které se uplatňují při regulaci růstu a diferenciaci nově vznikajících buněčných populací, můžeme uvést alespoň ty hlavní:

- **polarita buněk**, která je vytvořena již u zygoty před začátkem prvního dělení. I pouhým pozorováním lze zjistit, že protilehlé části zygoty mají odlišnou strukturu buněčného obsahu (hustota cytoplazmy, rozmístění organel), ale rozdíly jsou nepochybně i funkční. Polarita je přenášena při dalších děleních i do všech nových buněk.

- **poloha buněk** v prostorových souřadnicích. Buňky mají schopnost vnímat informace o

svém prostorovém umístění v rámci vznikajícího mnohobuněčného útvaru a na základě této informace upravovat svoje další chování. Celý mechanismus podmiňující tento typ reakcí je ale dosud znám velmi nedostatečně.

- **účast fytohormonů**, zejména typu auxinů a cytokininů. Ty jsou složitě řízeným způsobem transportovány rostoucím konglomerátem buněk a podílí se na mezibuněčné koordinaci časově a prostorově oddělené aktivace genů.

- **zpětnovazební mechanismy** jsou neobyčejně časté a silné. Je již známo velké množství genů, které se střídavě aktivují či inhibují v závislosti na osudech svých vlastních „produktů“, často přes kaskádu složitých interakcí. Zvláště komplikované vazby bývají mezi skupinami transkripčních faktorů, kdy aktivace jedné z nich může vyvolat represi jiné.

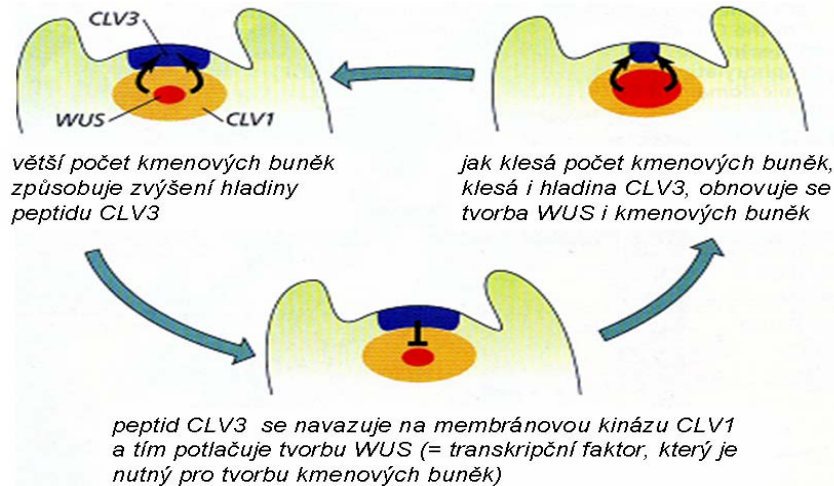


Schéma jednoho z autoregulačních mechanismů při růstu embrya, který v tomto případě slouží k udržování optimálního počtu kmenových buněk v apikálním meristému prýtu. Uvedenými zkratkami bývají pro zjednodušení označovány geny i proteiny které jsou jimi kódovány.

Klíčový význam pro správný vývoj embrya a následný růst mladé rostliny má formování dvou meristemických center, což je proces řízený početnou skupinou genů aktivovaných v jisté časové posloupnosti, která koreluje se změnami koncentrace fytohormonu auxinu. Nově vznikající buňky, odvozené od centrální skupinky buněk kmenových, se velmi brzo oddělují do funkčně rozdílných zón, které jsou pak základem pro tvorbu odlišných pletiv. Zvláště nápadné jsou rozdíly mezi periferní zónou převážně antiklinálně se množících buněk (*protoderm*), jakožto základu pro tvorbu epidermis, a střední zónou, ze které se později diferencuje bazální meristéum produkující buňky pro stavbu kůry a cévních svazků vnitřní části stonku či kořene. Mezi jednotlivými zónami, i přes jejich rozdílnost (strukturní, funkční i co do předurčenosti další diferenciaci) existují velmi těsné regulační vazby zajišťující optimální proporcionalitu jejich dalšího rozvoje.

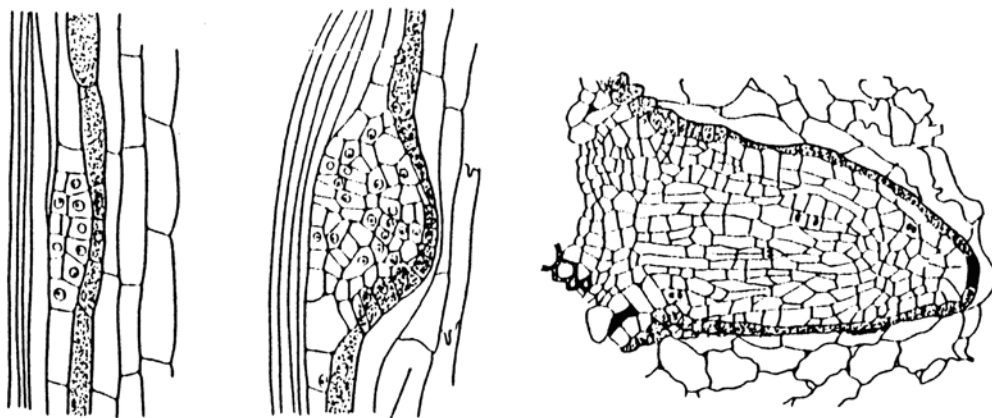
Diferenciace a růst jednotlivých orgánů mladé rostliny

Embryo uzavřené v zaschlém stavu v semeni může obnovit svůj další růstu až po ovlhčení a dostatečné rehydrataci buněk. Avšak ani pak ještě nemusí dojít ke klíčení, pokud zůstal zachován velký obsah inhibičních látek, zajišťujících vstup embrya do dormance (zejména kyselina abscisová). U některých druhů je navíc klíčení podmíněno přítomností látek stimulující povahy typu fytohormonů a fytochromů, (budou probírány v dalších kapitolách). Při klíčení semen jsou jako jedny z prvních obnoveny respirační procesy a funkčnost proteosyntetického aparátu, následuje spuštění tvorby hydrolytických enzymů pro rozklad rezervních látek v endospermu, a plně se aktivuje činnost obou apikálních meristémů (pro primární kořen a stonek). Navazující diferenační procesy vedou k rychlé tvorbě všech pletiv a orgánů juvenilní rostliny.

Kořeny jsou orgánem s poměrně jednoduchou a jednotnou stavbou. Obvykle při jejich růstu rozlišujeme čtyři strukturně i funkčně rozdílné zóny, jejichž hranice však nemusejí být zcela ostré:

- *Kořenová čepička* chrání apikální meristém před poškozením, usnadňuje průnik kořene půdou vylučováním slizovitých látek (mukopolysacharidů), a podílí se i na řízení růstových procesů v jiných částech kořene (např. gravitropické reakce). Buňky kořenové čepičky se tvoří z vlastního meristému, postupně se dostávají až na okraj, kde se odlupují.
- *Meristemická zóna* je uložena nad kořenovou čepičkou. Produkuje řetězce buněk z nichž se v další fázi vytváří pouze válcový primární kořen, bez jakýchkoli postranních struktur. Na rozhraní mezi touto meristemickou zónou a meristémem kořenové čepičky bývá skupinka několika kmenových buněk s velmi malou dělivou aktivitou (*klidové centrum*).
- *Prodlužovací zóna* má již velmi omezenou dělivou aktivitu, zato v ní dochází k velmi podstatnému zvětšení objemu všech buněk produkovaných meristémem. Dochází zde již také k částečné diferenciaci pletiv, především vodivých elementů.
- *Zóna dokončování diferenciaci*, ve které dostávají jednotlivá pletiva svoji konečnou podobu. Velmi dramatická je zejména diferenciaci plně funkčních vodivých pletiv, která je spojena s částečnou degradací vnitřního obsahu buněk předurčených k přeměně na vodivé elementy lýka (články sítkovic), či dokonce k jejich úplnému odumření („programovanou smrtí“, tedy sebezničením) v případě elementů xylému (cév a cévic). Vytváří se také vrstva buněk endodermis, která je pro správnou funkci kořene nepostradatelná.

Základy bočních kořenů se vytvářejí až ve zcela diferencovaných částech kořene a nejsou tudíž nijak závislé na činnosti apikálního meristému. Jejich tvorba začíná obnovením dělivé aktivity skupinky buněk v pericyklu, iniciované stimulačním působením lokálně zvýšené koncentrace fytohormonů (především auxinů a cytokininů). Spouštěcí signály vedoucí k tvorbě bočních kořenů nemusejí vycházet jen z vnitřního programu či „potřeb“ rostliny, ale mohou vznikat pod vlivem faktorů vnějšího prostředí, např. za jisté koncentrace živin v okolí kořene. Růst bočního kořene je provázen velmi rychlým vznikem apikálního meristému a kořenové čepičky, jejichž funkce jsou zcela stejné jak u kořene primárního. Jediným rozdílem bývá obvykle menší gravitropická reakce či její úplná ztráta. Tloušťnutí kořenů je zajištěno u nahosemenných a u většiny dvouděložných činností sekundárního meristému (kambia), který se zakládá mezi lýkem a dřevem. U jednoděložných se obvykle kambiální kruh nezakládá a k tloušťnutí dochází pouze zvětšováním buněk a tvorbou nových cévních svazků.



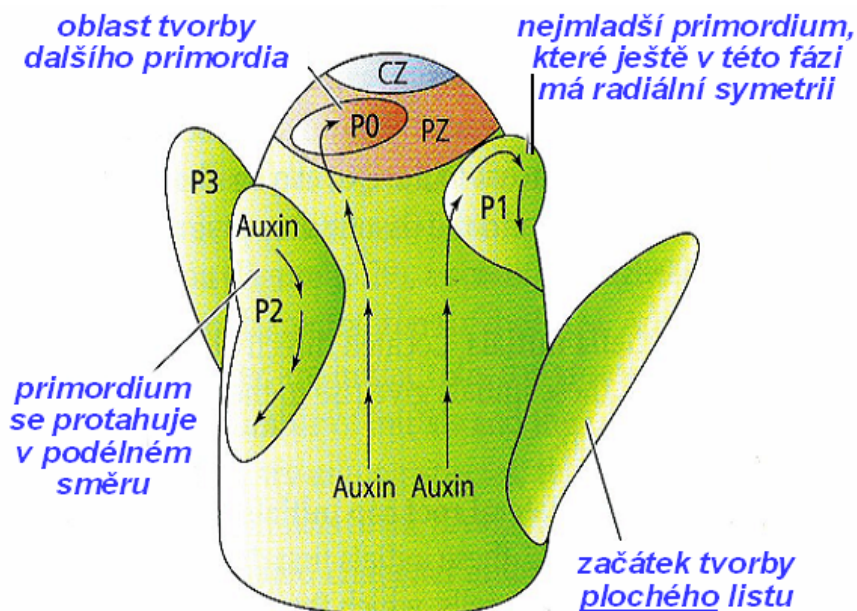
Počáteční fáze zakládání bočního kořene v pericyklu

Prýt (= souhrnné označení pro všechny mimokořenové, tedy obvykle nadzemní části rostliny, odpovídá anglickému termínu *shoot*) má také své základy již vytvořené v embryu, ve formě jednoduchého apikálního meristému, ovšem velmi brzy se musí u mladého semenáčku vytvářet útvar podstatně složitější. Apikální meristém totiž musí být schopen zajišťovat nejen růst a větvení stonku, ale i zakládání dalších meristémů pro růst listů a květů.

Uspořádání vrstev dělivých buněk v apikální části prýtu je nejen značně odlišné od kořenové špičky, ale také specifické pro různé druhy či celé vyšší taxonomické okruhy rostlin.

V typickém případě lze rozlišit na apikálním meristému vnější jedno- až třířadovou vrstvu buněk, dělicích se antiklinálně (buňky pláště čili *tuniky*), a vnitřní buňky (*korpus*) dělicí se periklinálně až neuspořádaně. Dělivé buňky lze nalézt mnohem dále od špičky vzrostného vrcholu, než jak tomu bývá u kořenů. K tvorbě základů listů (*listových primordií*) však přesto dochází v těsné blízkosti vegetačního vrcholu. Jedná se proces mimořádně složitý z hlediska řízení, a současně mimořádně důležitý z hlediska budoucí stavby celé nadzemní části rostliny. Již v této velmi rané fázi se často rozhoduje nejen o celkovém počtu listů, ale i o časových intervalech mezi jejich tvorbou, o typu fylotaxe a také ovšem o způsobu a frekvenci větvení stonku.

Listy se rozvíjejí z listových základů (*primordií*) pomocí několika dalších specifických meristémů. V prvních fázích růstu má největší dělivou aktivitu vrstva buněk na vnějším konci primordia, později i na okrajích (*marginální meristém* zajišťující růst do šířky), a někdy i v bazální části (*interkalární meristém*, zvláště aktivní u listů trav). Složité tvary listových čepelí u některých druhů rostlin jsou vytvářeny nestejnou aktivitou jednotlivých úseků marginálního meristému. Složitost tvorby listů ale vyplývá také z toho, že je nutno regulovat průběh růstových procesů ve třech na sebe kolmých osách, určujících délku, šířku a tloušťku listu.



Zakládání a růst listových primordií s vyznačenými toky fytohormonu auxinu

Meristémy listů jsou udržovány v aktivním stavu někdy velmi dlouho (např. u trav je schopen i zcela dospělý list obnovit růst za jistých podmínek). U listů většiny dvouděložných rostlin však dělivý růst trvá poměrně krátce a nelze jej znovu aktivovat. U těchto listů je dělení buněk ukončeno již při dosažení jedné pětiny až poloviny konečné plochy listu - pak již dochází jen ke zvětšování objemu buněk. V této dlouhivé fázi růstu jsou však jisté rozdíly - buňky mezofylu zastavují růst dříve než epidermální, a proto při dalším zvětšování plochy (již jen růstem epidermis) dochází ke vzniku rozsáhlých intercelulár v mezofylu.

Vytrvalé rostliny se sezónní periodicitou růstu (např. naše stromy) zakládají listová primordia pro jarní období růstu již při tvorbě pupenů v předcházejícím roce. Také v semenech některých druhů rostlin lze nalézt ještě před vyklíčením na embryu kromě základů listů děložních i primordia několika dalších (pravých) listů.

Vnitřní chemické regulátory růstu

Základní informace pro řízení růstu, diferenciaci a hrubý „stavební plán“ morfogeneze jsou sice kódovány v DNA každé rostlinné buňky, ovšem tyto informace samy o sobě nestačí pro zajištění optimálního průběhu uvedených procesů. Buňky musí neustále monitorovat stav vnějšího prostředí a také komunikovat navzájem. Podněty z těchto zdrojů významným způsobem ovlivňují expresi genetické informace.

Koordinace růstových procesů v rostlinách není také možná jen na úrovni jednoho orgánu - je nutná souhra činnosti souborů buněk (pletiv) i velmi vzdálených, tedy i například mezi kořeny a nadzemními částmi. Přenos morfogenetických signálů se děje převážně pomocí chemických sloučenin transportovaných lýkem i xylémem, na kratší vzdálenosti pak různými mezibuněčnými cestami (plasmodesmaty, nebo buněčnou stěnou a membránovými transportními proteiny). Jedná se většinou o sloučeniny poměrně jednoduché chemické struktury, ovšem jejich konečný dopad na morfogenezi rostlinného organismu je zcela srovnatelný s působením hormonů u živočichů. Proto se také označují jako rostlinné hormony (*fytohormony*).

Fytohormon je definován jako *organická sloučenina, která po syntéze v jedné části rostliny je transportována do jiné její části, kde ve velmi malé koncentraci způsobuje fyziologickou reakci*. K fytohormonům tedy nepočítáme anorganické ionty přijímané z vnějšího prostředí, ani organické metabolity produkované rostlinou ve velkých kvantech (sacharidy, aminokyseliny), i když mohou významně růst ovlivňovat. Nezahrnujeme k nim ani uměle vyrobené sloučeniny s regulačním účinkem na růst.

V současné době máme nejvíce poznatků o fytohormonech označovaných jako **auxiny**, **gibereliny** a **cytokininy**, **brassinosteroidy** a **strigolaktony** která vytvářejí často velmi početné skupiny sloučenin s podobnou chemickou strukturou i s podobnou funkcí v rostlinách. K velmi významným a rozšířeným fytohormonům patří i samostatně stojící sloučeniny: **etylén**, **kyselina abscisová** a **kyselina jasmonová**, z nichž každá má odlišné, zcela specifické působení. Uvedené *základní fytohormony* hrají nezastupitelnou regulační úlohu u naprosté většiny rostlin. Kromě nich je známa ještě řada dalších sloučenin, které vyhovují definici fytohormonu (např. *polyaminy*, a celá řada *fenolických látek*). O jejich funkci máme dosud méně poznatků, avšak přesto jejich významnost je zcela nepochybná. Výskyt těchto látek bývá však někdy omezen jen na některé taxonomické skupiny rostlin.

Na rozdíl od živočišných hormonů neprobíhá tvorba fytohormonů u rostlin v úzce vymezených částech jejich těla, které by plnily podobnou funkci jako žlázy s vnitřní sekrecí u živočichů. Potenciální schopnost tvořit fytohormony má velmi často většina buněk celé rostliny, i když v nestejně míře, a ne vždy musí být tato schopnost aktivována. Také účinky (oblasti působení) fytohormonů jsou mnohem méně specifické ve srovnání s živočišnými hormony. Každý fytohormon může působit na buňky v různých orgánech a výsledek tohoto působení vůbec nemusí být podobný. Je totiž často závislý na vývojovém stavu příslušného orgánu i na interakcích jak s dalšími fytohormony, tak i s mnoha dalšími vnitřními i vnějšími faktory, zejména se světelným a teplotním režimem.

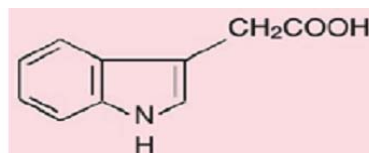
Velmi různorodý je i *mechanismus působení*. I pro tentýž typ fytohormonu může existovat více typů specifických receptorů (membránových i volně pohyblivých v cytosolu), více možných cest přenosu signálu od receptorů, a konečně i více regulovaných vnitrobuněčných struktur. Mohou jimi být metabolicky významné či transportní proteiny, ale nejčastěji se jedná o *ovlivňování exprese genů v jádře*, jak bude v dalším textu pro každou skupinu fytohormonů blíže popsáno. Zejména jde o působení na úrovni přepisu (transkripce) a úpravy (*processing*) mRNA. Tyto články aktivace genetické informace jsou totiž ovlivňovány převážně proteiny (transkripčními faktory, enzymy), a není proto obtížné si představit možné působení fytohormonu na příslušný regulační protein.

Auxiny

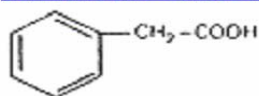
Ze všech rostlinných hormonů byly jako první objeveny auxiny. Po dlouhá léta byla známa jen jedna látka tohoto typu, a sice **kyselina indolyl-3-octová** (angl. *Indole-3-Acetic Acid*, zkráceně **IAA**). Dnes víme, že se v rostlinách vyskytují ještě nejméně tři další organické kyseliny s podobným účinkem:

- kyselina 4-chlor-indolyl-3-octová,
- kyselina -indolyl-3-máselná,
- kyselina fenyloctová.

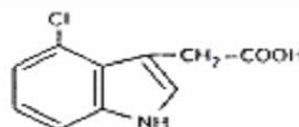
**kyselina indolyl-3-octová:
(IAA)**



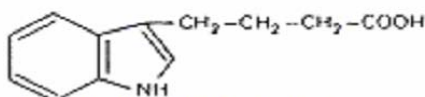
další, méně časté auxiny:



kyselina fenyloctová



kyselina 4-chlor-indolyl-3-octová



kyselina indolyl-3-máselná

Kromě toho můžeme v rostlinách najít další tři velmi podobné sloučeniny, které však považujeme pouze za prekurzory auxinů (*indolylacetaldehyd*, *indolylacetonitril* a *indolyl-etanol*). Velmi snadno se oxidují na IAA. Známe však i několik uměle připravených látek s účinkem charakteristickým pro auxiny - jde o aromatické sloučeniny s karboxylovou skupinou, což jsou zřejmě dva nezbytné předpoklady pro ovlivnění příslušných receptorů v rostlině (např. kyselina α -naftyloctová, NAA). Ze všech jmenovaných auxinů a jejich prekurzorů máme daleko nejvíc poznatků o tvorbě, transportu a degradaci kyseliny indolyl-3-octové (IAA). Její obsah a tím i význam v rostlinách zcela převažuje nad ostatními látkami typu auxinů. Proto také když hovoříme o *auxinu* (v jednotném čísle), máme na mysli IAA.

Syntéza IAA je možná několika cestami, většina z nich však vychází z aminokyseliny *tryptofanu*. Enzymy, které se na této syntéze podílejí, jsou nejvíce aktivní v mladých rostoucích částech rostlin. Apikální meristémy v nadzemních částech a mladé listy jsou tedy hlavními místy syntézy IAA. Odbourávání (degradace) IAA začíná obvykle ztrátou karboxylové skupiny. Kromě řízení rychlosti syntézy a degradace IAA může rostlina kontrolovat její koncentraci pomocí dočasné inaktivace kovalentní vazbou na některé organické látky, zejména na cukry a aminokyseliny. Z těchto *konjugátů* se pak IAA snadno uvolňuje pomocí hydrolytických enzymů. Vázaná IAA má velký význam jako zásobní forma- může být ukládána i v semenech a rychle aktivována při klíčení.

Transport IAA v rostlině má několik zvláštností. Na rozdíl od většiny ostatních metabolitů, jen zřídka bývá nalézána v lýku či v xylému. Nejčastěji je vedena parenchymatickými buňkami v blízkosti cévních svazků. Tento transport je poměrně pomalý (jen asi 10 mm za hodinu) a vyžaduje metabolickou energii. Plazmatické membrány překonává pomocí selektivních transportních proteinů několika typů. Pro vstup do buňky (*influx*), slouží hlavně symport (+2H⁺) selektivními přenašeči označovanými zkratkou AUX1. Za nízké hodnoty pH v buněčné stěně (pod 5,5) je možný i pasivní transport nedisociovaných (a tudíž elektricky neutrálních) molekul IAA z apoplastu do cytosolu. Za vyššího pH, které pravidelně bývá uvnitř buněk (v cytosolu, zhruba 7 až 7,5) jsou molekuly IAA disociované a jejich zpětný transport (výstup, *efflux*) už bývá pravidelně pasivní- celou rodinou aniontových

přenašečů typu PIN, protože pro pasivní transport anionů ven z buňky je obvykle příznivý spád elektrochemického potenciálu. Avšak i efflux může být v případě potřeby paralelně prováděn pomocí primárně aktivních (ATP-využívajících) přenašečů typu PGP.

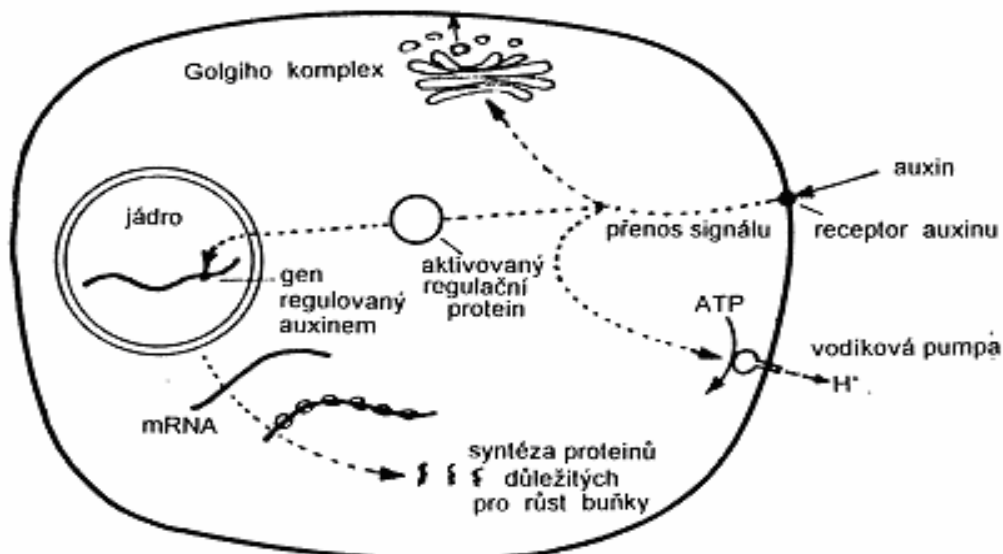
Další zvláštností je výrazně *polární charakter transportu IAA* - v nadzemních částech se pohybuje vždy od růstového vrcholu a od mladých listů směrem dolů, ke kořenům (*bazipetálně*), ale není přitom závislý na působení gravitace (probíhá stejným způsobem i u stonku umístěného do vodorovné polohy). Bazipetální směr transportu je totiž určován nestejným umístěním (lokalizací) zmíněných transportních proteinů v plazmatické membráně. Přenašeče pro vstup (AUX) nacházíme jen v „horní“ části buňky (tedy směrem k vegetačnímu vrcholu), zatímco v její „spodní“ části jsou přenašeče pro výstup (PIN). Rychlost transportu auxinů může být významně ovlivňována působením některých specifických metabolitů, zejména ze skupiny flavonoidů.

Působení auxinů na procesy v rostlinách je mnohostranné. Na některé z účinků auxinu jsme již narazili v předcházející kapitole věnované embryogenezi a *regulaci procesů v meristémech* (včetně zakládání primordií listů, postranních pupenů, atd.). Lze jen dodat, že i *diferenciace vodivých pletiv* (cévních svazků) probíhá správným způsobem jen za působení jisté koncentrace auxinů. Nejznámější oblastí působení auxinů je ovšem je *stimulace dlouhého růstu buněk*, částečně i rychlosti dělení, a to často již v koncentraci 10^{-8} M. Stejně tak dobře prozkoumaný je kladný vliv zvýšené koncentrace auxinů na *růst kořenů*, zvláště na četnost větvení a na tvorbu adventivních kořenů. Tato vlastnost má široké praktické využití při *zakořeňování řízků* rostlin (nejúčinnější bývá kyselina indolyl-3-máselná). Vliv auxinů na buněčné aktivity se v přírodních podmínkách uplatňuje i při poranění, kdy stimulují tvorbu ochranné vrstvy z korkovatelých buněk zacelujících ránu, a v případě potřeby i obnovu poškozeného xylému. Účinek auxinů na obnovení dělivé aktivity se ale projevuje pouze za přítomnosti dalších fytohormonů ze skupiny cytokininů. Auxiny mohou také ovlivňovat tvorbu některých dalších fytohormonů, např. tvorbu etylénu, který má převážně inhibiční účinky, ale naopak i tvorbu giberelinů, které mají stimulační účinky na růst. Působení auxinů může tak být někdy nepřímé, zprostředkované jinými fytohormony, s nimiž jsou v interakci.

Auxiny jsou nezbytné pro řízení pochodů, kterými rostlina reaguje na jednostranné působení prostředí (*gravitropismus, fototropismus*). Ty budou podrobněji probrány v dalších kapitolách. Auxiny mají také významný podíl na řízení *apikální dominance* růstu (= inhibiční vliv vegetačního vrcholu na níže položené pupeny), která je u rostlin běžným jevem. Podle původní představy byla "nadvláda" vrcholového meristému vysvětlována vysokou koncentrací auxinů transportovaných z vegetačního vrcholu. Jak je známo, *příliš vysoká* koncentrace auxinů (zhruba nad 10^{-4} M) může mít již výrazně inhibiční účinky na růst, a tudíž by teoreticky mohla brzdit rozvoj níže položených pupenů. Přesná měření auxinových gradientů však tento jednoduchý regulační mechanismus nepotvrdila, neboť mezi stupněm inhibice pupenů a rychlostí přítoku nativních auxinů nebyla zjištěna kladná závislost. Na druhé straně však víme, že jistý vliv auxinů na apikální dominanci je zcela nepochybný (při zastavení jejich přísunu je zrušena i dominance!). Současné výzkumy dokazují významnou úlohu terpenoidních látek vznikajících štěpením karotenoidů při inhibici níže položených pupenů, ovšem současně bylo zjištěno, že jejich účinnost je vázána na interakci s auxiny.

Studium **mechanismu působení** auxinů v buňkách se zpočátku zaměřovalo hlavně na vysvětlení *stimulace dlouhého růstu*. Vzhledem k tomu, že jde o reakci velmi rychlou (již za 15 minut dochází k měřitelným růstovým změnám!), nelze ji vysvětlit vstupem auxinů do jádra a ovlivňováním genové aktivity, ale spíše přenosem signálu z vhodného receptoru v plazmatické membráně k mimojaderným efektorům. Skutečně se podařilo objevit selektivní membránový receptor (označovaný jako *auxin binding protein, ABP1*), který po aktivaci molekulou auxinu (a za asistence druhotných vnitrobuněčných mediátorů) je schopen stimulovat činnost protonových pump v plazmalemě. Následné snížení pH v buněčné stěně

vede k zvýšení její roztažnosti (*extenzibility*), což, jak již víme (viz str. 3), vede ke zrychlení dlouhivého růstu.



Klasická představa možných mechanismů působení auxinů na růst buněk receptorovou cestou.

Novější výzkumy ale současně ukázaly, že naprostá většina ostatních vnitrobuněčných procesů řízených auxiny probíhá nezávisle na membránových receptorech (i po jejich vyřazení z funkce), a je spojena s ovlivňováním aktivity velkého počtu genů až po vstupu auxinů do buňky. Velmi zjednodušeně ho lze popsat následujícím způsobem:

Regulace genové aktivity auxiny (základní mechanismus na molekulární úrovni)

- ◆ anionty auxinu *vstupují* do buňky pomocí přenašečů (*AUX1*), *vystupují* z buňky jinými přenašeči typu *PIN* (1-8). Na aktivitě těchto transportních proteinů závisí *aktuální koncentrace* auxinu v buňce, a na jejich lokalizaci i *směr mezibuněčného transportu*.
- ◆ molekuly auxinu se v buněčném jádře vážou na receptor *TIR1*,
- ◆ receptor *TIR1* po navázání auxinu je schopen *inaktivovat* proteiny typu *AUX-IAA* (29 u *Arabidopsis*), které inhibují aktivitu transkripčních faktorů skupiny *ARF* (23 u *Arabidopsis*),
- ◆ transkripční faktory skupiny *ARF* (*auxin response factor*) po uvolnění z inhibice spouštějí expresi příslušných genů.

Gibereliny

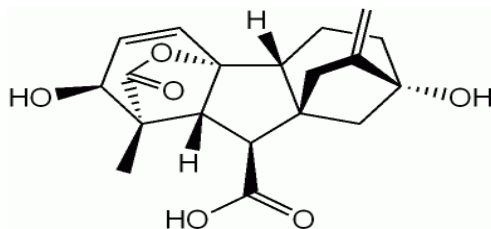
Objev této skupiny fytohormonů je přibližně stejně starý jako v případě auxinů (pozorování účinků látek vylučovaných patogenní houbou *Gibberella fujikuroi* na zrychlení růstu stébel rýže ve dvacátých letech a izolace účinných látek ve třicátých letech minulého století). Byl učiněn v Japonsku a na dlouhou dobu zapomenut - teprve od padesátých let se začaly gibereliny skutečně intenzivně zkoumat.

Všechny gibereliny patří mezi *terpeny* s 19 až 20 uhlíky ve čtyřech kruhových systémech a nejméně s jednou karboxylovou skupinou. Jsou proto kyselé povahy. Označují se zkratkou **GA** (*Gibberellic Acid*) s číselným indexem vyjadřujícím pořadové číslo od jejich objevu. V současné době známe asi 136 různých přirozeně se vyskytujících giberelinů, ovšem jejich významnost je velmi rozdílná. Byly nalezeny u všech dosud zkoumaných druhů cévnatých rostlin i u značného počtu druhů rostlin nižších, ovšem u každého druhu je přítomno jen několik typů giberelinů. Některé jsou společné řadě druhů (např. GA_1 a GA_3), jiné lze najít

mnohem vzácněji, či jejich funkce mohou být více specializované. Chemické struktury jednotlivých sloučenin z celé skupiny giberelinů (a řadu dalších informací o fytohormonech) lze najít na webové stránce www.plant-hormones.info/gibberellin_nomenclature.htm.

Syntéza giberelinů *in vivo* vychází z acetátových skupin, ze kterých se tvoří kyselina mevalonová a isopentenylpyrofosfát, jako základní stavební prvek všech terpenů. Degradace giberelinů v rostlinách je velmi pomalá, ale často dochází k inaktivaci vazbou s jinými sloučeninami. Konjugáty s glukózou (glukosidy) jsou nejčastější a velmi důležitou zásobní formou giberelinů.

Pravděpodobně každá rostlinná buňka má schopnost tvořit gibereliny, ovšem v některých orgánech je tato tvorba zvláště intenzivní. K nim patří především *mladé listy*, které svou produkcí giberelinů mohou působit na velké zrychlení růstu stonku. Neobyčejně vysoká koncentrace giberelinů bývá pravidelně zjišťována v mladých, vyvíjejících se *semenech*, kde se ukládají ve formě konjugátů. Transport giberelinů, na rozdíl od auxinů, není jen bazipetální, ale může probíhat všemi směry, snadno jsou transportovány i lýkem nebo xylémem. Syntéza giberelinů probíhá nejen v nadzemních částech, ale i v kořenech, ovšem vlastní růst kořenů je jimi jen velmi málo ovlivňován. Spíše bývá zjišťováno, že většina produkce giberelinů je transportována xylémem z kořenů do nadzemních částí.



Giberelin GA₃ patří k nejběžnějším giberelinům v rostlinách.

Z fyziologických účinků giberelinů je nutno na prvním místě jmenovat celkové zrychlení růstu zejména pak *stimulaci dlouhivého růstu stonku*. Geneticky pozměněné rostliny s poruchou syntézy giberelinu mají zakrslý vzrůst a jejich reakce na uměle dodaný giberelin je překvapivě velká. Ale i normální (geneticky nepozměněné) rostliny mohou výrazně zrychlit růst stonku po aplikaci giberelinu, což je zvláště nápadné u trav, nebo také u některých rostlin z čeledi brukvovitých, které ve vegetativní fázi tvoří přízemní růžice se silně zkráceným stonkem.

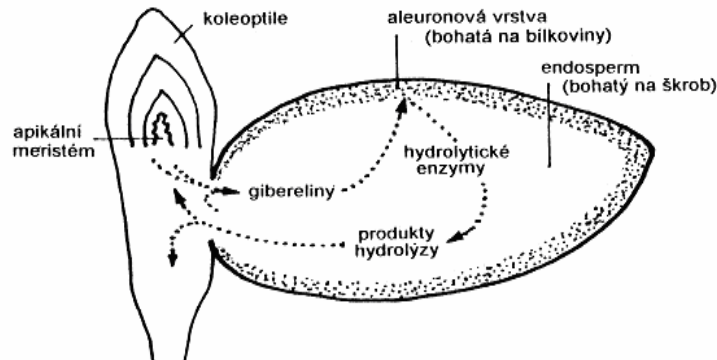
Gibereliny mají významnou funkci při *klíčení semen*. Na počátku klíčení se uvolňují hydrolýzou z konjugovaných zásobních forem, později jsou produkovány embryem. Kromě stimulace růstových procesů v prorůstajícím embryu (spolu s auxiny) stimulují také tvorbu a vylučování *hydrolytických enzymů*, které jsou nutné pro rozklad zásobních polysacharidů v semeni na jednoduché cukry využitelné k růstu klíčící rostlinky. Na stanovení rychlosti tvorby α -amylázy v aleuronové vrstvě obílek je založen jeden z biotestů používaných na stanovení koncentrace a účinnosti giberelinů v extraktech.

Z dalších účinků giberelinů lze uvést jejich stimulační účinky na *tvorbu pylu* a na *nasazování plodů* u některých ovocných stromů i v těch případech, kdy nedošlo k opylení (parthenokarpie, bezsemenné plody). Je také dokázán jejich vliv na urychlení přechodu z juvenilní fáze do dospělosti, spojené např. se schopností tvorby šišek u jehličnatých stromů. Gibereliny se mohou také podílet na *indukci tvorby květů* u fotoperiodicky závislých druhů rostlin, jak ještě bude blíže popsáno v kapitole věnované fotoperiodicitě. Experimentálně bylo zjištěno, že aplikací giberelinů lze někdy *přerušit dormanci* semen i pupenů a nahradit tak vlastně působení nízkých teplot, dlouhé fotoperiody či červeného světla, které jsou jinak na odstranění dormance nutné.

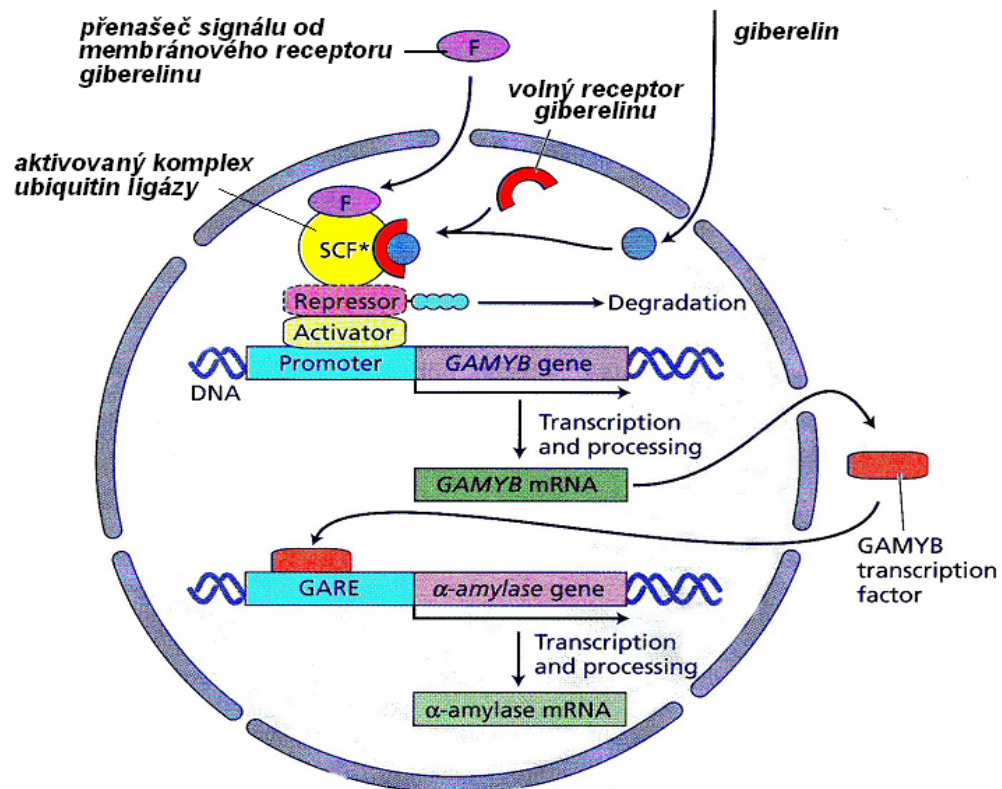
Mechanismus působení giberelinů je v současné době velmi intenzivně studován. Vzhledem k rozmanitým oblastem jejich účinků nelze očekávat nějaký obecně platný

mechanismus. Je však jisté, že obdobně jako u auxinů je část regulačních aktivit spojena se zachycením molekuly giberelinu v selektivním receptoru v plazmatické membráně a s přenosem signálu řetězcem druhotných přenašečů do jádra či na jiná místa v buňce, ovšem současně je možný i vstup giberelinů do buňky a jejich interakce s proteiny regulujícími expresi genů v jádře, obvykle na úrovni transkripce.

Dobře prozkoumaným je mechanismus stimulace tvorby hydroláz v klíčících obilkách (viz obrázek níže). Tvorba transkripčního faktoru genu pro tvorbu α -amylázy v buňkách aleuronové vrstvy je bez přítomnosti giberelinu blokována represorem aktivátoru transkripce K jeho odstranění (degradaci po navázání ubiquitinu za asistence ubiquitin ligázy) může dojít na základě signálu přenášeného z giberelinového receptoru v plazmatické membráně (přes G-protein a aktivovaný F-box protein). Je ale možná i alternativní cesta vedoucí k odstranění represoru transkripce, a sice přes navázání molekuly giberelinu na specifický volně pohyblivý receptorový protein až přímo v jádře. Bylo ale zjištěno, že při tomto druhém způsobu aktivace transkripce sice dochází k tvorbě α -amylázy, ale ta se hromadí v buňce. Její transport ven z buňky je spouštěn jen po přenosu signálu z giberelinového receptoru zakotveného v plazmatické membráně.



Funkce giberelinů při tvorbě hydrolytických enzymů v klíčící obilce: hlavní směry výměn metabolitů.



Detaily mechanismu aktivace genu pro α -amylázu v jádře aleuronové buňky

Mechanismus působení giberelinů na růstové procesy je značně složitější a jeho výzkum stále pokračuje. Je však známo, že stimuluje jednak dělení buněk (zkrácením G₁ a S-fáze), hlavně však jejich dlouhivý růst v subapikálních růstových zónách. Ke zrychlení dlouhivého růstu buněk dochází především zvýšením roztažnosti buněčné stěny, nejspíše ovlivňováním inkorporace proteinů ze skupiny extensinů. Na rozdíl od působení auxinů není změna roztažnosti buněčné stěny spojena se změnou její acidity. Na rychlost růstu působí příznivě i velké množství hexos, uvolňovaných při stimulované hydrolýze polysacharidů, neboť ty jsou zdrojem energie a stavebního materiálu pro rostoucí buňky. Navíc přispívají ke zvýšení osmotického tlaku, a tedy i k následnému zvýšení turgoru. Ten, jak již víme, je nutným předpokladem růstu.

Praktické využití giberelinů je dosti omezené. Gibereliny nelze vyrábět ve větším měřítku synteticky a také jejich biotechnologická produkce kulturami hub je drahá. Přesto se občas používají, a to zejména na *zvětšení rozměrů rostlin* či jejich orgánů (např. postřikem některých odrůd révy vinné lze vypěstovat značně větší hrozny). Zvětšení rozměrů po ošetření gibereliny však nemusí být vždy spojeno se vzrůstem hmotnosti sušiny.

Více než vlastní gibereliny došly praktického využití sloučeniny, které jejich syntézu v rostlinách blokují a způsobují tudíž zpomalení růstu (*růstové retardanty*). K takovým látkám patří např. chlorcholinchlorid, známý pod zkratkou CCC ("*Retacel*"), ale i jiné sloučeniny známé pod obchodními názvy *Phosphon* a *Paclo-butrazol*. Často se těmito přípravky ošetřovaly obiloviny, neboť kratší stébla jsou méně náchylná k polehání. Jejich používání však už v současné době není dovoleno, neboť zdravotně nebezpečné metabolity těchto látek se dostávaly do potravního řetězce.

Cytokininy

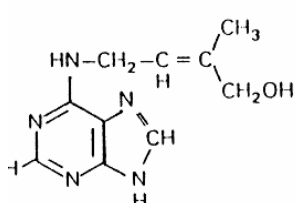
Na počátku padesátých let minulého století byly na několika výzkumných pracovištích usilovně hledány a testovány látky, které by mohly regulovat rychlost buněčného dělení (*cytokineze*). Toto úsilí bylo motivováno nejen možnými aplikačními aspekty, ale vycházelo i z potřeby lépe vysvětlit růstově-regulační procesy. Rozkladem DNA byla získána sloučenina nazvaná *kinetin*, která byla sice velmi účinná, ale - jak se později zjistilo - v rostlinách se volně nikdy nevyskytuje. Teprve v šedesátých letech se skutečně podařilo z rostlin extrahovat přirozeně se vyskytující (nativní) látky s velmi podobnou strukturou a účinky jako měl kinetin. První izolace se podařila z endospermu nedozrálých obilok kukuřice (*Zea mays*) - proto dostala nově objevená sloučenina název *zeatin*. Je asi vůbec nejhojnější ze všech cytokininů, kterých dnes již známe několik desítek. Část z nich nacházíme v rostlinách ve volné formě, část jich bývá vázána na některé jiné sloučeniny (např. jako atypické báze v tRNA, nikoli však v DNA!). Spolu se synteticky připravenými analogy představuje celá skupina cytokininů více než 200 sloučenin.

Z chemického hlediska jsou si všechny cytokininy dosti podobné, ovšem tvorba různých derivátů je zde častější než u jiných fytohormonů. Základní kostru tvoří *adenin*, na který je připojen boční řetězec (např. isopentenyl u jednoho z velmi běžných cytokininů, *isopentenyladeninu*). Kromě toho se na každý z cytokininů může napojovat ribóza za vzniku nukleosidu (ribosidu) a po připojení fosfátové skupiny vznikají *nukleotidy*. Ty jsou obvykle nejčastější transportní formou cytokininů. Největší regulační účinky však mívají jen základní formy, označované též jako *volné báze*.

Syntéza cytokininů v rostlinách se odvozuje od *adenosinmonofosfátu (AMP)*, ze kterého se pak odštěpuje fosfátová skupina a ribóza. Obdobně jako u auxinů a giberelinů je i zde možná tvorba konjugátů (zejména glykosidů), které mohou být využity k ukládání do rezervních orgánů či pro transport. Také u cytokininů máme potíže s přesným určením místa jejich syntézy, neboť toto nemusí být totožné s místem jejich nejvyšší koncentrace. Existují ale dostatečné důkazy o zvláště intenzivní syntéze cytokininů v apikálním meristému kořenů,

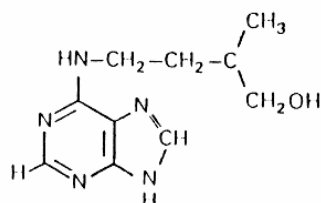
odkud jsou rozváděny xylémem do ostatních orgánů. Kořeny však nejsou jediným místem syntézy - k tvorbě cytokininů může docházet i v různých pletivech nadzemních částech, ale obvykle jen v omezeném množství a v určité vývojové fázi. Mladé listy a jiné nadzemní orgány s meristémy, v nichž pravidelně zjišťujeme vysokou koncentraci cytokininů, jsou jimi v převážné míře zásobovány z kořenů.

Izoprenoidní cytokinininy:

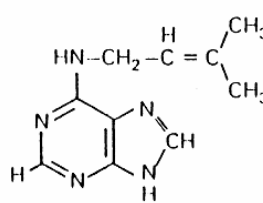


zeatin

(hydroxy-3-metylbut-2-enylamino purin)

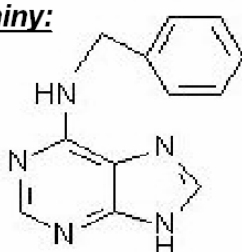


dihydrozeatin



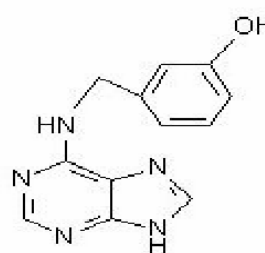
izopentenyladenin

Aromatické cytokinininy:



benzyladenin

(= benzylaminopurin)



meta-topolin

(= (m-OH) benzylaminopurin)

Chemická struktura některých běžných cytokininů.

Fyziologické účinky cytokininů jsou značně různorodé. Jejich prvořadou funkcí je nepochybně schopnost *regulace dělení buněk* v meristémech, která je ale vázána jen na jejich optimální koncentraci – nedostatek i nadbytek cytokininů rychlost dělení buněk snižuje. Pod vlivem cytokininů může být obnovena dělivá aktivita i v diferencovaných pletivech, např. při tvorbě závalu (kalusu) na poraněných místech. Obvykle je ale nutná i zvýšená koncentrace auxinů.

Cytokinininy podporují *tvorbu bočních pupenů* u dvouděložných rostlin a ruší jejich dormanci (způsobenou např. apikální dominancí), ovšem další růst iniciovaných pupenů je možný pouze za spoluúčasti auxinů a giberelinů.

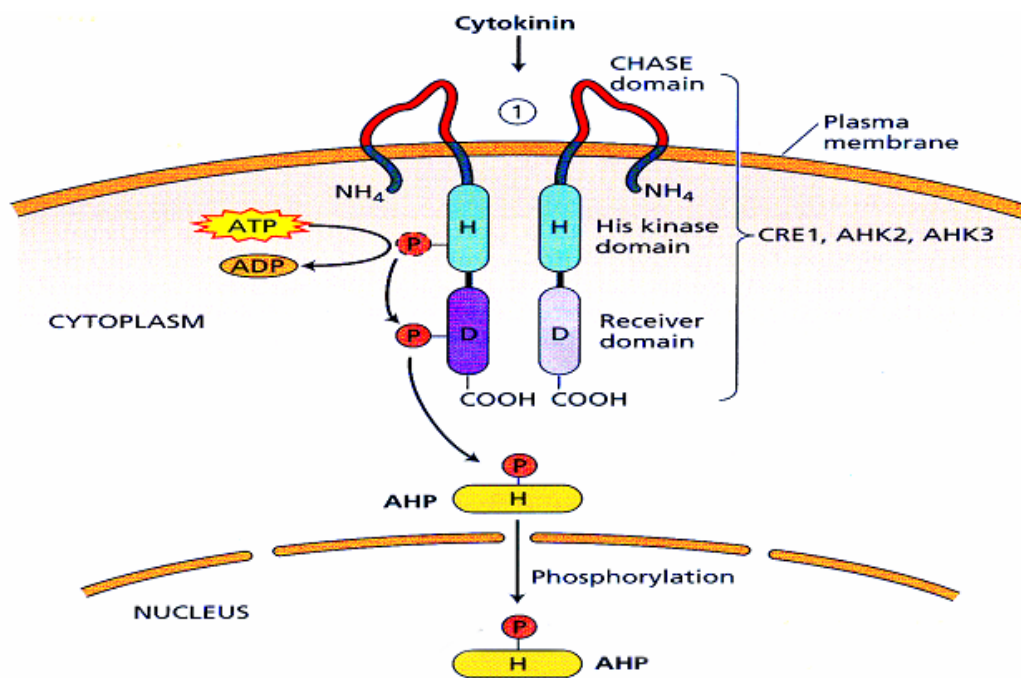
Velmi zajímavou a dosud málo probádanou oblastí působení cytokininů je jejich *interakce s minerálními výživou rostlin*. Hladina cytokininů se v rostlinách zvyšuje úměrně se stoupajícím množstvím dostupných živin v půdě, což má nezanedbatelný dopad i na jejich efektivnějším využívání (např. zrychlení a účelné směřování jejich transportu, zabudovávání v rostoucích a zásobních orgánech)

Významný je také účinek cytokininů na *zpomalení stárnutí* některých orgánů rostlin. Mnoho pokusů bylo prováděno zejména s listy, které si podstatně déle zachovávají funkční chloroplasty a vysoký obsah chlorofylu jestliže je v nich obsah cytokininů zvýšen (umělou aplikací či přirozenou cestou po zakořenění řapíku). Ukazuje se, že cytokinininy především chrání membrány před degradací (antioxidační ochrana nenasycených mastných kyselin).

Neméně významný je i poznatek, že orgány se zvýšeným obsahem cytokininů jsou *přednostně zásobovány metabolity* rozváděnými v lýku, což má význam nejen pro zpomalení stárnutí některých orgánů, ale zejména pro preferenční zásobení těch nejrychleji rostoucích částí rostliny. Také rychlost toku asimilátů do zásobních orgánů může být řízena cytokinininy.

Z dalších zjištěných účinků cytokininů můžeme ještě jmenovat *stimulační vliv na klíčení semen*. V odstranění jejich dormance do jisté míry nahrazují vliv nízkých teplot. Významný stimulační vliv byl pozorován při *tvorbě funkčních chloroplastů* z proplastidů (včetně zvýšení rychlosti tvorby gran a chlorofylu), což lze vysvětlit zrychlenou tvorbou specifických proteinů. Obtížněji vysvětlitelná je však celá řada dalších účinků, např. na tvorbu plodů, rychlost dozrávání, atd.

Mechanismus působení cytokininů je znám jen pro některé jejich hlavní účinky. Především se zkoumala cesta přenosu signálu při iniciaci exprese velkého množství genů řízených cytokininy. Tato cesta začíná od nově objevených receptorů cytokininů v plazmatické membráně, které jsou blízké příbuzné dvoukomponentní sensorové histidinové kináze, jejíž funkce byla již dříve popsána u bakterií. Po aktivaci receptoru molekulou cytokininu dojde u tohoto receptoru k autofosforylaci a v dalším kroku k přenosu fosfátové skupiny na mobilní přenašeč signálu, kterým je protein označovaný zkratkou AHP. Ten pak vstupuje do jádra a po opakovaném přenosu fosfátové skupiny až na aktivační elementy (je jich celá řada typů) dojde k indukci transkripce.



Cytokininový receptor v plazmatické membráně a přenos signálu do jádra

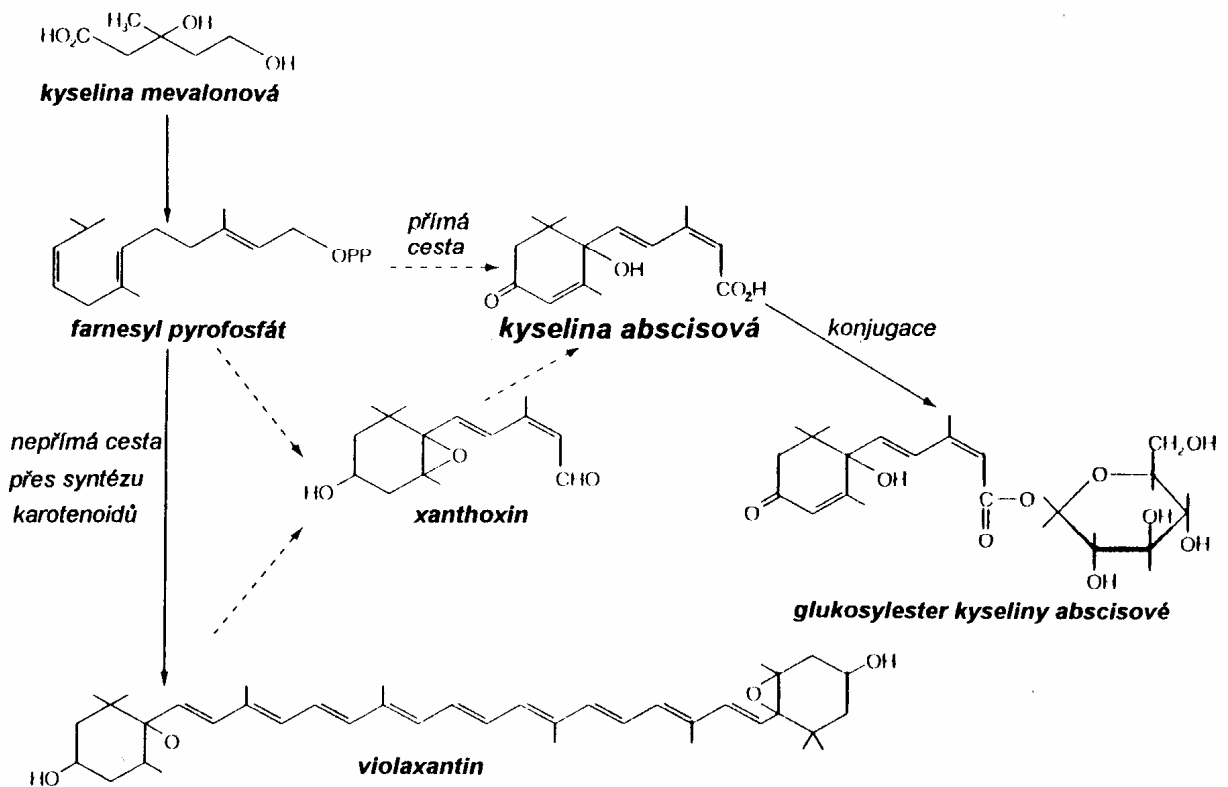
Hlavní účinek cytokininů na iniciaci a zrychlení celého cyklu při dělení buněk je pravděpodobně dosahován různými cestami. Jednou z nich je zvýšení aktivity některých proteinkináz, zapojených do řízení chodu buněčného cyklu. Významný je také vliv cytokininů na urychlení přepisu DNA a tím i na zkrácení syntetické fáze cyklu. Účinek cytokininů na dělení buněk je podmíněn přítomností auxinů, které ovlivňují především iniciaci replikace DNA.

Kromě detailní analýzy jednotlivých složek celého mechanismu působení cytokininů máme mnoho údajů o růstových a vývojových změnách celých orgánů či rostlin po experimentálním navození určité hladiny cytokininů. Velká část jich byla získána při kultivacích meristémů či transgenních rostlin *in vitro*. Z nich je zcela zřejmá koordinace působení cytokininů s auxiny nejen při již zmíněném dělení buněk, ale především při jejich diferenciaci a tvorbě základů orgánů. Jen za určitého poměru koncentrací těchto dvou fytohormonů regenerují z kalusové kultury dokonale vyvinuté rostliny. Při převaze auxinů je preferována tvorba kořenů, nadbytek cytokininů vede pouze k tvorbě stonků a listů.

Kyselina abscisová

I když k objevu tohoto fytohormonu došlo mnohem později než u všech dosud probíraných skupin (až v roce 1963), vůbec to neznamená, že by snad byl méně významný. Stále zřetelněji se ukazuje, že kyselina abscisová (angl. *Abscisic Acid*, zkráceně **ABA**) je nejen velmi mocným regulátorem růstových procesů u všech vyšších rostlin, ale plní i další funkce související se zvýšením odolnosti vůči nepříznivým vnějším vlivům. Po chemické stránce se jedná o relativně jednoduchou sloučeninu - seskviterpenoid s 15 uhlíky v molekule.

Tvorba ABA v rostlině může probíhat jednak přímo z kyseliny mevalonové a farnesylpyrofosfátu, a nebo (častěji) nepřímo štěpením některých karotenoidů, především *xanthoxinu* U listů k tomu dochází v chloroplastech, u nezelených orgánů pak v jiných typech plastidů). Xanthoxin je pak postupně oxidován na ABA-aldehyd a vlastní ABA. Tyto procesy už nejsou vázány na plastidy, ovšem přesto u listů nacházíme největší množství ABA uloženo právě v chloroplastech. Je nutno poznamenat, že i xanthoxin má fyziologické účinky zcela podobné ABA, ovšem je velmi málo pohyblivý.



Možné cesty syntézy kyseliny abscisové v rostlinách.

Z fyziologických účinků ABA je potřeba na prvním místě uvést *zpomalení růstových procesů*. V těch částech rostliny, které vstupují do dormance (zejména pupeny na konci léta, ale i semena)), pravidelně nacházíme velmi zvýšený obsah ABA, který se udržuje po dlouhou dobu. Ukončení dormance ale nemusí vždy korelovat s poklesem obsahu ABA, protože velmi záleží i na přítomnosti protichůdně působících stimulačních látek (zejména giberelinů) jejichž obsah se může v průběhu dormance zvyšovat a utlumit působení ABA.

Při *dozrávání semen* však ABA hraje prakticky vždy mimořádně významnou úlohu. V závěrečné fázi růstu embrya se obsah ABA ve všech strukturách semene výrazně zvyšuje a její účinky jsou jak inhibiční, tak i stimulační. Stimuluje *ukládání rezervních látek* v endospermu a také tvorbu početné rodiny proteinů, které jsou označovány jako LEA proteiny (*Late Embryogenesis Abundant proteins*). Ty jsou nutné pro uchování

životaschopnosti embrya a buněk endospermu při jejich silné dehydrataci (vyschnutí) ve finální fázi tvorby semene. Inhibiční účinky ABA se projevují hlavně v *utlumení růstu embrya* při dosažení jeho optimálních rozměrů – další pokračování v růstu by znemožnilo správné uložení v semeni. Působením ABA je také inhibovaná tvorba giberelinů, které by narušovaly vstup do dormance.

Dříve uváděná úloha ABA při tvorbě odlučovací vrstvičky způsobující opad listů, květů a plodů není v současné době již považována za obecně významnou – uplatňuje se totiž je u malého počtu druhů. Podstatně větší vliv na tento proces má tvorba etylénu. Nicméně podíl ABA na *zrychleném stárnutí* rostlinných orgánů (zejména listů) je zcela nepochybný, i když často se spoluúčastí etylénu. Stárnutí je provázeno postupným rozpadem proteinů, chlorofylu, nukleových kyselin a dalších snadno rozložitelných buněčných součástí provázené zvýšenou aktivitou hydrolytických enzymů.

Kromě regulace růstu má ABA mimořádně významnou úlohu v řízení mnoha dalších fyziologických procesů při působení stresových faktorů na rostlinu. Při nedostatku vody v listech (indikované mírným poklesem turgoru a vodního potenciálu buněk) koncentrace ABA velmi rychle vzrůstá (až 50x). Toto zvýšení vede k *zavírání průduchů*, a to často mnohem dříve, než by k němu došlo jiným způsobem. Zavírací reakce průduchů bývá dokonce pozorována již při počátku vysychání horních vrstev půdy, ačkoliv vodní potenciál listů je ještě dostatečně vysoký, neboť rostlina je schopna čerpat vodu z hlubších vrstev. Přenos informace z té části kořenové soustavy, která je vystavena začínajícímu suchu, do listů se děje nejčastěji xylémovým transportem ABA, a přispívá k němu i změna pH xylémové tekutiny. Ke zvýšení koncentrace ABA dochází také pod vlivem nízkých teplot a zasolení půdy. ABA je tedy významným článkem obecné stresové reakce, která vede (mimo jiné) i k *tvorbě „antistresových“ proteinů* zvyšujících celkovou odolnost. Tvorba ABA za zmíněných stresových situací bývá nejčastěji iniciována poklesem turgoru buněk.

Mechanismus působení ABA je značně různorodý, neboť je využívána k řízení procesů jak velmi rychlých (např. zavírání průduchů), tak i procesů relativně dlouhodobých (dokončování vývoje semen). Zvláště podrobně byl studován mechanismus působení ABA na pohyby průduchů, o kterém se původně předpokládalo, že patří k těm relativně jednodušším. Tyto předpoklady se však nesplnily protože se ukázalo, že i při tomto regulačním působení může být v těžce svěřací buňce využíváno více cest příjmu a přenosu signálu. Ty začínají u membránových receptorů (několika typů), od kterých je po zachycení molekuly ABA signál přenášen přes G-protein na fosfolipázy C či D. Jako navazující přenašeči signálu mohou působit (paralelně v různých cestách!) např. štěpný produkt membránových lipidů (IP₃), oxid dusnatý, či některé reaktivní formy kyslíku (H₂O₂), a ty pak iniciují otevření vápníkových kanálů. Vtok regulační dávky Ca²⁺ do cytosolu, pak vede k inhibici protonové pumpy, depolarizaci plazmalemy, a k výtoku značné části osmotik a vody ze svěřací buňky. Už tak dost složitou situaci dále komplikuje existence přenosové cesty z membránového receptoru bez aktivační účasti vápníkových iontů (fosforylačním mechanismem), a také existence mobilních vnitrobuněčných receptorů ABA.

Ke spuštění exprese genů (zejména pro „antistresové“ proteiny) pod vlivem ABA dochází nejčastěji cestou aktivace transkripčních faktorů (za účasti aktivovaných kináz a mikroRNA), přičemž prvotní signál může být přenášen jak od membránových, tak i vnitrobuněčných receptorů ABA. Může ovšem docházet i k inhibici aktivity některých genů (např. pro tvorbu hydroláz), taktéž na úrovni transkripcie.

Praktické využití ABA není příliš časté. Někdy bývá používána formou postřiku či máčení k prodloužení dormantního stavu (bez prorůstání) konzumních bramborových hlíz při jejich uskladnění. Postřikem rostlin (polních plodin) lze také zvyšovat jejich odolnost ke stresům, tedy např. před očekávaným nástupem delších období sucha či nízkých teplot.

Etylén

Zařazení tohoto nejjednoduššího uhlovodíku s dvojnou vazbou - a navíc plynu - mezi fytohormony je poněkud překvapující, ale etylén svými fyziologickými účinky mezi ně rozhodně patří. Působení etylénu na růst rostlin bylo pozorováno již na začátku minulého století. Teprve zavedení plynové chromatografie v šedesátých letech však umožnilo provádět exaktní experimentální výzkum jeho působení.

Etylén produkují vyšší rostliny ve všech svých částech, dále řada hub (včetně hub žijících v půdě), a některé mikroorganismy. Zvláště velký výdej etylénu bývá zjišťován u dozrávajících plodů, u velmi mladých i u stárnoucích listů, a při působení různých stresových faktorů. Také poraněné rostlinné orgány zvyšují mnohonásobně produkci etylénu již v průběhu několika desítek minut.

Syntéza etylénu v rostlinách se odvozuje z cyklických přeměn aminokyseliny *methioninu* až na zvláštní kyselinu *1-amino-cyklopropan-1-karboxylovou* (ACC) za spotřeby energie jedné molekuly ATP. Ke konečné tvorbě etylénu z ACC je nutný i kyslík. Transport etylénu v rostlině probíhá nejčastěji prostou difuzí v intercelulárách. Cévními svazky po celé rostlině je rozváděna pouze ACC, která se také může hromadit ve vakuolách. Rychlost tvorby ACC (katalyzovaná enzymem ACC-syntázou) je hlavní reakcí, na které závisí konečné množství uvolňovaného etylénu. Velmi často bývá pozorován autokatalytický efekt - vyšší koncentrace etylénu dále zvyšuje rychlost jeho tvorby.

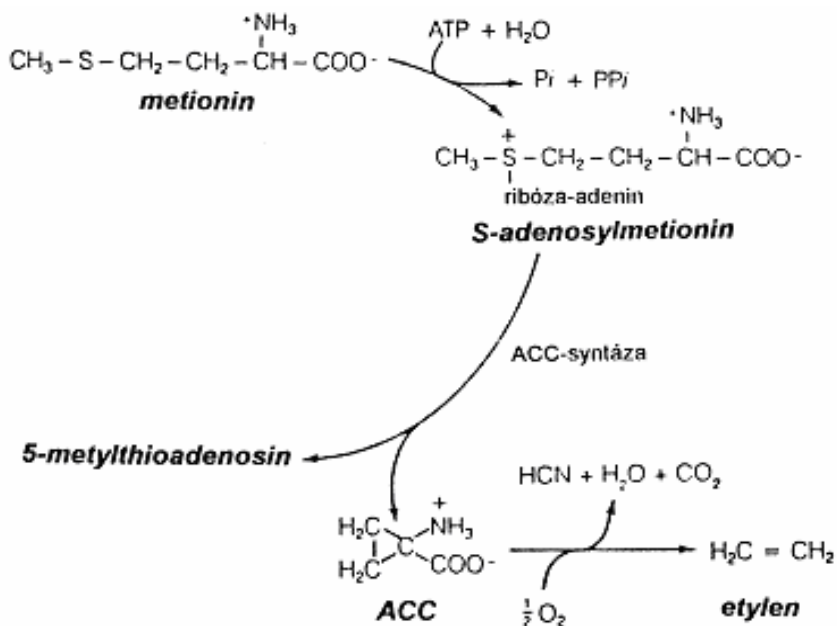


Schéma syntézy etylénu (5-metylthioadenosin je regenerován zpět na metionin).

Jak již bylo uvedeno, k syntéze etylénu je nutný kyslík, a proto u orgánů v hypoxických podmínkách (např. u kořenů v zaplavených či udusaných půdách) se nutně musí její rychlost snižovat. Přesto právě za těchto podmínek ale může dojít paradoxně k nahromadění etylénu v intercelulárách, neboť je velmi omezena možnost jeho difuze do vnějšího prostředí. V listech je syntéza etylénu inhibována světlem.

Fyziologické účinky etylénu jsou velmi rozmanité a někdy i poněkud protichůdné. Nejčastěji bývá pod jeho vlivem pozorováno *zpomalení dlouhivého růstu* stonků i kořenů a současně jejich tloušťnutí. Průvodním znakem těchto změn je jiná orientace mikrofilbril celulózy v buněčných stěnách. Reakce buněk v některých orgánech však může být nestejná - to pak vede k obloukovitému zakřivení rostoucího orgánu (např. řapíku listů - epinastie). Někdy také dochází působením etylénu ke ztrátě gravitropismu. Známé jsou však i některé

kladné účinky etylénu na růstové procesy - zrychluje dlouhivý růst některých vodních rostlin, vyvolává tvorbu adventivních kořenů a kořenových vlásků, tvorbu odlučovací vrstvičky buněk v řapících listů, a také může stimulovat klíčení semen.

Četné jsou i účinky etylénu na jiné procesy, než je pouze růst a morfogeneze. K nejvýznamnějším patří stimulační procesy souvisejících se *zrychlením zrání plodů*. Nejčastěji k tomu dochází díky významnému zvýšení aktivity enzymů hydrolyzujících polysacharidy (celuláza, pektinázy). Často velmi zrychlená tvorba těchto enzymů pod vlivem etylénu bývá pozorována nejen v plodech, ale i v jiných orgánech, a vede k velmi závažným následkům (např. lýtické zvětšování intercelulár v kořenech, opad listů, plodů a květů, atd.). Podobně jako kyselina abscisová *zrychluje stárnutí* všech orgánů, což vede např. k rychlejšímu vadnutí květů a k rozkladu chlorofylu a rozpustných proteinů v listech. Na druhé straně může ale spouštět některé *obrné reakce* při působení stresových faktorů, a to včetně tvorby specifických lýtických enzymů k zabránění průniku hyf patogenních hub.

Etylén může působit již ve velmi nepatrné koncentraci (asi $1 \text{ cm}^3 \cdot \text{m}^{-3}$) a jeho tvorba může být někdy až překvapivě velká (např. ve zralém jablku dosahuje koncentrace etylénu často více než $2000 \text{ cm}^3 \cdot \text{m}^{-3}$!). Bezkontaktní vzájemné ovlivňování rostlin pomocí etylénu je tedy docela dobře možné. Zvláště výrazné může být toto působení v prostředí s omezenou výměnou vzduchu, např. v půdě. Zde může docházet nejen k vzájemnému ovlivňování kořenů sousedních rostlin, ale také etylén produkovaný půdními mikroorganismy a houbami může ovlivňovat (převážně inhibovat) růst kořenů.

Mechanismus působení etylénu je dnes již znám poměrně dobře. Buněčným receptorem etylénu je obdobně jako u recepce cytokininů transmembránový protein typu dvousložkové *histidinové kinázy*, ovšem s několika zvláštními znaky. Jednak bývá umístěn v membráně endoplazmatického retikula, ale hlavně se jedná o dimer s centrálně navázaným kofaktorem *obsahujícím měď*. Další přenos signálu pokračuje přes několik postupně fosforylovaných proteinů až k aktivaci celé řady transkripčních faktorů v jádře a k jimi modulované genové expresi. Byl také dokázán přímý vliv etylénu na funkci membrán, zejména na zvýšení jejich propustnosti pro ionty solí.

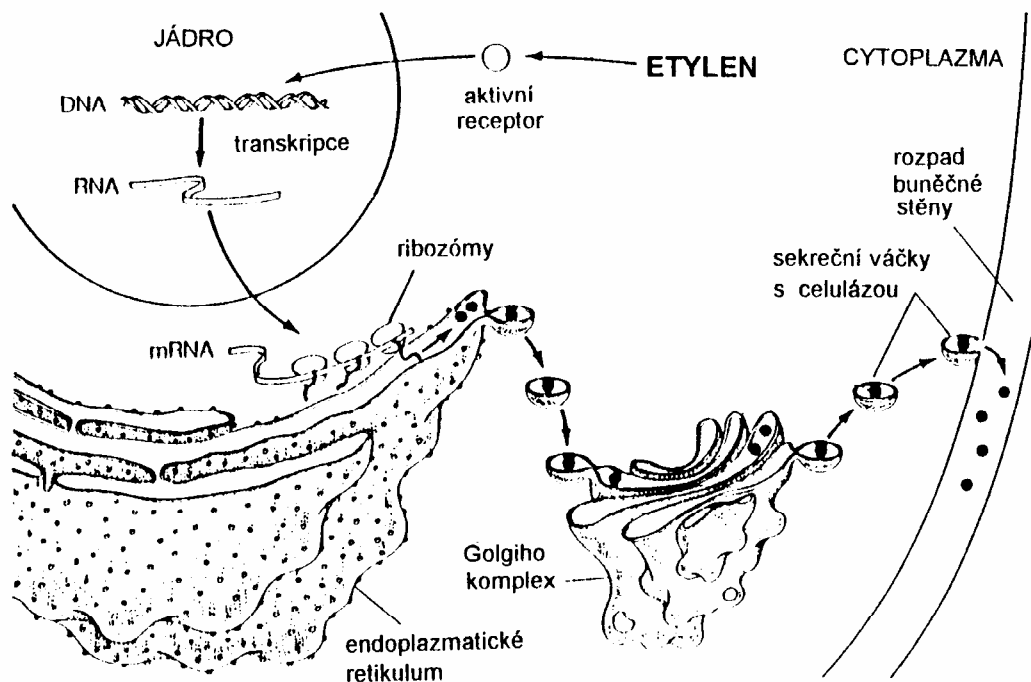
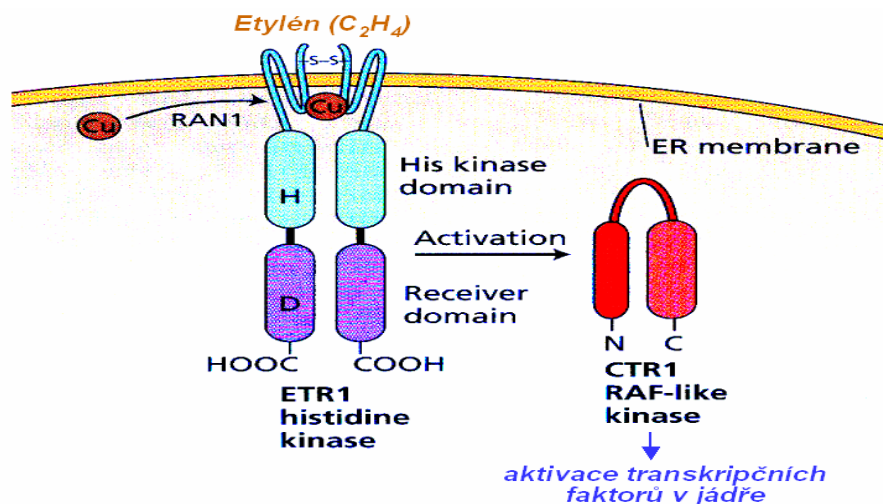


Schéma možného působení etylénu na rozpad buněčné stěny při dozrávání plodů. Receptor etylénu bývá obvykle umístěn v membráně endoplazmatického retikula.



Receptor etylénu v membráně endoplazmatického retikula a začátek přenosu signálu.

Praktické využití etylénu pro ovlivňování procesů v rostlinách souvisí v první řadě s regulací rychlosti *dozrávání plodů*. Pro urychlení zrání ovoce koncentraci etylénu ve skladových komorách zvyšujeme (zejména bývá využíváno u banánů, které se musejí sklízet a transportovat ve zcela nezralém stavu). Naopak, máme-li zájem na zpomalení zrání (při skladování jablek), pak etylén vytvářený ovocem musíme ze vzduchu odstraňovat (např. větráním či pohlcováním v roztoku manganistanu draselného). Tvorbu etylénu lze také zastavit v bezkyslíkatém prostředí (uložení ovoce v dusíkové atmosféře). Je nutno ale poznamenat, že dozrávání plodů některých rostlin (např. ze skupiny citrusů) není provázáno zvýšenou tvorbou etylénu, a tudíž se ani nedá uměle (uvedenými postupy) průběh jejich dozrávání ovlivnit.

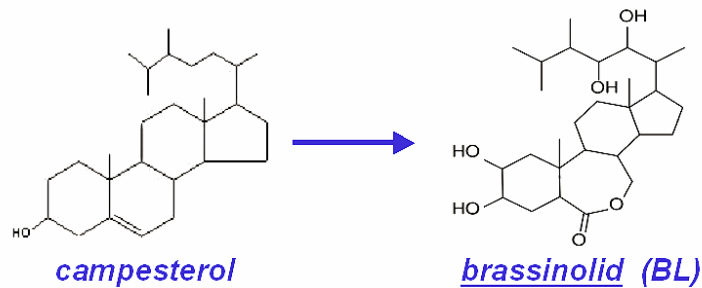
Některé účinky etylénu nedovedeme zatím vysvětlit, i když jsou prakticky využívány. Jedná se zejména o indukci kvetení u broméliovitých (ačkoli u jiných rostlin etylén obvykle kvetení inhibuje!), a o výrazné zvyšování podílu samičích květů u tykvovitých (ve společném působení s IAA).

Brassinosteroidy

Existence steroidních hormonů u rostlin byla dlouho zpochybňována a jejich přesná identifikace a zařazení do „elitní skupiny“ základních fytohormonů byla provedena teprve nedávno. Látky se steroidní strukturou se sice vyskytují v rostlinách zcela běžně (např. jako součást membrán), ovšem dokázat jejich významné a mnohostranné zapojení do přirozené (nikoli tedy uměle navozené) regulace růstových procesů nebylo vůbec snadné.

První sloučenina tohoto typu, extrahovaná z pylu řepky (*Brassica napus*) v dostatečném množství pro stanovení chemické struktury, byla nazvána *brassinolid* (podle zdroje použitého pylu). O pylových extraktech bylo totiž již dříve známo, že stimulují růstové procesy. Další steroidní fytohormon (*castasteron*) byl izolován z hmyzích hálek na kaštanovníku (*Castanea crenata*), u kterých také byla hledána neznámá látka podporující jejich rychlý růst. Dnes již je známo více než 60 steroidních fytohormonů (souborně nazývaných jako *brassinosteroidy*). Byl dokázán jejich výskyt v různých orgánech všech druhů rostlin z více než 30 čeledí které byly dosud analyzovány, a to včetně evolučně starých skupin nahosemenných rostlin a kaprad'orostů. Relativně největší koncentrace bývají nalézány v mladých orgánech, v pylu a v semenech, ovšem i tam se jedná o koncentrace extrémně nízké (řádově 10^{-12} až 10^{-9} M).

Syntéza brassinosteroidů je možná celou řadou biosyntetických drah, ovšem nejčastěji vychází z *campesterolu* či *sitosterolu*, což jsou nejhojnější steroly v membránách rostlinných buněk. Vždy se jedná o celý řetěz reakcí (redukce, hydroxylace, epimerace, oxidace) za účasti mnoha enzymů.



Struktura nejúčinnější brassinosteroidní sloučeniny *brassinolidu* a jejího prekursoru *campesterolu*

Fyziologické účinky brassinosteroidů jsou neobyčejně mnohostranné. Především se jedná o regulaci *růstových procesů*, obvykle v těsné synergické interakci s auxiny. Mají silný stimulační vliv na rychlost dělení i prodlužovacího růstu buněk, přičemž toto působení je spojeno jak s aktivací genové aktivity, tak i s přímou stimulací činnosti protonových pump, vedoucím ke zvýšení acidifikace (a tedy i roztažnosti) buněčné stěny. Obdobně jako auxiny jsou schopny působit na růst kořenů: v malé koncentraci stimulačně, ve větší inhibičně. Brassinosteroidy jsou zcela nezbytné pro *růst pylových láček*. Významná je i jejich úloha při *diferenciaci vodivých pletiv*, zejména stimulují tvorbu xylému (při nedostatku brassinosteroidů se více zmenšuje zastoupení xylému než floému). Další oblasti působení se týkají často pozorované *stimulace klíčení semen* a *zvýšení odolnosti vůči stresům* (mráz, nedostatek vody, zasolení, infekce) ovšem metodicky a interpretačně přesných prací v tomto směru je dosud velmi malý počet.

Mechanismus působení brassinosteroidů (BR) je v současné době intenzivně zkoumán. Víme již, že k příjmu signálu dochází zachycením molekuly příslušného BR specifickým receptorem umístěným v plazmatické membráně. Jedná se o homodimer zvláštního typu serin/threoninové kinázy (*BRI1*)s velmi dlouhým extracelulárním řetězcem aminokyselin, na kterém jsou vazebná místa pro BR. Po navázání molekuly BR dojde na vnitrobuněčných úsecích téže kinázy k několikanásobné fosforylaci a následně pak ke komplikovanému přenosu signálu do jádra, tam pak k aktivaci transkripčních faktorů a tím i genové exprese. Brassinosteroidy jsou schopny aktivovat stovky genů v rostlinné buňce, z nichž část může být aktivována i auxiny, ovšem jejich koncentrace musí být podstatně vyšší (až 1000x).

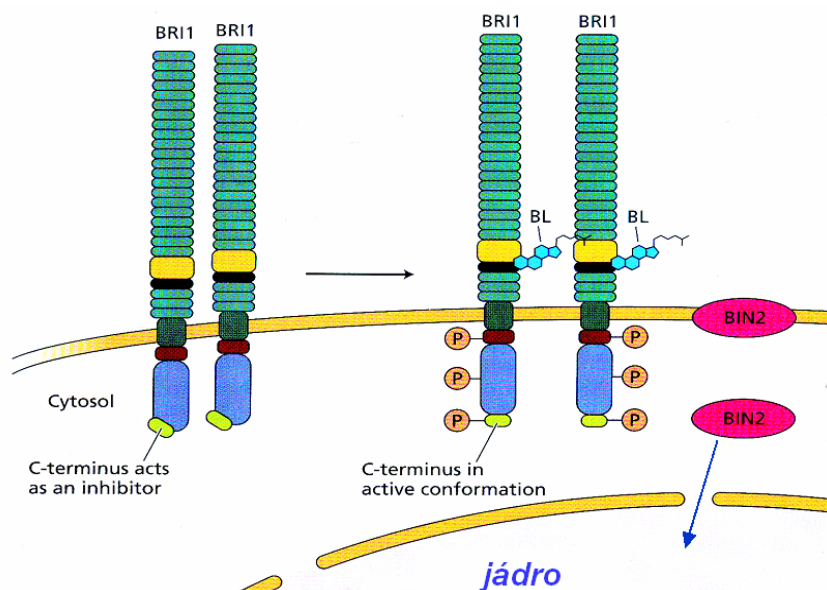


Schéma funkce brassinosteroidového recepturu v plazmatické membráně. Po zachycení dvou molekul brassinolidu (BL) dojde k fosforylaci na několika místech vnitrobuněčného úseku recepturu a následně k aktivaci dalších článků přenosového řetězce.

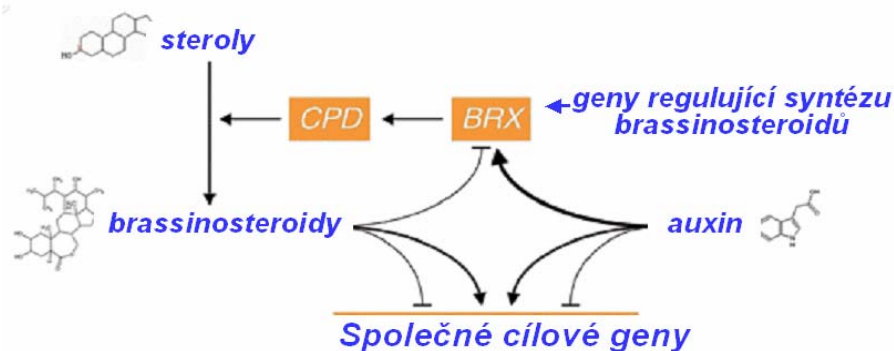
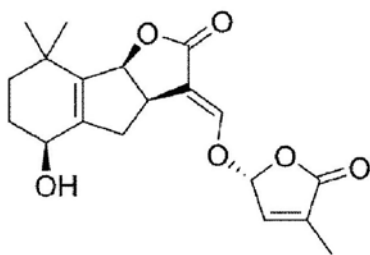


Schéma jednoho z možných mechanismů spolupůsobení brassinosteroidů a auxinů (v tomto případě zesilování účinku auxinů indukovanou tvorbou brassinosteroidů).

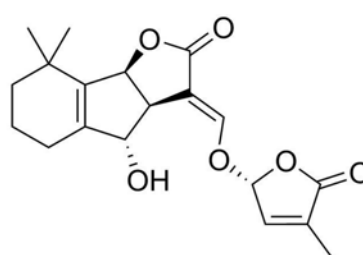
Praktické využití brassinosteroidů (vyráběných synteticky) není zatím příliš rozšířené, ale v dosud provedených polních pokusech bylo dosaženo značně nadějných výsledků. Po postřiku porostů některých polních plodin vhodnou koncentrací BR došlo ke zvýšení jak celkové tvorby biomasy, tak i některých kvalitativních ukazatelů. Zvláště významné bylo zvýšení odolnosti ošetřených rostlin k nepříznivým vnějším podmínkám (mráz, sucho) a k napadení patogenními organismy.

Strigolaktony

Názorným příkladem možností nových, netušených objevů v růstové fyziologii je skupina terpenoidních sloučenin typu laktonů, která mezi základní fytohormony byla zařazena až v roce 2008. Ovšem již mnohem dříve bylo známo, že tyto metabolity jsou vylučovány do půdy z kořenů celé řady druhů rostlin, a že jsou nezbytné pro klíčení semen některých kořenových parazitů z rodů *Striga* či *Orobanche* (záraza). Tento zdánlivě nesmyslný jev, kdy rostliny aktivně podporují růst svých parazitů, byl později uveden na přijatelnou míru experimentálně podloženým zjištěním, že hlavním účelem vylučovaných látek je stimulace růstu a větvení hyf mykorhizních hub, a tedy i urychlení kolonizace kořenů těmito houbami. Bylo také dokázáno, že vylučování strigolaktonů se velmi zvyšuje za nedostatku živin v půdě (především fosforu), kdy mykorhiza je zvláště potřebná. Parazitické rostliny tedy pouze druhotně využily v průběhu koevolučního procesu vylučované specifické metabolity jako signál oznamující přítomnost vhodné hostitelské rostliny.



Nejběžnější strigolaktony: **strigol**



orobanchol

Další výzkum strigolaktonů, který už vedl k jejich zařazení mezi základní fytohormony, byl motivován zjištěním, že tyto sloučeniny se tvoří i v těch rostlinách, které nikdy mykorhizní vztahy nevytvářejí (např. většina druhů z čeledi brukvovitých, včetně modelové rostliny *Arabidopsis thaliana*). Také byl prokázán jejich transport z kořenů do nadzemních částí. Pak už tedy jen zbývalo dokázat, že mají i jiné funkce, než jen regulaci procesů v okolí kořenů. Rychlý pokrok v tomto směru byl umožněn zejména experimenty s celou škálou transgenních rostlin s poruchami tvorby či transportu strigolaktonů, stanovením biochemických cest jejich syntézy v rostlinách a určením genů spojených s procesy syntézy a transportu. Naše znalosti o funkci strigolaktonů však přesto stále ještě nejsou dostatečné.

Zvýšený obsah strigolaktonů v kořenech, indukovaný hlavně nedostatkem živin, stimuluje tvorbu bočních kořenů a kořenových vlásků. Současně ale dochází ke zpomalení růstu primárního kořene. Kořenový systém se proto rozrůstá více do šířky a vzrůstá hustota prokořenění půdy v okolí rostliny. V nadzemních částech strigolaktomy inhibují zakládání či prorůstání bočních pupenů. Rostliny jsou pak méně větvené či mají menší počet odnoží. Vytvářejí tak menší množství nadzemní biomasy a relativně více kořenů (ve srovnání s rostlinami se sníženým obsahem strigolaktonů, tedy např. pokud rostou za dostatku živin). Z toho zřetelně vyplývá zásadní úloha strigolaktonů v optimalizaci poměru mezi nadzemní a podzemní částí rostliny v závislosti na vnějších podmínkách, zejména za měnící se dostupnosti živin. Stimulace mykorhizní kolonizace kořenů strigolaktomy vylučovanými do půdy zajistí dále posiluje adaptační schopnosti rostlin k nedostatku živin.

Mechanismus působení strigolaktonů je dosud značně nejasný. Nejvíce toho zatím víme jen o jejich těsné návaznosti na regulační funkce auxinů a cytokininů. Strigolaktomy jsou schopny měnit rychlost jejich transportu a tudíž i jejich koncentraci v různých orgánech či pletivech. Modifikují tak jejich aktivitu jako „regulátor regulátorů“. Existují však již spolehlivé důkazy i o jejich samostatném ovlivňování některých růstových procesů, bez spoluúčasti jiných fytohormonů – např. indukování meristemické aktivity v kambiu či stimulace růstu kořenových vlásků.

Syntéza strigolaktonů v rostlinách začíná štěpením karotenoidů. Nejčastějším místem syntézy jsou kořeny, odkud jsou rozváděny do nadzemních částí xylémem. V omezeném množství je však jejich tvorba možná i v nadzemních částech. Dosud bylo identifikováno přibližně 20 strigolaktonů, přičemž i v téže rostlině lze najít několik odlišných typů (např. u *Arabidopsis thaliana* je to orobanchol, orobanchyl acetát a 5-deoxystrigol). Jejich výskyt není omezen pouze na evolučně mladší taxonomické okruhy rostlin, lze je najít např. i u mechů.

Metodické přístupy ke studiu fytohormonů

Pokrok ve výzkumu fytohormonů je velmi těsně závislý jak na vhodně voleném koncepčním přístupu, tak i na aplikaci vhodných metod, a to především metod biofyzikálních, biochemických a molekulárně biologických. Tradiční, převážně observační přístup se dnes již téměř nepoužívá. Spočíval ve stanovení vztahu mezi reakcí rostliny a obsahem fytohormonů v příslušných orgánech, či reakce rostliny po umělé aplikaci fytohormonu na její jistou část. Výzkumné práce prováděné v současné době využívají převážně rostliny geneticky pozměněné (mutanti, transgenní rostliny) se zvýšenou či sníženou tvorbou určitého fytohormonu, a nebo se zvýšenou tvorbou enzymů fytohormon rozkládajících či naopak uvolňujících z inaktivních forem.

V naprosté většině pokusů vycházíme z předpokladu, že limitující je jen koncentrace fytohormonu, nikoli recepce a přenos signálu. Tento předpoklad ale nemusí být vždy správný. Další nepříjemnou komplikací pokusů bývá vzájemné ovlivňování několika současně přítomných fytohormonů, které lze stěží vyloučit. Některé fytohormony těž mohou velmi rychle a vratně přecházet do méně aktivních či zcela inaktivních konjugovaných forem.

Aktivní koncentrace fytohormonů v rostlinách bývají velmi nízké (nejčastěji v rozmezí od 10^{-12} až po 10^{-6} M), a proto metody pro jejich stanovení musí být velmi citlivé a navíc dostatečně selektivní. Vlastní stanovení obvykle začíná extrakcí z čerstvého vzorku a převedením do bezvodých organických rozpouštědel. Pak následuje pracná separace a čištění (především chromatograficky). Ke konečné kvantitativní detekci vyčištěných vzorků se nabízí celá řada metod s velmi rozdílnou přesností. **Fyzikálně-chemické metody** zcela převládají - zejména vysokotlaká kapalinová chromatografie (HPLC) s různými typy detektorů, dále plynová chromatografie (GC), a to často ve spojení s hmotovou spektrometrií (GS-MS).

Imunologické metody mají extrémní citlivost, nedostížnou jinými postupy. Jejich širšímu využití však brání obtížná příprava a tím i vysoká cena specifických protilátek (*imunoglobuliny*, které jsou produkovány pouze živočišnými buňkami). Také nároky na čistotu extraktů jsou vysoké. Existuje řada modifikací imunologických metod s využitím radioizotopů či enzymů.

Biotesty jsou z hlediska selektivity a kvantitativního stanovení fytohormonů naopak nejméně přesné, ale přesto se i dnes občas používají, a to zejména pro posouzení *biologické účinnosti* fytohormonů. Zejména se jedná o fytohormony vytvářející početné skupiny chemicky příbuzných sloučenin (např. gibereliny či cytokininy), které se mohou velmi podstatně lišit i za stejné koncentrace v mohutnosti svých účinků. Pro každou skupinu fytohormonů byly vypracovány standardní postupy na vhodných testovacích objektech (např. pro gibereliny rychlost růstu hypokotyly salátu). K biotestům se samozřejmě již nepoužívají hrubé extrakty z rostlinných orgánů, jak tomu bylo dříve, ale již separované a přesně definované sloučeniny.

Vnější faktory regulující růst a vývoj

Růst každé rostliny v přírodě je ovlivňován desítkami nejrůznějších *vnějších* fyzikálně-chemických faktorů, které jsou navíc ve vzájemných interakcích. Zkoumat celý tento komplex je prakticky nemožné. Naštěstí významnost jednotlivých vnějších faktorů není stejná, a lze tedy přednostně studovat působení těch nejdůležitějších, ke kterým nepochybně patří *záření a teplota*.

Fotorecepce, vlastnosti fytochromů a kryptochromů

Záření je pro rostliny v první řadě zdrojem energie. V kapitolách věnovaných fotosyntéze jsme si již vysvětlili, jakým způsobem je fotosynteticky účinná část spektra rostlinou zachycena a využita. Vazba radiální energie do asimilátů je jistě základním předpokladem růstu, ale není to jediný způsob, jak záření může působit na růst. Záření je totiž pro rostliny nejen zdrojem energie, *záření je i zdrojem důležitých informací o vlastnostech prostředí, ve kterém se nacházejí*. Na základě těchto informací pak mohou usměrňovat růst, vývoj i pohyby jednotlivých svých částí takovým způsobem, aby bylo zajištěno přežití a reprodukce v daném typu prostředí. Informační význam nemá jen *množství* záření a *směr* ze kterého dopadá na rostlinu, ale i *spektrální složení a periodicitu* (střídání světla a tmy v průběhu dne).

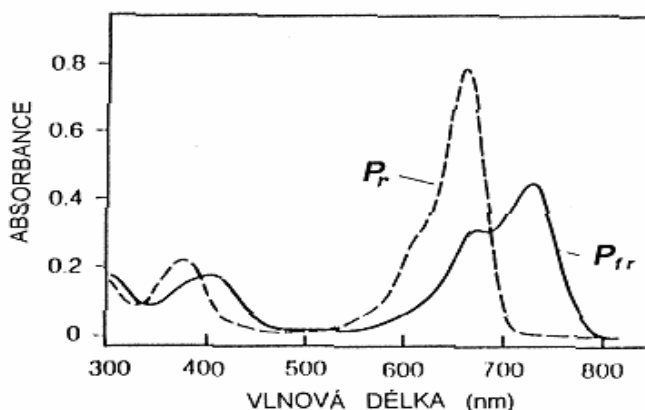
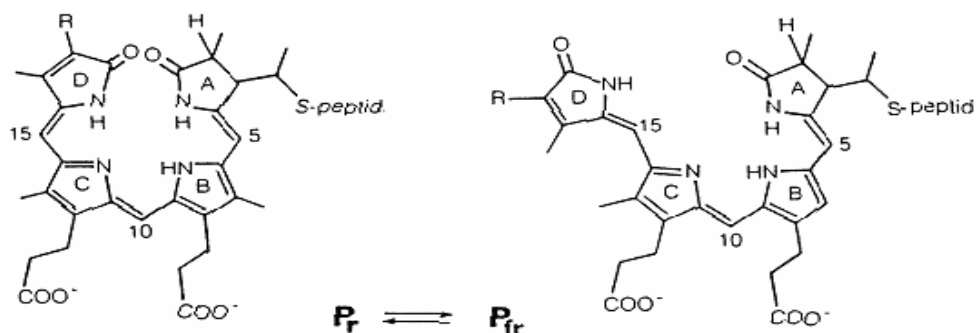
Aby rostlina vůbec mohla využít informace přenášené zářením, je nutná jeho absorpce, dále pak převod a zesílení přijatého signálu. Jako *fotoreceptor* slouží specializované barevné sloučeniny (*pigmenty*). Některé z nich pohlcují jen dlouhovlnné červené záření, jiné zase mají maximum absorpce v krátkovlnné oblasti (modrá a fialová část spektra).

Fytochromy jsou nejdůležitější a také nejlépe prozkoumanou skupinou fotoreceptorů. Jsou to proteiny (obvykle homodimery) volně pohyblivé v cytosolu, které mají kovalentně (přes siřný můstek) připojen tetrapyrolový lineární řetězec (*fytochromobilin*). V důsledku přítomnosti této chromofórové skupiny mají charakter barviva (pigmentu) s velmi účinnou absorpcí některých složek světla. V každé rostlině se obvykle může vytvářet (v závislosti na podmínkách prostředí a ontogenetickém stádiu) několik různých fytochromů které mají rozdílné proteinové nosiče (*apoproteiny*), zatímco chromofór je u všech stejný. U dosud zkoumaných dvouděložných druhů bývá fytochromů nejčastěji pět (označovaných písmeny A, B, C, D, E), u jednoděložných byly zjištěny jen tři (A, B, C). Apoprotein u fytochromu A (který je v hojné míře syntetizován u rostlin za nedostatku záření či v úplné tmě) je značně specifický a bývá označován jako *typ I*. Strukturálně-funkční vlastnosti apoproteinů ostatních fytochromů syntetizovaných u rostlin až po jisté době osvětlení (označované souhrnně jako

proteiny typu II) jsou si značně podobné, i když v rostlinách plní i některé specifické funkce.

Fytochromobilin je syntetizován v plastidech (dostí podobnou biochemickou cestou, jaká je využívána pro syntézu chlorofylu), pak je exportován do cytosolu, kde dojde k jeho autokatalytickému napojení na příslušný apoprotein.

Každý z uvedených fytochromů může vytvářet dvě snadno vratné **formy**. Základní forma všech typů fytochromů má světle modrou barvu a maximum absorpce ve spektrální oblasti **jasně červeného záření (660 nm)**. Označuje se zkratkou **P_r**, (**Phytochrome - red**). V této formě jsou fytochromy rostlinami syntetizovány. Po ozáření světlem obsahujícím jasně červenou složku dojde v chromoforu k izomerační změně a barva fytochromu se změní na olivově zelenou s maximem absorpce v tmavě červené oblasti (**730 nm**). Tuto druhou formu, označovanou jako **P_{fr}** (**Phytochrome - far red**) lze převést zpět na základní formu ozáření tmavě červeným světlem



Chromofor molekuly fytochromu a absorpční spektra obou reverzibilních forem, **P_r** a **P_{fr}**.

Mezi oběma formami fytochromů jsou zcela zásadní rozdíly ve fyziologických účincích. **Procesy v rostlinách jsou aktivovány jen formou P_{fr}**. Rozdíly v účinnosti obou forem jsou dány změnami ve struktuře základního proteinu (ne v chromoforu), který funguje jako autokatalyzující proteinkináza (blíže bude popsáno v dalším textu).

K transformaci jisté části **P_r** na **P_{fr}** u vysoce citlivého fytochromu **A** postačuje velmi nepatrné množství záření s obsahem červené složky (asi 200 J m⁻², což je méně než 1 % přijaté energie z plného slunečního záření za dobu jedné minuty). Tato transformace však není úplná ani při delším ozáření jen jasně červeným světlem, což ostatně vyplývá z překryvu absorpčních křivek obou forem fytochromů. V rostlinách vystavených světlu se proto vyskytují obě formy fytochromů, ovšem jejich poměr se může měnit v závislosti na aktuálním spektrálním složení dopadajícího záření. *Forma P_{fr} je však velmi málo stabilní a proto i bez ozáření tmavě červeným světlem se u zatemněných rostlin samovolně vrací na P_r a částečně se také rozkládá.*

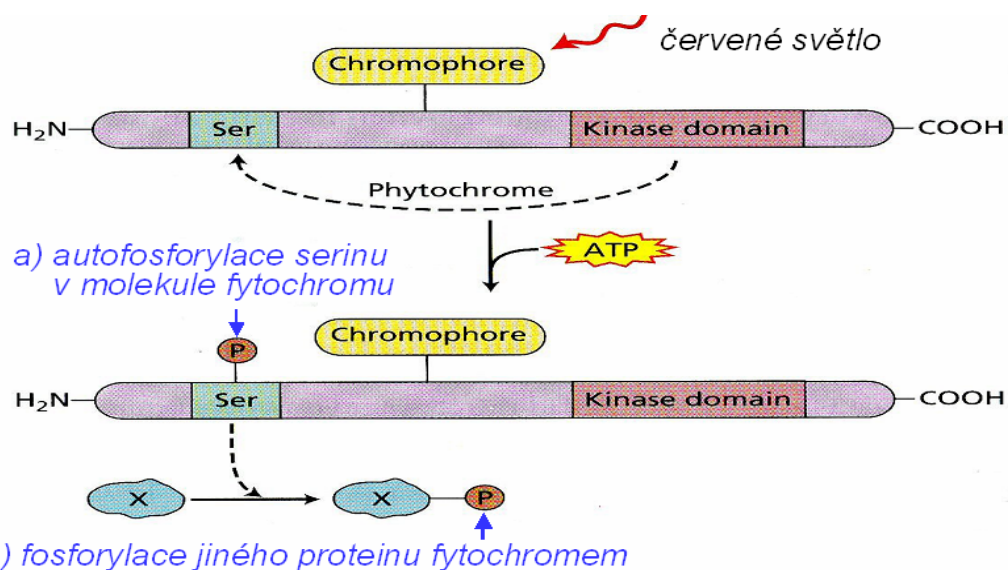
Je důležité si uvědomit, že fytochromy mohou rostlinám zprostředkovat informace o *několika odlišných vlastnostech vnějšího prostředí*, a sice:

(a) **zda se rostlina nachází ve tmě či na světle:** v tomto případě může postačovat jako spouštěcí signál pouze *přítomnost* i velmi malého množství aktivní formy fytochromů, které se vytvoří i při velmi slabém osvětlení (přesněji malou *dávku* záření) bez ohledu na jeho spektrální složení. Mezi nejcitlivější reakce na přítomnost záření patří inhibice růstu stonku (u semenáčků hypokotylu či mezokotylu) při rušení etiolace (nadměrného „vytahování“ zatměných rostlin, pokud se např. při klíčení v půdě dostane výhonek nad její povrch). Reakci vyvolá již přeměna 0,02% zásoby fytochromů na aktivní formu.

(b) **jaké je spektrální složení světla v daném prostředí,** zejména jaký je poměr mezi zastoupení jasně červené a tmavě červené složky (R/FR). Tento poměr indikuje zejména stupeň zastínění daného místa jinými rostlinami (či hustotu porostu). Záření vlivem selektivní absorpce kratších vlnových délek (400-700 nm) asimilačními barvivy má pod hustšími porosty výrazný nadbytek tmavě červené složky ($R/FR \cong 0,2$), zatímco na nezastíněných místech bývá $R/FR \cong 1$. Změny spektrálního složení světla ovlivňují *poměr* mezi množstvím aktivní a neaktivní formy fytochromů v rostlinách, a právě tento poměr může mít zásadní význam pro řízení celé řady fyziologických procesů zahrnujících klíčení semen, aktivaci celé řady metabolicky významných enzymů, a především morfogenetické procesy (zakládání nových odnoží a listů, řízení tvaru a velikosti listů a stonků, aj.). Rostliny tolerující zastínění (*sciogyta*) mají mnohem slabší reakce na pokles poměru R/FR, než rostliny světlomilné (*heliofyta*).

(c) **jaká je délka dne či noci** (tedy délka světlé a tmavé periody v rámci denního cyklu), což je důležité pro řízení fotoperiodicky závislých procesů v rostlinách. Tato funkce fytochromů je propojena s vnitřní časovírou a bude podrobněji popsána v další kapitole.

Mechanismus působení fytochromů na fyziologické procesy je již vcelku uspokojivě prozkoumán. Přeměna neaktivní formy (P_r) do aktivní formy (P_{fr}) fytochromu je provázána autokatalytickou fosforylací (přenosem fosfátového iontu z ATP na vlastní molekulu, ze které pak může být přenášena na jiné proteiny a tím aktivovat jejich funkce). Fytochromy jsou tedy zářením regulované *proteinkinázy (serin/threoninového typu)*, u kterých při fosforylaci dojde současně i k jistým koformačním změnám, usnadňujícím jejich transport do jádra a následnou aktivaci transkripčních faktorů a tím i genové exprese. Je ale známo, že fytochromovou signální cestou mohou být aktivovány i represory některých genů.



Schématické znázornění funkce fytochromu jako autofosforylující proteinkinázy řízené světlem

I když většina aktivované formy fytochromů přechází do jádra, přesto jistá část zůstává v cytosolu (v těsné blízkosti membrán), kde může působit jako aktivátor některých rychlých procesů nezávislých na expresi genů. Zejména se jedná o aktivace metabolicky významných enzymů a transportních proteinů v membránách, včetně protonových pump. Tím může dojít ke zprostředkování např. světlem řízených změn v dlouhivém růstu, které jsou měřitelné již v průběhu několika minut.

Jak již bylo zmíněno na začátku této kapitoly, v každé rostlině je syntetizováno několik druhů fytochromů (s odlišným apoproteinem), a jejich zastoupení je různé v jednotlivých orgánech, a také se mění v průběhu ontogeneze. Každý z nich má v rostlinách poněkud odlišnou funkci (danou odlišností v biochemické reaktivitě), a proto popis mechanismu regulace určitého konkrétního procesu v rostlinách platí jen pro příslušný typ fytochromu, který je do něho zapojen. Detailní popis jednotlivých regulačních cest a regulovaných procesů je již mimo rozsah tohoto učebního textu – vždyť jen u modelové rostliny *Arabidopsis thaliana* je již známo několik tisíc genů, jejichž exprese je regulovaná zářením se zapojením fytochromové signální cesty. Náš výklad proto bude omezen jen na několik nejdůležitějších funkčních rozdílů.

Fytochrom A zprostředkovává hlavně reakce za velmi nízkých dávek záření (VLFR = *very low fluence response*, viz rámeček), zatímco *fytochrom B* je hlavním mediátorem reakcí typu LFR a HIR. Ostatní fytochromy (C, D, E) mají většinou jen přídatnou, orgánově specifickou funkci (např. prodlužování řapíků listů, stonkových internodií), ale jsou také potřebné i pro fotoperiodické řízení tvorby květů. Naše znalosti o jejich funkcích však ještě zdaleka nejsou uspokojivé, protože se s jejich výzkumem začalo relativně nedávno.

Tři hlavní typy reakcí řízené fytochromy

VLFR (*very low fluence response*)

reakce, které jsou spouštěny již **přítomností nepatrného množství formy P_{fr}** (0.02% z $P_r + P_{fr}$), vytvořené již za extrémně malé dávky záření - od 0,1nmol fotonů m^{-2} (např. inhibice růstu hypokotylu, reakce nejsou vratné!).

LFR (*low fluence response*)

reakce, které vyžadují **dostatečně vysoký poměr P_{fr}/P_r** , stačí však **malá dávka záření** (od 1 μ mol m^{-2} fotonů), jsou snadno vratné (např. stimulace klíčení).

HIR (*high irradiance response*)

reakce vyžadující **velkou dávku záření** (plné denní světlo **po dobu několika hodin**), např. deetiolace, syntéza chlorofylu. Nejsou citlivé na změny poměru P_{fr}/P_r , nejsou vratné, a na jejich řízení se podílí i receptory modrého záření.

Po dlouhou dobu bylo záhadou, proč reakce typu VLFR probíhají i při působení tmavě červeného světla (730 nm). K vysvětlení tohoto paradoxního jevu je nutné si uvědomit, že konverze forem fytochromů není v žádné spektrální oblasti úplná. Při ozáření tmavě červeným světlem se sice přemění 97% z celkového obsahu fytochromů do fyziologicky neaktivní formy, ale zbývající 3% zůstávají v aktivní formě (P_{fr}). Přitom pro aktivaci reakcí VLFR stačí již velmi nepatrné množství formy P_{fr} (0,02%) z celkového množství fytochromů.

Receptory modrého záření

Kromě fytochromů je ve všech rostlinách přítomna ještě jiná skupina fotoreceptorů aktivovaná pouze krátkovlnným zářením. Jak bylo dokázáno přesným měřením akčních spekter, tento typ fotoreceptorů je citlivý nejen na modré a fialové světlo, ale i na část ultrafialového záření (UV-A), v celkovém rozmezí vlnových délek asi od **320** do **500 nm**. Izolace a identifikace těchto pigmentů byla (a stále je) obtížná, i když k nejvážnější kandidátům již delší dobu patřily flavoproteiny a karotenoidy. V současné době známe tři odlišné typy receptorů modrého záření: kryptochromy, fototropiny a zeaxanthin.

Kryptochromy jsou proteinové pigmenty blízké příbuzné *fotolyázám*, což jsou enzymy opravující poškození DNA po působení UV záření. Na bílkovinný nosič je navázána jednak molekula **FAD** (flavin adenin dinukleotid), ale také *pterin*. Kryptochromy v rostlinách nejčastěji zprostředkují inhibici růstu stonku a hypokotylu po ozáření světlem s obsahem modré barvy.

Fototropiny jsou zapojeny, jak již název napovídá, především do regulace fototropických reakcí (zakřivování částí rostlin vyvolané jednostranným ozářením, bude podrobněji popsáno v další kapitole). Podílí se ovšem i na některých dalších reakcích, zejména na celkové inhibici růstu stonku (ve spolupůsobení s kryptochromy) a na světlem aktivovaných vnitrobuněčných přesunech chloroplastů při náhlých změnách ozářenosti listů (slouží k omezení možné destrukce fotosyntetického aparátu nadbytečnou absorpcí záření). Fototropiny mají charakter autofosforylujících proteinkináz typu serin/threonin, ve kterých na nosný protein jsou navázány dva komplexy **FAM** (flavin adenin mononukleotid).

Zeaxanthin je karotenoid, který hraje hlavní roli při světlem řízené otevírací reakci průduchů. Zeaxanthin vzniká snadnou přeměnou z violaxanthinu v thylakoidních membránách chloroplastů. V mezofylových buňkách dochází k jeho tvorbě až při vysoké ozářenosti listů a jeho funkcí je chránit fotosyntetický aparát před destrukcí nadbytkem excitační energie. Ve svěřacích buňkách ale dochází k jeho tvorbě již při velmi malé ozářenosti (ráno za svítání), a jeho množství v průběhu dne stoupá či klesá paralelně se změnami záření. Na aktuální koncentraci zeaxanthinu v chloroplastech svěřacích buněk závisí intenzita signálu, který je přenášen z chloroplastu k plazmatické membráně, kde jsou jím aktivovány protonové pumpy (H^+ -ATPázy). Následná změna transmembránového potenciálu vede ke vstupu draslíkových iontů a vody do svěřacích buněk a k jejich rozevření zvýšeným turgorem.

Vliv záření na klíčení, růst a morfogenezi - ekologické aspekty

Světlo jako zdroj informace o vnějším prostředí ovlivňuje růst rostlin už od klíčení semen. Z přibližně jednoho tisíce dosud zkoumaných druhů bylo zhruba u dvou třetin zjištěno, že jejich semena jsou lépe klíčivá na světle než ve tmě. U semen zbývajících třetiny buď nebyla zjištěna žádná závislost nebo byla naopak klíčivost světlem inhibována. Pokusme se nyní vysvětlit, jaké mohou být příčiny těchto jevů.

Jestliže zdravé semeno neklíčí, ačkoli vnější podmínky jsou pro klíčení příznivé, nachází se ve stavu **dormance** (někdy ovšem termín dormance bývá používán pro jakýkoliv klidový stav, tedy i pro případ suchých semen). Živá semena, která ani za dostatku vody, příznivé teploty a kyslíku, ale bez přístupu světla neklíčí, označujeme jako *fotodormantní*.

Již v klasických pokusech s fotodormantními semeny salátu, které vedly k objevu fytochromů, byl zjištěn rozhodující vliv červeného světla na jejich klíčení. Jak již dnes víme, přítomnost jistého množství aktivní formy fytochromů (**P_{fr}**), vytvořené z inaktivní formy (**P_r**) působením světla s významným podílem jasně červené složky, významně podporuje klíčení. V suchých semenech může být jisté množství aktivní formy fytochromů uloženo, někdy (zejména u drobných semen) ale nikoliv.

Tyto rozdíly jsou závislé hlavně na podmínkách, za kterých semena dozrávají. Pokud při dozrávání převažuje tmavě červená složka světla nad červenou (což je vždy, když světlo proniká k dozrávajícím semenům strukturami obsahujícími chlorofyl), pak po dozrání tato semena obsahují převážně jen neaktivní P_r a v důsledku toho jsou fotodormantní. Pokud jsou však při dozrávání příznivé podmínky pro tvorbu P_{fr} , pak bývá i větší množství této aktivní formy fytochromů v semenech uchováno. Taková semena pak mohou být po ovlhčení klíčivá i ve tmě (nejsou fotodormantní). Avšak i u těchto semen může dojít k inhibici klíčení z jiných důvodů.

Spektrální složení světla bývá na různých stanovištích v přírodě velmi odlišné. Jak bylo již zmíněno, pod korunami lesních stromů, stejně tak i pod hustým listovým zápojem jiných porostů (louky, polní plodiny) je však až pětikrát více tmavě červeného světla (o vlnové délce 700 až 750 nm) než světla jasně červené barvy, což vede ke snížení obsahu aktivní formy fytochromů a tudíž to může vést i k inhibici klíčení těch semen, která leží na povrchu půdy. Je však nutno poznamenat, že citlivost k tomuto inhibičnímu působení je u různých druhů odlišná - u světlomilných rostlin je podstatně větší než u druhů snášejících stín.

Při hlubším studiu fotodormance nás nemůže uspokojit pouhé zjištění, že přítomnost aktivní formy fytochromů (P_{fr}) je pro klíčení nutná, ale ptáme se, proč je vlastně nutná, tedy jakým mechanismem ovlivňuje procesy spojené s klíčením semen. Pro kauzální analýzu je důležitý poznatek, že největší účinek má záření zachycené embryem (v oblasti hypokotylu a radikuly), nikoliv dělohami. Naše současná představa je taková, že klíčovou funkci má aktivní forma fytochromů obsažená v buňkách, které vstupují do fáze dlouhivého růstu. Působí stimulačně především na transportní proteiny v membránách. Tím dojde ke vzestupu osmotického tlaku buněk, což je předpokladem zvýšení jejich turgoru, na kterém dlouhivý růst závisí. Pokud je turgorový tlak nízký, semeno neklíčí. Stejně tak dobře může být důležitá i aktivace některých enzymů v cytosolu, a to fytochromy zprostředkovanou fosforylací.

Nelze zatím spolehlivě odpovědět na otázku, jak fytochromy při rušení fotodormance ovlivňují koncentraci a účinek fytohormonů. Jako velmi pravděpodobné se ukazuje ovlivnění tvorby giberelinů a cytokininů, o nichž je známo, že při aplikaci na dormantní semena mohou nahradit účinek P_{fr} . Také je možné uvažovat o vlivu aktivní formy fytochromů na odbourávání inhibitorů klíčení, především kyseliny abscisové.

Účinky světla na procesy spojené s tvorbou jednotlivých orgánů (*morfogenezi*) jsou výrazné u mladých rostlin hned po vyklíčení. U trav je světlem zastavován růst mezokotylu i koleoptile, a současně je stimulováno rozvinutí stočených listů. Tyto procesy jsou řízeny fytochromovým systémem - lze je navodit již velmi slabým červeným světlem. V tomto případě je zřejmě fytochromy stimulována tvorba giberelinů, či alespoň zvýšena citlivost některých buněk na jejich působení. Aplikací giberelinů totiž dosáhneme stejného efektu jako působením červeného světla.

U klíčících rostlinek dvouděložných druhů je jednou z prvních nápadných reakcí na světlo *narovnění ohybu hypokotylu* (i epikotylu). Tento ohyb je pravděpodobně vyvoláván působením etylénu, jehož syntéza je na světle zastavena. Působením světla se dále zrychluje růst plochy listů i délka řapíku. Velmi rychle, často během několika hodin, dochází k tvorbě chlorofylu a plně funkčních chloroplastů z proplastidů, tedy včetně řádně fungujících thylakoidních membrán a enzymů nutných pro zabezpečení asimilačních procesů.

Nejen u semenáčků, ale i u dospělých rostoucích rostlin je světlem *zpomalována rychlost růstu stonku* a jiných nadzemních částí (např. listů trav). Na této inhibici se významně podílí oba systémy fotoreceptorů (fytochrom i kryptochrom). Modré světlo má často rychlejší a výraznější účinek.

Fotoperiodicky řízené procesy růstu a vývoje

V těch oblastech naší planety, kde dochází k velkým a pravidelně se opakujícím změnám klimatických faktorů (což je kromě tropických oblastí téměř všude), je pro rostliny velice důležité, aby průběh jejich fyziologických funkcí byl synchronizován s ročními klimatickými cykly. Nestačí pouhé přizpůsobování se okamžitému stavu vnějších faktorů. Mnohé procesy v rostlinách potřebují ke zdárnému dokončení dosti dlouhou dobu (např. tvorba květů a dozrání semen), u některých je dokonce naprosto nezbytné, aby započaly ještě *před* vlastním působením kritického faktoru (např. zvýšení odolnosti vůči mrazu). Proto je pro rostliny tolik potřebná informace, v jakém ročním období se nacházejí. I v tomto případě hraje hlavní úlohu záření a jeho příjem fytochromovým systémem.

Nejspolehlivějším ukazatelem fáze ročního cyklu je pro rostliny rostoucí v téže zeměpisné šířce délka světelné části dne (fotoperiody) a její postupné změny (zkracování, prodlužování). Všechny reakce rostlin, které jsou závislé na jisté délce fotoperiody, nazýváme *reakce fotoperiodické*. Daleko nejpodrobněji byly tyto reakce zkoumány v souvislosti s tvorbou květů, ale velký význam má délka fotoperiody i na klíčení, rychlost růstu, tvorbu odnoží, translokaci asimilátů a mnohé další procesy.

Popis fotoperiodických závislostí v obecné rovině je mimořádně obtížný, neboť v nich panuje obrovská mezidruhová variabilita. Není divu, vždyť jednotlivé rostlinné druhy, a to i ty, které dnes rostou v přírodě pohromadě, často mají svůj původ v oblastech s odlišným radiačním režimem (daným zeměpisnou šířkou). Navíc, vzhledem k rozdílné rychlosti růstových a vývojových procesů, může mít pro ně informace o délce dne nestejnou důležitost. Co je však zvláště závažné, to je *rozdílná spojitost mezi délkou dne a klimatickou příznivostí* pro růst rostlin v různých oblastech naší planety. Tak např. zkracování délky dne je pro rostliny v našem klimatickém pásmu významnou informací o nástupu teplotně nepříznivého období (zimy), ale pro rostliny rostoucí v oblastech s mediteránním typem klimatu je to naopak informace o nástupu období příznivého pro růst, neboť po letním suchu bude konečně dostatek srážek.

Podívejme se nejprve na některé *fotoperiodické závislosti kvetení*. Jen málo druhů zakládá květy zcela bez jakékoliv vazby na délku fotoperiody (*fotoperiodicky neutrální rostliny*, z běžně pěstovaných druhů např. rajče, okurka či fazol). Častěji se setkáváme s nároky na jistou délku dne (fotoperiody), a podle toho rozdělujeme rostliny na dlouhodobní a krátkodobní.

U rostlin absolutně (či obligátně) *dlouhodobních* (např. ředkvička či špenát) dochází k tvorbě květů výhradně až po překročení určité minimální délky dne. Tato kritická délka dne je specifická pro různé druhy, ale obvykle bývá delší než 12 hodin. U fakultativně dlouhodobních rostlin se s prodlužováním délky dne pouze zvyšuje pravděpodobnost tvorby květů, avšak jisté procento jedinců vykvétá i za krátkého dne.

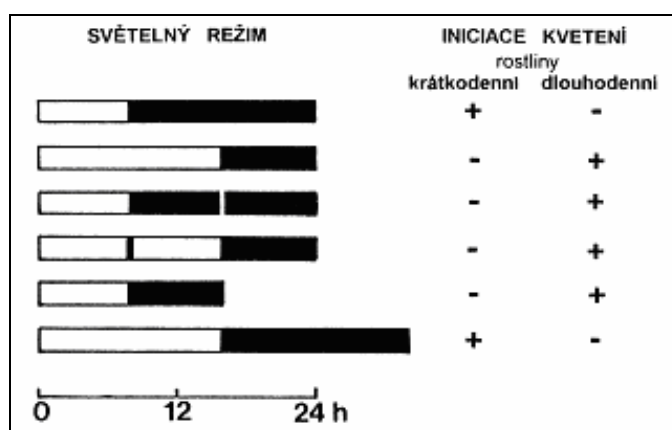
Dlouhá fotoperioda naopak inhibuje tvorbu květů u *krátkodobních* rostlin (např. některé druhy chryzantém, merlík bílý). Také zde se setkáváme s rostlinami absolutně a fakultativně krátkodobními. Nověji byly vyčleněny ještě další kategorie, jako např. rostliny *dlouho-krátkodobní*, které vytvářejí květy sice za krátkého dne, ale pouze tehdy, jestliže předcházelo období s dlouhými dny, (tedy jen na podzim a nikoli na jaře, i když aktuální délka dne může být v obou ročních dobách shodná.). K takovým rostlinám patří např. *Bryophyllum crenatum*. Je potřeba ještě upozornit, že i různé odrůdy téhož druhu se mohou značně lišit ve svých nárocích na délku dne, některé mohou být krátkodobní a jiné dlouhodobní. Také teplota v průběhu kultivace může značně měnit fotoperiodickou závislost!

I v rámci téže kategorie fotoperiodické závislosti jsou velké mezidruhové rozdíly v počtu dní, který je nutný k navození reakce - v extrémním případě může být kvetení iniciováno jediným denním cyklem (např. u několika druhů trav, merlíků, okřehků aj.), většinou je však zapotřebí cyklů několik.

Při fenomenologickém výzkumu fotoperiodismu bylo provedeno obrovské množství pokusů, ve kterých se zejména využívalo rostlin s kvetením absolutně závislým na fotoperiodě a navíc s jednodenní indukční dobou, jako např. merlík červený (*Chenopodium rubrum*), nebo řepeň durkoman, (*Xanthium strumarium*). Bylo dokázáno, že pro krátkodenní rostliny, ke kterým patří právě merlík a řepeň, není důležitá délka světelné části dne, ale musí být přesně dodržena **dostatečná délka noci**. Ta navíc nesmí být přerušena ani krátkým osvětlením světlem které obsahuje červenou část spektra (tedy např. běžným denním či umělým světlem bez selektivních filtrů). Pokud by ovšem následoval osvit tmavě červeným světlem, indukce kvetení by proběhla normálně. **Účast fytochromů** v řízení fotoperiodických reakcí byla dokázána i v jiných typech pokusů.

Jak se dalo očekávat, přerušení "dne" krátkým zatemněním bylo téměř vždy bez účinku (krátké zatemnění nemá vliv na změnu forem fytochromů). Zato krátký osvit v průběhu noci působil i na dlouhodenní rostliny - ovšem opačně než na krátkodenní - vedl k indukci kvetení.

Pro vysvětlení mechanismu fotoperiodické stimulace či inhibice zakládání květů bychom v první řadě potřebovali znát jakým způsobem vlastně rostlina "měří" délku dne či noci. Jednou z možností se zdála být postupná autoreverze P_{fr} na P_r , ke které dochází ve tmě. K indukci fotoperiodické reakce by pak mohlo být důležité dosažení jistého poměru mezi P_{fr} a P_r či úplná absence formy P_{fr} . Jak již víme, narušení tmavé periody světlem, při kterém se rychle mění poměr mezi P_{fr} a P_r , má pro fotoperiodickou reakci vždy vážné následky.



Iniciace kvetení (+) u krátkodenních a dlouhodenních rostlin za různého světelného režimu.

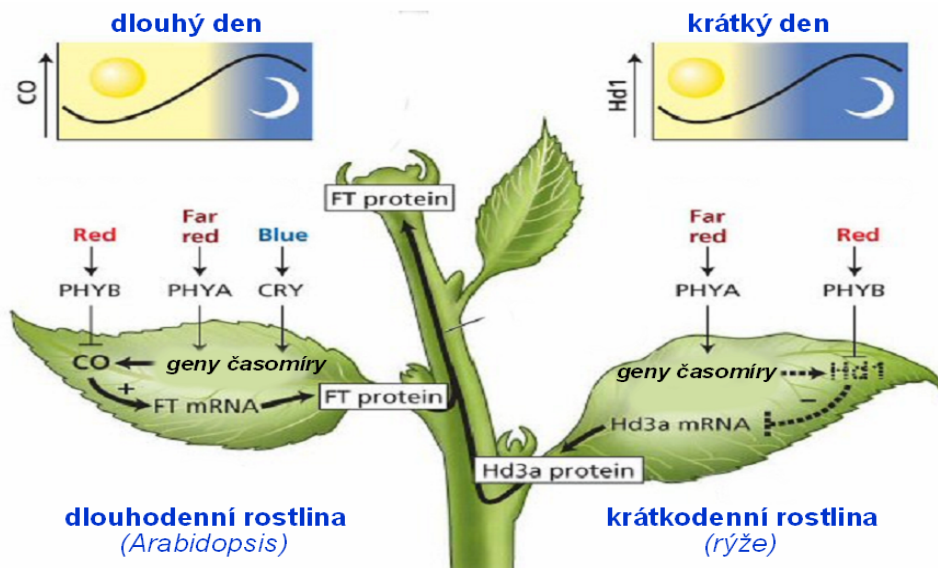
Podrobnější analýza výrazných vnitřních výkyvů v citlivosti k fotoperiodické indukci (např. při uměle prodlužované temné periodě či při narušování temné periody krátkým osvětlením v různou dobu od začátku zatemnění) ukázala, uvedený řídicí systém typu "přesýpacích hodin", navíc spoléhající pouze na poměrně jednoduchou reakci, nemůže uspokojivě vysvětlit řízení všech fotoperiodicky závislých dějů. Účast fytochromového systému je zajisté nezpochybnitelná, ovšem jeho k jeho řídicí funkci bude ve většině případů fotoperiodicity nutná spolupráce s vnitřní časomírou oscilátorového typu ("*biologické hodiny*", blíže v další kapitole).

Rouškou tajemství byl dlouho také zahalen způsob **tvorby a přenosu signálu pro kvetení** uvnitř rostliny. Bylo bezpečně prokázáno, že fotoperiodická indukce tvorby květních základů neprobíhá přímo v apikálním meristému. Délku dne (respektive noci) detekují *listy* a informace musí být do meristému nějakým způsobem přenesena. Skutečnost, že jde o látkový přenos, bylo možné dokázat např. roubováním neindukovaného vrcholu na indukovanou rostlinu, či stanovením doby nutné k přenosu indukčního signálu (řádově hodiny). Spekulovalo se o existenci zvláštní látky (pracovně označované jako "*florigen*"), avšak úsilí o jeho izolaci dlouho nebylo korunováno úspěchem.

To pak vedlo k názoru, že na indukci květů se asi podílí současně více látek (fytohormonů i jiných metabolitů) ve vzájemné interakci. Soustředěným úsilím několika vědeckých kolektivů a s použitím moderních metod molekulární biologie se ale v nedávné době konečně podařilo mnohé z uvedených záhad vyřešit. Bylo dokázáno, že skutečně specifická sloučenina indukující tvorbu květů ("florigen") existuje, má bílkovinnou povahu, a je u dlouhodobých rostlin jiná než u krátkodobých.

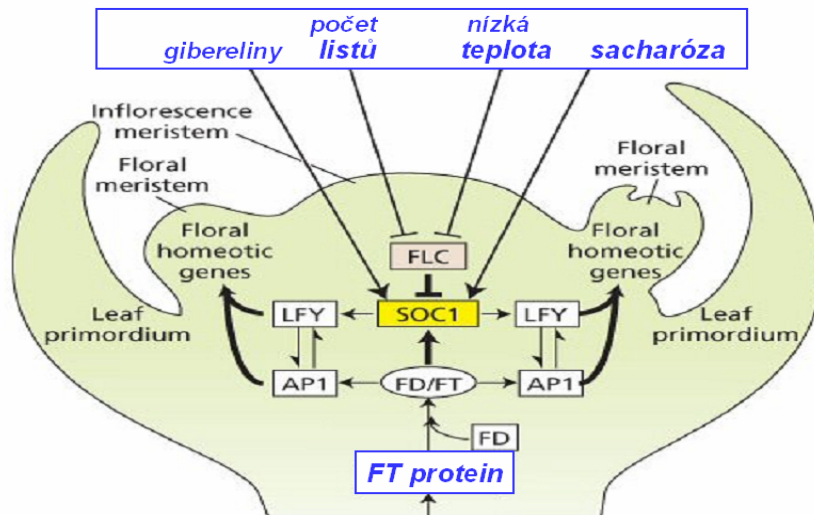
Proces fotoperiodické indukce kvetení začíná skutečně v listech, a sice rytmickými změnami obsahu specifických proteinů, jejichž tvorba je převážně řízena vnitřní časovírou. U **dlouhodobých rostlin** (např. *Arabidopsis thaliana*) se jedná o protein označovaný zkratkou svého kódujícího genu **CO** (**CONSTANS**). Jeho tvorba se začíná zvyšovat až ve druhé polovině diurnálního (24h) cyklu, a s nástupem noci dochází k jeho rozkladu (což je řízeno fytochromy). Pokud k nástupu noci dochází později (za dlouhé fotoperiody), dochází k mnohem většímu nahromadění proteinu CO než za krátkého dne. Protein CO stimuluje aktivitu genu **FT** (**FLOWERING LOCUS T**), a tím i tvorbu příslušného proteinu (**FT protein**), který je z listů transportován lým do apikálního meristému prýtu a je schopen (je-li ho dostatečné množství, tedy za dlouhého dne, a také až po spojení s regulačním proteinem FD který se tvoří v apikálním meristému) indukovat procesy vedoucí k tvorbě základů květů. Plní tedy úlohu toho dlouho hledaného mobilního přenašeče signálu mezi listy a apexem.

U krátkodobých rostlin (modelovou rostlinou bývá rýže) je situace poněkud odlišná. V listech se také s pravidelnou denní rytmitou vytváří specifický protein (označovaný zkratkou **Hd1**, jehož nahromadění je také větší za delší fotoperiody, jenže (na rozdíl od analogického proteinu CO u dlouhodobých rostlin), je tento protein inhibítoem exprese funkčně navazujícího genu (**Hd3a**). Čím kratší je tedy fotoperioda, tím méně se vytváří inhibitoru **Hd1**, a tím více je syntetizováno proteinu **HD3a**, který u krátkodobých rostlin plní úlohu mobilního přenašeče signálu pro tvorbu květů z listů do apikálního meristému.



Schématické znázornění tvorby a přenosu fotoperiodického signálu z listů do apikálního meristému prýtu. Bližší popis je uveden v textu.

Iniciace tvorby základů květů v apikálním meristému není ovšem proces jednoduše závislý jen na dostatečném přísunu mobilních proteinů (FT či Hd3a) z listů. Jak je patrné z následujícího obrázku, tyto proteiny nejsou jedinými možnými iniciátory květotvorného procesu. Je také zřejmé, že květotvorný signál přenášený z listů může aktivovat květotvorbu jen se spoluúčastí regulačních proteinů tvořených přímo v meristému.



FT protein po transportu z listů se v apikálním meristému spojuje s proteinem FD a vytváří tak regulační komplex FD/FT, který je schopen aktivovat květovorný gen LFY, ovšem nepřímo, a to buď cestou přes aktivaci genu API, či přes aktivaci genu SOC1. Druhá cesta je využívána i při působení jiných faktorů, schopných za jistých okolností indukovat tvorbu květů, zejména vnější vernalizační signál (při působení nízkých teplot) a vnitřní (autonomní) signál, vznikající při dostatečném počtu listů. Oba tyto signály působí inhibičně na expresi genu FLC, jehož produkt je inhibítozem genu SOC1. Gibbereliny a vyšší obsah sacharózy jsou schopny indukovat kvetení přímou aktivací genu SOC1.

Délka fotoperiody ovlivňuje kromě kvetení i celou řadu dalších procesů, zejména rychlost růstu. Mnoho druhů bylin i dřevin z temperátní zóny má *zpomalený růst za krátkých dní* (a to i když úhrnné množství záření a jeho spektrální složení udržujeme v pokusech na stejné výši jako za dlouhých dní!). Obvykle je toto zpomalení růstu v těsné souvislosti se zvýšením odolnosti vůči mrazu. Také u jiných druhů rostoucích u nás a v severněji položených oblastech můžeme pod vlivem krátkých dní pozorovat změny v aktivitě fytohormonů vedoucí k indukci celého komplexu reakcí, označovaného jako "*podzimní syndrom*" (např. zastavení tvorby chlorofylu, rychlé stárnutí a opadávání listů, dormance pupenů, atd.). Velmi časté je však spolupůsobení nízké teploty, na které se nyní podíváme trochu podrobněji.

Vliv teploty na růst a vývoj

Růst naprosté většiny rostlin probíhá jen v poměrně úzkém teplotním rozmezí zhruba od 5 do 40 °C. Negativní účinek nízkých teplot (mrazu a chladu) a příliš vysokých teplot souvisí především s teplotní závislostí biochemických reakcí, s poruchami funkce membrán a s inaktivací enzymů. Jde tedy o stresové účinky, které budou souhrnně popsány ve 4. části těchto učebních textů.

Působení nízkých teplot však také může mít *příznivý vliv na průběh růstu a vývoje*. U mnoha druhů rostlin z oblastí s výrazným ročním kolísáním teplot jsou nízké teploty v určité vývojové fázi přímo existenčně nutné, neboť na nich závisí tvorba květů, zrušení dormance semen a pupenů, vývoj hlíz, cibulí a některé morfogenetické procesy. Ve všech případech jde o takové působení, jehož účinek není pozorovatelný ihned, ale až s jistým zpožděním.

Vernalizace patří k nejlépe známým pozitivním účinkům nízkých teplot. Označujeme tak proces, kdy pupeny některých druhů rostlin jen pod vlivem zchlazení jsou schopny přejít do fertillního stádia, tedy vytvořit květní orgány. Vernalizace se vztahuje dokonce i na semena řady druhů, která pouze při uložení za nízkých teplot (ve zvlhčeném stavu) jsou schopny po vyklíčení dát vznik fertillním rostlinám. Požadavky různých druhů na nízké teploty se však značně liší. Velmi vyhraněné nároky mají zejména jednoleté druhy, a také rostliny dvouleté. *Pro přechod do reprodukční fáze dvouletek jsou nízké zimní teploty absolutně nutné*, zatímco závislost jednoletek je obvykle jen kvantitativní (fakultativní). Nízké teploty u nich zvyšují

pravděpodobnost kvetení a hlavně urychlují jeho začátek. U mnoha vytrvalých rostlin je iniciace kvetení vázána na nízkou teplotu a současně na krátkou fotoperiodu.

Velké množství pokusů bylo zaměřeno na zjištění optimální teploty pro vernalizační procesy a nezbytnou dobu trvání těchto teplot. Byla zjištěna obrovská variabilita mezi druhy, avšak nejčastější hodnoty **účinné teploty** leží v rozmezí 0 až 10°C. Minimální doba působení těchto teplot kolísá od 4 do 8 týdnů, saturační doba pak od 4 týdnů do 3 měsíců. Účinkem vysokých teplot (20 až 30°C, někdy i více) bezprostředně po působení nízkých teplot je možné indukci kvetení zrušit (*devernalizace*), ovšem jinak vernalizační signál v indukovaných semenech či pupenech se uchovává po celé mnohaměsíční období vynuceného vegetačního klidu.

Bylo dokázáno, že působení nízkých teplot není zprostředkováno jinými částmi rostliny, ale *k recepci dochází přímo v apikálním meristému pupene* (u semen v apikálním meristému embrya), který převádí do stavu "kompetence" pro následné květovorné procesy. **Mechanismus vernalizačního procesu** zdaleka není ještě uspokojivě znám, a je téměř jisté, že se bude jednat o celou řadu odlišných mechanismů. Kromě možné spoluúčasti giberelinů jejichž koncentrace v meristémech se v průběhu vystavení nízkým teplotám zvyšuje, se nejčastěji uvažuje o epigenetické regulaci květovorných genů (stabilní změny ve způsobu exprese těchto genů po působení nízkých teplot), jak již bylo dokázáno u modelové rostliny *Arabidopsis thaliana*. Tím lze vysvětlit i dlouhodobé přetrvávání "květuschopnosti" v indukovaných meristémech.

Dormance semen a pupenů (klidový stav se zcela zablokovanou růstovou aktivitou) je dalším významným životním projevem rostlin, při kterém hraje nízká teplota často rozhodující úlohu. Nejde při tom jen o navození vstupu do dormantního stavu nízkou teplotou, ale také o jeho překonání (tedy pokračování v růstu), a to opět pod vlivem jisté doby působení nízkých teplot.

Velmi známé je příznivé působení nízkých teplot na *klíčení semen* některých druhů. V našich přírodních podmínkách většina semen překonává zimu v nabotnalém stavu na převážně vlhkém povrchu půdy. Pro ty druhy, které nejsou mrazuvzdorné, by vyklíčení již na podzim mělo katastrofální následky. Proto je tolik důležitá vnitřní inhibice klíčení, která mizí až po několika týdnech působení teplot blízkých nule.

Jak funguje tento zábranný mechanismus a čím dochází k jeho uvolnění přesně nevíme. V průběhu působení chladu byla v semenech pozorována celá řada biochemických změn - rozklad zásobních tuků a proteinů, hromadění škrobu i osmoticky aktivních cukrů. Je však obtížné v těchto změnách najít příčinnou posloupnost. Pozoruhodný je vzestup koncentrace giberelinů a je dokázáno, že dochází i k odbourávání některých inhibitorů (zejména ABA).

Dormance pupenů může být indukována nízkou teplotou, avšak je známo, že k ní často dochází už v letních měsících (např. u stromů) pod vlivem zkracování délky dne. Pro zrušení dormance bývá u některých druhů významná fotoperioda (dlouhý den), u jiných jen nízká teplota a velmi často musí být splněny oba požadavky (dlouhý den po období s nízkou teplotou).

Navození i zrušení dormantního stavu je vyvoláno přímým působením teploty či záření na příslušný pupen a není převoditelné z jednoho pupenu na jiný (neošetřený). Také délka fotoperiody aktivuje přímo pupen (např. u dřevin v bezlistém stavu), ačkoli ve vegetačním období jsou listy pro příjem informace o fotoperiodě naprosto nutné. Nejúčinnější teploty pro zrušení dormance bývají v rozmezí 0 až 10 °C a minimální doba působení několik týdnů. Existují ovšem velké rozdíly jak mezi druhy, tak mezi ekotypy téhož druhu.

Rychlého zrušení dormance lze mnohdy úspěšně dosáhnout aplikací giberelinů, působením par některých těkavých látek, a také ponořením příslušné části rostliny do teplé vody (40 až 50 °C) po dobu asi 15 sekund.

Pro urychlení vývoje některých okrasných cibulovin (např. tulipánů) byly vypracovány přesné postupy založené pouze na změnách teplotního režimu během podzimních měsíců, které umožňují "načasovat" dobu rozkvětu na žádaný termín.

Vliv denního kolísání teplot (*termoperiodismus*) na rostliny je poměrně malý. Jen velmi zřídka jsou větší teplotní výkyvy nutnou podmínkou pro iniciaci kvetení - spíše jen zrychlují růst, zvyšují počet květů (rajčata), u brambor zvyšují počet tvořených hlíz.

Pohyby rostlin a procesy řízené vnitřními rytmy

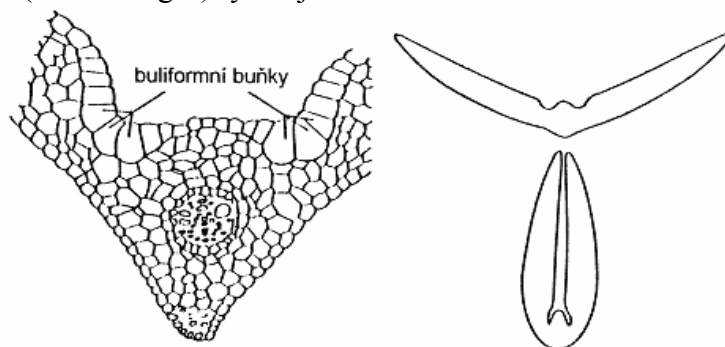
Rostliny jsou sice většinou trvale přisedlé organismy, avšak jejich orgány mají schopnost jistého pohybu (ve smyslu trvalé či vratné změny jejich prostorové orientace - tedy různé ohyby, náklony, otáčení, ale i ovíjení). Tato schopnost je nejen velmi významná pro úspěšné přežití v měnícím se prostředí, ale navíc neobyčejně nápadná. Snad právě proto byly pohyby rostlin zkoumány už v samém počátku rostlinné fyziologie a jejich výzkum pokračuje i v dnešní době. Přesto zůstává stále mnoho nedořešeno.

V našem přehledu si podrobněji probereme pouze dvě hlavní skupiny pohybů - nastie a tropismy. Pomineme tedy pohyby vnitrobuněčné (proudění cytoplazmy, pohyby organel), lokomoční pohyby některých nižších rostlin a specializovaných buněk (taxe), a také veškeré pohyby neživých částí rostlin, způsobované čistě fyzikálními procesy.

Nastie

Jako nastie označujeme takové pohyby, jejichž směr není určen směrem působení podnětu. Většina nastických pohybů má reverzibilní charakter, neboť je způsobována změnou tvaru buněk v motorických zónách, nikoliv nevratným růstem.

K nejjednodušším pohybům patří **hygronastie** u listů mnoha druhů trav, a to zejména těch, které rostou na suchých stanovištích. Podélné složení či svinutí jejich listů za nedostatku vody je způsobováno změnou turgoru skupin buněk na adaxiální straně. Tyto buňky (označované jako buňky *buliformní*) jsou většího rozměru a mají velmi slabou kutikulu - ztrácejí tudíž vodu (a tím i turgor) rychleji než ostatní.

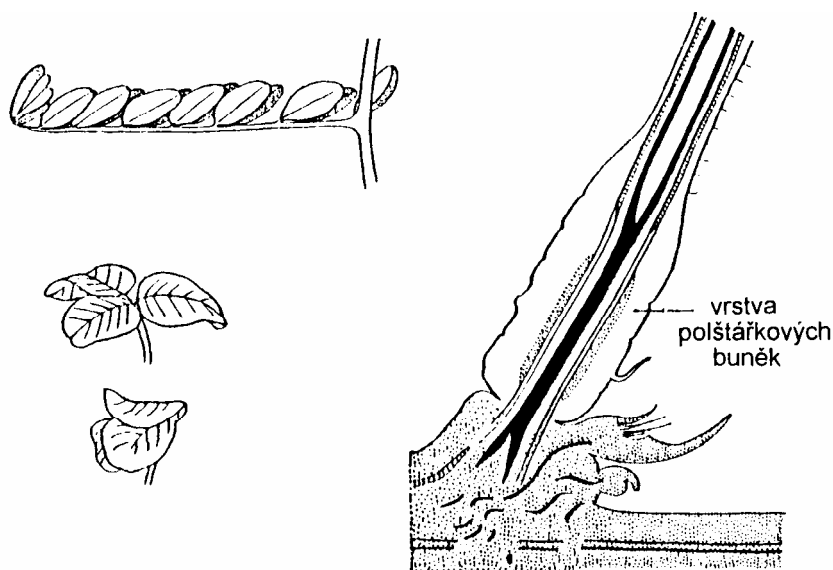


Hygronastické pohyby (skládání listů) u xerofytních druhů trav.

Složitější, i když velmi dobře prozkoumané, jsou **nyktinastie** ("spánkové" pohyby) u řady druhů se složenými listy (např. z čeledi *Fabaceae* a *Mimosaceae*). Poloha listů (přesněji řečeno prostorová orientace roviny, ve které je umístěna listová čepel) se u těchto rostlin pravidelně každý den dvakrát mění - ve dne bývá přibližně horizontální, v noci téměř vertikální. Na bázi řapíků celého listu i jednotlivých lístků, tedy v místech, kde dochází k aktivně řízeným ohybům, lze pozorovat zvláštní vrstvy buněk ("polštářky").

Pohyb listu je způsoben vzrůstem turgoru v polštářkových buňkách na jedné straně řapíku a současně poklesem turgoru v buňkách na opačné straně. Změny turgoru jsou způsobeny přesunem vody, kterému předchází přesun osmoticky aktivních látek (zejména K^+ , tedy obdobně, jako při pohybech průduchů). A také zde je transport draslíkových iontů podmíněn zrychleným transportem H^+ , po aktivaci protonových pump v plazmatické membráně.

Aktivaci způsobuje záření absorbované jak fytochromy, tak i kryptochromy v buňkách polštářků, a navíc v součinnosti s vnitřními rytmickými procesy (listy obvykle nereagují na změnu světlo-tma či tma-světlo, pokud by k ní došlo mimo obvyklou denní dobu).



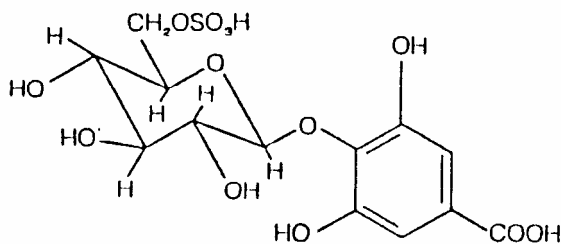
Příklady nyktinastického skládání listů u bobovité rostliny a detail kloubu na bázi řapíku jednoho lístku

Na rozdíl od pohybů prùduchů je však zde ještě jedna komplikace - tentýž podnět (světlo či tma) způsobuje zcela opačné ovlivnění transportních procesů v buňkách horní strany polštářku než v buňkách spodní strany.

K nejsložitěji řízeným pohybům patří nepochybně **thigmonastie**, při níž reagují především listy na dotek a otřes. Stejnou reakci však může u nich vyvolat i náhlá změna teploty či podráždění elektrickým proudem. Mechanická stránka těchto pohybů je zcela stejná jako u nyktinastií (změna turgoru u buněk polštářků), ovšem navíc zde přistupuje šíření signálu z podrážděné části rostliny do částí nepodrážděných.

Šíření vzruchů, tak běžné u živočichů vybavených nervovými vlákny, je u rostlin proces mnohem vzácnější a záhadnější. I u rostlin byl sice prokázán vznik akčních potenciálů po podráždění, ovšem bylo současně dokázáno, že samotný elektrický signál je málo účinný, pokud není doplněn látkovým (chemickým) mechanismem přenosu.

K uvedeným poznatkům se došlo již na začátku dvacátého století, ale teprve až v polovině osmdesátých let se podařilo izolovat a identifikovat ony záhadné chemické sloučeniny, kterými se šíří vzruchy do motorických buněk polštářků. Nejčastěji se jedná o deriváty kyseliny gallové, (např. β -D-glukosid-6-sulfát kyseliny gallové, označovaný jako **PLMF 1**, z angl. *Periodic Leaf Movement Factor*). Celá skupina těchto látek se označuje jako **turgoriny**, a lze je považovat za specifický typ fytohormonů.



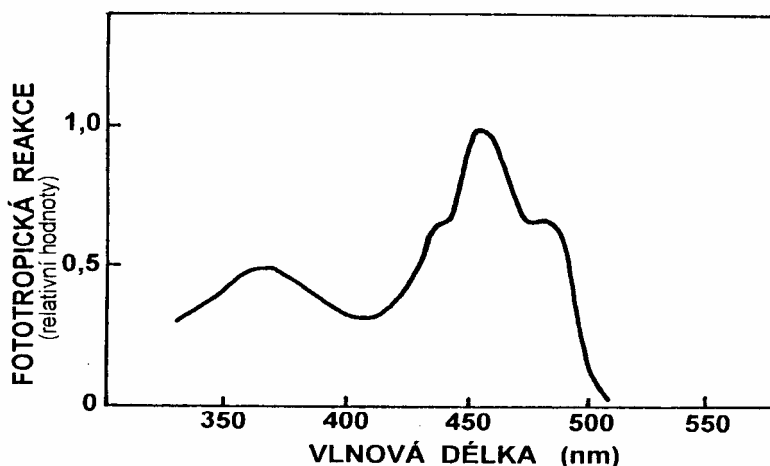
Struktura nejúčinnějšího turgorinu PLMF1.

Fototropismus

U všech tropismů, na rozdíl od nastií, je *směr pohybové reakce závislý na směru působení podnětu*. Mechanická stránka těchto pohybů je obvykle spojena s usměrněným *růstem* buněk (nikoli tedy jen se změnami turgoru, jak tomu bylo u nastií). Tomu nutně musí odpovídat i složitější způsob řízení.

U **fototropismu** je orientovaný pohyb částí rostliny vyvolán působením viditelného záření (tedy *světla*). Typickým příkladem je zakřivování stonku směrem ke zdroji záření, či pohyby listů a květů v závislosti na poloze slunce na obloze v průběhu dne.

Klasickým objektem pro analýzu fototropických pohybů byly klíčnicí rostliny trav, zejména první list (*koleoptile*) klíčnic obilky ovesa. Velmi brzy se zjistilo, že na *příjem signálu* je daleko nejcitlivější špička listu. Při velmi nízké intenzitě světla (měřené v jednotkách hustoty toku záření jednotkovou plochou čili *ozářenosti* daného objektu), list se ohýbá vždy směrem ke zdroji záření (= pozitivní zakřivení), a velikost ohybové reakce je úměrná celkové *dávce záření* (= součinu ozářenosti a doby působení). Při relativně vyšší hodnotě ozářenosti (zhruba nad $0,3 \text{ J m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, což u bílého světla odpovídá přibližně toku fotonů $1,4 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$; to je méně než jedna tisícina hustoty toku slunečního záření za jasného dne!), je závislost zakřivení na dávce záření (zvyšované délkou expozice) podstatně složitější. Zpočátku má charakter shodný s reakcí za nízké ozářenosti, avšak při stoupajících dávkách záření se koleoptile vrací do vzpřímené polohy (= zdánlivá ztráta fototropismu). Při velmi vysokých dávkách záření dochází k obnovení pozitivní fototropické reakce, tedy k ohybu směrem ke zdroji záření.



Typické akční spektrum fototropického ohybu koleoptile ovesa.

Velikost první pozitivní fototropické reakce (za malých dávek záření) je přímo úměrná těmto dávkám a nezávislá na hodnotě aktuální ozářenosti (tedy zda stejná dávka byla aplikována světlem o velké intenzitě po krátkou dobu, či slabým světlem po delší dobu). Rozporné reakce za vyšších dávek jsou zřejmě spojeny s vlivem záření na nějaký další regulační mechanismus. Skutečně bylo zjištěno, že po jisté době (několik desítek minut) způsobují vyšší dávky záření výrazný *pokles citlivosti špičky listů* zkoumaných rostlin na záření. Snížení citlivosti samovolně mizí asi po dvaceti minutách expozice ve tmě.

Výrazný pokrok ve výzkumu závislosti fototropických reakcí na dávce záření přineslo zkoumání vlastností a heterogenity *receptorového systému*. Již dříve bylo dokázáno, že ohybovou reakci navozuje hlavně modré a fialové světlo (o vlnové délce přibližně 350 až 500 nm). Bylo tedy zřejmé, že fototropické reakce jsou závislé na receptorech modrého záření, které byly později identifikovány jako flavoproteiny a nazvány *fototropiny*. Na rozdíl od tradičních představ bylo nově zjištěno, že tyto receptory se nevyskytují jen ve špičce koleoptile, ale i v níže položených místech, kde jich je ovšem mnohem méně a hlavně potřebují k aktivaci vyšší dávku záření.

Uvedená pozorování zdánlivého snížení citlivosti špičky koleoptile při vyšších dávkách záření aplikovaných intenzivním světelným zdrojem si nyní vysvětlujeme *nasyčením fotoreceptorů na obou stranách špičky* (ohybová reakce předpokládá aktivaci receptorů jen na osvětlené straně!), neboť čím větší je ozáření listu, tím více záření prochází listem i na jeho stranu odvrácenou od světelného zdroje. Za velmi vysokých dávek záření se aktivují i málo citlivé receptory na osvětlené straně spodnější strany koleoptile (pod špičkou), což vede k obnovení pozitivní fototropické reakce (k opětovnému ohybu směrem ke zdroji záření).

Dosud jsme se věnovali pouze způsobu *vnímání (percepce) signálu*, tedy příjmu informace o záření. To je však jen začátek celé fototropické reakce - signál totiž musí být převeden k příslušným výkonným článkům regulované soustavy, tedy k buňkám, které jsou schopny na tento signál reagovat zrychlením růstu. V případě koleoptile je tedy nutný převod informace o zachyceném záření od špičky k níže položeným pletivům, která pod jeho vlivem zpomalují růst na osvětlené straně a zrychlují růst na straně odvrácené od zdroje záření.

Po dlouhá léta se nesporná rychlost růstu vysvětlovala rozdílnou koncentrací auxinů - záření mělo způsobovat jejich transport do méně osvětlených pletiv (*teorie Cholodného a Went*). Bylo sneseno mnoho důkazů dosvědčujících platnost této teorie (rychlost šíření signálu se shoduje s rychlostí transportu *auxinů*, ohyb lze vyvolat jednostrannou aplikací auxinů po seříznutí špičky, rozdíly v rychlosti růstu obou stran koleoptile jsou komplementární, pomocí biotestů lze zjistit rozdíly v koncentraci auxinů, atd.). Teprve v nedávné době byla její obecná platnost zpochybněna. Byla totiž v některých případech dokázáno nerovnoměrné rozložení i některých jiných látek regulujících rychlost růstu (např. karotenoid xanthoxin). To ovšem neznamená, že bychom mohli auxin zcela vyloučit z role hlavního mediátora, neboť bez jeho přítomnosti k ohybům vůbec nedojde. Je tedy velmi pravděpodobné, že půjde o spolupůsobení několika látek, z nichž některé mohou měnit *citlivost buněk k auxinům*.

Provádíme-li pokusy s mladými výhonky jiných rostlin než jsou trávy, většinou zjišťujeme, že percepce světelného signálu probíhá přímo v místech, která se zakřívují (= oblast dlouhivého růstu buněk), nikoli tedy ve vegetačním vrcholu. Často také nejsou dokazatelné komplementární rozdíly v rychlosti růstu osvětlené a zastíněné části - dochází jen k inhibici růstu na osvětlené straně, což lze tedy vysvětlit *přímou inhibicí růstu* buněk na osvětlené straně. Je však zajímavé, že pokud dojde k nasycení procesů tvorby inhibitorů zářením (tím, že ozařujeme rostlinu po dostatečně dlouhou dobu ze všech stran), pak při následujícím jednostranném ozáření lze pozorovat komplementární rozdíly v růstu obou stran. Můžeme tedy předpokládat, že i u orgánů reagujících přímou inhibicí růstu osvětlených buněk se může za jistých okolností uplatňovat i mechanismus založený na translokaci auxinů.

Zvláště složitým případem fototropických pohybů je *diafototropismus*, naklánění listů vzhledem k poloze slunce na obloze v průběhu dne (obvykle s cílem maximalizovat příjem sluneční energie). Listy jsou přitom orientovány kolmo ke směru slunečních paprsků, nikoli tedy souběžně, jak je tomu u běžného fototropismu. Mechanismus pohybů je v tomto případě stejný jako u nyktinastií, tedy reverzibilní změny turgoru v polštářkovitých buňkách na bázi řapíku. Složitá je však percepce a převod signálu. Bylo zjištěno, že směr slunečních paprsků je detekován především buňkami podél hlavních žilek na listové čepeli. V závislosti na směru ozáření produkují tyto buňky signály pro stimulaci či inhibici transportních procesů v polštářcích řapíku. Způsob přenosu signálů není dostatečně znám - je však možná účast auxinů. Navíc při řízení těchto pohybů se podílejí i jisté "programy", odvozené od vnitřních biologických rytmů - naklánění listů do jistých poloh (např. směrem k očekávanému východu slunce) probíhá v pravidelnou hodinu i při umístění rostliny v úplné tmě.

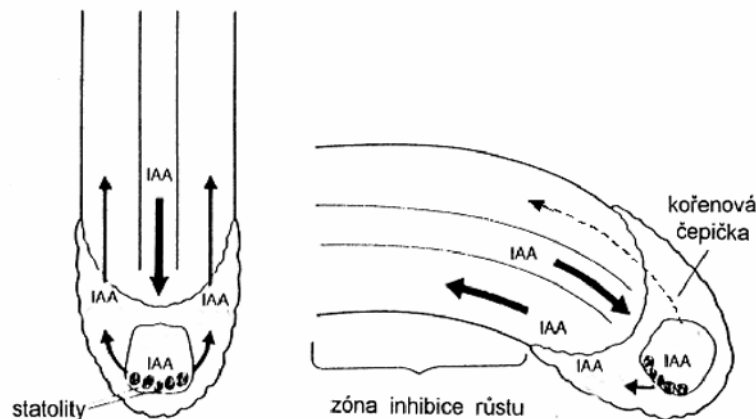
Gravitropismus

Fototropické pohyby, které jsme si právě popsali, mají význam pouze pro nadzemní orgány. Proto také kořeny ve většině případů na světlo nereagují. Jen výjimečně můžeme jistou reakci zaznamenat, a sice odklon od zdroje záření (negativní fototropismus). Zato pohyby vyvolané a orientované směrem působení gravitace (gravitropické pohyby) nacházíme pravidelně u všech částí rostlin. Je všeobecně známo, že hlavní stonky rostou negativně gravitropicky (= proti směru působení gravitační síly), zato primární kořen pozitivně gravitropicky. Ovšem gravitropicky orientován může být i růst některých částí rostlin (např. větví, listů) ve směru kolmém či šikmém na směr působení gravitace.

Hlavním modelovým objektem pro výzkum gravitropismu byly tradičně *kořeny*. Již před více než sto léty byl zjištěn velký význam kořenových špiček pro vnímání gravitace a později se podařilo dokázat, že rozhodující úlohu mají buňky v *kořenové čepičce*, neboť po jejich poškození dojde ke ztrátě gravitropismu. Český vědec Bohumil Němec pak jako první upozornil na nápadně pravidelný výskyt amyloplastů v buňkách kořenové čepičky a na jejich možnou úlohu při gravitropických pohybech. Úloha amyloplastů jako *statolitů* (a to nejen v kořenech) byla skutečně potvrzena mnoha pokusy, při kterých byl škrob různými metodami odstraňován. Při těchto pokusech bylo zároveň zjištěno, že kromě amyloplastů se škrobovými zrny mohou gravitropickou reakci vyvolat i jiné částice schopné sedimentace v cytosolu, ovšem škrob, vzhledem ke své relativně vysoké specifické hmotnosti, je zvláště účinný.

Jakým způsobem však sedimentace statolitů vyvolává v buňkách kořenové čepičky podráždění, a jak potom dochází k přenosu tohoto podráždění do další části kořene, ve které dojde k růstovým změnám? Obě otázky spolu úzce souvisejí.

Jedna z dřívějších teorií předpokládala, že v kořenové čepičce je produkována kyselina abscisová, která při vodorovné poloze kořene inhibuje růst buněk na spodní straně, a tím dochází k jeho zakřivení ve směru gravitace. Nové poznatky dokazují, že inhibice růstu je způsobována auxiny, (např. kyselinou indolyl-3-octovou, IAA). Ta proudí parenchymovými buňkami poblíž středu kořene až do kořenové čepičky, a z ní se vrací zpět buňkami korového parenchymu. Buňky čepičky proto mohou ovlivnit *nestejnou distribuci IAA* do korových pletiv, a to především změnami v lokalizaci specifických transportních proteinů pro auxin (vynašeče typu PIN3) v plazmatické membráně. Řízení této distribuce začíná přeskupením statolitů, které má vliv i na orientaci aktinových vláken cytoskeletu a tím i na transport váčků s nově vytvářeným proteinem PIN3 přednostně k těm částem částem plazmatických membrán, které leží ve směru působení gravitace. Ve spodní (tedy původně boční) části horizontálně orientovaného kořene se vytváří *natolik vysoká koncentrace auxinů, která má již inhibiční účinek na růst buněk*. Horní strana je sice auxinem zásobena již méně, ale přesto pokračuje v růstu a kořen se zakřivuje směrem dolů.



Velmi zjednodušené schéma gravitropické reakce kořene položeného do vodorovné polohy.

Gravitropické reakce **u nadzemních částí** rostlin jsou odlišné od kořenů, a to už tím, že *percepce signálu probíhá obvykle ve stejných místech jako ohyb* (nikoli tedy jen ve vegetačním vrcholu). Funkce amyloplastů jako statolitů je shodná s kořeny. Nacházíme je nejčastěji v parenchymových buňkách vnitřní kůry, ve škrobové pochvě okolo cévních svazků a někdy též v kolenchymové vrstvě pod epidermis. Položíme-li rostoucí stonk do vodorovné polohy, sedimentace amyloplastů proběhne asi za dvě minuty a během několika dalších minut můžeme pozorovat počátek gravitropického zakřívování. Buňky ve spodní část stonku zrychlují růst, zato růst buněk v horní části je zpomalen.

Obdobně jako u buněk se statolity v kořenové čepičce, i u buněk v zóně dlouhivého růstu stonků dochází k přesměrování toku auxinů. V té části plazmatické membrány, která je vystavena tlaku amyloplastů, dojde ke zmnožení selektivních transportních proteinů (vynašečů auxinů typu PIN), a auxiny jsou tudíž přednostně transportovány napříč stonkem ve směru působení gravitace. *Vzhledem k menší citlivosti buněk nadzemních částí k auxinům (ve srovnání s kořeny) jejich nahromadění ve spodní části vodorovně umístěného stonku vyvolá stimulaci dlouhivého růstu buněk* v této části a následný ohyb stonku směrem vzhůru. Změnami v rozmístění auxinových transportních proteinů se dají vysvětlit i některé po dlouhou dobu záhadné jevy, jako je např. "*gravitropická paměť*". Bylo totiž pozorováno, že u gravitačně stimulovaného hypokotylu (= položeného po jistou dobu do vodorovné polohy) k zakřivení nemusí vůbec dojít, pokud má malý obsah auxinu (např. po dekapitaci či po aplikaci inhibitorů syntézy IAA). Gravitropickou reakci ale je možné dodatečně vyvolat aplikací IAA na takovýto orgán. Co je však zvláště pozoruhodné, že k vyvolání gravitropické reakce (ohybu) dojde i tehdy, jestliže aplikujeme IAA na hypokotyl vrácený již do svislé polohy! Stejně tak můžeme vyvolat opožděnou gravitropickou reakci u intaktního hypokotylu, který byl uložen do vodorovné polohy za nízké teploty (4°C, při které je dlouhivý růst buněk zcela zastaven) a pak ve svislé poloze ohřát.

Vnitřní rytmické procesy

Vzhledem k velmi pravidelným cyklickým pohybům naší planety (oběh okolo Slunce a rotace kolem vlastní osy), můžeme pozorovat v přírodě mnoho významných změn s periodou jeden rok či jeden den. Pro rostliny je velmi výhodné synchronizovat průběh některých svých funkcí s pravidelně se opakujícími změnami vnějšího prostředí, zejména pak schopnost *provést fyziologické změny vedoucí k optimální interakci s faktory prostředí ještě dříve než začnou působit* (např. nastavit listy vhodným směrem ještě před východem Slunce, s předstihem začít s tvorbou potřebných proteinů, aktivovat enzymy, atd.). To ovšem nutně předpokládá jistou schopnost **měření času** (označovanou obvykle jako *biologické či fyziologické "hodiny"*) nezávisle na změnách vnějšího prostředí.

Existence vnitřní rytmičnosti u rostlin se předpokládala již velmi dávno. První spolehlivé důkazy se však podařilo získat až ve dvacátých letech minulého století a intenzivní výzkum pokračuje dodnes. Experimenty v tomto směru jsou totiž neobyčejně technicky náročné - už proto, že zajistit zcela konstantní vnější podmínky je prakticky nemožné. V úvahu se totiž musí brát i méně běžné faktory, které mohou mít kolísavý průběh a od jejichž vlivu lze pokusné rostliny obtížně izolovat (elektromagnetické vlny velmi krátkých délek, magnetické pole, toky částic s vysokou energií, aj.).

Rytmické procesy u rostlin se mohou lišit *délkou periody* (= trváním jednoho opakujícího se cyklu), *amplitudou* a průběhem jednotlivých *fází* (= stavů v určitých úsecích periody). Nejčastěji se setkáváme s rytmickými procesy s periodou přibližně 24 hodin (= *cirkadiánní rytmy*), které pokračují i po umístění rostlin v trvalé tmě, nebo naopak při trvalém osvětlení. Patří sem nejen různé pohyby listů, květů a jejich částí, které pro snadnost pozorování jsou velmi často využívány v pokusech, ale i méně nápadné změny mnoha biochemických procesů (např. aktivace enzymů v uhlíkovém metabolismu CAM). Procesy, jejichž změny mají délku

periody jeden rok (např. klíčení semen mnoha druhů), se zkoumají velmi obtížně nejen pro časovou i technickou náročnost, ale i pro jejich možnou interferenci s procesy stárnutí.

Již v počátcích studia cirkadiálních procesů bylo zjištěno, že uměle navozeným kolísáním záření či teploty (s jinou periodou než tomu bývá v přírodě) lze vyvolat změnu délky periody a *posun fázi vnitřní rytmicity*, měřené v následných pokusech ve stálých podmínkách. Ke změně může dojít někdy už při jednorázovém působení, jindy pod vlivem opakujících se cyklů. Tato možnost "nastavení" biologických hodin je pro rostliny v přírodě neobyčejně důležitá pro udržení přesné synchronizace vnitřních procesů s cykličností vnějšího prostředí - ta totiž není obvykle zcela konstantní (např. délka dne se může velmi měnit v průběhu roku).

K zajímavým výsledkům také vedly pokusy s krátkodobým osvětlením rostlin při umístění v trvalé tmě. Pokud byly osvětleny v té části dne, kdy za normálních okolností (před umístěním do trvalé tmy) bylo světlo, nemělo to na rytmické procesy žádný vliv. Osvětlení v té části dne, kdy dříve bývala tma (tzv. "subjektivní noc") však již vliv mělo, avšak reakce byly závislé na načasování osvitu. Osvětlení v první polovině „subjektivní noci“ vedlo k prodloužení následného průběhu procesů, avšak osvětlení v její druhé polovině vedlo ke zrychlení procesů. K velmi podobným výsledkům se došlo při experimentech nejen s rostlinami, ale i s některými houbami a živočichy.

Z vnějších faktorů které ovlivňují nastavení vnitřních rytmů stojí na prvním místě *záření*. Z dosud zjištěných akčních spekter je zřejmé, že není zapojen pouze jeden typ fotoreceptorů u všech rostlin. Velmi častá je citlivost na modré záření, ale v některých případech je zřejmá i účast fytochromů (v červené části spektra). Vliv teploty je mnohem menší ve srovnání se zářením. *Teplota* ovlivňuje především amplitudu, jen velmi zřídka i délku periody.

Z dosavadních výsledků vyplývá, že u rostlin, stejně tak jako u mnoha jiných organismů, není řízení rytmicity lokalizováno do jediného místa (centra). Různé části rostliny mohou mít do značné míry autonomní projevy rytmicity. Příkladem mohou být polštářkové buňky na bázi listů řídící nyktinastické pohyby či buňky rostlin s fixační cestou CAM, řídící cirkadiální vnitřní rytmicitu aktivity enzymů.

Ústředním problémem při studiu mechanismu biologických hodin je *nalezení základního "oscilátoru"* generujícího základní krok časoměry, tedy pravidelné endogenní impulzy, ze kterých by bylo možné odvodit (a tím i měřit) delší časové intervaly. Již v začátcích podrobného studia vnitřní rytmicity byla totiž opuštěna představa měření času pomocí jednoduchého principu "přesýpacích hodin", tedy postupného rozpadu (či naopak hromadění) určitého metabolitu. Ani samovolný přechod aktivní formy fytochromů do neaktivní při zatemnění rostlin nemůže tuto funkci plnit, protože k němu dochází příliš rychle a navíc rychlost konverze je ovlivňována řadou dalších faktorů.

V současné době je stále více zřejmé, že jak u živočichů, tak i u rostlin je vnitřní rytmicita vázána na periodickou aktivaci a inaktivaci specifických genů pomocí různě složitých regulačních smyček. V jednodušším případě se na příslušném genu pro řízení rytmicity (např. gen *per* u octomilky či gen *frq* u houby *Neurospora crassa*, homologní geny byly nalezeny i u rostlin) vytváří transkripční mRNA pro specifický protein, který vstupuje do jádra a inhibuje přepis svého vlastního genu. Tím klesá množství příslušné mRNA a zpomaluje se tvorba inhibičního proteinu, což vede k opětovnému zvýšení tvorby mRNA a inhibičního proteinu. Je zřejmé, že takovéto cyklické změny se mohou opakovat libovolně dlouho a mohou tudíž sloužit jako "základní oscilátor".

Výzkumy v posledních letech naznačují, že mechanismus oscilačních procesů bude složitější než naznačený příklad. Specifických genů vnitřní časoměry může být totiž v téže buňce více a mezi produkty jejich aktivity může docházet k interakcím. Jak u hmyzu, tak i u rostlin bylo dokázáno, že i v různých orgánech téhož jedince může být vnitřní rytmicita řízena odlišnými a navzájem nezávislými mechanismy.

Kontrolní otázky ke 3. části učebního textu Fyziologie rostlin

1. Jakým způsobem ovlivňuje rychlost a orientaci prodlužovacího růstu buněk stavba jejich buněčné stěny?
2. V jaké fázi vývoje embrya lze již pozorovat polaritu jeho buněk?
3. Popiš jakým způsobem dochází v primárním kořenu k tvorbě bočních kořenů.
4. Popiš jakým způsobem dochází v apikálním meristému prýtu k tvorbě základů listů.
5. Jak je uskutečňován mezibuněčný a dálkový transport auxinů v rostlinách ?
6. Jaké oblasti (typy) fyziologických procesů jsou regulovány pomocí auxinů ?
7. Jaké jsou hlavní fyziologické účinky cytokininů a giberelinů ?
8. V kterých částech rostliny se může vytvářet kyselina abscisová a jak je transportována ?
9. Jaké odlišné regulační účinky má zvýšené množství giberelinů a kyseliny abscisové v semenech ?
10. Jakým chemickým ošetřením s využitím znalostí o fytohormonech lze prodloužit životnost řezaných květů ?
11. Jakým chemickým ošetřením s využitím znalostí o fytohormonech lze zvýšit odolnost rostlin vůči působení stresových faktorů ?
12. Jakým chemickým ošetřením s využitím znalostí o fytohormonech lze urychlit zrání sklizeného ovoce ?
13. Jaké typy informací získává rostlina vnímáním záření a jaké typy pigmentů slouží k příjmu informačních signálů ?
14. Jaké typy fyziologických procesů mohou být aktivovány pomocí modrého záření ?
15. Jakým mechanismem jsou schopny fytochromy aktivovat v rostlinách některé enzymy ?
16. V které části rostlin je zachycována informace o fotoperiodicitě spouštějící tvorbu květů ?
17. Jaké další faktory (kromě fotoperiodického účinku záření) mohou také iniciovat tvorbu květů ?
18. Jaké jiné růstové či vývojové procesy (kromě tvorby květů) mohou být iniciovány vhodnou délkou dne ?
19. Jaké vývojové procesy mohou být iniciovány působením nízkých teplot ?
20. Jaké typy pohybů orgánů rostlin jsou řízeny změnami turgorového tlaku ?
21. Popiš průběh fototropické reakce (= vnímání signálu a řízení ohybu nadzemních částí směrem ke zdroji záření).
22. Popiš průběh gravitropické reakce kořenů (= vnímání signálu a řízení ohybu ve směru působení gravitační síly).