

# 3. Fytohormony a růstové regulátory I.

## auxiny, gibereliny a cytokininy



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Tato prezentace je spolufinancována  
Evropským sociálním fondem  
a státním rozpočtem České republiky

# Co to jsou hormony?

- termín **hormon** - poprvé použitý v medicíně před 100 lety, pochází z řečtiny  $\eta\rho\rho\mu\omicron\nu\epsilon$  = stimulovat (ale nezahrnuje transport)
- látky přenášené z jednoho místa na druhé (Went a Thimann, 1937)

# Co to jsou fytohormony?

rostlinný hormon = fytohormon

organická sloučenina **syntetizovaná** v jedné části rostliny, zpravidla **translokovaná** do jiné části, kde ve **velmi malé koncentraci** způsobuje fyziologickou odpověď (Salisbury a Ross 1985)

mohou mít účinky **stimulující**, ale i **inhibující**

# Co to jsou růstové regulátory?

organické sloučeniny **syntetizované chemicky**,  
které mohou být rostlinnými buňkami přijímány,  
transportovány a způsobují podobnou  
fyziologickou odpověď jako fytohormony.



# 5 skupin „klasických“ fytohormonů

- auxiny 4
- cytokininy několik
- gibereliny mnoho
- kyselina abscisová
- etylén

## netradiční fytohormony

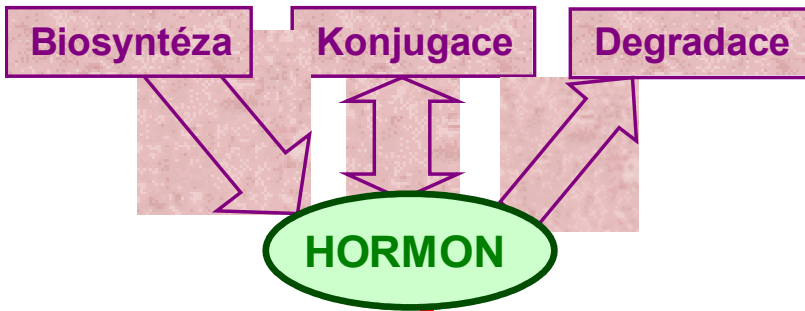
- kyselina jasmonová
- brassinosteroidy
- polyaminy
- oligosachariny
- oligopeptidy
- fenolické látky
- strigolaktony...

# Vývoj poznání o fytohormonech

**1987** - P.J.Davies: Plant Hormones and Their Role in Plant Growth and Development

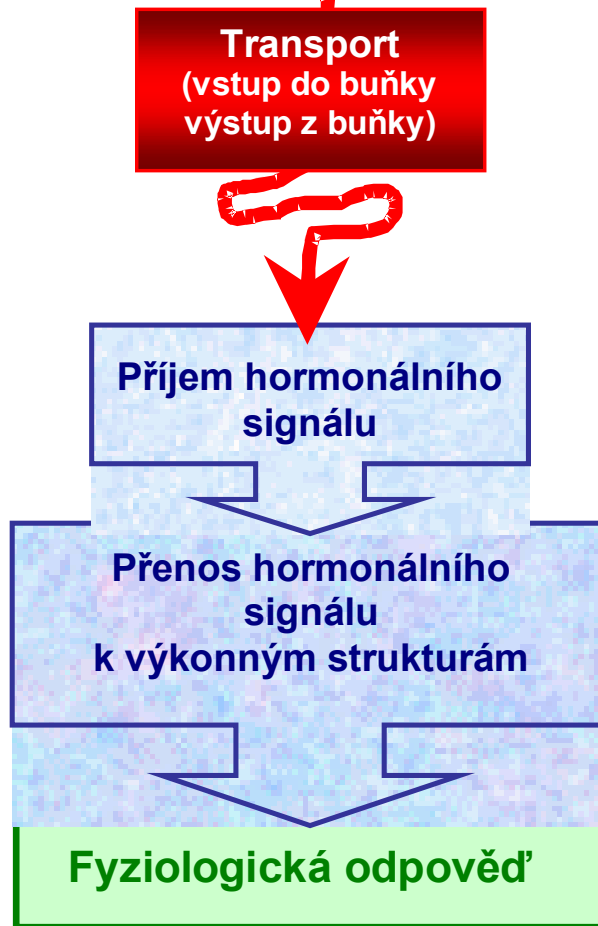
**1995** - P.J. Davies: Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology

**2004** - P.J.Davies /ed./: Plant Hormones: Biosynthesis, Signal Transduction, Action!



Metabolismus

Zažímalová 2011



Transport  
na dlouhou či krátkou vzdálenost

Příjem a přenos  
hormonem neseného signálu

# Auxiny

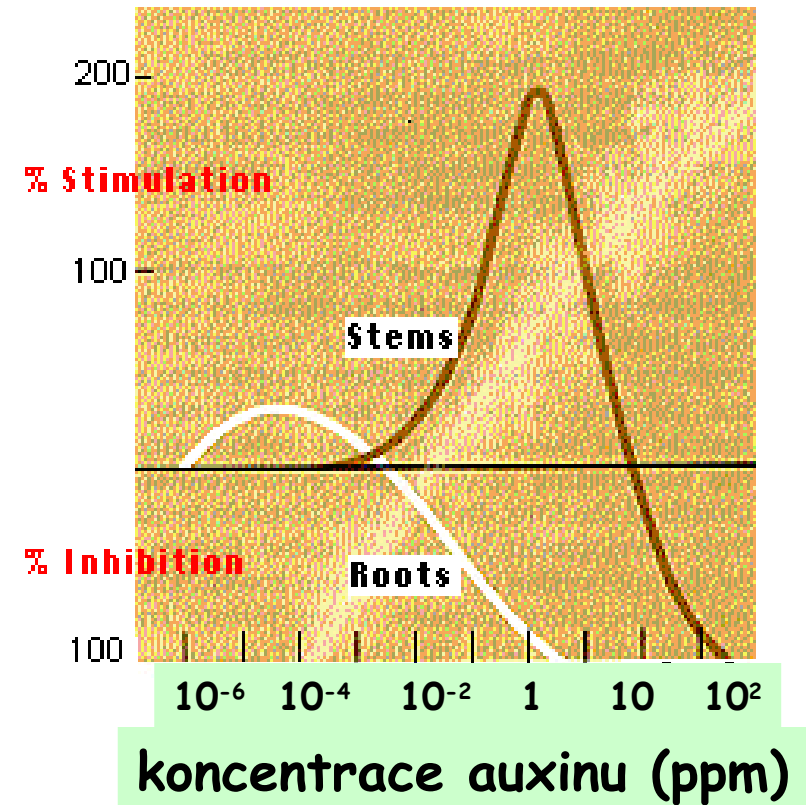
- název **auxin** pochází z řeckého slova *auxó*, což značí **zvětšovat se**.
- **1926 Frits Went** - první užití termínu **auxin** pro zatím neidentifikovanou sloučeninu (Wuchsstoff), která způsobuje ohyb koleoptilí trav
- **1936** identifikace **Köhlerem** v lidské moči a později prokázána **Thimannem** i v rostlinách
- dnes víme, že je to **kyselina indolyl-3-octová (IAA)**

# Vlivy auxinu

- podílí se na **fototropismu a geotropismu**
- způsobuje **apikální dominanci**
- udržuje **polaritu pletiv**
- stimuluje
  - **prodlužování buněk**
  - **vývoj plodů**
  - **vývoj cévních svazků a diferenciaci vodivých pletiv**
  - **růst kořene** (ale jen ve velmi nízké koncentraci =  $10^{-7}$  až  $10^{-13}$  M)
  - **zakládání adventivních kořenů**

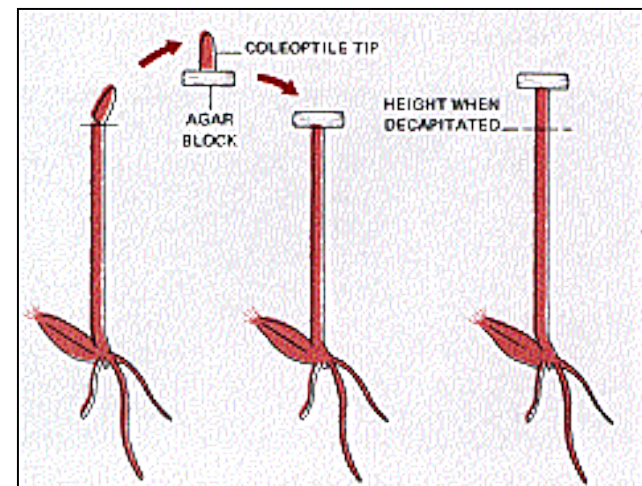
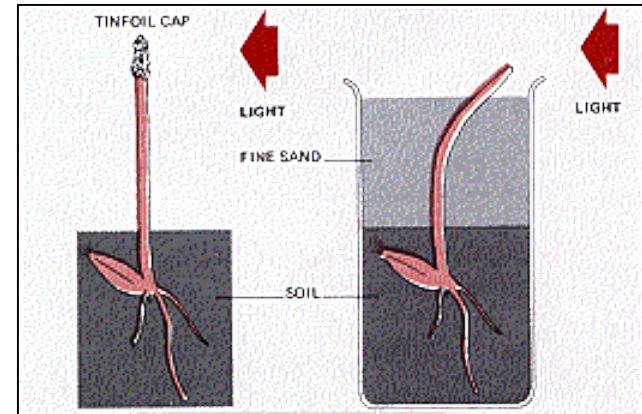
# Vliv auxinu na růst kořene a stonku (podle Thimanna)

rozdílná reakce stonku a kořene je způsobena **rozdílnou citlivostí** jejich buněk na auxin



# Fototropismus

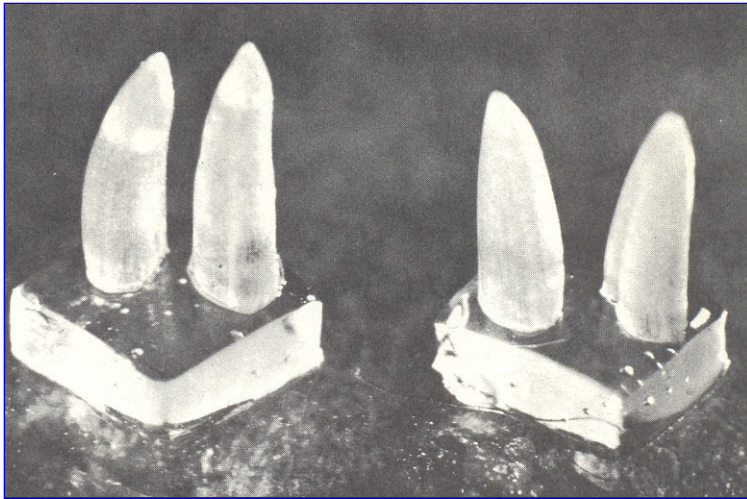
- **1880 - Ch. Darwin:** význam koleoptile pro fototropismus
- **1926 - F. Went:** objev auxinu
  - umístění apexů koleoptilí na agar
  - přenos agarových bločků na dekapitované rostlinky (bez bočního osvětlení)
  - zvětšení pahýlu - neznámá látka difundující do agaru = **Wuchsstoff = auxin**



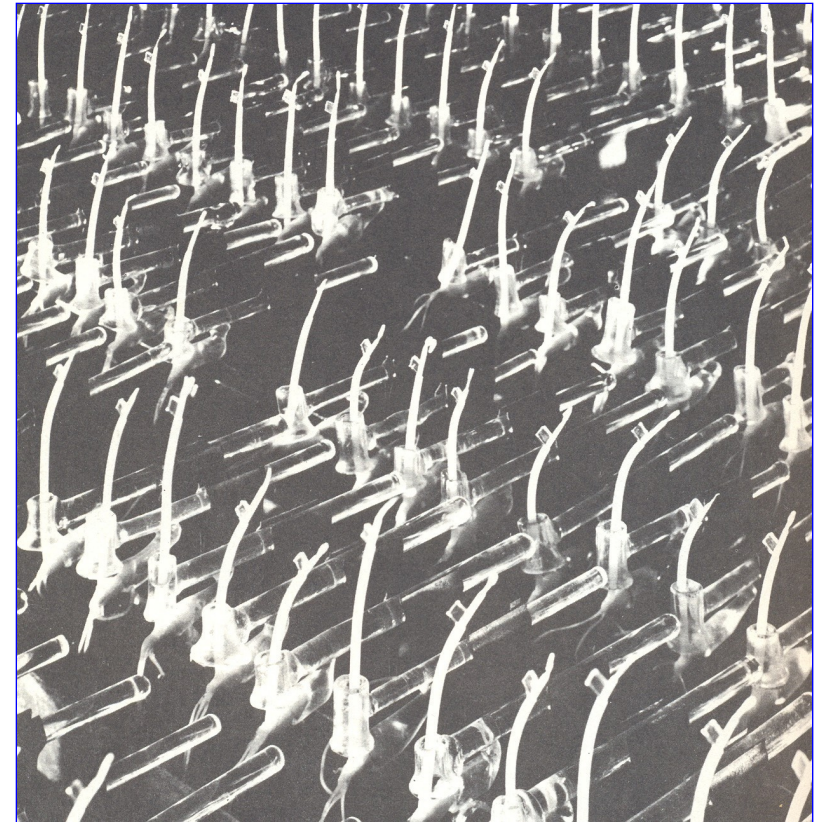


F. Went:  
Rostliny, 1979

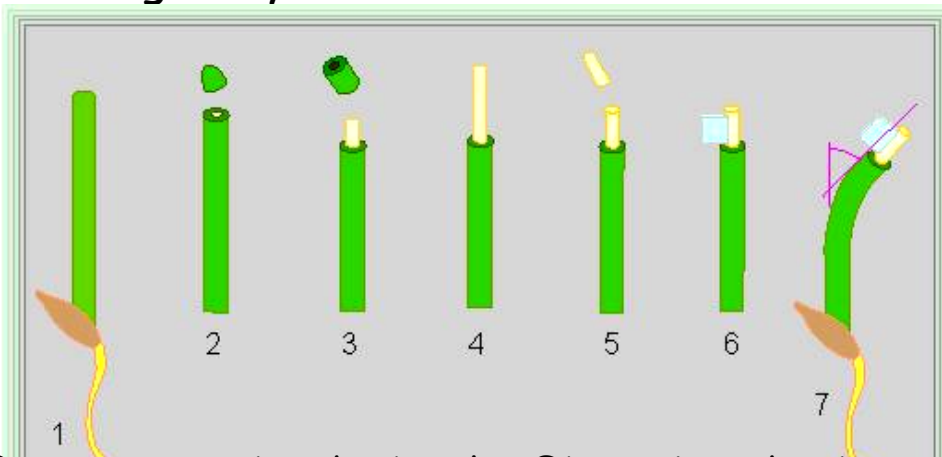
# Wentovy experimenty s koleoptilemi ovsa



detail izolovaných vrcholků koleoptilí  
na agarových bločcích



agarové bločky s difundovanou  
růstovou látkou způsobovaly ohyb  
dekapitovaných koleoptilí





# Mechanismus fototropismu

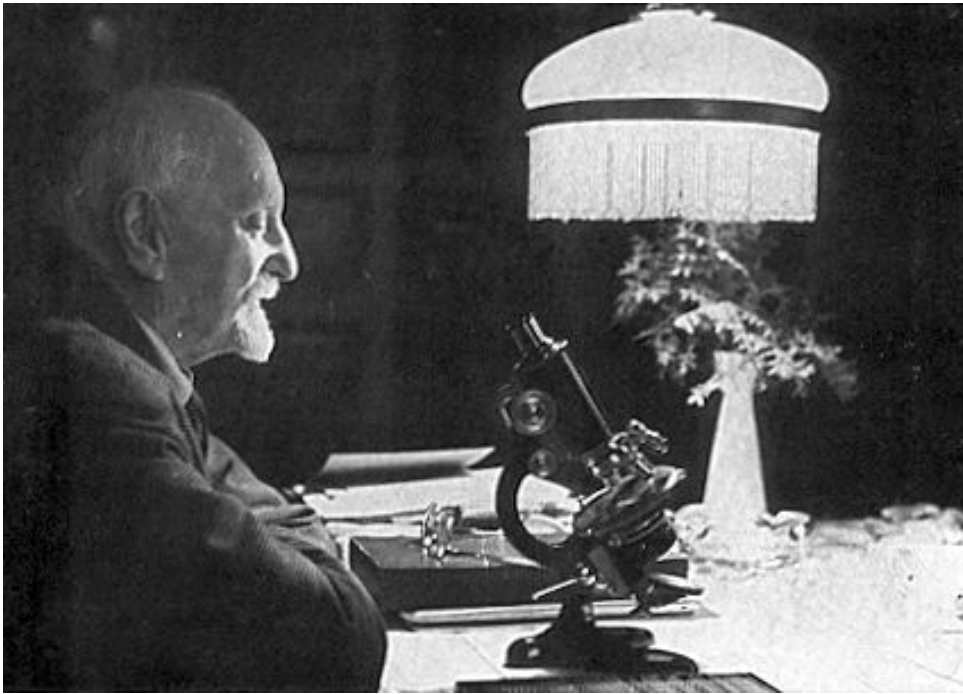
- směr světla je **detekován** apexem, modré světlo je nejúčinnější
- auxin je syntetizován v meristému a **translokován** bazipetálně (dolů)
- transportéry auxinu (PIN proteiny) jsou v plazmatické membráně na zastíněné straně prýtu
- auxiny jsou přenášeny a **stimulují prodlužování buněk** na zastíněné straně
- výsledkem je **zakřivení** stonku ke světlu

# Mechanismus gravitropismu

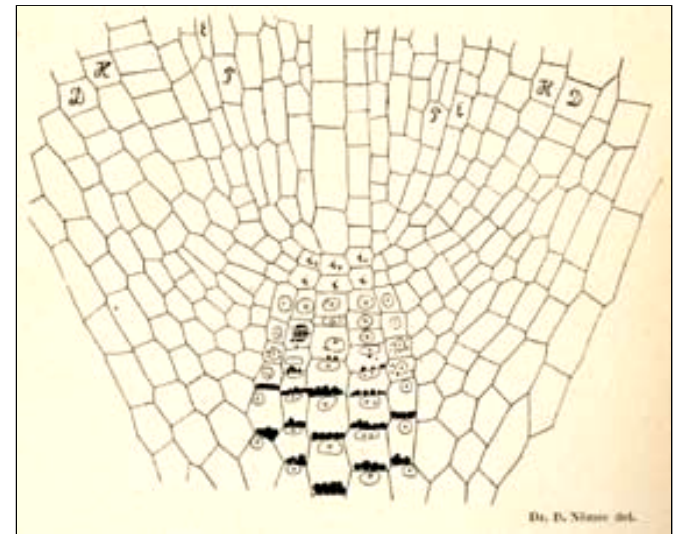
- **sedimentace** amyloplastů v buňkách kolumely kořenové čepičky
- spojení aktinových filament s váčky obsahujícími **PIN proteiny**
- inserce PIN proteinů do plazmat. membrány umožní transport auxinu na spodní stranu kořene
- **inhibice** prodlužovacího růstu na spodní straně
- výsledkem je zakřivení kořene dolů

# Profesor Bohumil Němec (1873 - 1966)

## statolitová teorie



Pražská universita  
1900



struktura kořenové špičky,  
kolumela se statolity (amyloplasty)

# Studium auxinu

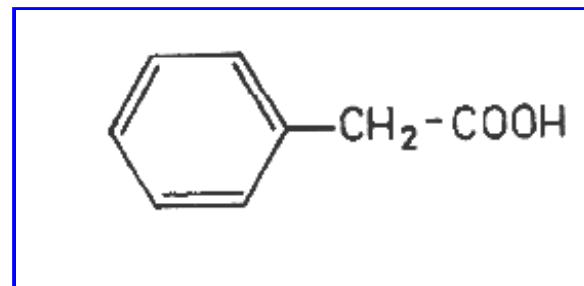
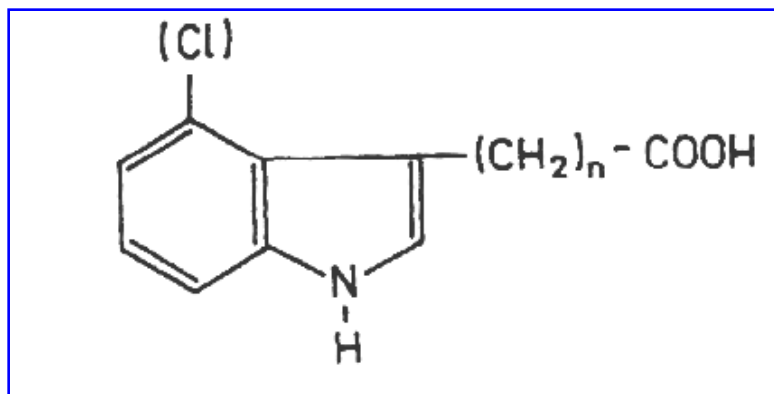


Eva Zažímalová



Eva Benková a Jiří Friml

# Přirozené auxiny



kyselina fenylactová

kyselina indolyl-3-octová (n=1) **IAA**

kyselina indolyl-3-másečná (n=3) **IBA**

kyselina 4 chlor- indolyl-3-octová (Cl) **4-Cl-IAA**

Krystalické látky, špatně rozpustné ve vodě v kyselé a neutrální oblasti. Dobře rozpustné v organických rozpouštědlech a ve vodném alkalickém prostředí.

**IAA dosti nestálá (světlo)**

# Biosyntéza auxinu

od **tryptofanu** jsou známé dvě cesty, ale více preferovaná je cesta, kdy v prvním kroku dochází k transaminaci na **indolpyruvát** - pak následuje dekarboxylace na **indolacetaldehyd** - a po enzymatické oxidaci vzniká **IAA**.

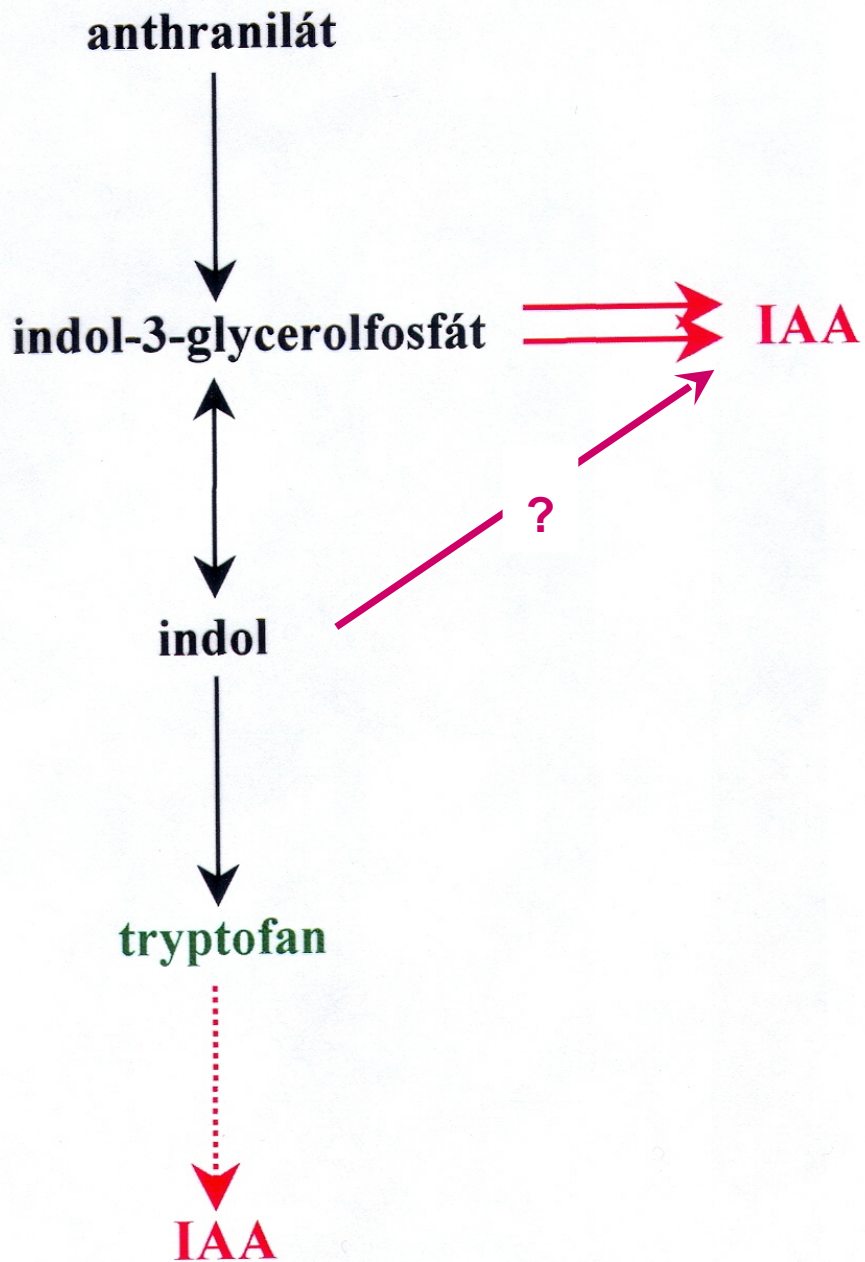
enzymy nezbytné pro tuto syntézu jsou nejaktivnější v mladých nediferencovaných pletivech - v **meristémech**, v **mladých listech** a v plodech (**v embryích**)



IAA je syntetizována tam



# Novější schéma biosyntézy auxinu



Zažímalová 2011

# Mechanismy kontroly množství auxinů

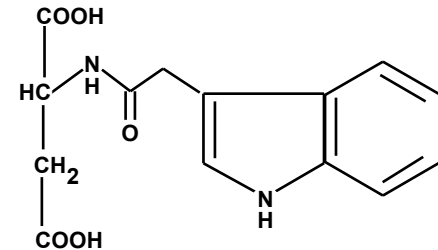
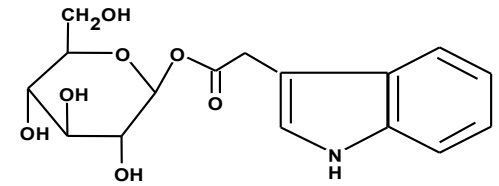
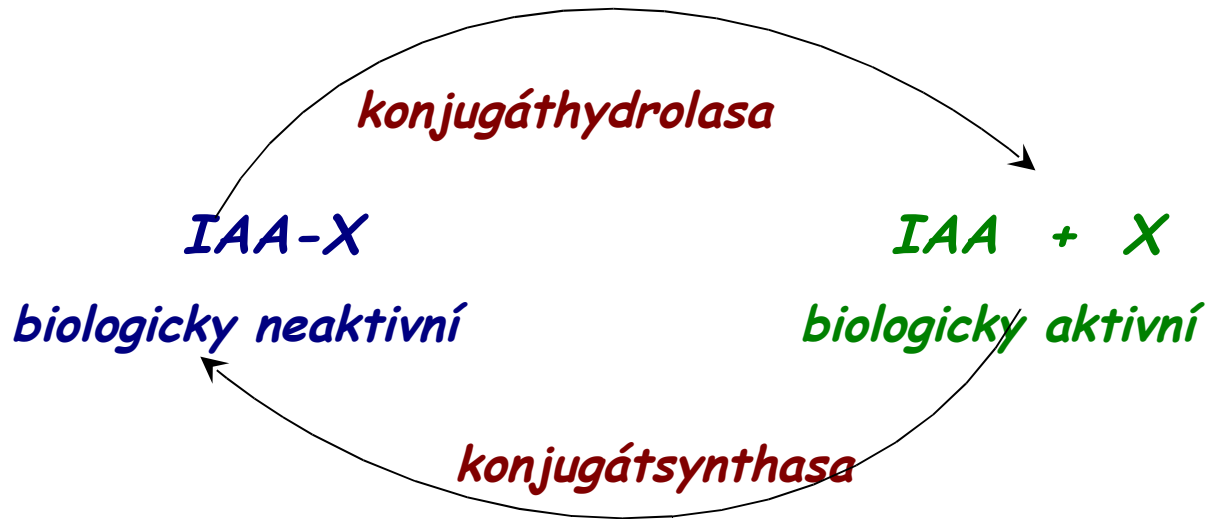
- **konjugace** = kovalentní vazba na nízkomolekulární látky (aminokyseliny, cukry)

funkce konjugátů (Bandurski 1984)

1. zásobní forma (neaktivního) hormonu
  2. ochrana hormonu před oxidací
  3. konjugáty jsou stabilní transportní formou
  4. konjugace slouží jako prostředek regulace množství endogenního hormonu
- **degradace** = oxidace  $O_2$  a ztráta  $COOH - CO_2$  (dekarboxylace)



# Metabolismus IAA v rostlinách - konjugační reakce



Donor X: UDP-Glc, UDP-Gal, *myo*-inositol, Asp, Ala, Glu

Zažímalová 2011

Konjugáty IAA v rostlinách: 50%-90% celkového obsahu IAA

Lokalizace:

ve zrajících semenech, ve vegetativních pletivech

Funkce:

- zásobní (hydrolysa při klíčení semen)

- transportní

- ochranná (konjugáty nepodléhají štěpení peroxidasami)

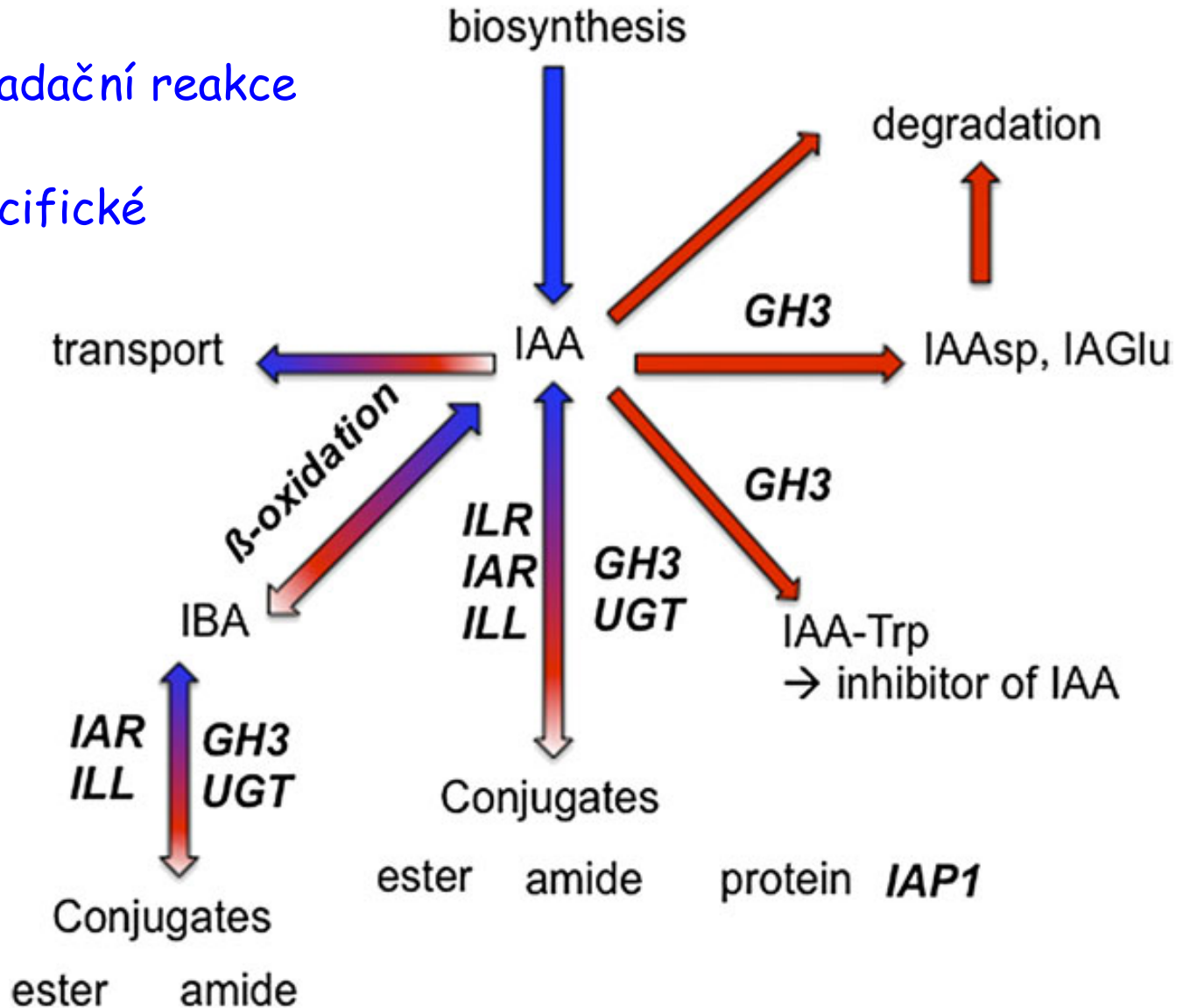
- „detoxikační“ (pro vysoké endogenní hladiny IAA)

# Metabolismus auxinu

konjugační a degradační reakce

velmi druhově specifické  
často propojené

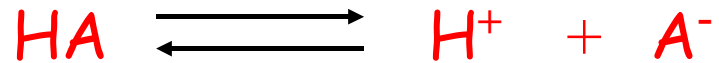
Zažímalová 2011



# Transport auxinu na buněčné úrovni

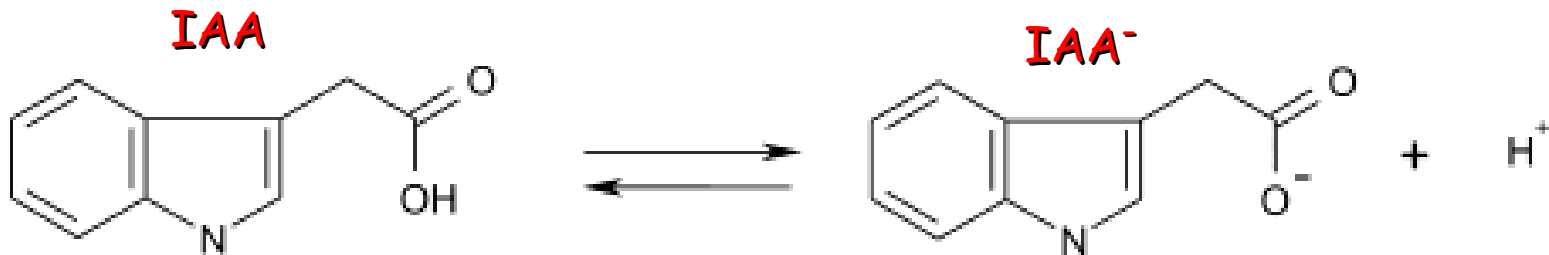
Auxiny = slabá organická kyselina

Zažímalová 2011



pH ↓

pH ↑



pH = 5.5:

~ 20%

~ 80%

pH = 7.0:

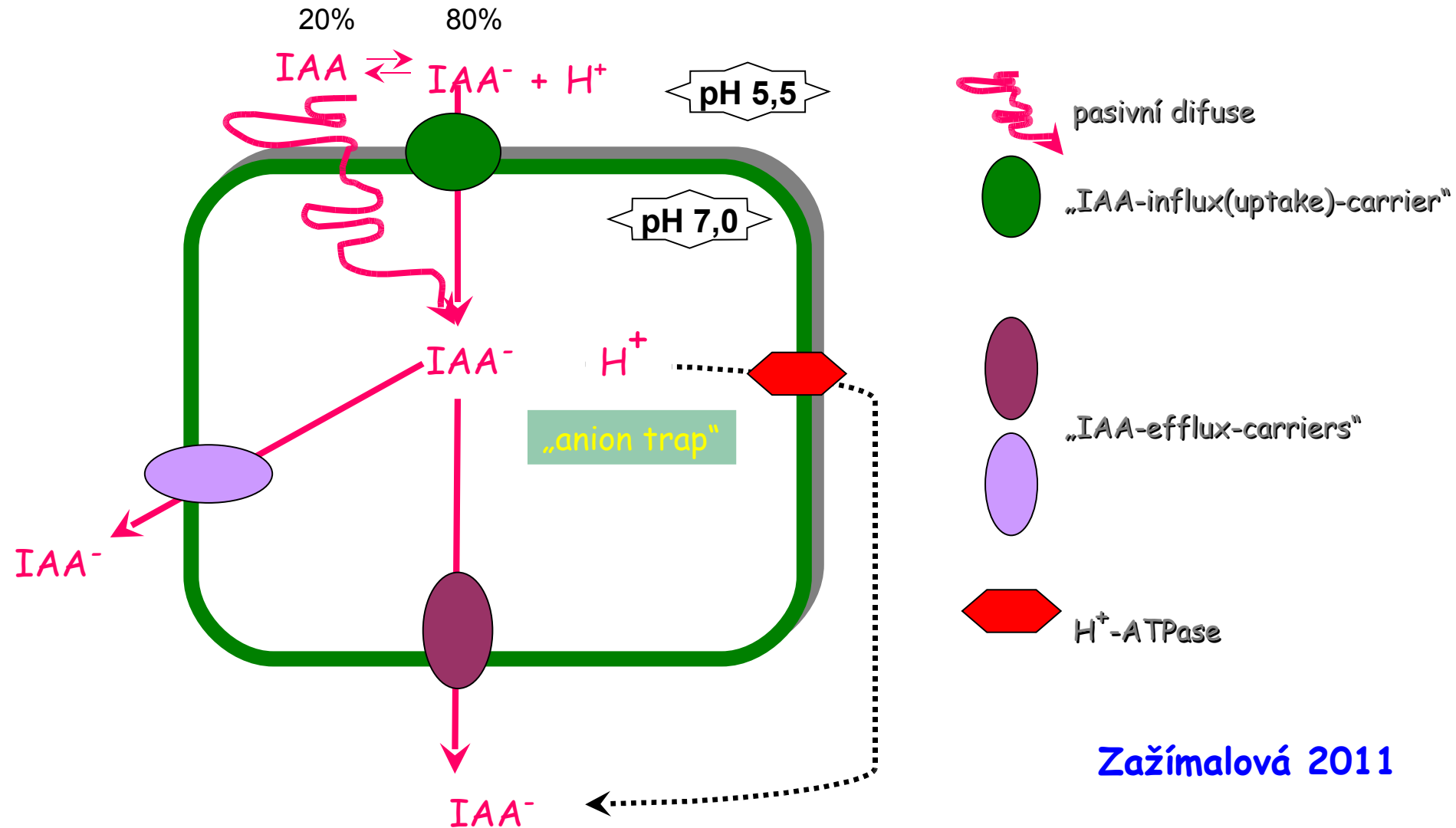
~0

~100%

# Transport auxinu na buněčné úrovni

- auxin je přenášen polárním transportem z do buňky buňky pomocí přenašečů: na jedné straně je vnesen do buňky pomocí „influx“ přenašečů v plasmatické membráně (**AUX1/LAX**) a transportován ke druhé straně buňky pomocí „efflux“ přenašečů tzv. **PIN** nebo **ABCB** proteinů
- *PIN FORMED* geny (**PIN 1-8**), kódují auxinové „efflux“ přenašeče
- distribuce těchto přenašečů v buňce určuje, kterým směrem bude auxin transportován

# Transport auxinu z buňky do buňky

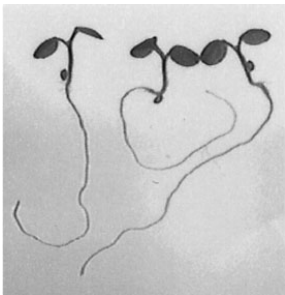


# Mutanti Arabidopsis se vztahem k transportu auxinu

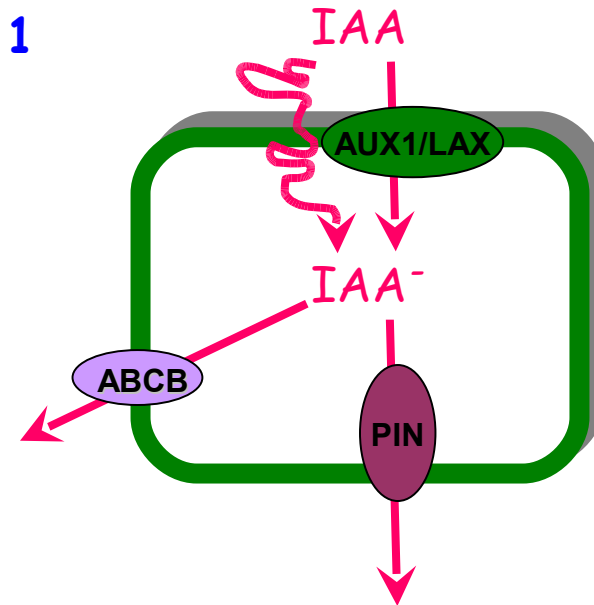
Zažímalová 2011

## Mutant *aux1*

agravitropic roots



(Marchant et al. 1999)



## Mutant

### *mdr1/pgp19/abcb19*

complex phenotype, dwarf



(Noh et al. 2001)

WT *mdr1/pgp19/abcb19*

## Mutant *pin1*

strong phenotype in floral organs

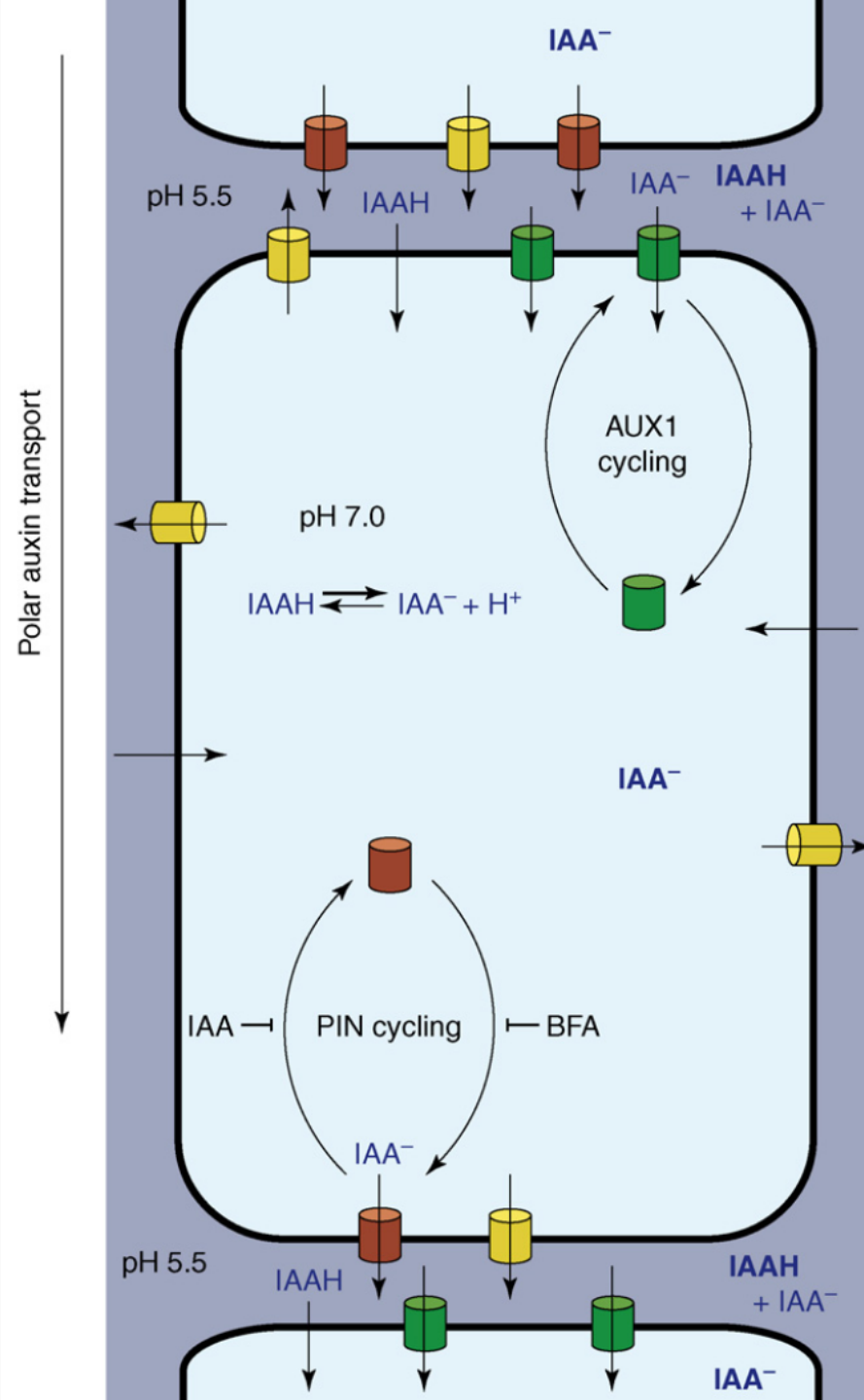


(Palme & Gälweiler 1999, modified)

WT *pin1*

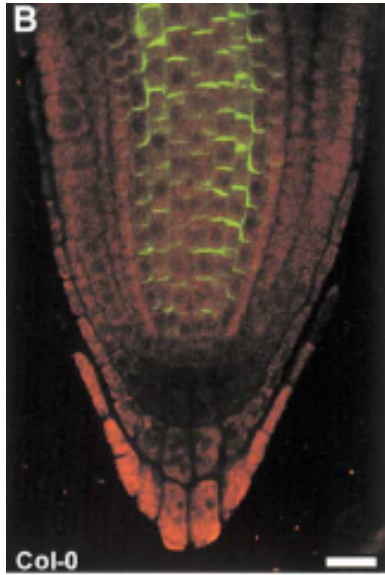
# Model pro polární transport auxinu

vychází z chemiosmotické hypotézy



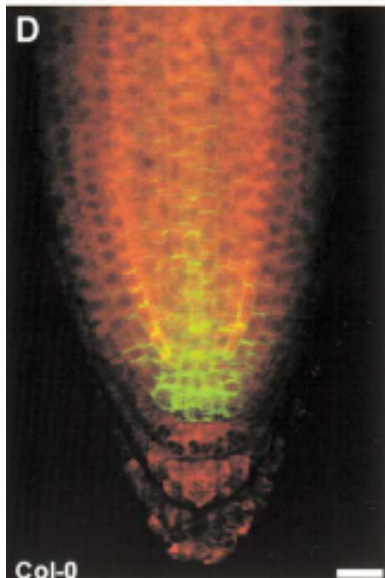
# Exprese a lokalizace AtPIN1 a AtPIN4

J. Friml (Cell 2002)



» signál **AtPIN1** byl detekován v plasmatické membráně buněk centrálního válce a slabší signál v buňkách endodermis.

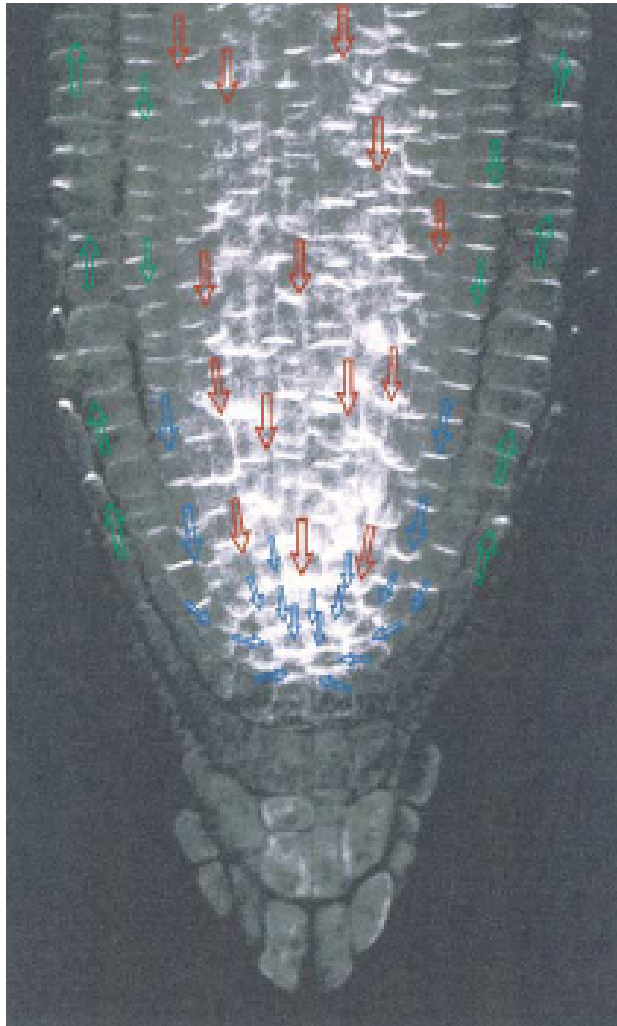
» **AtPIN1** protein je lokalizován převážně na basální straně buněk.



» **AtPIN4** protein byl prokázán v oblasti buněk klidového centra (QC cells) a blízkého okolí.



# Exprese a lokalizace PIN proteinů ve špičce kořene *Arabidopsis*



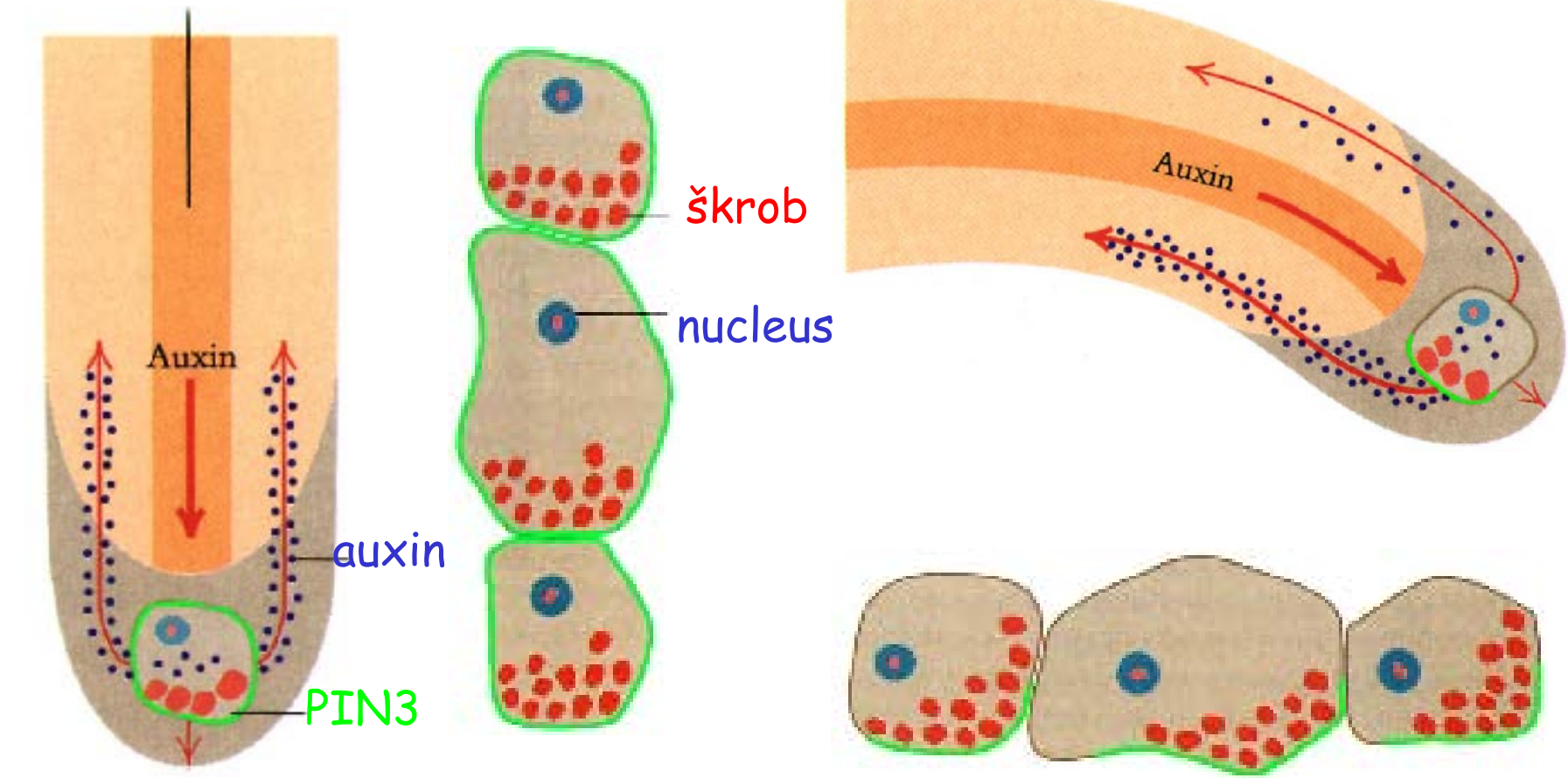
imunolokalizace **AtPIN1** ukazuje na tok auxinu směrem k centru kořenového meristému (**červené šipky**)

**AtPIN4** reguluje směřování toku auxinu do kolumely - vytváří auxinové maximum (**modré šipky**).

část auxinu je přesměrována vnějšími vrstvami zpět do elongační zóny a reguluje zakřivování kořene (**AtPIN2, zelené šipky**)

(Friml a Palme 2002)

# Mechanismus gravitropismu



symetrická  
distribuce auxinu

buňky kolumely

J. Friml

# Jak auxin způsobuje různé efekty v rostlině?

2 možnosti:

- okamžitá reakce, **přímý vliv** na buňku (prodlužování)
- pomalejší odezva - **změna exprese genů**

# Přímé vlivy auxinu

přítomnost auxinu na povrchu buňky iniciuje okamžité reakce:

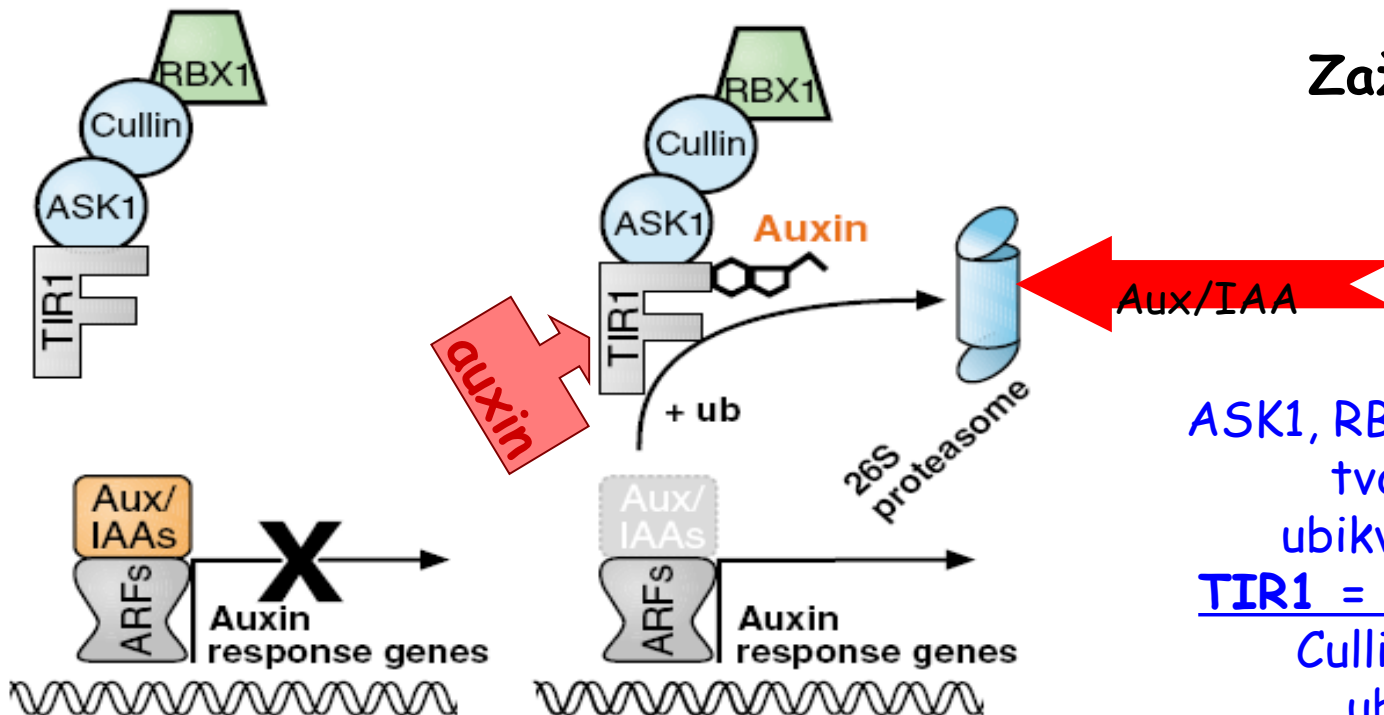
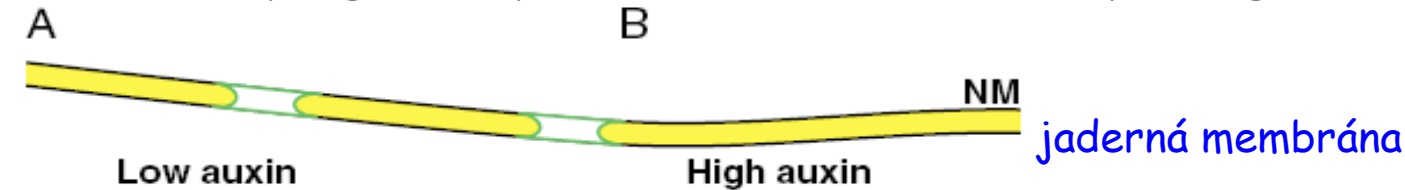
- **změny v pohybu iontů** přes plazmatickou membránu do buňky a z buňky
- **extenze buněčné stěny** - prodlužování buňky
- auxin iniciuje tyto změny po vazbě na **specifické receptory** na povrchu buňky - transmembránové proteiny jako ABP1 („AUXIN-BINDING PROTEIN 1“)

# Vliv auxinu na expresi genů

- mnoho vlivů auxinu je zprostředkováno změnami **transkripce genů**
- auxin vstupuje do buňky **aktivním transportem**
- v cytosolu se váže na proteiny jako **ARF1** („AUXIN RESPONSE FACTOR1“)
- ARF1 je **transkripční faktor**
- transkripční faktor vstupuje **do jádra** a váže se na promotory genů, které reagují na auxin (= auxin je tzv. **„response element“**)
- působení auxinu na transkripci genů je podobné působení **steroidních hormonů u živočichů**

# Regulace genové exprese v odpovědi na auxin - receptor TIR1

V odpovědi na auxin jsou represory Aux/IAA degradovány ubikvitinligázou SCF<sup>TIR1</sup>. Tím jsou uvolněny transkripční faktory ARF, které aktivují transkripci genů odpovědi na auxin („auxin response genes“).



Zažímalová 2011

ASK1, RBX1 a TIR1 = proteiny tvořící komplex s ubikvitinligázou SCF;  
TIR1 = receptor pro auxin;  
 Cullin = podjednotka ubikvitinligázy;



# Indukce tvorby adventivních kořenů auxinem



vliv **IBA**

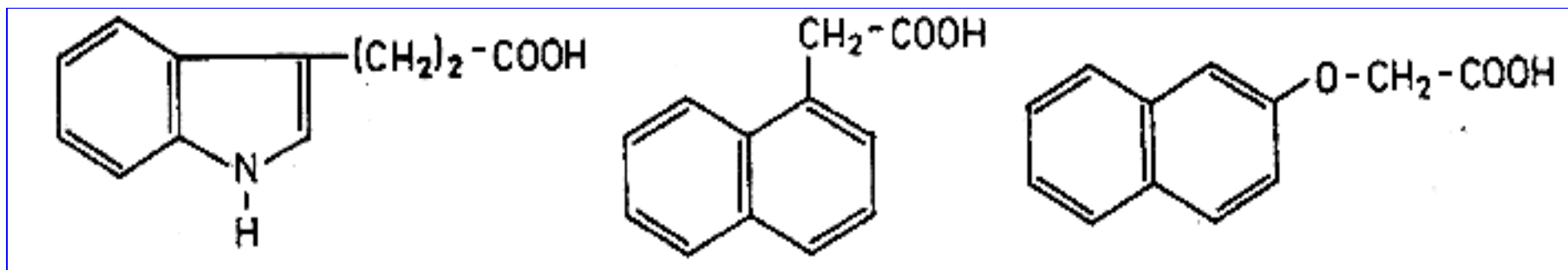
**kontrola** bez IBA

zakořeňování řízků kopřivěnky (*Coleus*)

# Syntetické látky (růstové regulátory) s účinkem auxinů

1. indolové kyseliny

2. naftalenové kyseliny



kyselina indolyl-3-propionová

**IPA**

α-naftyloctová

**NAA**

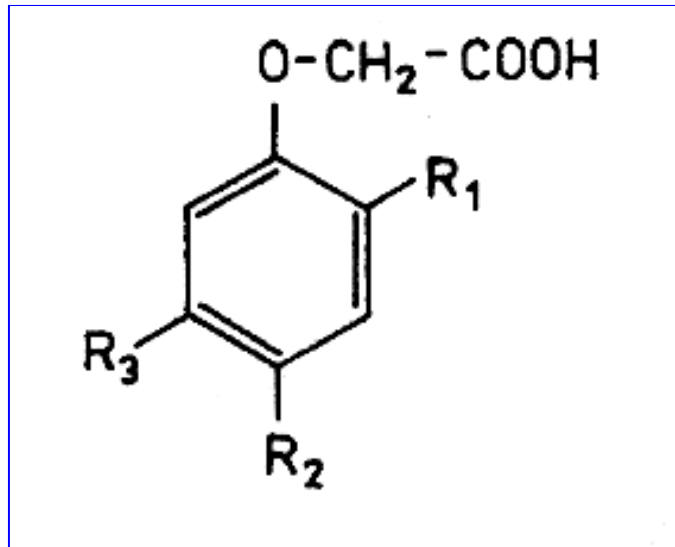
β-naftoxyoctová

**NOA**



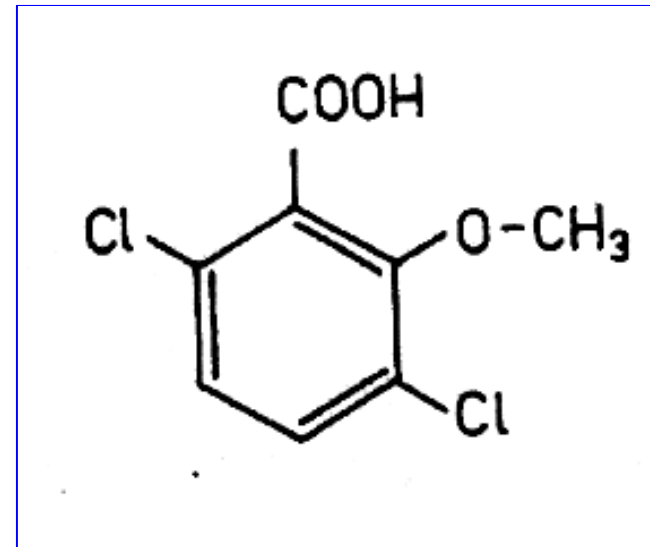
# Syntetické látky s účinkem auxinů

## 3. chlorfenoxykyseliny



2,4-dichlorfenoxyoctová **2,4-D**  
2,4,5-trichlorfenoxyoctová **2,4,5-T**  
2-metyl-4-chlorfenoxyoctová **MCPA**

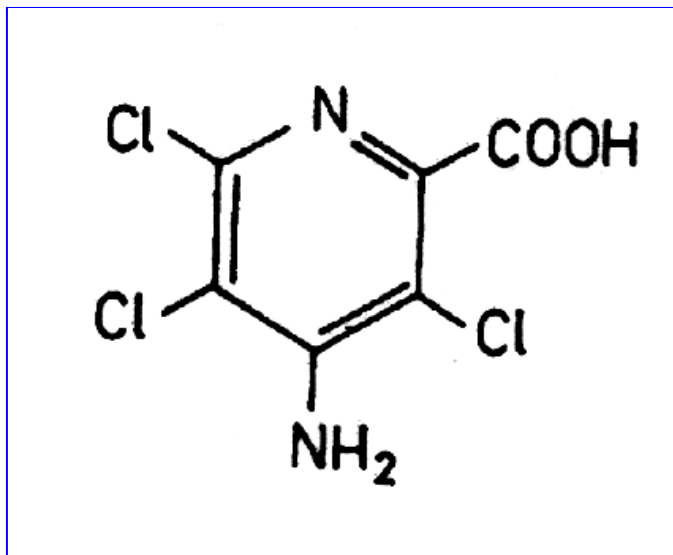
## 4. benzoové kyseliny



**dicamba**

# Syntetické látky s účinkem auxinů

## 5. deriváty kyseliny pikolinové (izonikotinové)



**picloram**

4-amino-3,5,6-trichloro-  
pikolinová kyselina

vlastnosti syntetických auxinů jsou podobné IAA,  
ale jsou stálejší

# Herbicity

2,4-D selektivně likviduje dvouděložní rostliny, ale ne trávy (podstatu selektivity ještě neznáme)

2,4-D se dostává do buněk usnadněnou difúzí, ale neexistuje její přenašeč z buňky ven (efflux carrier)

**„Agent Orange“ používaný ve Vietnamu armádou USA  
k defoliaci pralesa byl směsí 2,4-D a 2,4,5-T**

# Auxin - doporučené stránky

Kimbalova učebnice - auxiny

<http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/BiologyPages/A/Auxin.html>

experimenty s vlivem auxinu na iniciaci laterálních orgánů

<http://home.cc.umanitoba.ca/~umrahm04/39.768/P2/P2.html>

transport auxinu, přenos signálu

<http://www.public.iastate.edu/~bot.512/lectures/Auxin-action.htm>

vazebné proteiny pro auxin

[http://www.bio.unc.edu/faculty/jones/lab/auxin\\_binding\\_protein.html](http://www.bio.unc.edu/faculty/jones/lab/auxin_binding_protein.html)

# Auxin - doporučená literatura

- Petrášek J., Malínská K., Zažímalová E. (2010): **Auxin transporters controlling plant development.** - In: Geisler M. Venema K. (eds.) Transporters and Pumps in Plant Signaling. Series Signaling and Communication in Plants Vol. 7.
- Zažímalová E., Murphy A.S., Yang H., Hoyerová K., Hošek P. (2010): **Auxin Transporters—Why So Many?** COLD SPRING HARBOR PERSPECTIVES IN BIOLOGY
- Vandebussche F., Petrášek J., Žádníková P., Hoyerová K., Pešek B., Raz V., Swarup R., Bennett M., Zažímalová E., Benková E., Van Der Straeten D. (2010): **The auxin influx carriers AUX1 and LAX3 are involved in auxin-ethylene interactions during apical hook development in *Arabidopsis thaliana* seedlings.** - DEVELOPMENT 137: 597-606.
- Tanaka H, Dhonukshe P and Friml J. (2006) **Spatio-temporal asymmetric auxin distribution: Means to coordinate plant development,** Cellular and Molecular Life Sciences, 63: 2738-54.
- Paciorek T and Friml J. (2006) **Auxin signalling,** Journal of Cell Science, 119: 1199-202.
- Morris D, Friml J., Zažímalová E. (2004) **The Transport of Auxins.** In: Davies P.J. (Ed.): Plant Hormones: Biosynthesis, Signal Transduction, Action, Kluwer Academic Publishers. s. 437 - 470, ISBN: 1-4020-2685-4. (Textbook)

# Gibereliny

- **Kurosawa** - při studiu houbové choroby rýže bakanae - způsobené houbou *Gibberella fujikuroi* (v imperfektním stadiu *Fusarium moliniforme*)
- ve vodě rozpustné látky produkované houbou  
kyselina giberelová = giberelin  $A_3$  ( $GA_3$ )
- terpeny - *ent*-giberelanový skelet
- dnes je již známo více než 80 giberelinů ( $GA_1$ ,  $GA_3$  ...)

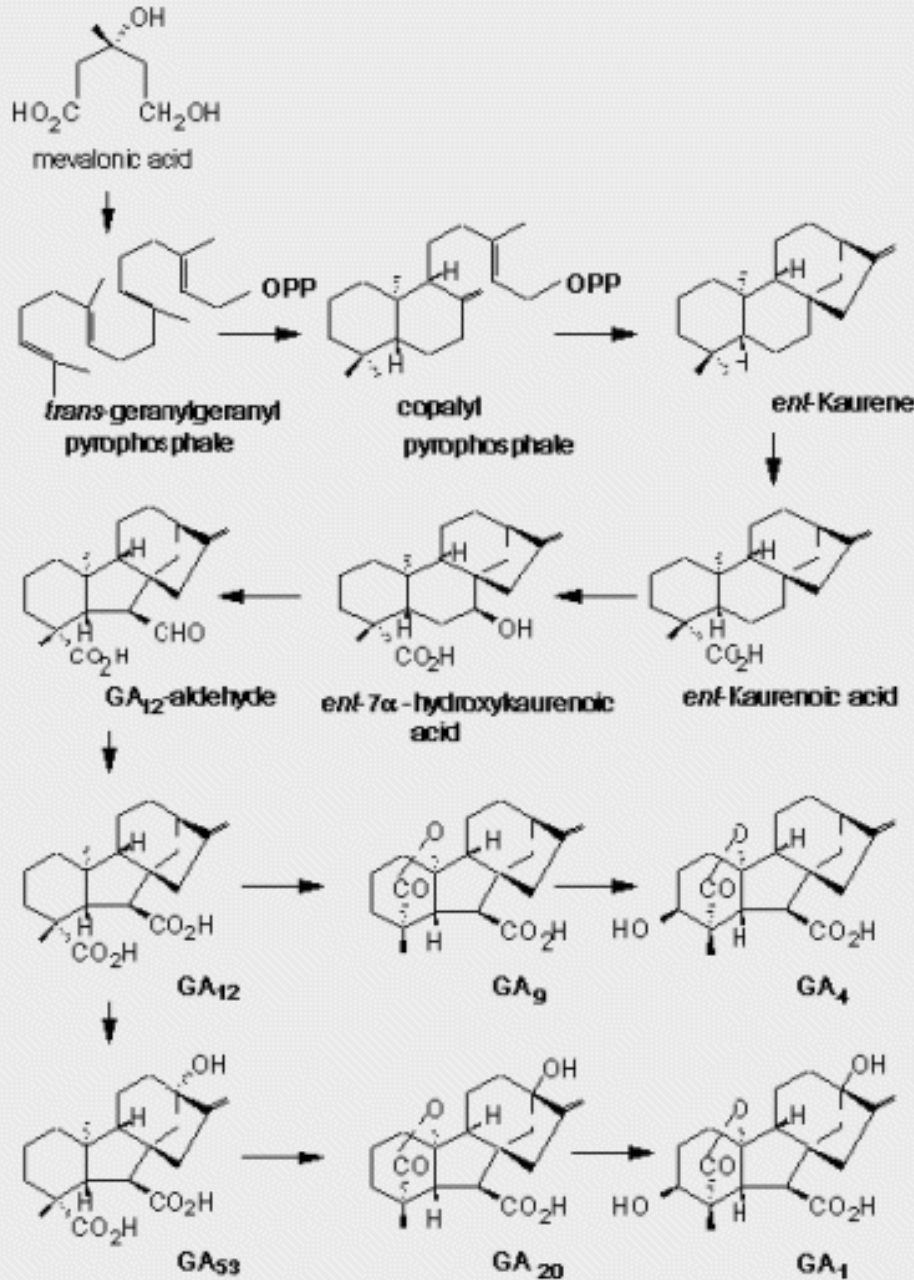
3x AcCoA



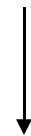
kyselina mevalonová



geranylgeranyl  
pyrofosfát



ent-kauren



kyselina  
ent-kaurenová

**Biosyntéza  
giberelinů**

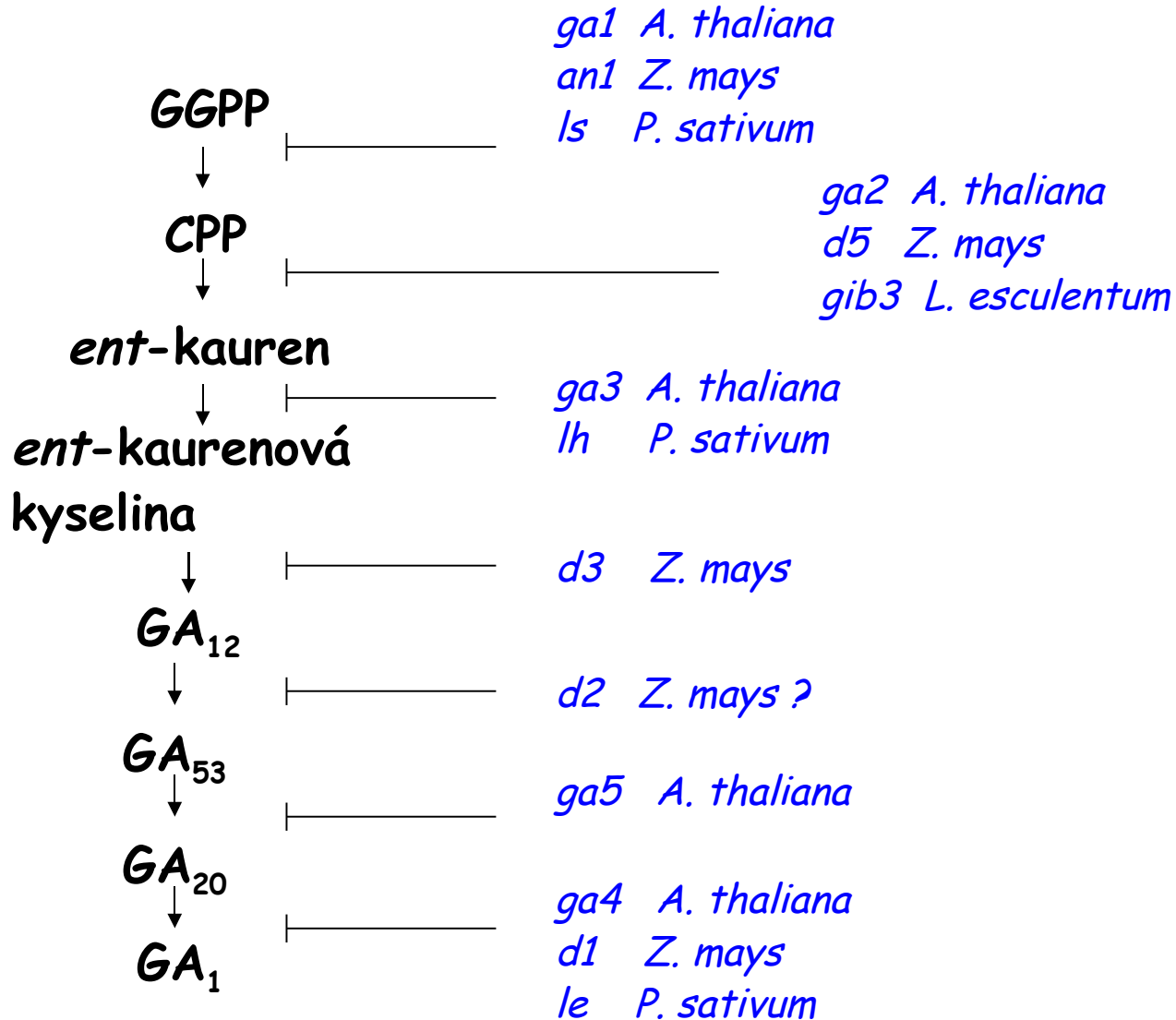
první giberelin

**GA<sub>1</sub>**

neaktivní

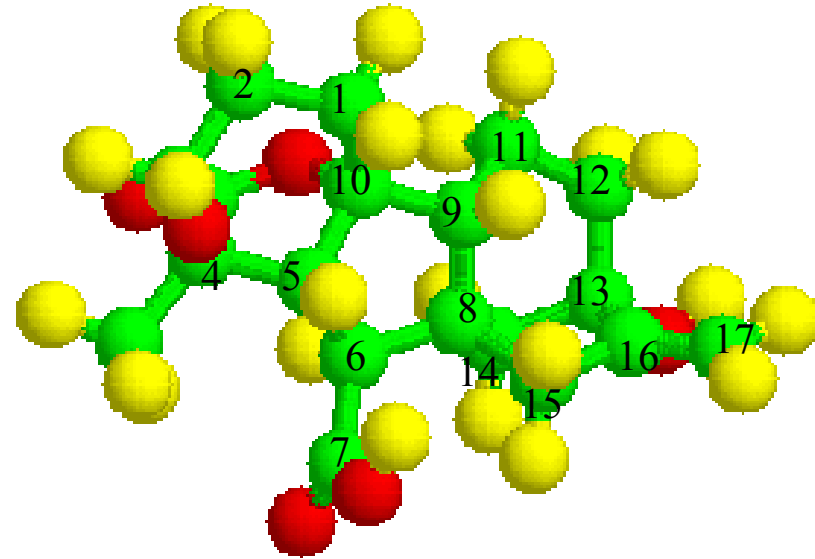
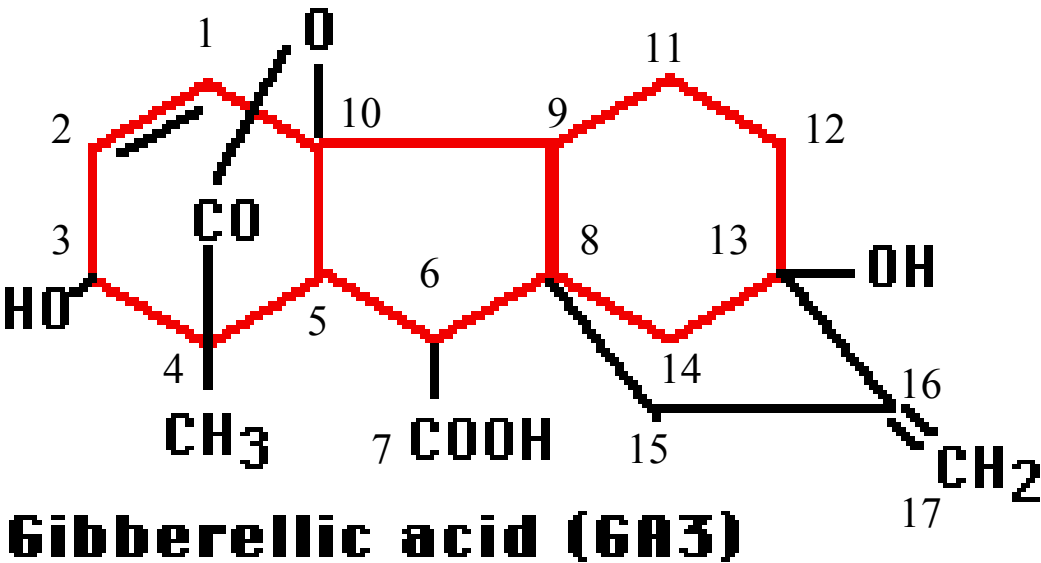
aktivní

# Mutanti syntézy giberelinů





# Gibereliny



strukturní vzorec GA<sub>3</sub>

model struktury GA<sub>1</sub>

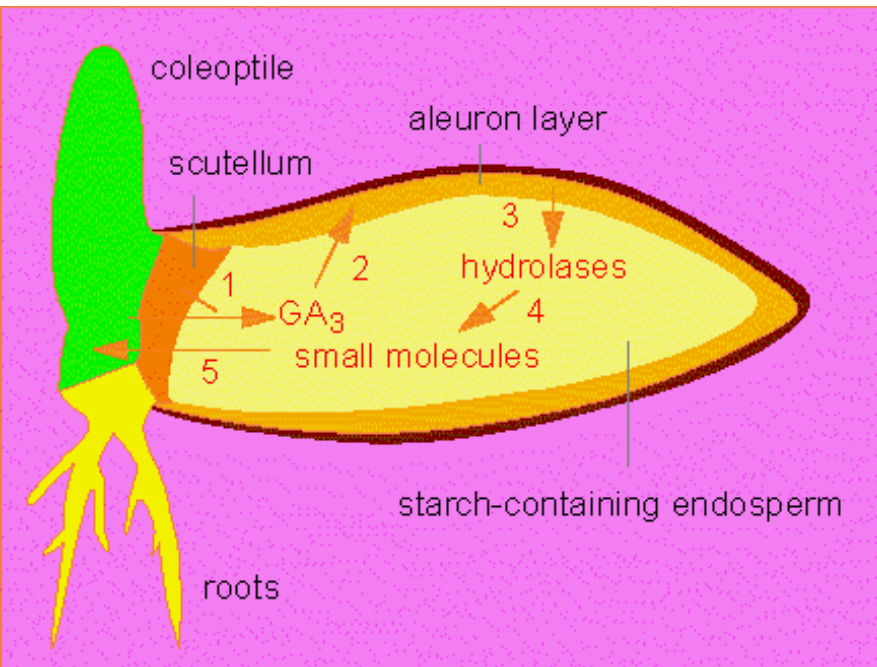
<http://www.lars.bbsrc.ac.uk/plantsci/gas.html>

<http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/BiologyPages/G/Gibberellins.html>

# Funkce giberelinů

1. **prodlužování buněk** spojené se stimulací růstu
2. **dělení buněk** v kambiu (spolupůsobení s IAA)
3. vyvolání **partenokarpie**
4. **indukce kvetení** v neindukčních podmínkách
5. **porušení dormance** pupenů nebo semen, indukce klíčení semen
6. **mobilizace** zásobních látek v semenech při klíčení (transkripce  $\alpha$ -amylázy)

# Mechanismus působení giberelinů na klíčení obilovin



- gibereliny ( $GA_3$ ) z embrya a štítku
- indukce aktivace nebo *de novo* syntézy  $\alpha$ -amyláz v aleuronové vrstvě
- transport  $\alpha$ -amyláz do endospermu
- hydrolýza škrobu
- transport cukrů do rostoucí rostlinky

# Regulace hladiny giberelinů

- regulace biosyntézy
  - regulace syntézy *ent*-kaurenu
  - regulace syntézy vnějšími faktory (teplota a světlo = fotoperioda - aktivita  $Ga_{20}$  oxidáz)
  - inhibice zpětnou vazbou
- tvorba konjugátů (s glukosou)
- ireversibilní deaktivace ( 2-beta-hydroxylace)

# Cytokininy

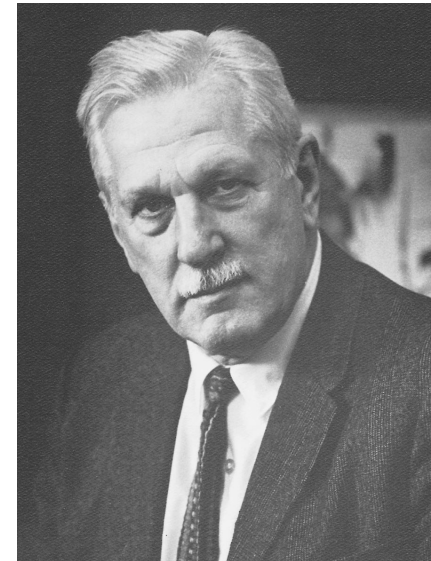
1913 **Gottlieb Haberlandt** - látky obsažené ve floému mají schopnost indukovat buněčné dělení

1941 **Johannes van Overbeek** - podobné vlastnosti má endosperm z kokosových ořechů

1955 **Miller et al.** izolace prvního cytokininu ze spermatu sled'ů - název **kinetin** = látka stimulující buněčné dělení (cytokinezi)

1956 **Folke Skoog** - výsledky pokusů s indukcí dělení buněk dřene tabáku (poměr auxinů a cytokininů)

1961 **Miller**, 1963 **Letham** - izolace prvního přirozeného cytokininu z obilek (nezralého endospermu) kukuřice (*Zea*) = **zeatin**



# Cytokininy

fytohormony odvozené od adeninu  
(pozor na záměnu s cytokiny)

nativní cytokininy

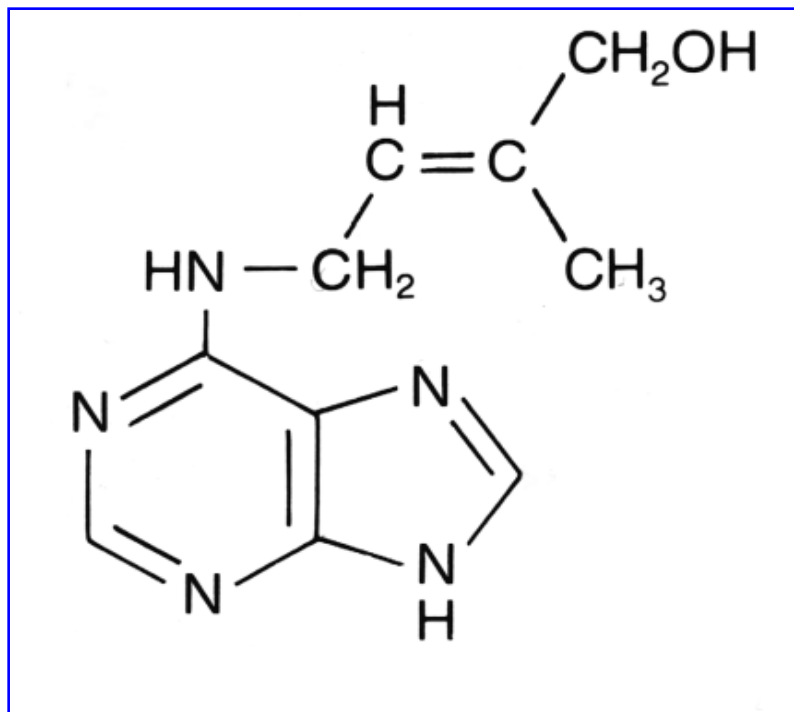
## izoprenoidní

- zeatin (trans) (z nezralého endospermu *Zea*)
- dihydrozeatin
- izopentenyladenin

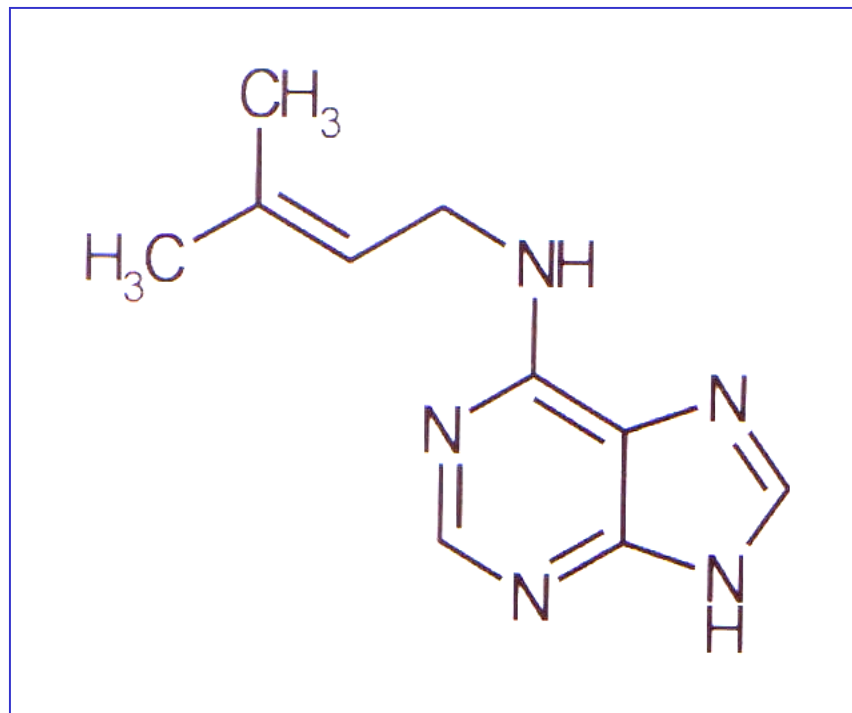
## aromatické

- benzylaminopurin
- m-topolin (3-hydroxybenzylaminopurin)

# Nativní cytokininy - izoprenoidní

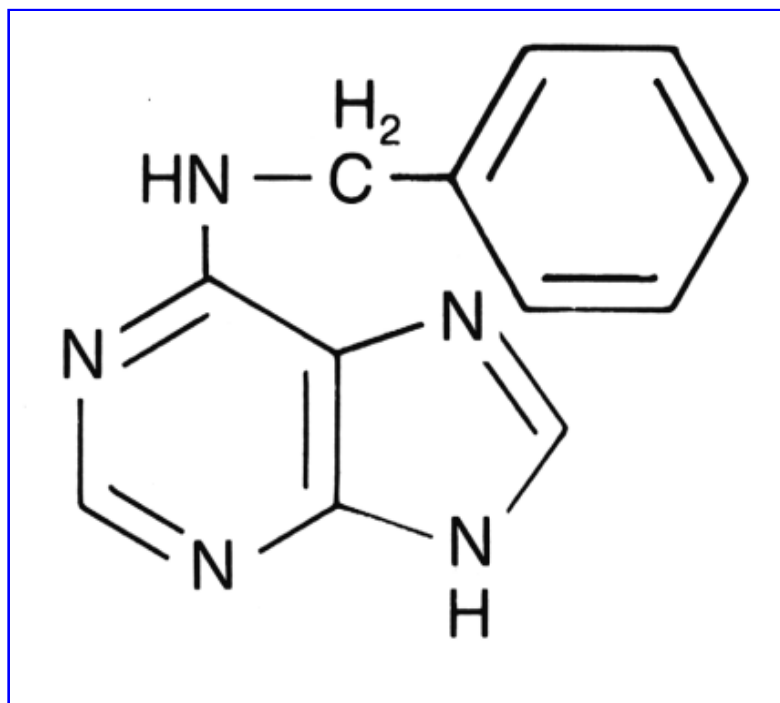


trans - zeatin **Z**  
trans - zeatinribosid **ZR**

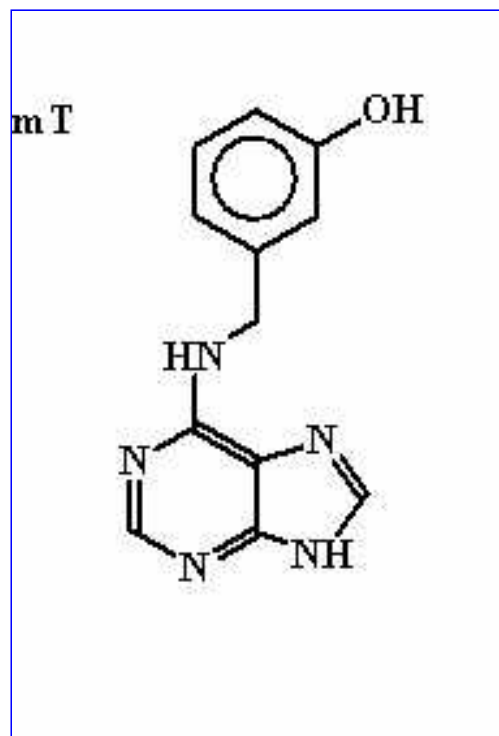


izopentenyl adenin **iP**

# Nativní cytokininy- aromatické



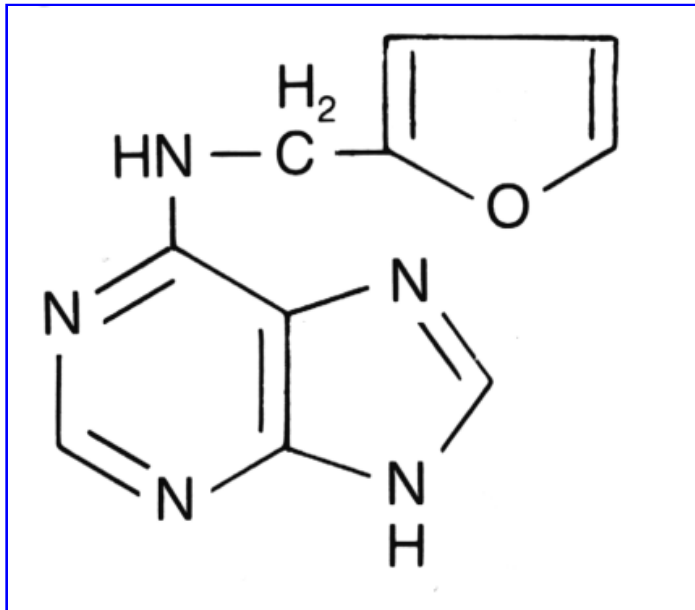
benzyladenin **BA**  
(benzylaminopurin **BAP**)



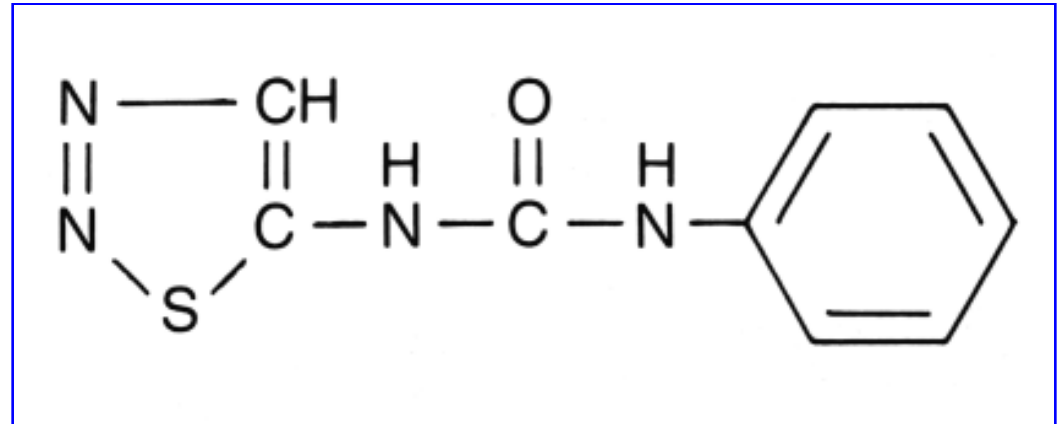
6-(3-hydroxybenzylamino)purin  
*meta*-topolin **mT**  
poprvé izolován z listů topolu



# Syntetické cytokiny



furfuryl aminopurin  
kinetin **K**



derivát močoviny  
thidiazuron **TDZ**

# Vliv cytokininů

- stimulace buněčného dělení → název
- potlačení apikální dominance → podpora růstu axilárních meristémů, iniciace adventivních pupenů
- stimulace vývoje chloroplastů
- aktivace syntézy RNA a proteinů  
→ oddálení senescence
- zvýšení odolnosti ke stresům (zasolení, sucho, vysoká teplota, vlhkost)

# Metabolismus cytokininů:

Kamínek (1992)



- vzájemná přeměna bází, nukleotidů a nukleosidů
- N-glukosylace purinu a konjugace alaninu (N-9)
- O-glukosylace a acetylace postranního řetězce
- redukce dvojné vazby postranního řetězce
- odštěpení postranního řetězce



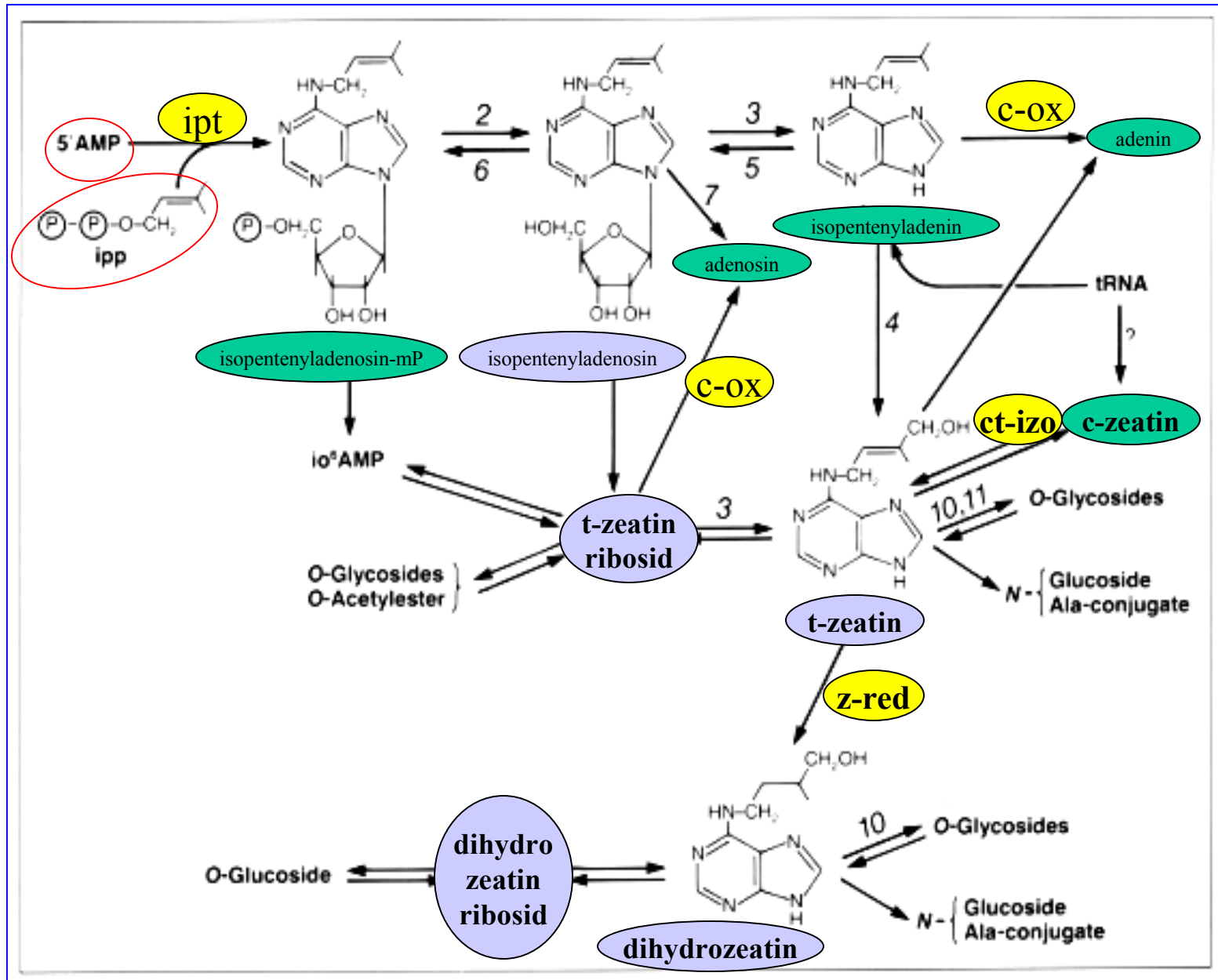
Johannes  
van Staden

Praha ACPD 2005

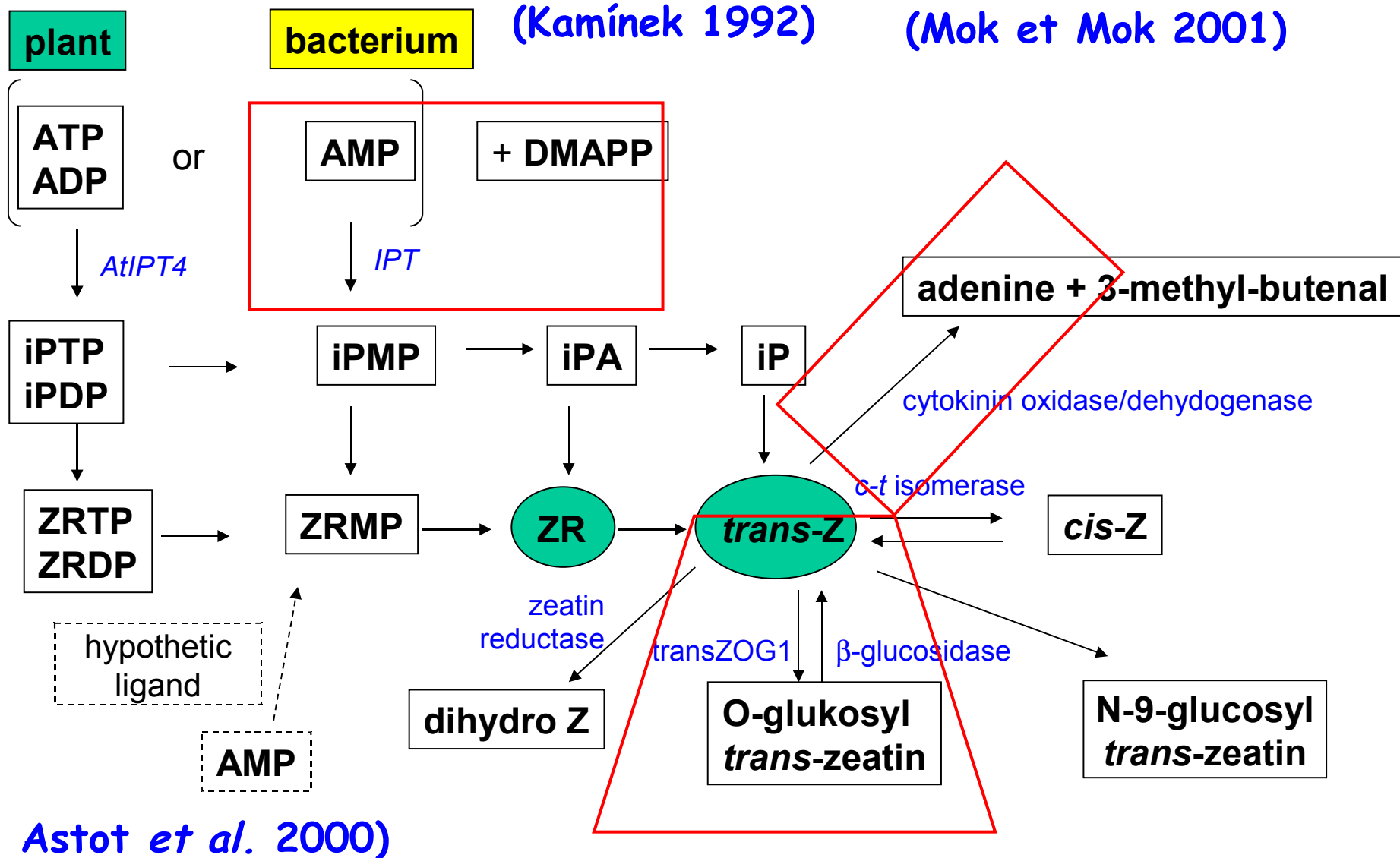


Praha ACPD 2009

# Metabolismus cytokininů



# Biosyntéza a metabolismus cytokininů





# Transgenní tabák s aktivním *ipt* genem z *Agrobacterium tumefaciens*

velká  
nadprodukce  
endogenních  
cytokininů

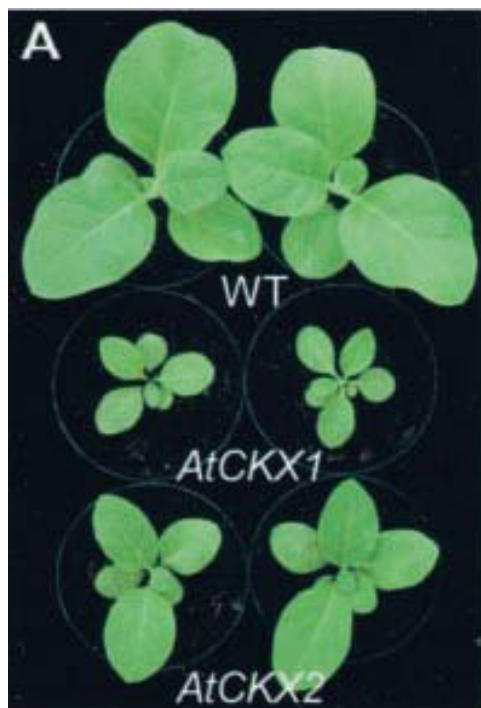


potlačení  
apikální  
dominance



teratomy neschopné tvorby kořenů,  
květů a semen

# Fenotyp tabáků exprimujících cytokininoxidázu/dehydrogenázu AtCKX1



6 týdenní  
rostliny



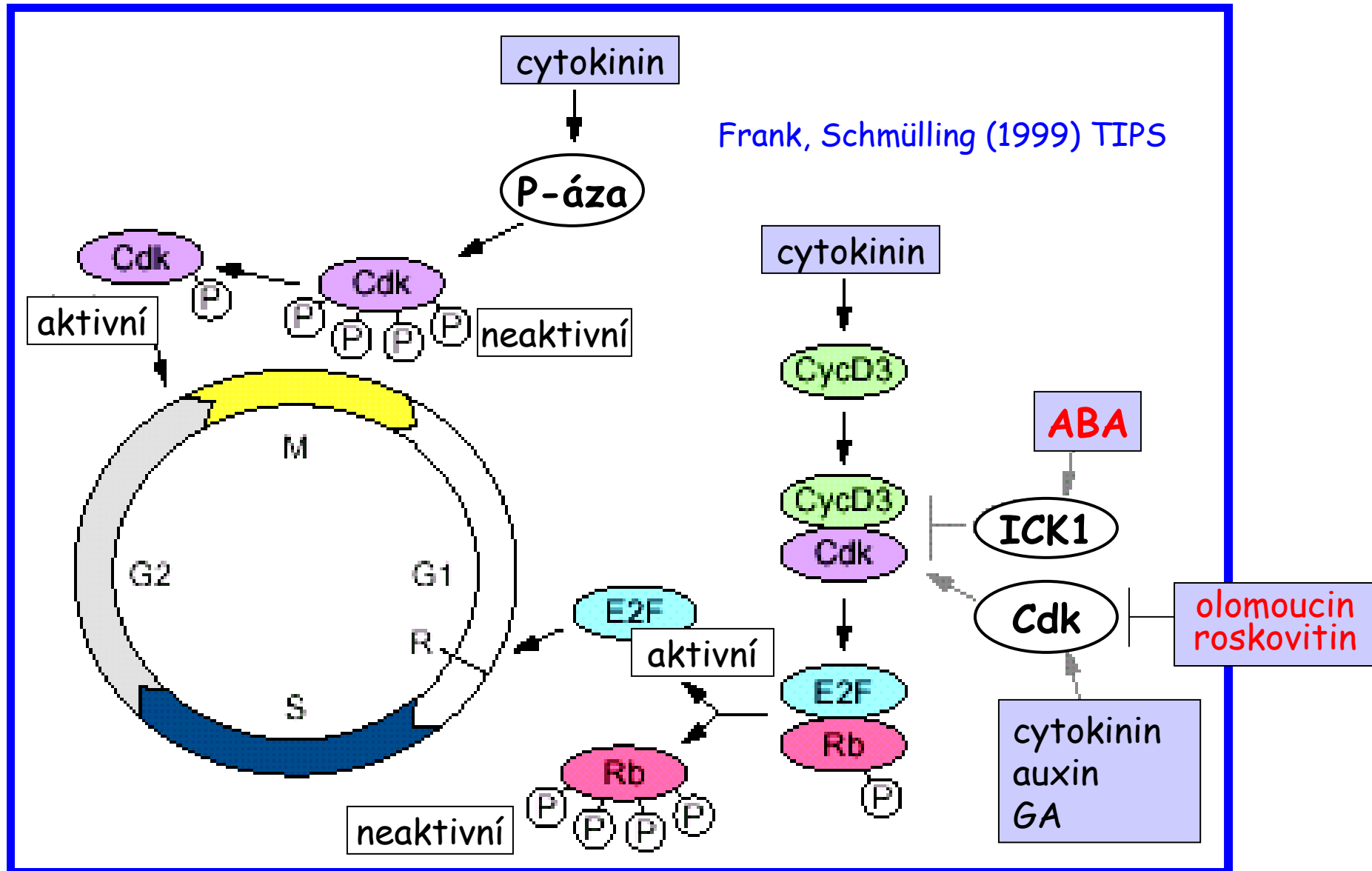
rostliny  
v době květu



4., 9., 12., 16. a 20. list  
(počítáno shora)  
průběh senescence

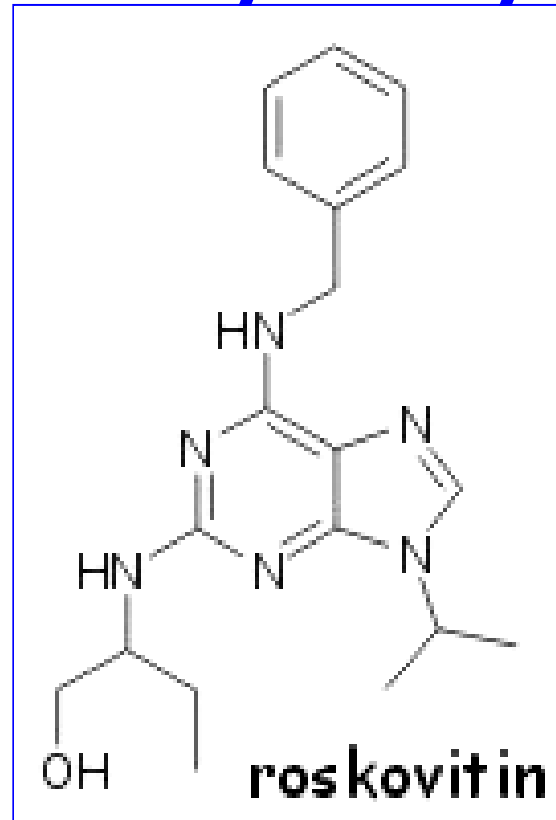
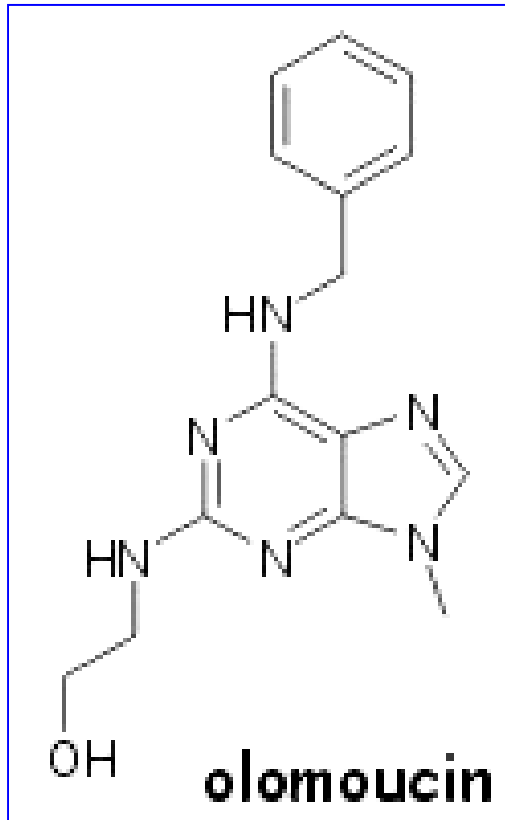


# Regulace buněčného cyklu - ovlivnění fytohormony



# Inhibitory kináz (CDK)

odvozeny od cytokininů



soutěží s ATP o vazebné místo v molekule kinázy

M. Strnad

# Využití derivátů cytokininů

= deriváty **BAP** - testy na lidských fibroblastech prokázaly „antiaging“ efekty (**Pyratene - 6** = krém proti stárnutí kůže)

**INCYDE** = inhibitor **CKX/DH** - struktura odvozená od **BAP** = po postřiku touto látkou dochází ke zvětšování květů i semen



**Olomoucín I** (9-metylpurin) - inhibuje buněčné dělení,

**Olomoucín II, Roscovitin** (isopropylpurin) - inhibice p35 Cdk5, která se nadprodukuje při Alzheimerově chorobě. Nyní se již testují léčiva **SELICICLIB** a **CYCLACEL**

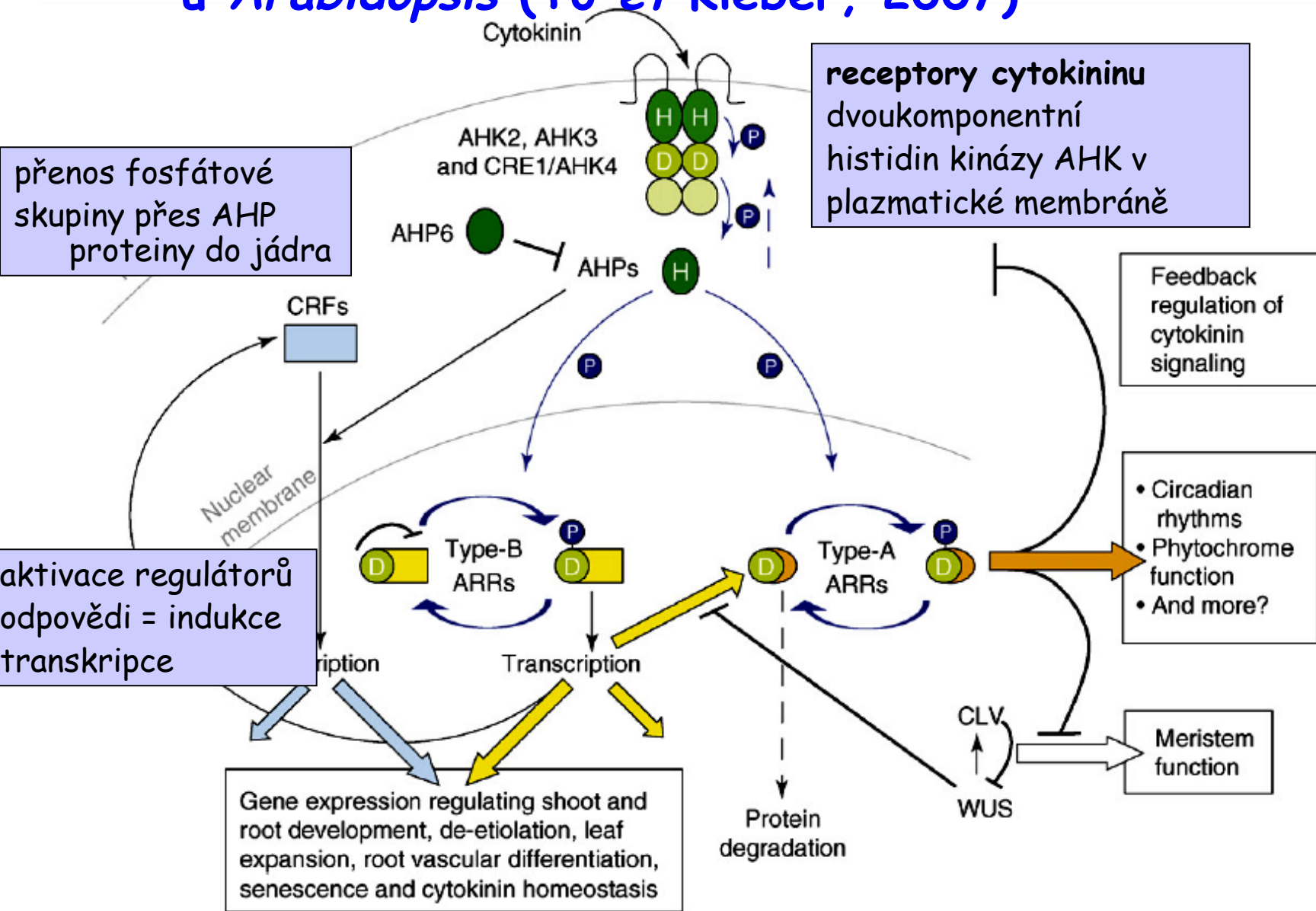
- využití onkologie, neurologie (Alzheimer), virologie (herpes), parazitologie (Plasmodium, Trypanosoma, Toxoplasmosa)

# ACPD - Praha



J. Kieber, M. Kamínek  
R. Vaňková

# Hypotéza příjmu a přenosu signálu cytokininu u *Arabidopsis* (To et Kieber, 2007)



# Regulace hladiny aktivních cytokininů

- rychlost biosyntézy
- rychlost konverzí (metabolismu)
- konjugace s glukosou a alaninem
- transport
- degradace

# Metody stanovení cytokininů

## A. Biotesty

- proliferace buněk v kalusové kultuře - nepoužívá se již příliš často, protože trvá velmi dlouho
- expanze děloh ředkviček
- inhibice ztráty chlorofylu v segmentech listů ječmene během senescence

## B. Chemické analýzy

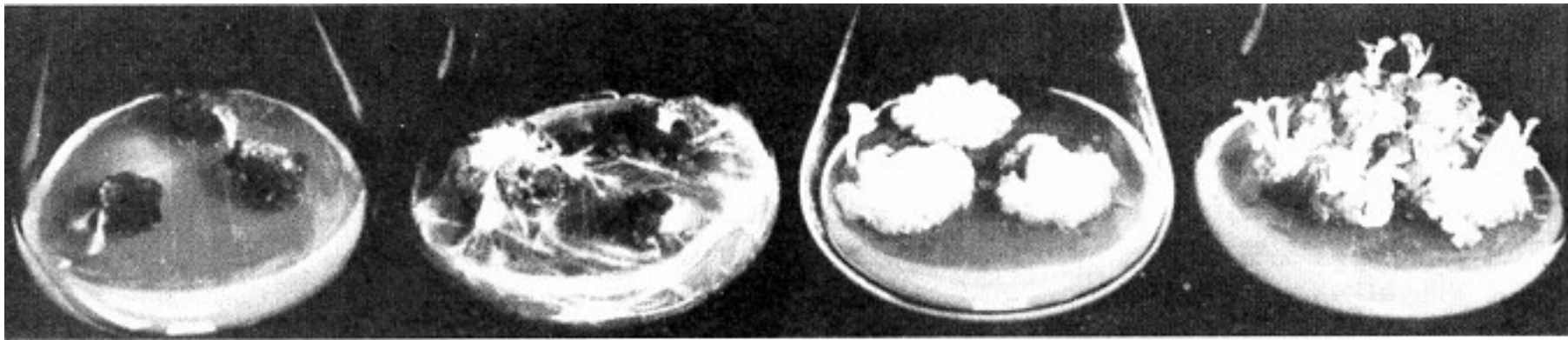
- chromatografie HPLC
- hmotová spektroskopie LC/MS
- radio-imunoanalýza RIA, ELISA

# Interakce cytokininu a auxinu

## Morfogeneze v dřevěném kalusu tabáku

Skoog a Miller (1956)

rozdílný poměr auxinu a cytokininu



$\frac{2}{0}$

$\frac{2}{0.02}$

$\frac{2}{0.2}$

$\frac{2}{0.5}$

poměr  
A/C

200

100

10

4



# Fytohormony a růstové regulátory II.

## 4.

Kyselina abscisová  
etylén  
netradiční fytohormony



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Tato prezentace je spolufinancována  
Evropským sociálním fondem  
a státním rozpočtem České republiky

# Kyselina abscisová

hledání faktorů regulujících tvorbu abscisové zóny opadu listů a plodů:

- **abscisin** - opad plodů bavlníku (1963 **Frederick Addicot** a kol., Kalifornie)
- **dormin** - dormance javoru (1964 **Phillip Wareing**, UK)
- **lupin** - opad květů *Lupinus* (1964 **van Steveninck**, UK)

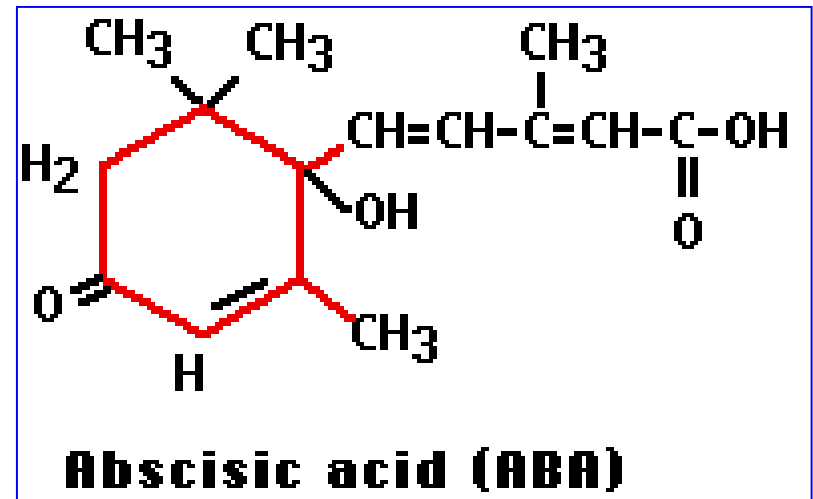
**1967 = kyselina abscisová ABA**

# Kyselina abscisová

Na rozdíl od živočichů nemohou rostliny uniknout z nevhodných podmínek (sucho, příchod zimy) aktivně.

„Adapt or die.“

**Kyselina abscisová (ABA)** je hlavním činitelem při zprostředkování adaptací rostlin na stres.



seskviterpen

# Vlivy kyseliny abscisové

- stimuluje:

- dormanci pupenů a semen
- zavírání průduchů při vodním stresu
- transkripci mRNA zásobních proteinů
- senescenci

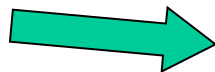
- inhibuje

- klíčení semen
- vegetativní růst
- dozrávání plodů
- antiport  $K^+H^+$

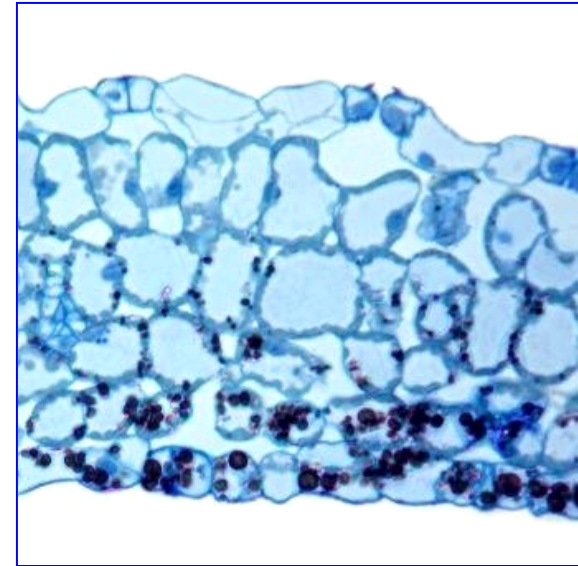
působí proti ostatním růst podporující fytohormonům

# Mechanismus kontroly zavírání stomat

- vazba ABA na povrch plasmatické membrány svěřacích buněk
- růst pH v cytosolu
- přenos  $\text{Ca}^{2+}$  z vakuoly do cytosolu
- zvýšení  $\text{Ca}^{2+}$  v cytosolu blokuje příjem  $\text{K}^+$  svěřacími buňkami a zvýšení pH vede ke ztrátě  $\text{Cl}^-$
- výsledkem je redukce osmotického tlaku a turgoru



**uzavření stomat**



příčný řez  
dělohou tabáku

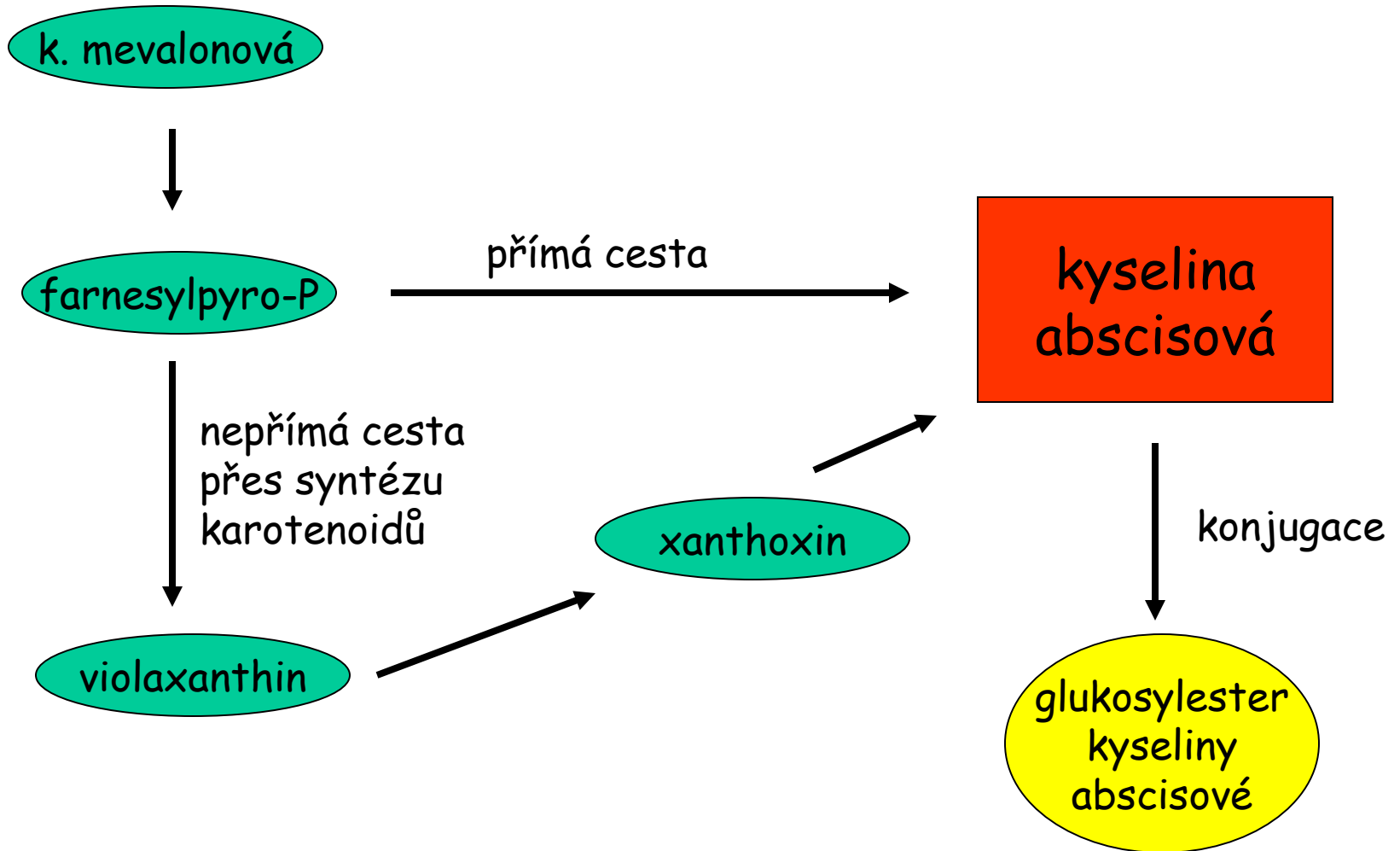
# Dormance pupenů

- **ABA** zprostředkuje přeměnu apikálního meristému na dormantní pupen (nově vytvářené listy = krycí šupiny pupenu = ochrana proti poškození a vyschnutí)
- **ABA** zabraňuje předčasnému rašení pupene
- Přerušení dormance - prodloužené chladové období nebo prodlužování délky dne (fotoperiodismus)

# Zrání a dormance semen

- v průběhu dozrávání semen se zvyšuje koncentrace ABA
- ABA způsobuje dormanci semen a zabraňuje jejich předčasnému klíčení před koncem zimy nebo období sucha
- dormance semen se překonává dostatečně dlouhým obdobím chladu a dostatečným přísunem vody

# Biosyntéza ABA





Ethylen



Salisbury a Ross (1982) Plant Physiology

Gloser (1995) Fysiologie rostlin

*George et al.* 2008

<http://www.plant-hormones.info/ethylene.htm>

# Ethylen

**stará Čína** - vliv pálení kadidla na urychlování  
dozrávání plodů

**Egypt** - urychlování dozrávání fíků jejich poraněním

1864 - **Německo, Francie**: předčasný opad listů  
stromů v blízkosti plynových lamp

1901 - **Neljubov** - prokázal přítomnost ethylenu ve  
svítiplynu + vliv ethylenu na růst rostlin

# Ethylen

1910 - transport pomerančů a banánů (Jamajská obchodní společnost)

1934 - **Gane** (Anglie) prokázal, že ethylen je produkován dozrívajícími jablky a způsobuje:

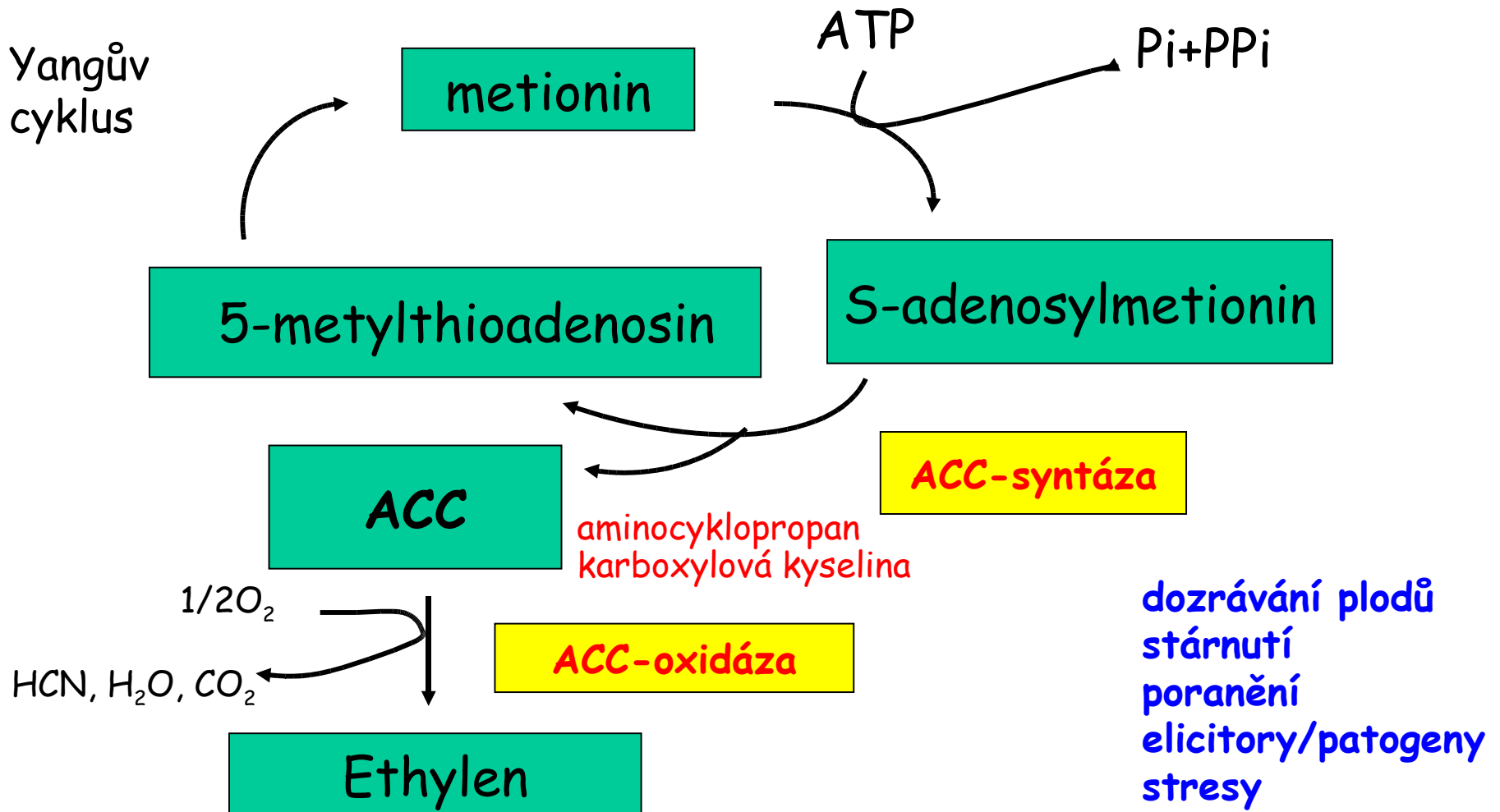
1. měknutí dužiny
2. změny barvy
3. přeměna škrobu na cukr

# Ethylen

ethylen je produkován **všemi rostlinnými částmi**, ale určité orgány jako jsou dozrávající plody, stárnoucí pletiva a meristém produkují mnohem větší množství ethylenu

ethylen se tvoří také jako **odpověď na stres** jako je poranění nebo invaze patogenních organismů

# Biosyntéza ethylenu



# Účinky ethylenu = rozmanité

**inhibuje** dlouhivý růst stonků a kořenů  
**změnou orientace mikrofibril celulózy**

**stimuluje**

**dozrávání** plodů

**rezistenci** vůči poranění a chorobám

**tloustnutí** stonku a kořenů, nestejná reakce vede k epinastii  
řapíků

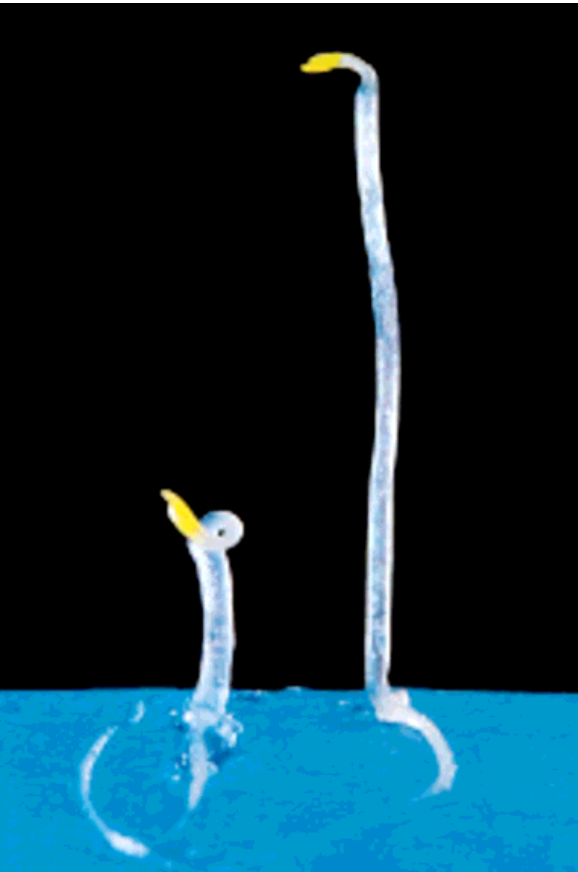
**senescenci** květů a plodů, vyvolává tvorbu odlučovací vrstvy  
v řapících listů a plodů (**abscisi**)

**tvorbu adventivních** kořenů

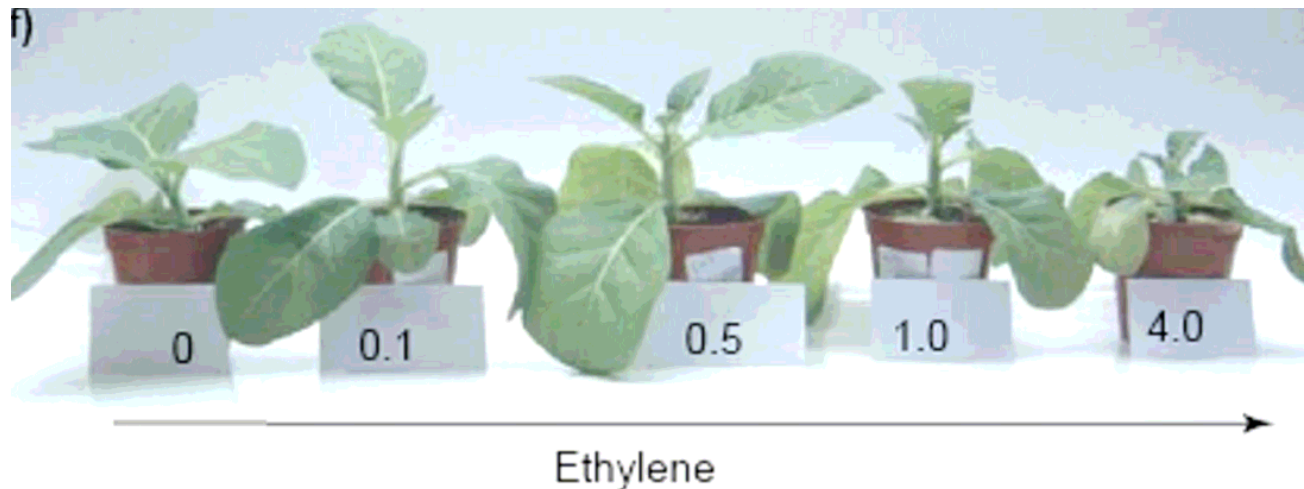
**horizontální** růst



# Trojná odezva (triple response)



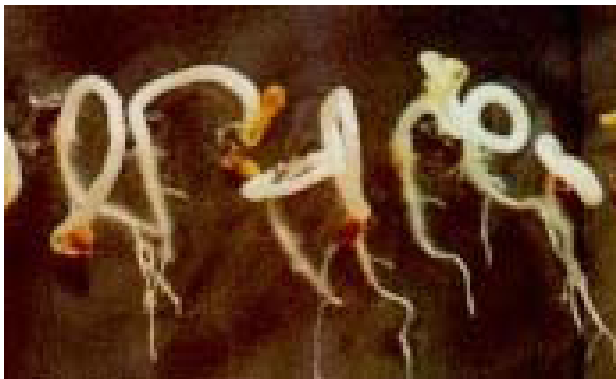
- kořeny nerostou pozitivně geotropicky
- tloušťnutí stonků (hypokotylů)
- epinastické řapíky listů (zakřivují se směrem ke stonku)



# Důkaz, že ACC je nejdůležitějším meziproduktem v biosyntéze ethylenu

*ACC deaminasa* = mikrobiální enzym, vyskytující se u četných půdních mikroorganismů, včetně bakterií podporujících růst rostlin, katalyzuje hydrolytické štěpení (ACC) na  $\alpha$ -ketobutyrát a čpavek

<http://www.plant.uoguelph.ca/research/plantbio/BTamot.htm>



kontrolní klíčící rostliny rajčat po působení ACC



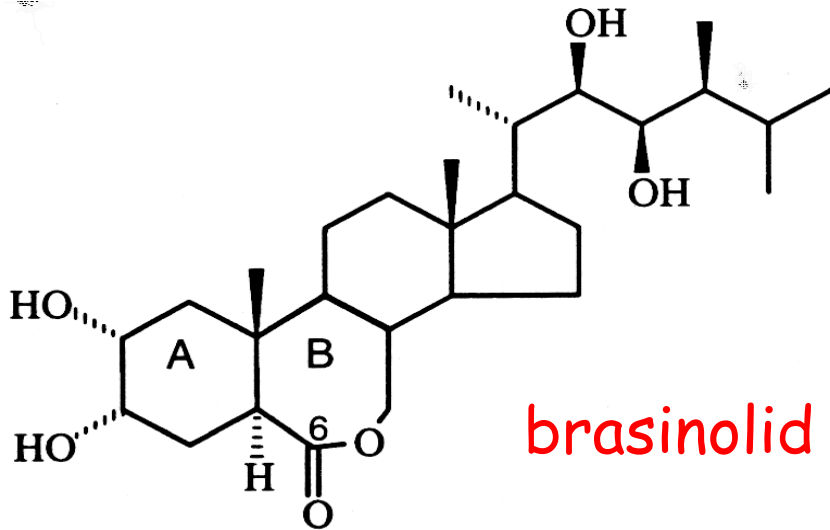
transgenní klíčící rostliny rajčat exprimující *ACC deaminasu* pod konstitutivním promotorem po působení ACC



# Netradiční fytohormony

- brasinosteroidy (**brasinolid**)
- **kyselina jasmonová** a metyljasmonát
- polyaminy (**putrescin, spermin, spermidin**)
- oligopeptidy (**systemin**)
- oligosachariny
- fenolické látky (deriváty kyseliny skořicové, benzoové, kyselina salicylová)
- strigolaktony
- kouřové látky - butenolidy...

# Brasinosteroidy



brassinolid

1979 izolován z pylu  
řepky olejky  
(*Brassica napus*)

4 mg ze 40 kg pylu

Dříve byly brassinosteroidy považovány pouze za **růstové regulátory** spolu s polyaminy, kyselinou jasmonovou, oligosacharidy nebo některými fenolickými látkami, ale díky objevu brassinosteroidových mutantů *Arabidopsis thaliana* a hrachu (*Pisum sativum*) v roce 1996 a 1997 byly na konferenci v Japonsku v roce 1998 zařazeny mezi **fytohormony**.

# Fyziologické účinky brasinosteroidů

## výrazně stimulují

- **dlouživý růst** a dělení buněk (jejich účinná koncentrace je nižší než u auxinů) - biotesty na zakrslém hrachu, fazolu, aj., výrazně interagují s IAA = mění citlivost pletiv vůči IAA
- **gravitropismus**
- **tvorbu dřevních elementů (xylogenezi)**

## inhibují

- **zakládání a růst** adventivních kořenů
- **opad** listů a plodů

# Oligosachariny

oligogalakturonidy - polymery odvozené od pektinu

**stimulují:** tvorbu květů  
obránné reakce

**inhibují:** tvorbu kořenů

podstata působení: mění biosyntézu auxinu nebo  
inhibují jeho vazbu

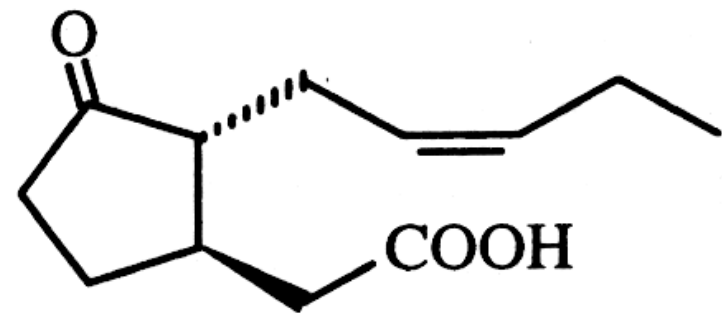
xyloglukany - např. polymery odvozené od hemicelulosy

**stimulují:** prodlužování buněk a růst  
obránné reakce  
morfogenezi (v kultuře)

# Kyselina jasmonová

poprvé izolována z houby  
*Lasiodiplodia theobromae*

izolace - jasmínový olej  
*Jasminum grandiflorum*



kyselina jasmonová JA  
- (aktivnější) a + forma

JA a její metylester MeJA - v mnoha rostlinách, téměř ve všech orgánech až 10ug/g FW

# Hlavní metabolické účinky JA

## stimuluje

- senescenci = urychlování stárnutí listů
- obranu vůči patogenům a hmyzu
- obranu při poranění (= signálem při reakci na dotyk, na patogeny)

## inhibuje

- klíčení semen
- růst kořenů

# Strigolaktony

- jsou **vylučovány kořenovým systémem** rostliny
- regulují její **větvení**
- **modifikují účinek auxinu** a podílí se na interakci rostlin a prostředí, ve kterém rostou (Gomez-Roldan *et al.* 2007, 2008)
- hrají významnou úlohu **při parazitismu** (Yoneyama *et al.* 2008)
- jsou rozpoznávacím signálem pro symbiotické mikroorganismy žijící v kořenech rostlin (mykorhiza) (Soto *et al.* 2010)

# Strigolaktony

- byly nalezeny v kořenových exudátech jako signály při komunikaci s parazitickými rostlinami (*Striga*, *Orobanche*) a mykorrhizními houbami (arbuskulární mykorrhiza)
- u mutantů byla pozorována zvýšená tvorba větvení
  - hrách: *ramosus* (*rms*)
  - *Arabidopsis*: *more axillary growth* (*max*)
- jsou odvozeny od karotenoidů
- inhibují větvení stonků



# Strigolaktony

název odvozený od jména poloparazitické rostliny - *Striga* (čeleď *Orobanchaceae*)

a laktonového kruhu

rostliny rodu *Striga* parazitují např.  
na kukuřici, čiroku a prosu



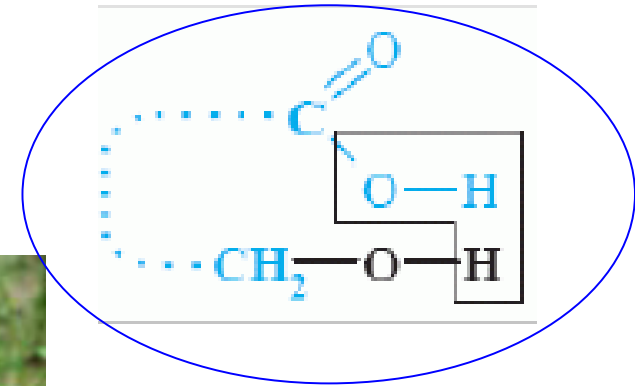
semena parazitických rostlin přežívají celé roky v dormantním stavu  
začínají klíčit teprve po indukci chemickým signálem, vylučovaným  
kořenovým systémem hostitelské rostliny

signálem jsou strigolaktony

během několika minut dochází ke stimulaci mitochondrií, během hodiny  
k nastartování biosyntézy a poté následuje exprese genů aktivujících  
buněčné dělení, růst a diferenciaci (Brewer et al. 2009)

# Strigolaktony - odvození názvu

*Striga hermontica*



*Striga asiatica*

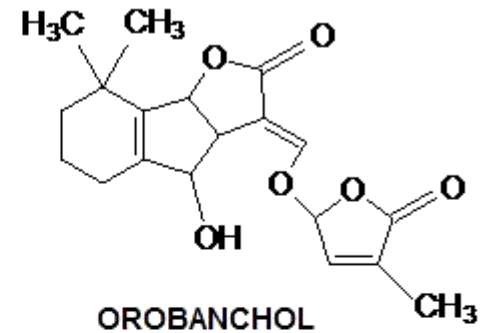
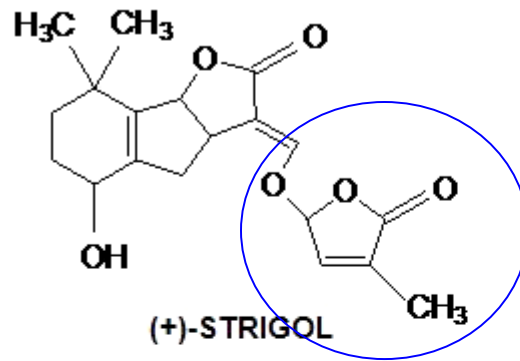
z pdf přednášky L. Havelkové:

<http://www.mykorhizy.webpark.cz/prednasky.html>

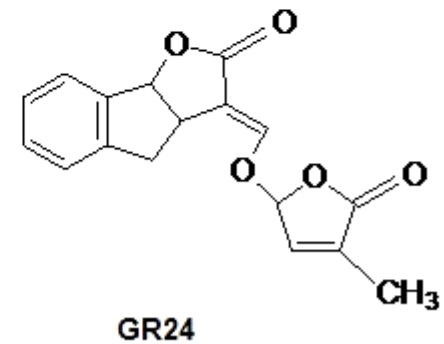
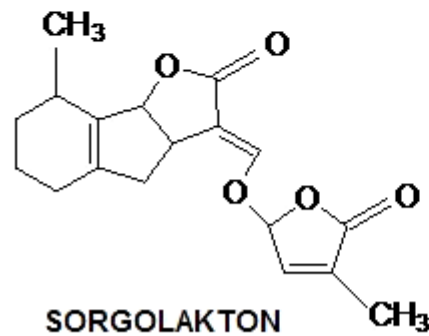
# Strigolaktony

<http://www.toxicology.cz/modules.php?name=News&file=article&sid=316>

chemická struktura  
je odvozena od  
tetracyklické  
molekuly, nazvané  
strigol



2008 - známo již devět:  
např. strigol, orobanchol,  
alectrol, sorgolakton



synteticky připravený analog strigolaktonů = GR24

# Strigolaktony

MAX3, RMS5 a HTD1/D17 kódují CCD7

MAX4, RMS1, D10 a DAD1 kódují CCD8

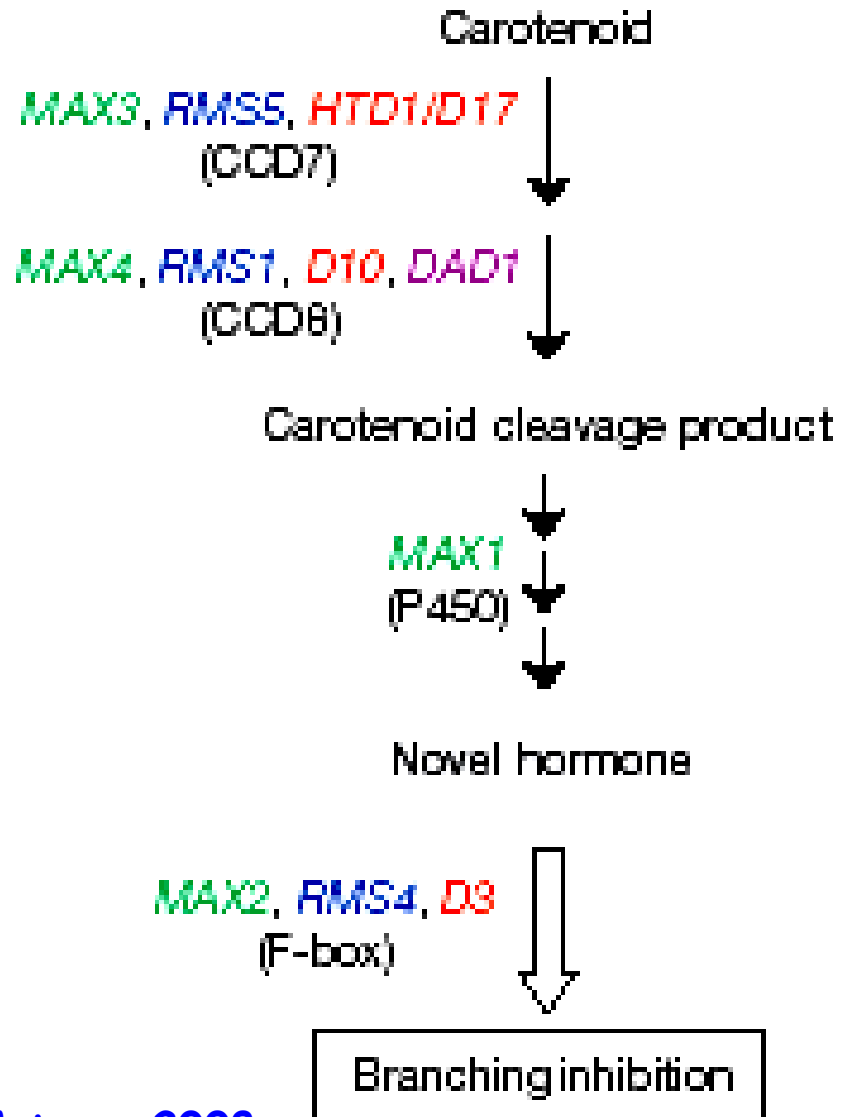
„carotenoid cleavage dioxygenase“ CCD =  
klíčový enzym katalyzující štěpení  
karotenoidů

rostliny s mutacemi v těchto enzimech  
jsou **deficientní na strigolaktony**

MAX1 - cytochrom P450 monooxygenasa

MAX2, RMS4 a D3 působí v pozdějších  
biosyntetických krocích (přenos signálu)

mutanty = **necitlivé na strigolaktony**



# Butenolidy

- zvláštní role kouře při podpoře klíčení semen mnoha druhů po požáru
- (1) = nedávno popsaná sloučenina  
3-methyl-2H-furo[2,3-c]pyran-2-on  
jako možný **promotor klíčení semen** z kouře
- 2010 - *Light et al.* - příbuzný butenolid (2)  
izolovaný rovněž z kouře hořících rostlin:  
3,4,5-trimethylfuran-2(5H)-on

naopak **inhibuje klíčení** a významně redukuje vliv (1)

**Interakce těchto látek může mít význam pro pochopení přerušování dormance semen**

