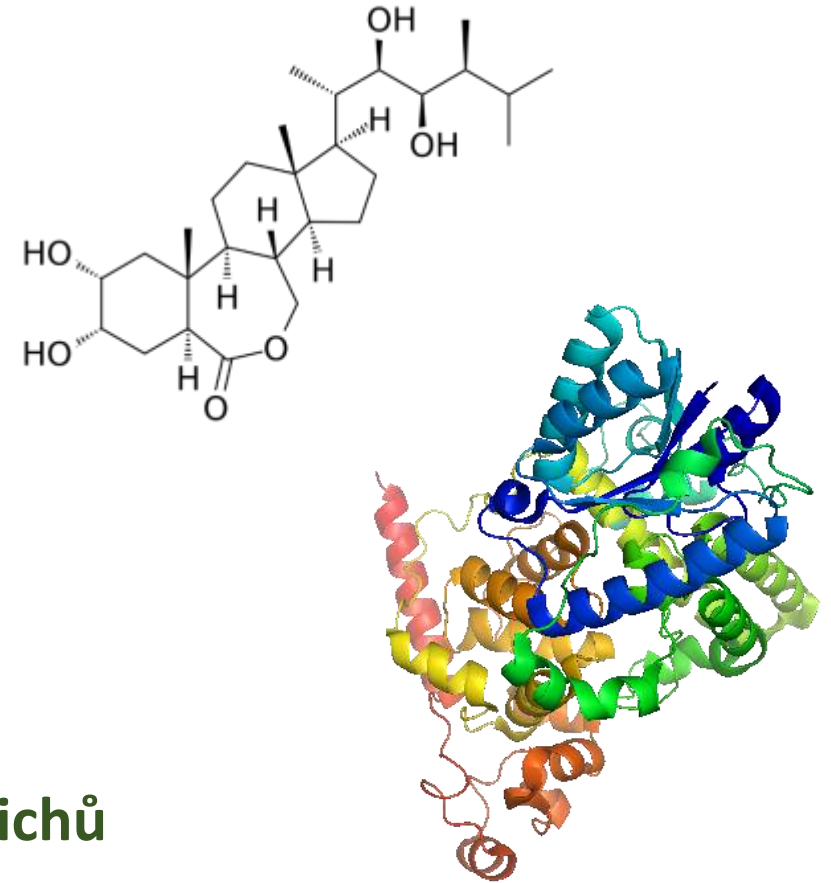


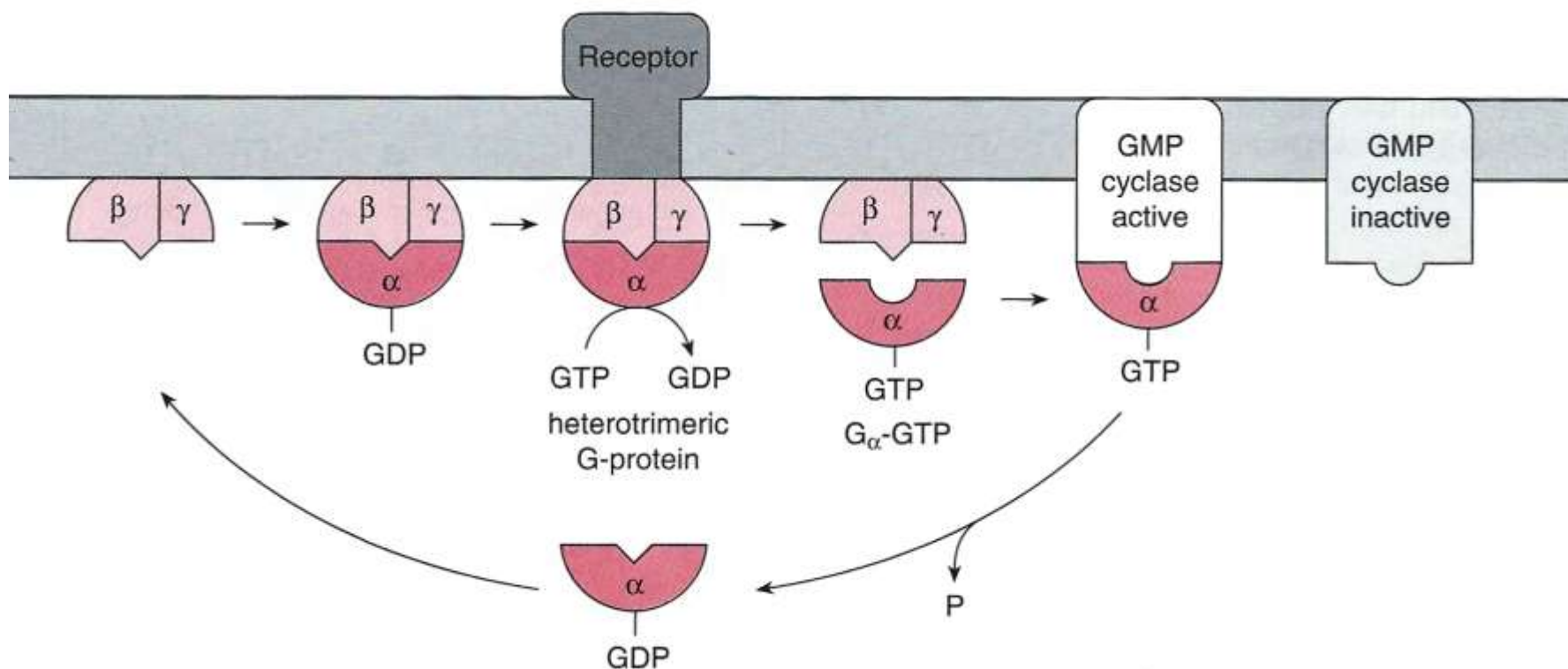


# Regulace růstu a vývoje rostlin, fytohormony

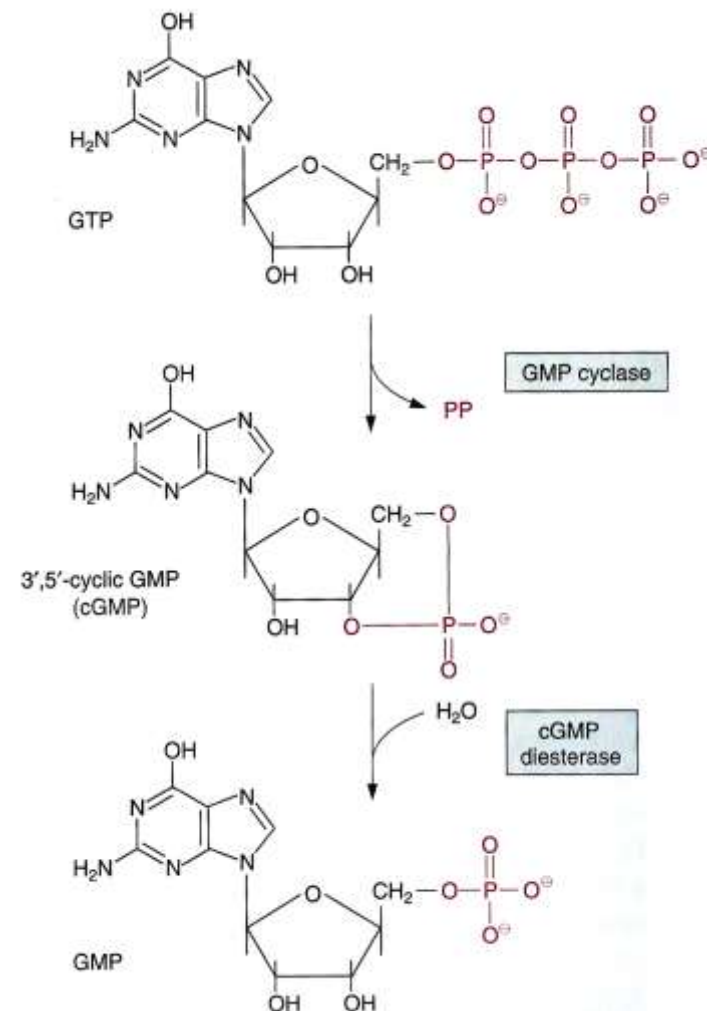
- **Metabolismus, růst a vývoj jsou koordinovány celou řadou signálních molekul**
- **Signální molekuly působí v blízkosti nebo přenášeny floémem a xylémem**
- **Souhrnně je nazýváme fytohormony**
- **Některé se podobají živočišným – brasinosteroidy**
- **Podílí se na :**
  - Přizpůsobení metabolismu okolním podmínkám
  - Příjem vody
  - Teplota
  - Délka dne
  - Regulace růstu a vývoje
- **Fytochromy – červené světlo**
- **Krytochromy a fototropin – modré světlo**
- **Krytochrom – řízení ceklu den/noc u rostlin i živočichů**



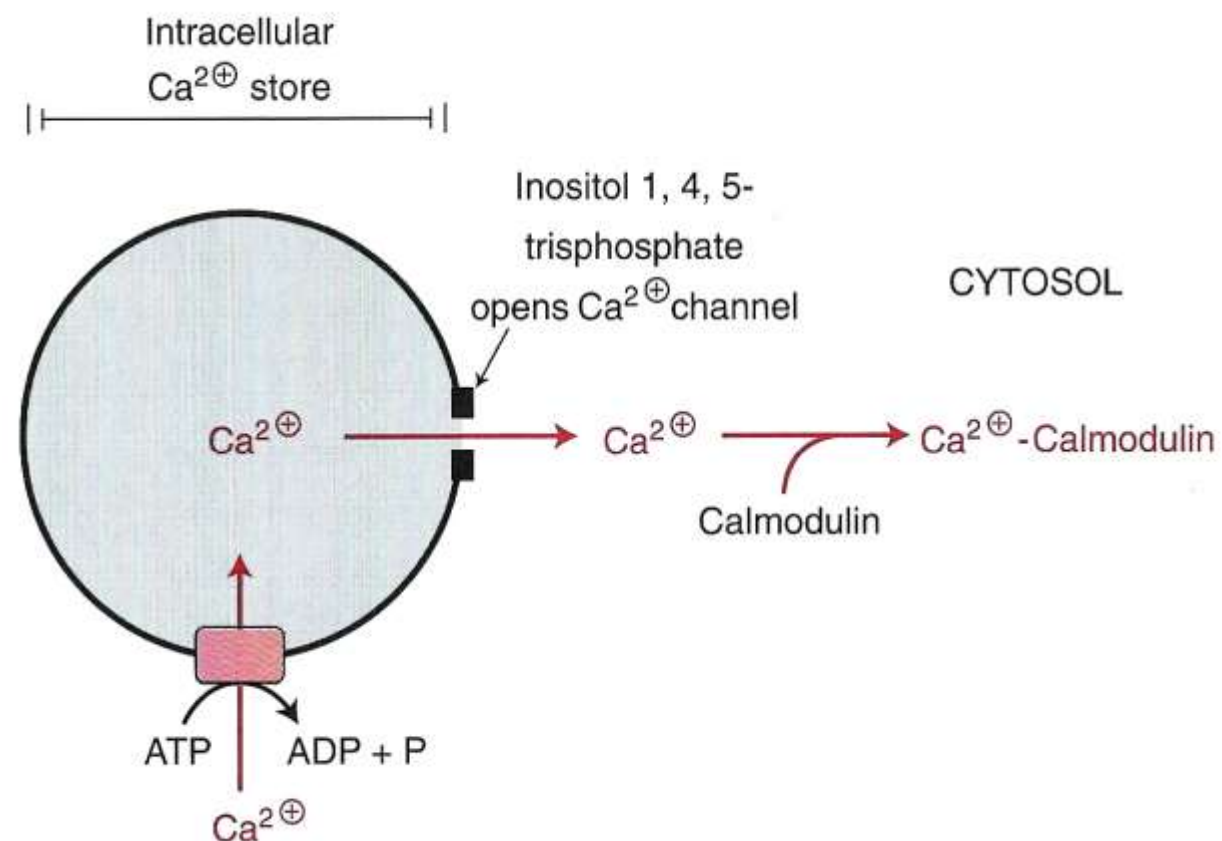
- Rodina proteinů vázající GTP nebo GDP
- S receptory na PM interagují heterotrimerní G-proteiny
  - $G_{\alpha}$  podjednotka (50 kDa) – váže GTP/GDP
  - $G_{\beta}$  podjednotka (35 kDa)
  - $G_{\gamma}$  podjednotka (8 kDa)



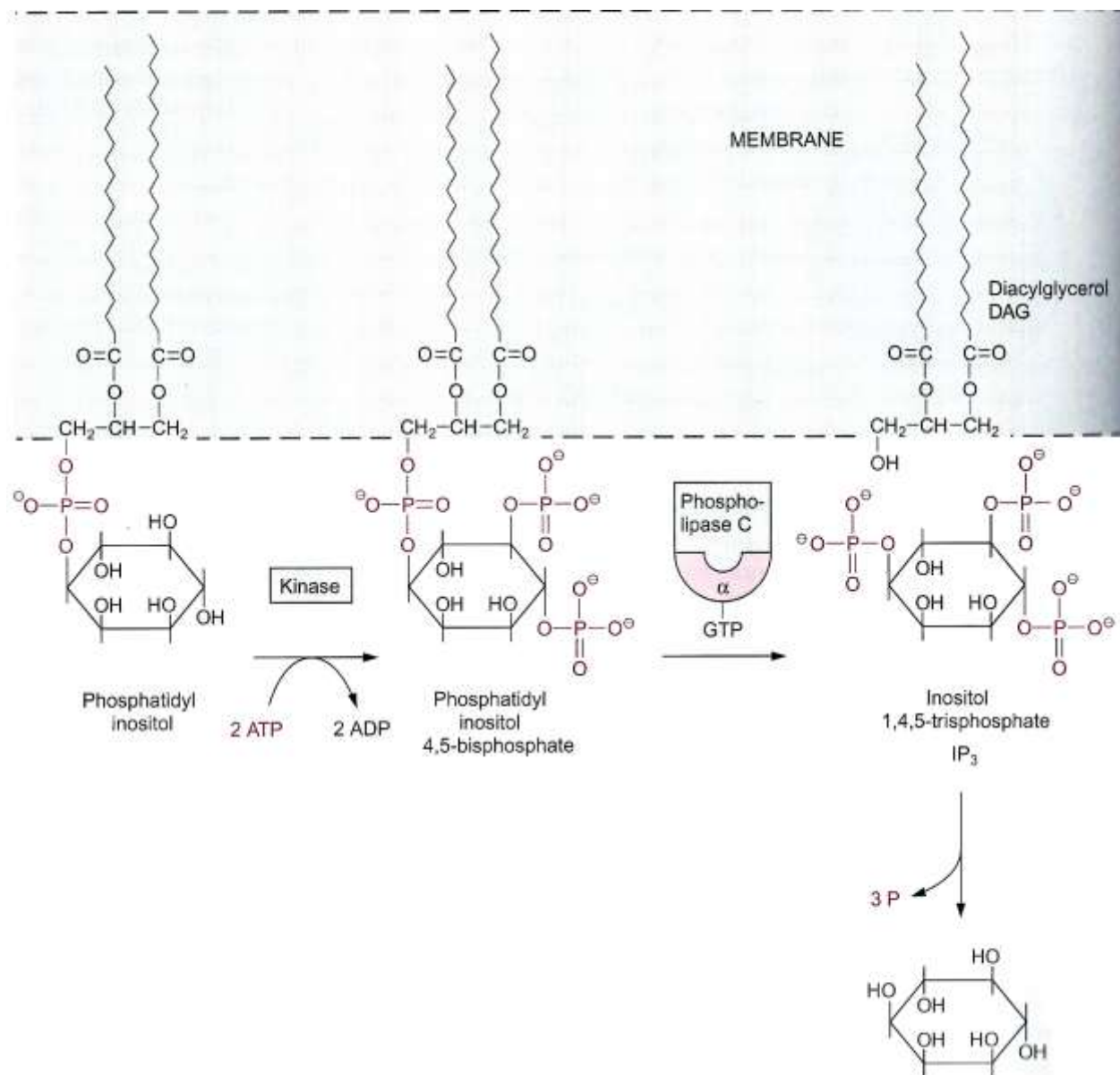
- **Malé G-proteiny mají pouze  $G_{\alpha}$  podjednotku**
- **Všechny malé G-proteiny patří do rodiny Ras proteinů**
- **Lokalizované v cytozolu**
- **Po stimulaci interagují s výměnným faktorem**
  - přeměna z GDP inaktivní na GTP aktivní formu)
- **V *A. thaliana* 93 malých G-proteinů**
- **Podílí se na regulaci:**
  - Obranných reakcí
  - ABA odpovědí
  - Transportu váčků
  - Buněčné polaritě
  - Růstu pylové láčky a kořenových vlásenek



- V buňkách koncentrace volného  $\text{Ca}^{2+}$  menší než  $0.7 \mu\text{M}$
- Nízká koncentrace udržována ATP-dependentní pumpou
- Hromadění  $\text{Ca}^{2+}$  v
  - lumenu endoplasmatického retikula
  - vakuole
  - transport ven z buňky
- Signál aktivuje velmi krátké otevření kanálů na membránách

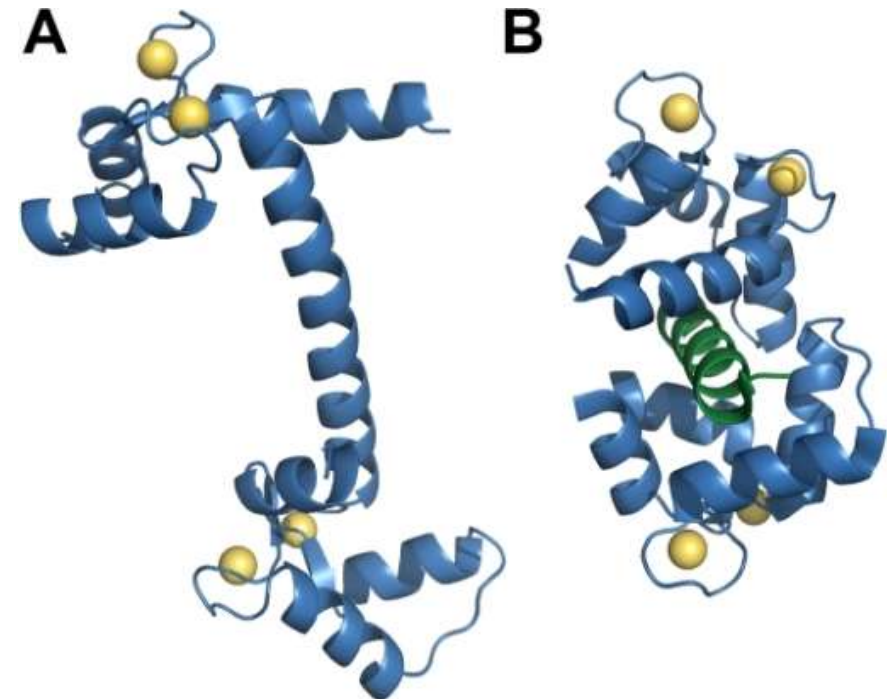
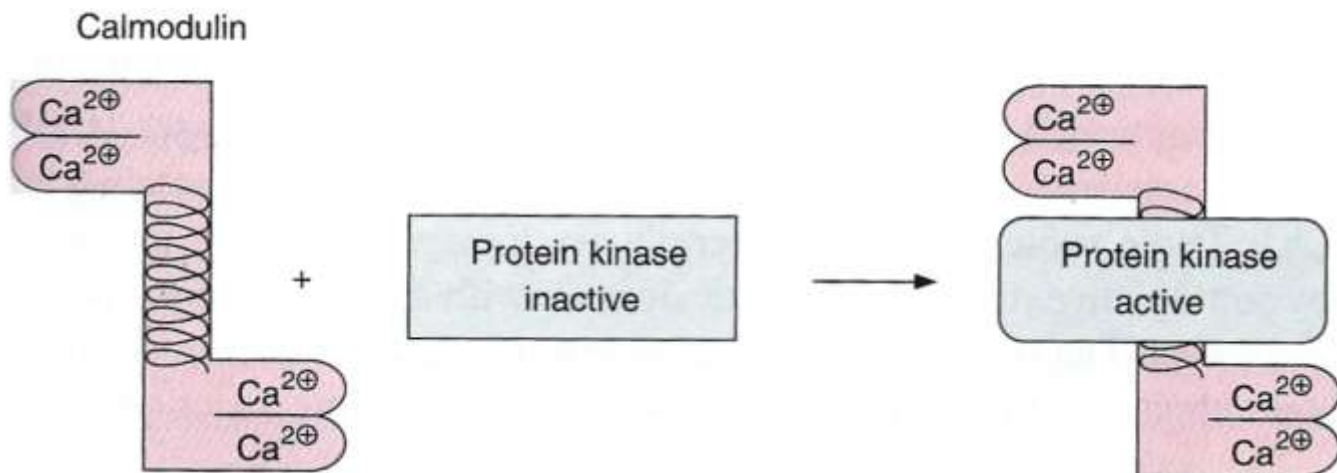


- $\text{Ca}^{2+}$  kanály řízené dráhou fosfoinositolu
- PLC stimulovaná G-proteinem uvolňuje  $\text{IP}_3$
- $\text{IP}_3$  stimuluje růst vápníku
- Kyselina fosfatidová ovlivňuje protein kinázy a iontové kanály
- Doba života  $\text{IP}_3$  je pouze 1s
- Eliminace  $\text{IP}_3$  fosforylací/fosfatázou
- Důležité role při přenášení signálů
  - otevírání průduchů pro přísun vody
- Fosforylace fosfatidylinositolu speciální kinázou





- Vyskytuje se v převážně cytosolu
- Vysoce konzervovaný protein (91% homologie mezi dobytkem a pšenicí)
- Obsahuje na koncích tzv. EF ruce (zbytky E a F)
- Vazba  $\text{Ca}^{2+}$  indukuje konformační změnu – interakce s calmodulin-vázajícími kinázami (CBKs)
- $\text{Ca}^{2+}$  calmodulin se váže na celou řadu proteinů a ovlivňuje jejich aktivitu
- Rostliny mají rodinu protein kináz obsahující motiv EF rukou ( $\text{Ca}^{2+}$  -dependentní protein kinázy – CDPK)





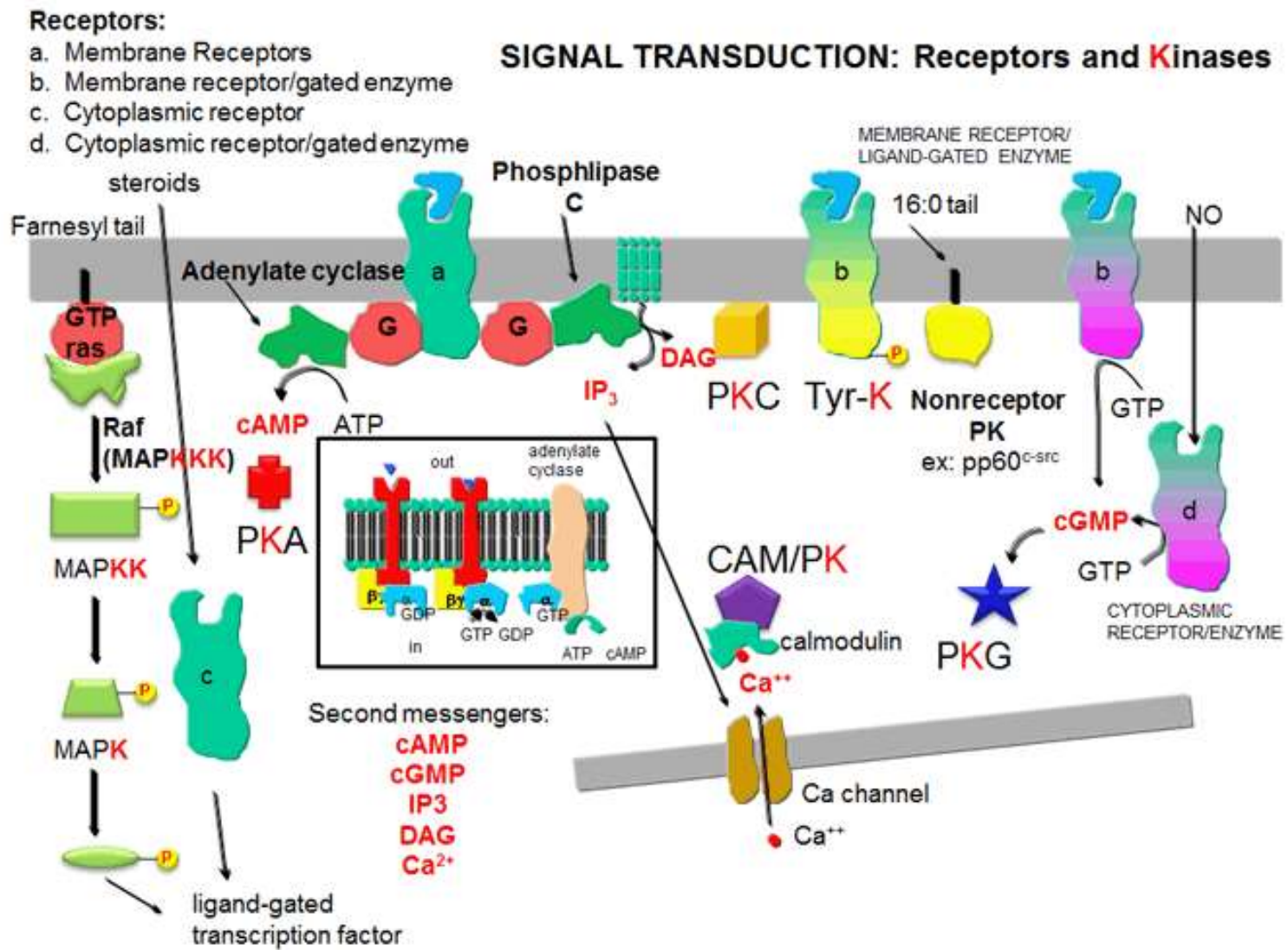
# Protein kinázy



- Fosforylace na 12ti konzervovaných oblastech obsahujících –OH skupiny S, T, Y
- Zvláštní skupina protein kináz fosforylující zbytky H a D
- Buňka obsahuje rovněž serin-threoninové fosfatasy a tyrosin fosfatasy

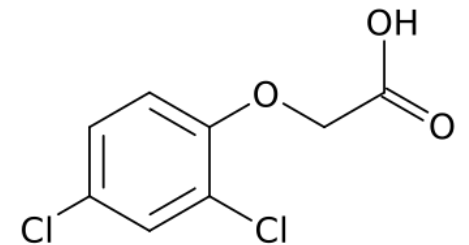
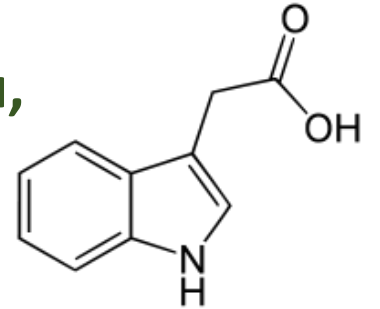
Kináza	Modulátor
Protein kináza A (PKA)	cAMP
Protein kináza G (PKG)	cGMP
Ca <sup>2+</sup> -dependentní protein kináza (CDPK)	Ca <sup>2+</sup>
Calmodulin- vázající kinázy (CBK)	Ca <sup>2+</sup> -calmodulin
Receptorové protein kinázy (RLK)	Vnější podněty
Cyclin dependentní kinázy (CDK)	Cyklin
Mitogen-aktivované protein kinázy (MAPK)	Mitogen
MAPK-aktivované protein kinázy (MAPKK)	MAPK
MAPKK-aktivované protein kinázy (MAPKKK)	MAPKK



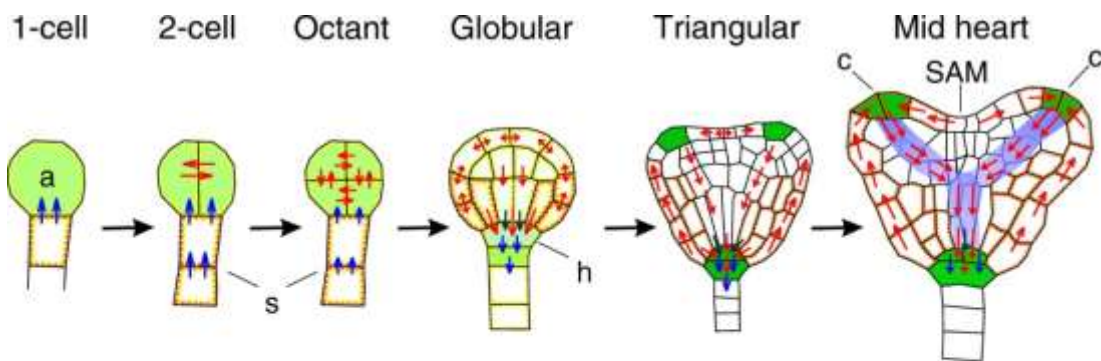
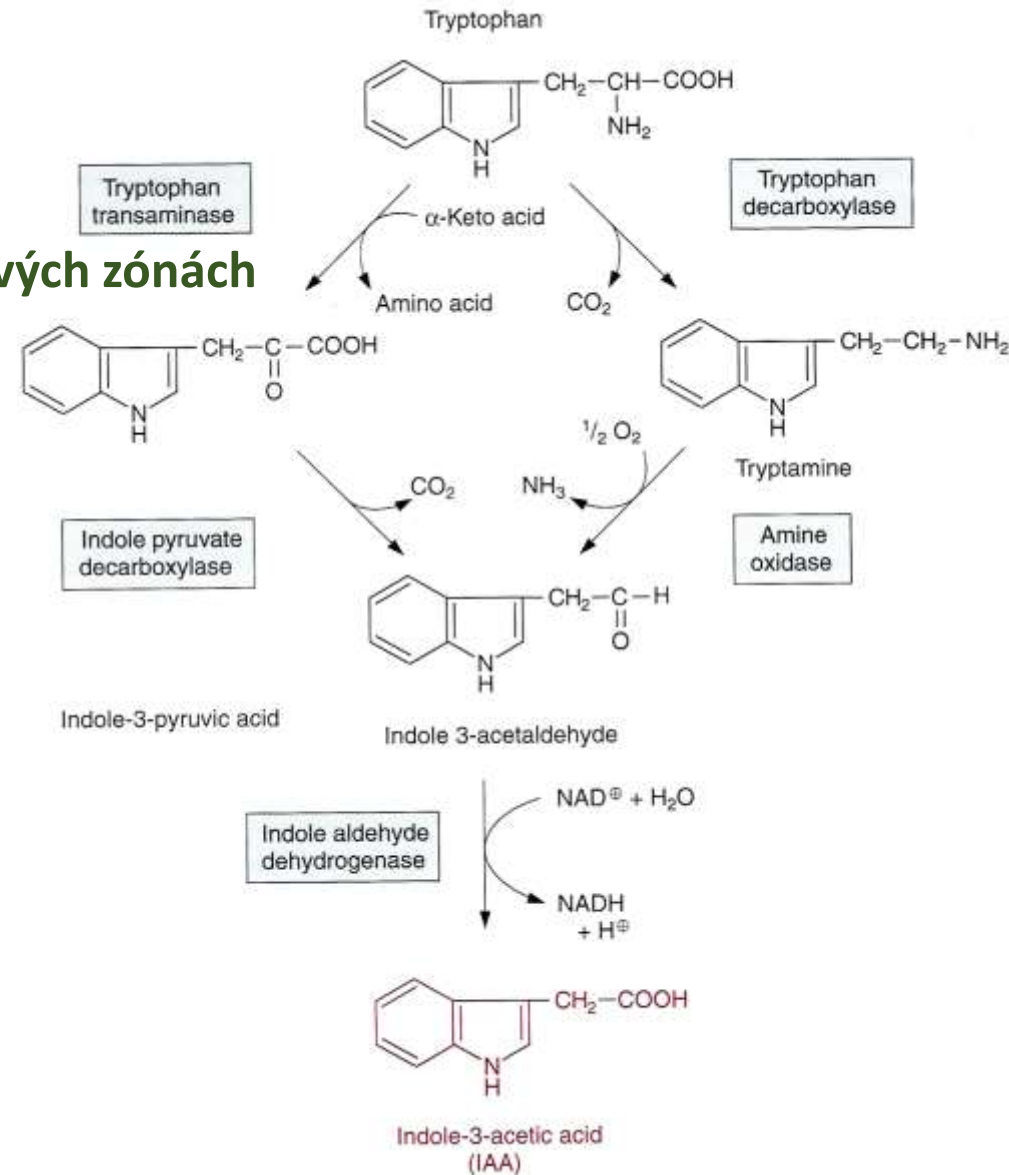




- V roce 1880 C. Darwin a syn pozorovali růst semenáčku za světlem
- Předpokládali přenos signálu z růstové špičky do růstové zóny
- V roce 1926 Frits Went izoloval z růstových špiček semenáčku ovsa látku, kterou nazval auxin
- Později identifikována jako indol-3-octová kyselina (IAA)
- Další látky mající aktivitu auxinů – fenylloctová kyselina; 2,4-dichlorooctová kyselina (2,4-D)
- 2,4-D – účinný herbicid způsobující narušení morfogeneze a zvýšenou produkci ethylenu
- Použit jako „agent orange“ ve Vietnamu, destruuje pouze dikoty – monokoty ho degradují



- Během časně embryogeneze formuje polaritu (stonek/kořen)
- Ovlivňuje buněčné dělení a diferenciaci
- Podněcuje prodlužování buněk – nejvyšší koncentrace v růstových zónách
- Primárně je tvořen v růstové špičce (nadzemní část)
  - Transportován polárním přenosem (vyžaduje energii)
  - Přenos zajišťují specifické eflux/influx přenašeče (PIN)
  - Polární transport = asymetrické rozložení přenašečů



Key	→ PIN1	→ Auxin concentration gradient (low-high)	a Apical cell
	→ PIN4		c Cotyledon
	→ PIN7	→ Future vasculature	h Hypophysis
	→ ABCB1		s Suspensor cells
	→ ABCB19	SAM Future shoot apical meristem	

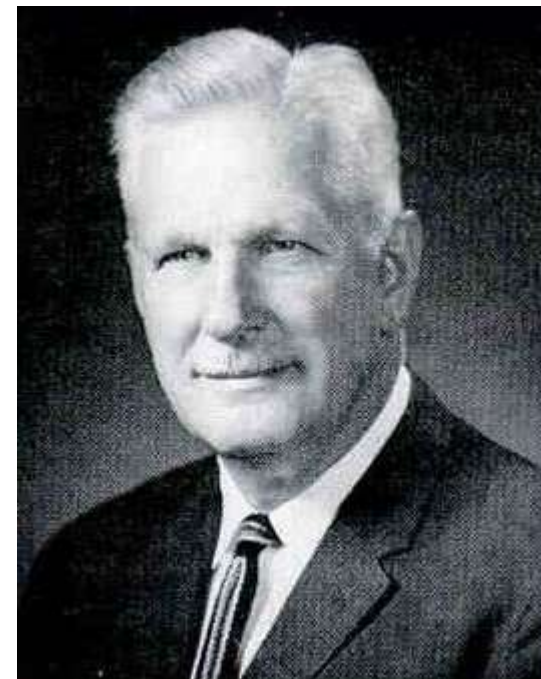


- **Několik minut po přidavku IAA dochází ke ztenčení buněčné stěny**
  - Auxin aktivuje H<sup>+</sup>- ATPasu (účast proteinkináz a 14-3-3 proteinů)
  - Acidifikace oblasti buněčné stěny
  - Aktivace enzymů degradujících buněčnou stěnu
  - Zvětšení buňky řízené turgorem
- **Po hodině dochází k aktivaci exprese proteinů spojených s růstem**
- **IAA vykazuje v různých pletivech různé efekty**
  - V kambiu stimuluje buněčné dělení
  - Posiluje apikální dominance (inhibice laterálního růstu)
  - Řídí vývoj embrya
  - Zabraňuje opadávání listů a plodů (antagonista ethylenu)
  - Indukuje tvorbu plodů
- **Za normálních okolností produkují semena auxin pouze po oplodnění**

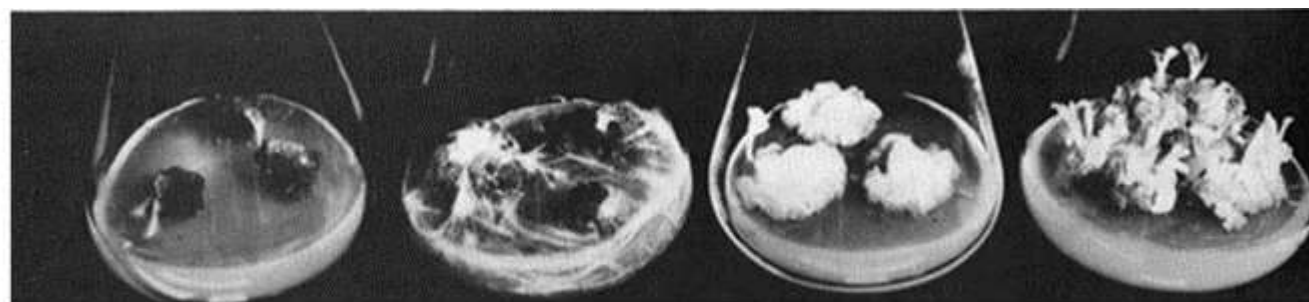




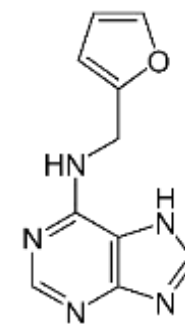
- Prenylované deriváty adeninu
- Nejčastějším cytokininem je zeatin
- Zvyšují růst stimulací buněčného dělení a indukují laterální růst
- Antagonisté auxinu
- Oddalují senescenci – opak ethylenu
- Maturované buňky mohou opět aktivovat k dělení a vývoji
- Formace kalusu – může regenerovat zpět v rostlinu



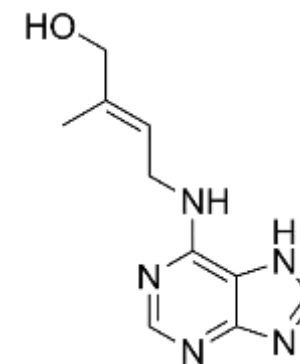
Skoog



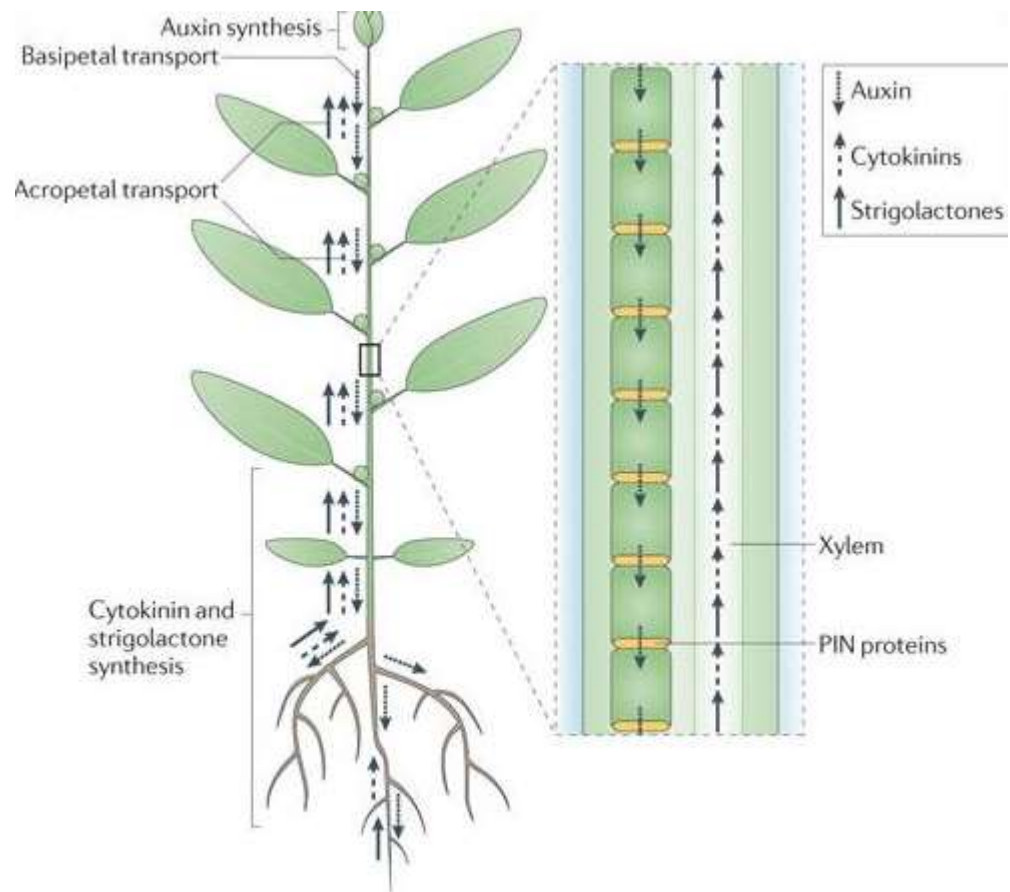
IAA:	2	2	2	2 mg/L
kinetin:	0	0.02	0.2	0.5 mg/L



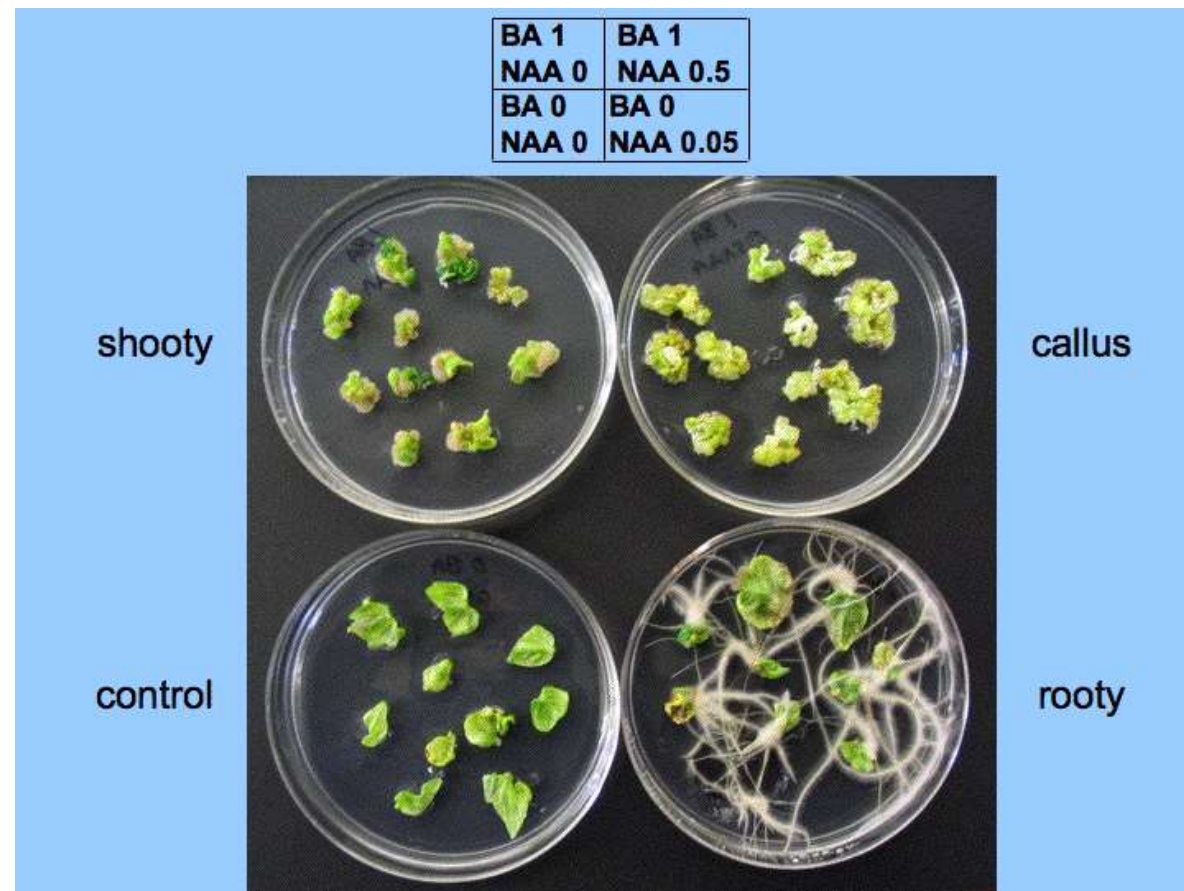
kinetin



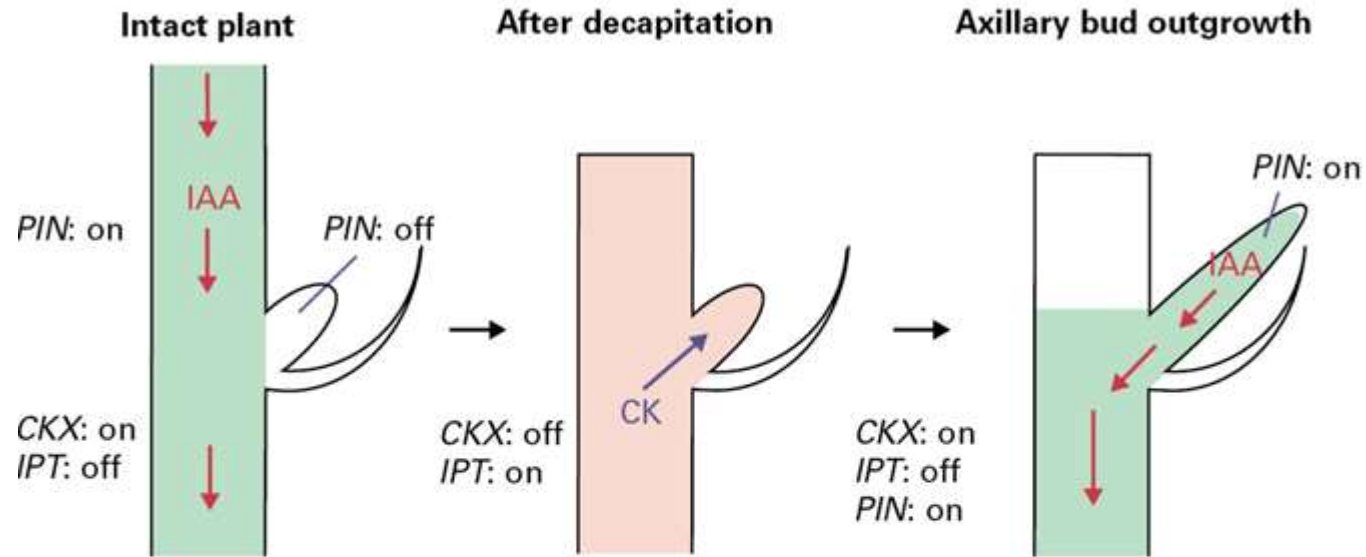
zeatin



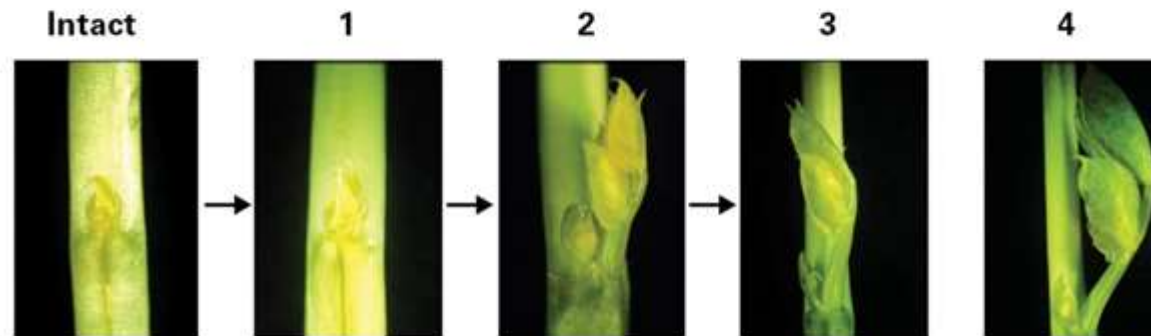
Nature Reviews | Molecular Cell Biology



*Biochemistry & Molecular Biology of Plants*, Second Edition. Edited by Bob B. Buchanan, Wilhelm Gruissem, and Russell L. Jones.  
 © 2015 John Wiley & Sons, Ltd. Published 2015 by John Wiley & Sons, Ltd.  
 Companion website: [www.wiley.com/go/buchanan/biochem](http://www.wiley.com/go/buchanan/biochem)



Days after decapitation







A



B

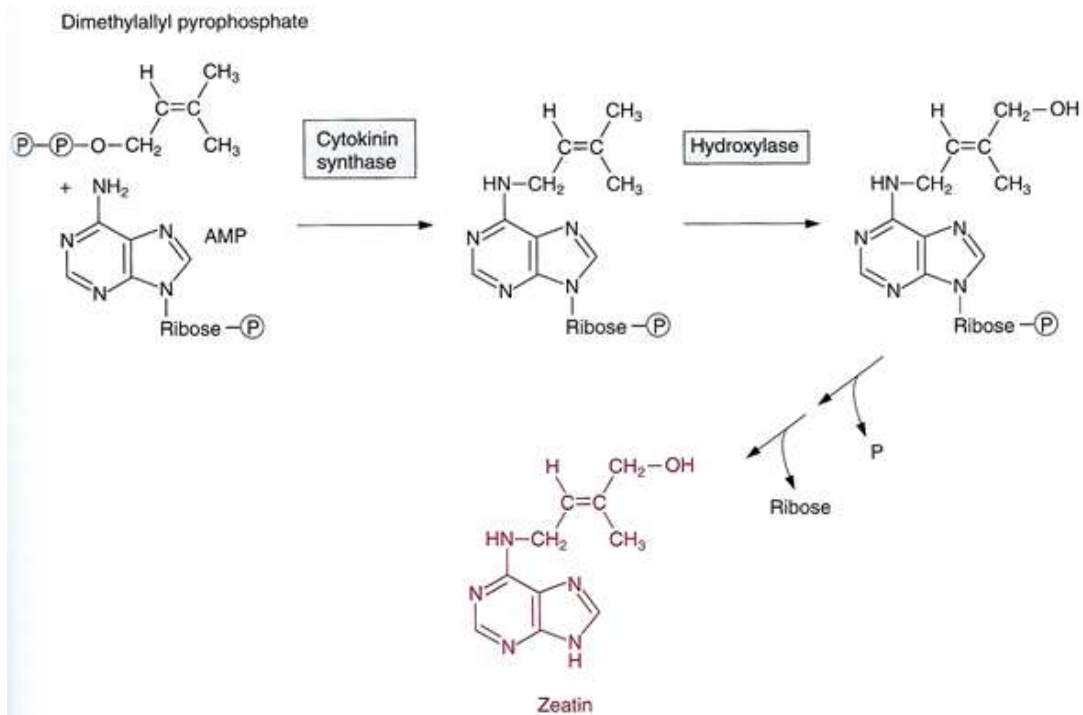
WT

AtCKX1

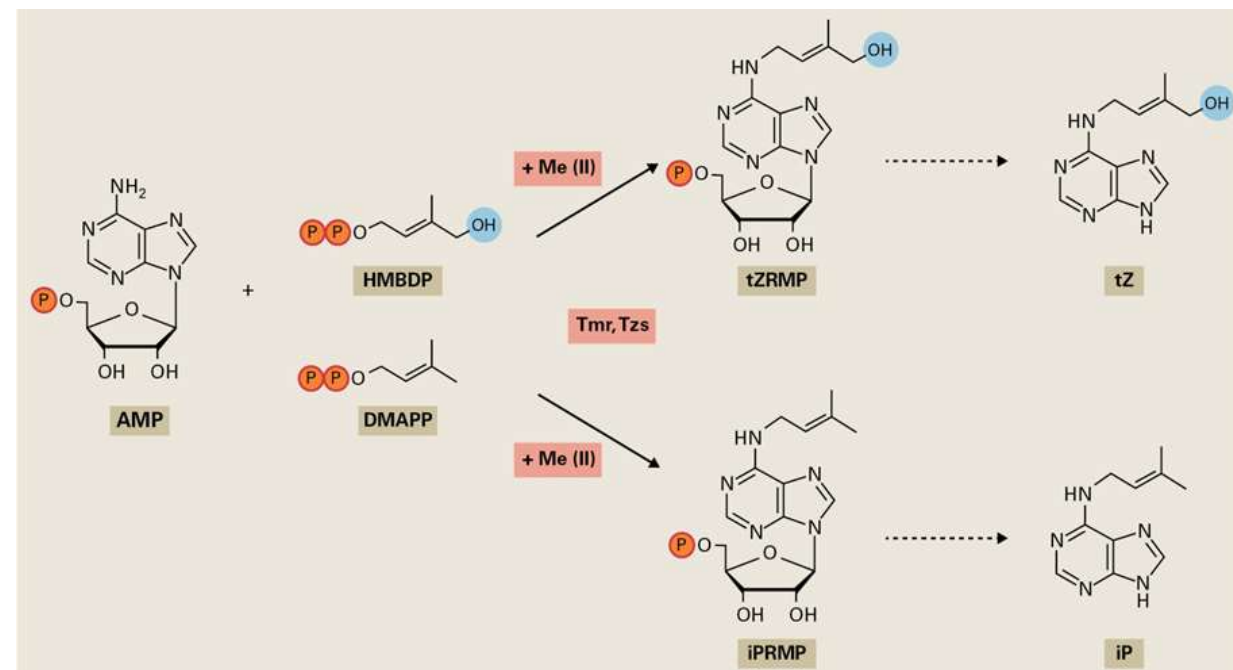


- Některé bakterie a houby produkují auxiny a cytokiny k indukci tvorby nádorů (Agrobacterium, Ti plasmid)

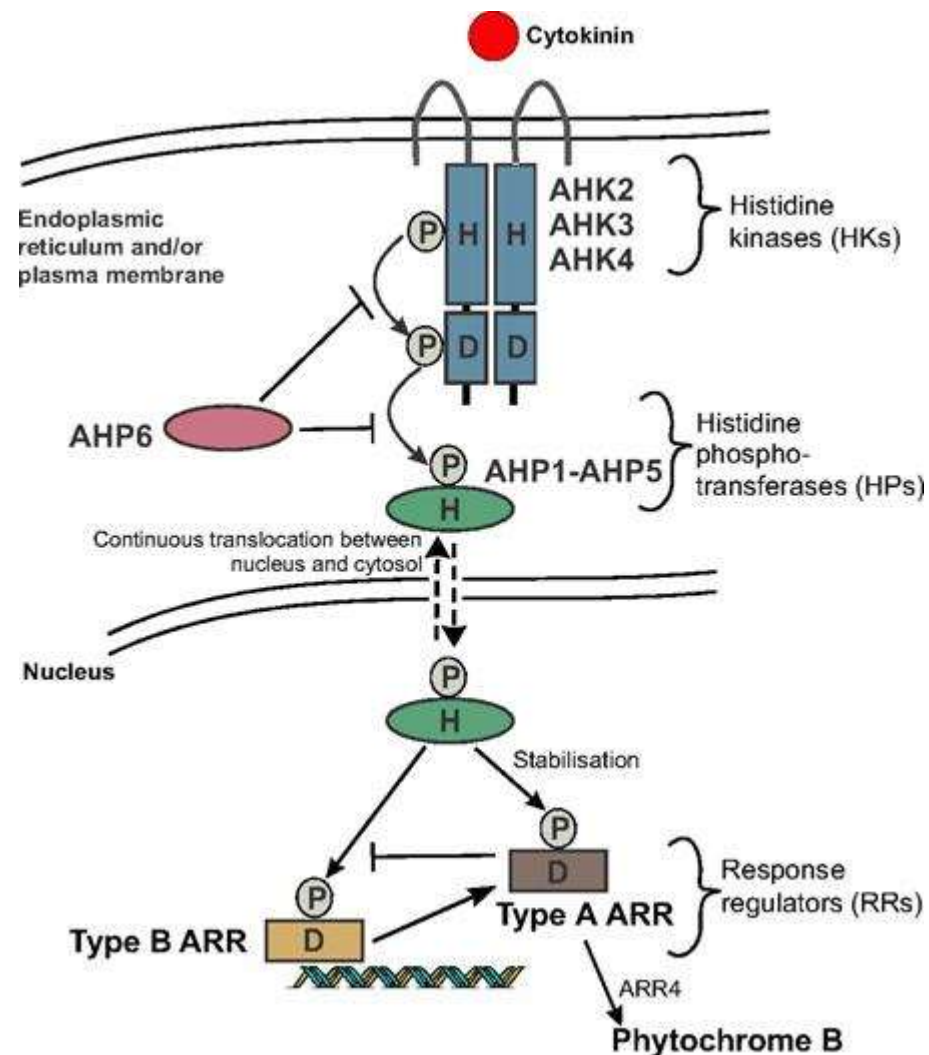
## Rostlina



## Agrobacterium

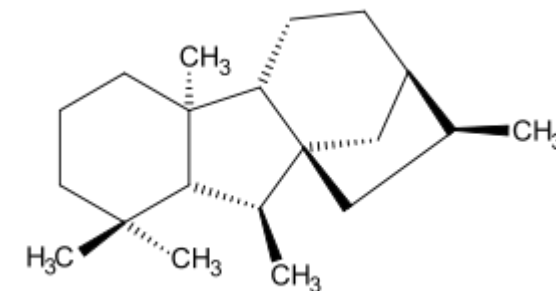


- Cytokininové receptory jsou dimerní histidinové kinázy
- Lokalizace na plasmatické membráně
- Kinázová doména obsahuje dva histidinové a dva aspartátové zbytky
- Vazba cytokininu dochází k autofosforylaci na histidinových zbytcích
- Následně je fosfát přenesen na His nebo Asp zbytky přenašečových proteinů (dvou komponentní systém)

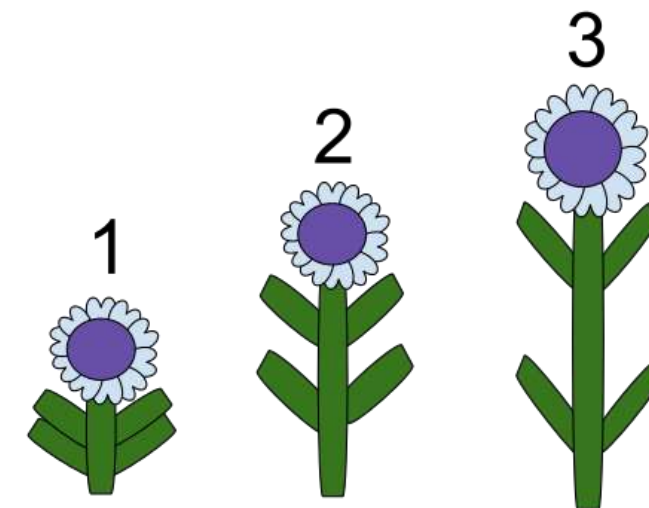
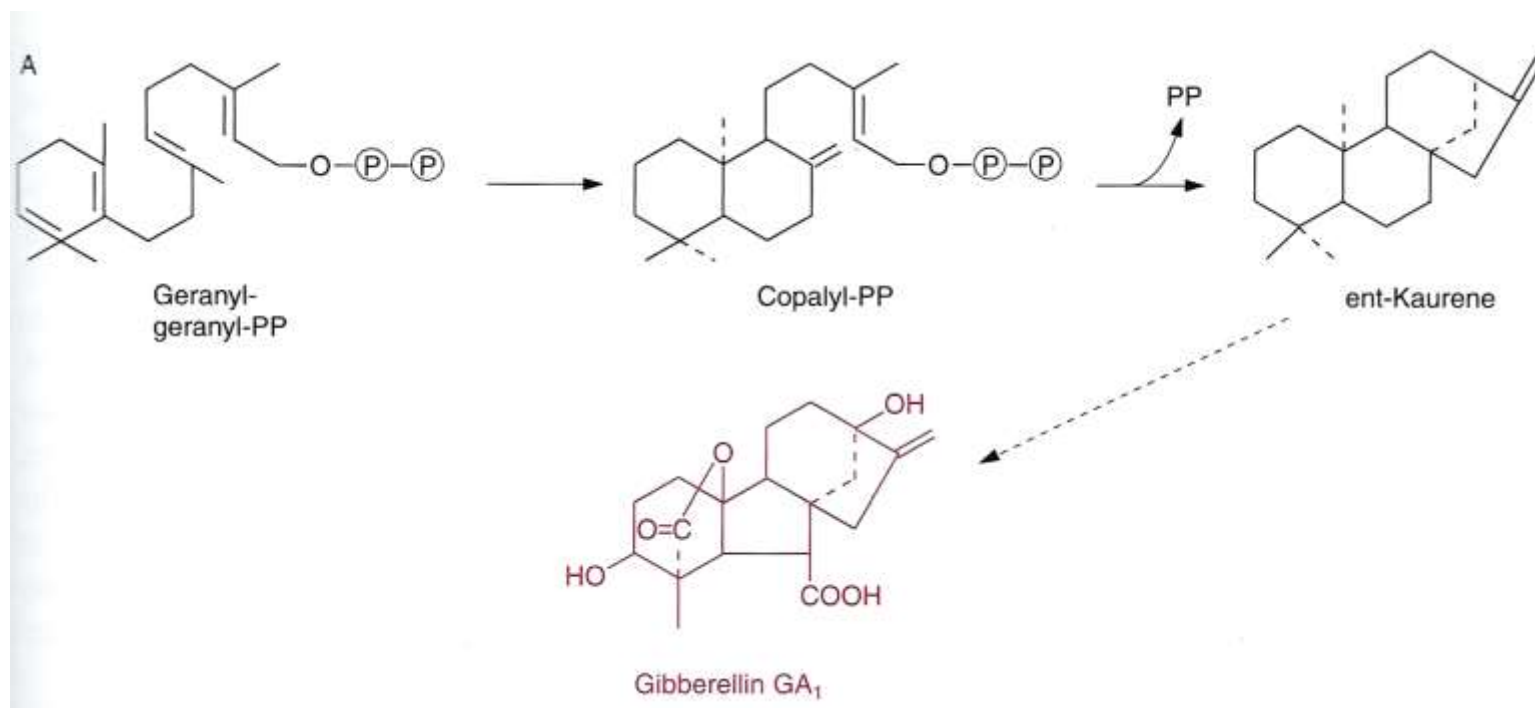




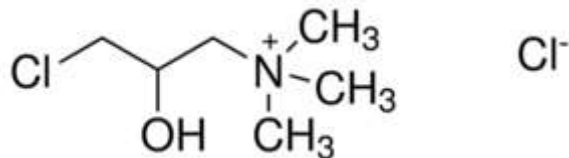
- Infekce rýže houbou *Gibberella fujikuroi* vede k extrémně vysokým rostlinám bez semen
- 1926 – Eiichi Kurozawa izoloval z této houby látku mající tento efekt
- Nazval ji gibberellin
- Gibereliny jsou směsí látek s podobnou strukturou *ent-gibberellanu*



*ent-gibberellin*



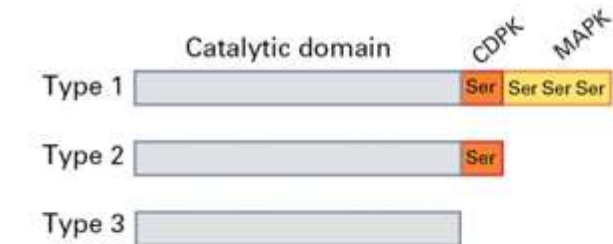
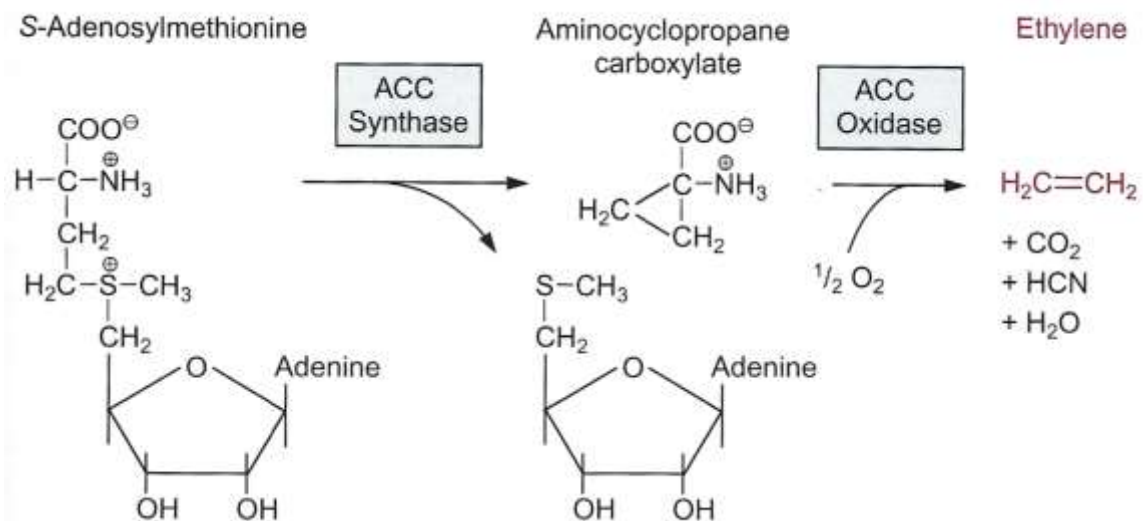
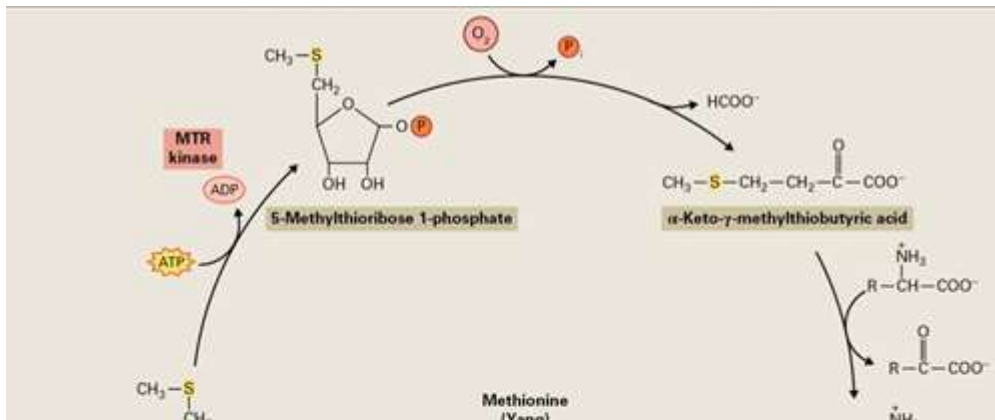
- **Nejdůležitější giberelin je GA<sub>1</sub> a GA**
- **Podobně jako IAA gibereliny stimulují prodlužování stonků a rovněž regulují kvetení**
- **Rovněž se podílí na vytváření plodů a jejich růstu**
- **Gibereliny ukončují dormanci semen expresí enzymů ztenčujících obal semene (amylázy)**
- **Prakticky se využívají v zemědělství:**
  - Produkce protáhlých hroznů bez semen
  - Pro stimulaci amyláz u ječmene (pivovarnictví)
  - Inhibitory jsou používány pro zkrácení růstu stonků
  - V 50-letech umožnily zelenou revoluci u kukuřice (zakrslé rostliny s vyšším obsahem zrn)



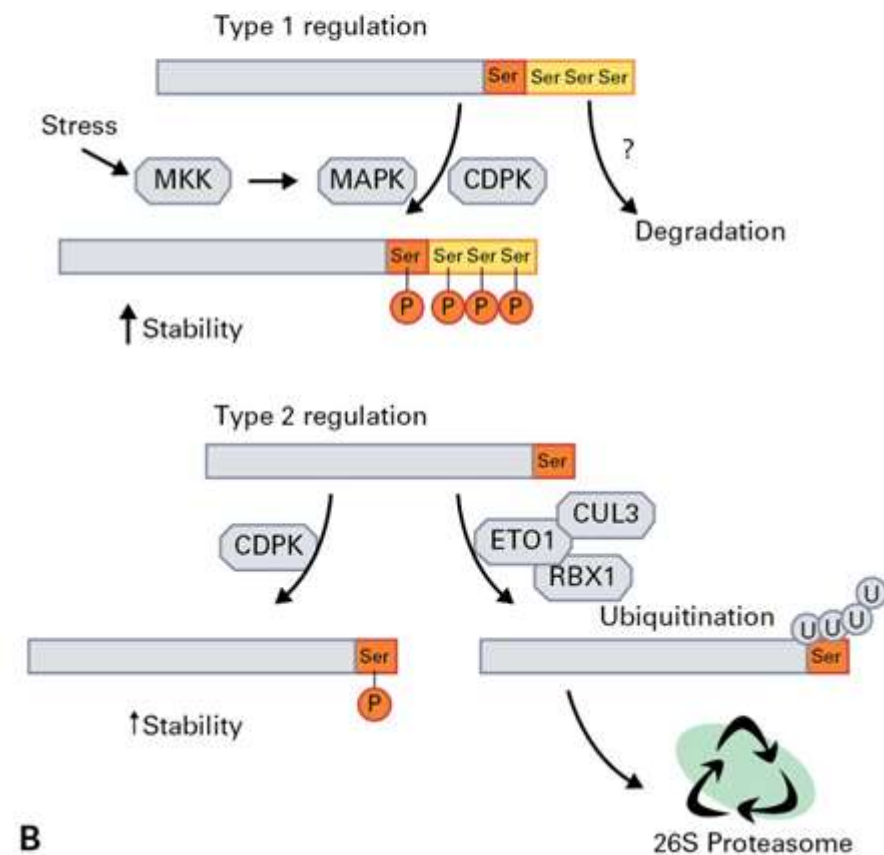
2-chlorotrimethylamonium chlorid (Cycocel, BASF)

- Je zahrnut v procesu senescence (degradace listového pletiva)
- Indukuje obranou reakci rostlin
- Stimuluje opadání a dozrávání plodů
- Transport plodin za podmínek minimální produkce ethylenu (chlad, CO<sub>2</sub> atmosféra)
- Ethylenový receptor (ETR) – vysoká afinita (nmol/l), podobný cytokininovému



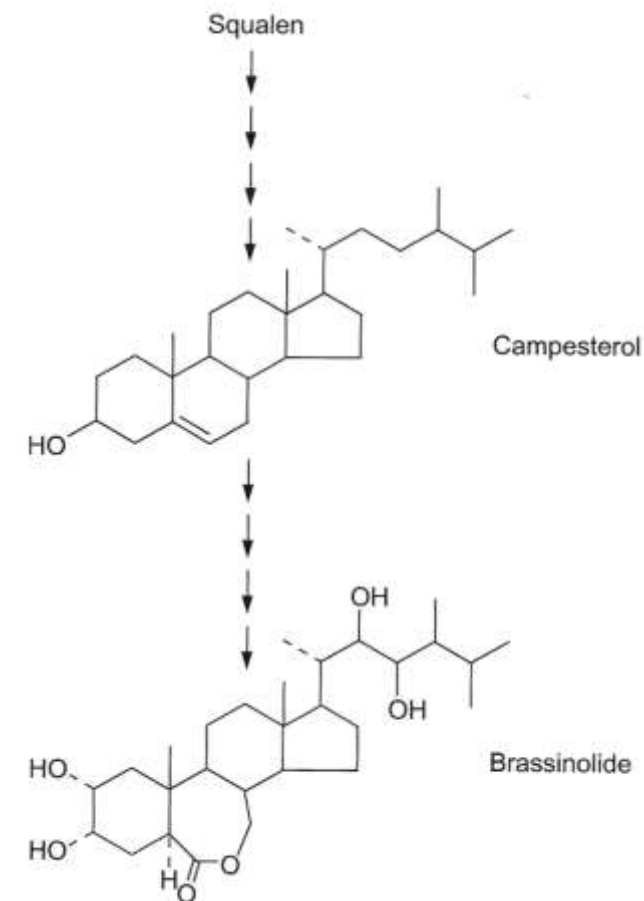


A

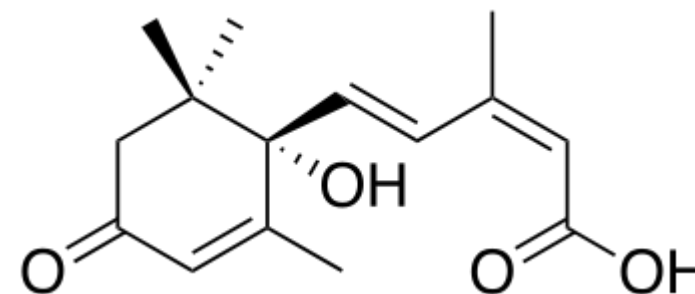


B

- Prvně izolovány z pylu řepky (ze 40 kg pylu 4 mg brassinolidu)
- Jsou syntetizovány z campesterolu (membránový lipid)
- Regulují vývoj rostlin
  - Stimulují růst stonků
  - Diferenciaci xylému
  - Skládání listů
- Jasný důkaz pochází ze studia mutantů s vývojovými defekty
  - Zakrslý růst
  - Snížená apikální dominance
  - Snížená plodnost
- Vývojové defekty mohou být zvráceny pouze přidáním brassinolidu
- Receptor pro brassinolid – receptor-like kináza napojená na MAPK

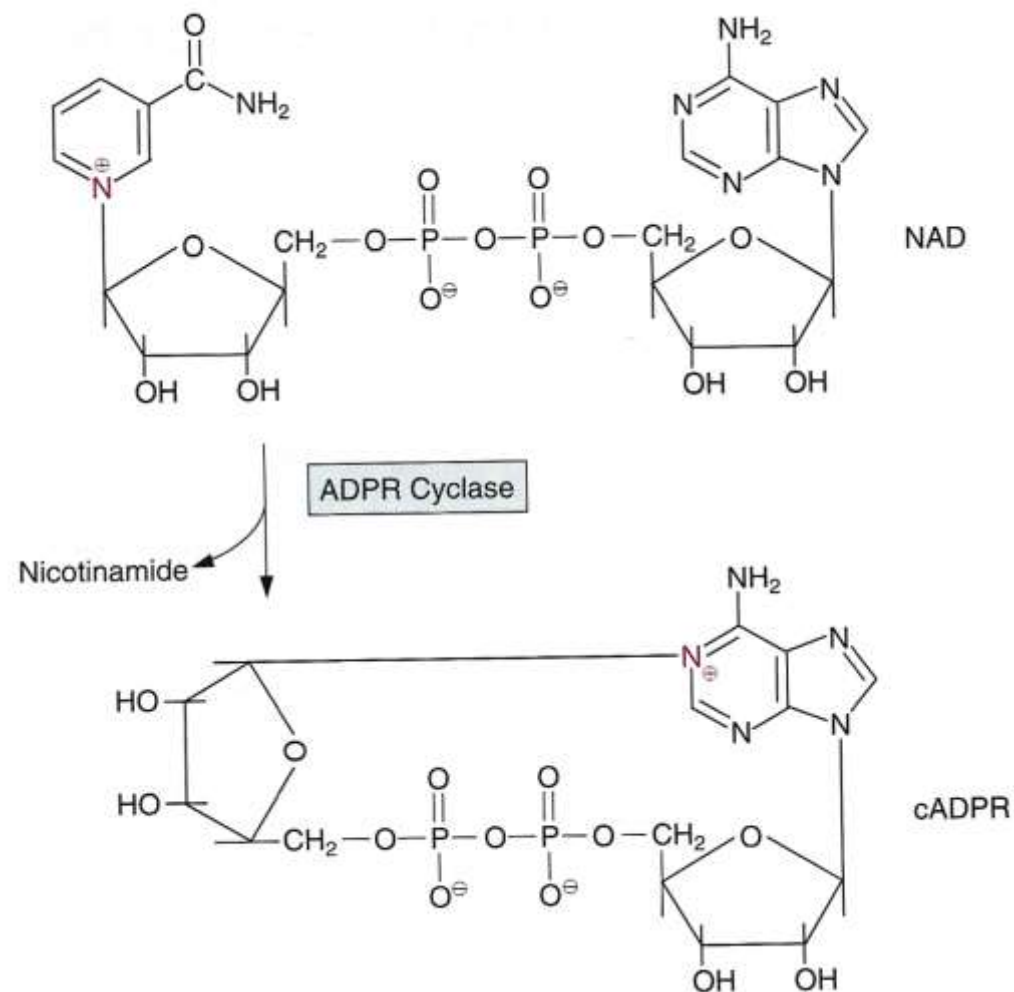


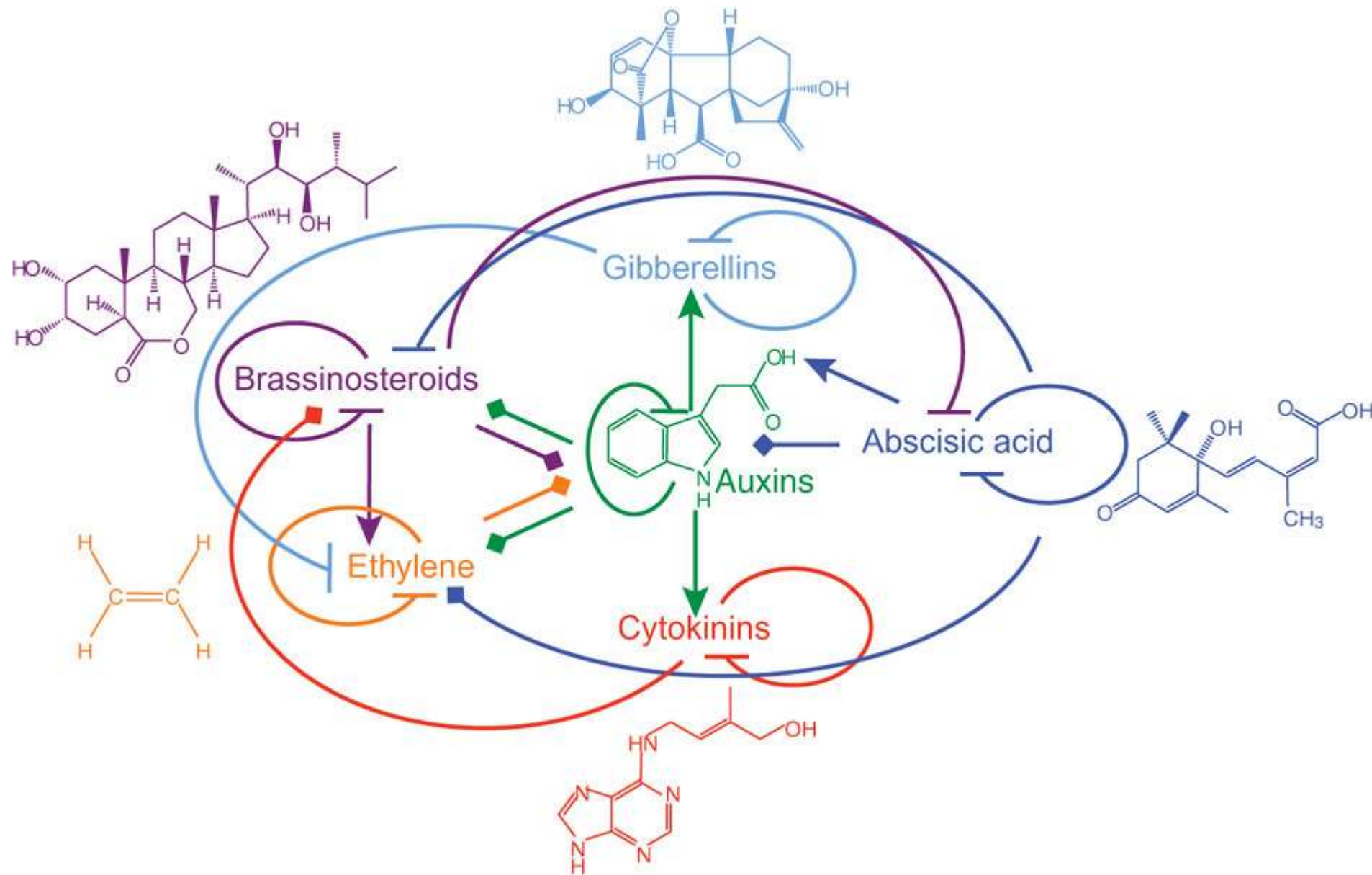
- Pojmenována podle schopnosti vyvolat opadání listí/plodů
- Později se však ukázala role ethylenu v tomto procesu
- Podílí se na indukci dormance u semen a poupat
- Hlavní funkcí je udržování vodní rovnováhy
- S NO indukuje zavírání průduchů
- Blokuje předčasní klíčení semen před jejich maturací
- Je produktem isoprenoidního metabolismu oxidace violoxanthinu
- Syntéza je realizována jak v listech, tak v kořenech
- Může být přenášena xylémem z kořenů do listů (zavírání průduchů)



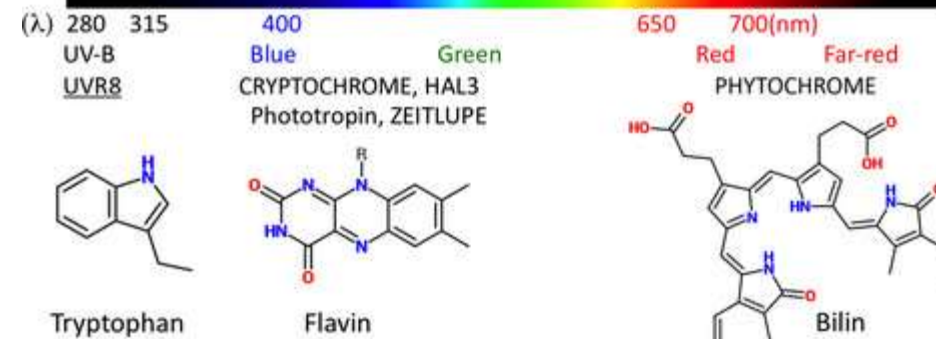
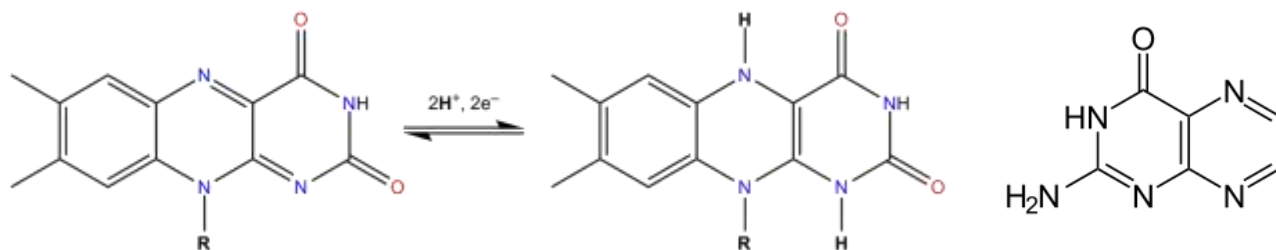
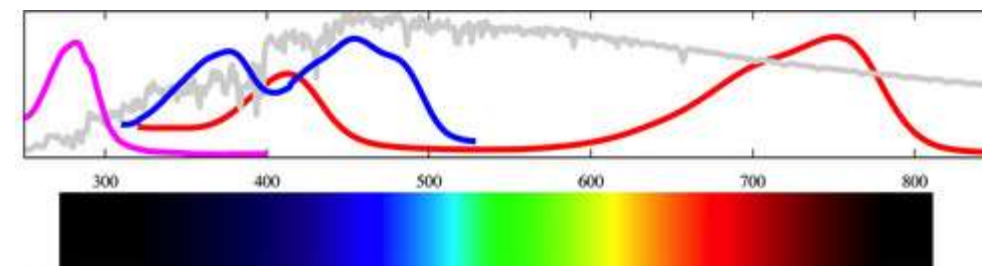


- **Signální dráha zahrnuje:**
  - G-proteiny
  - Proteinové kinázy/fosfatázy
  - PLC a fosfoinositolovou dráhu
  - Cyklickou ADP-ribózu (cADPR)
- **cADPR otevírá vápenaté kanály**
- **Vyplavení vápníku:**
  - Otevírání průduchů
  - Aktivace transkripce skrze MAPK kaskádu

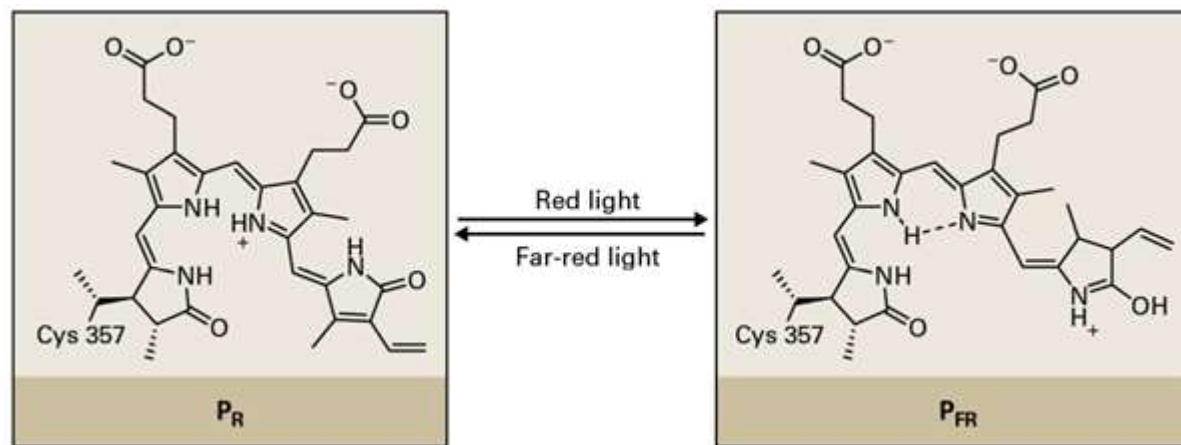
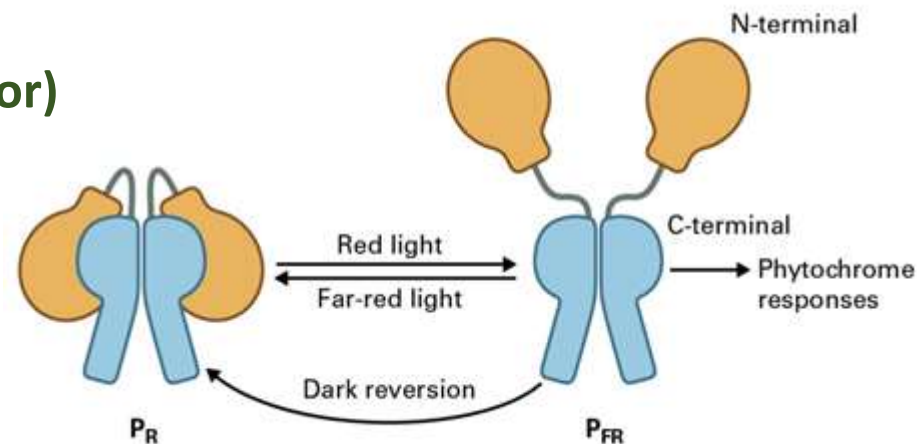




- Světlo řídí vývoj rostlin od klíčení až po kvetení
- **Fytochromy**
  - Základní senzory červeného světla
  - Účastní se klíčení
  - Fotomorfogeneze
  - Adaptace fotosyntetického aparátu na plné slunce/stín
- **Pro plné pokrytí spektra senzory modrého světla**
  - Cryptochrom 1 a 2 (obsahují flavin a pterin)
  - Fototropin (obsahuje flavin)
  - Zeitlupe
- **Rostliny zřejmě mají i senzor pro UV světlo**

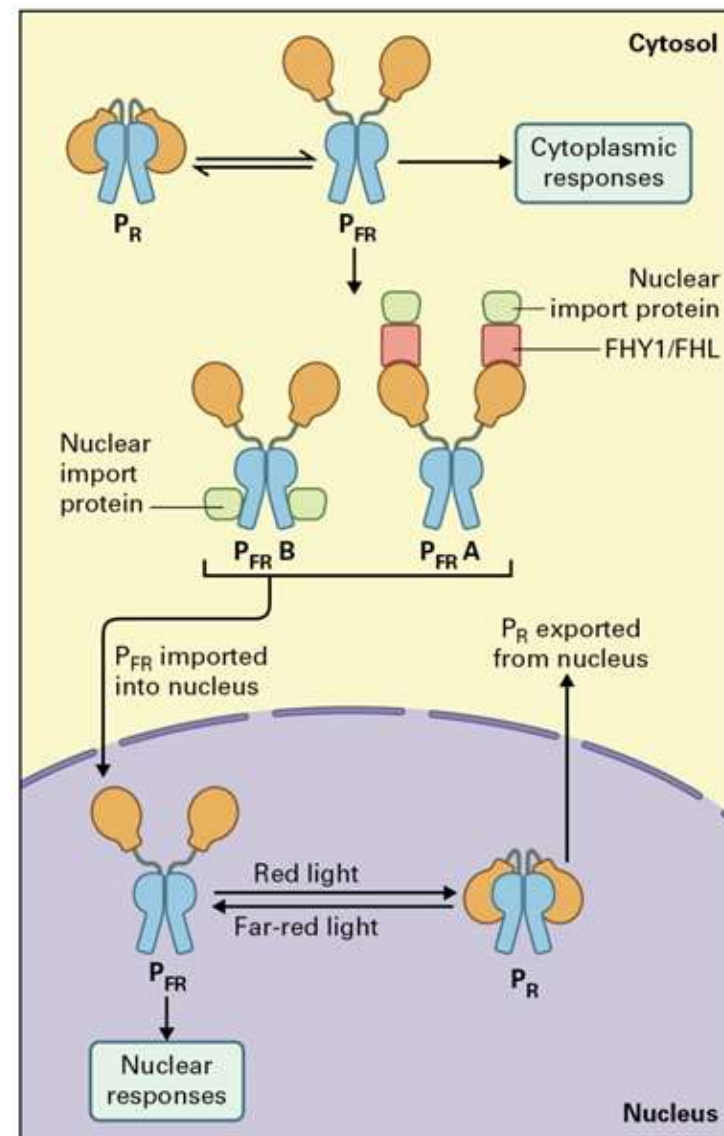
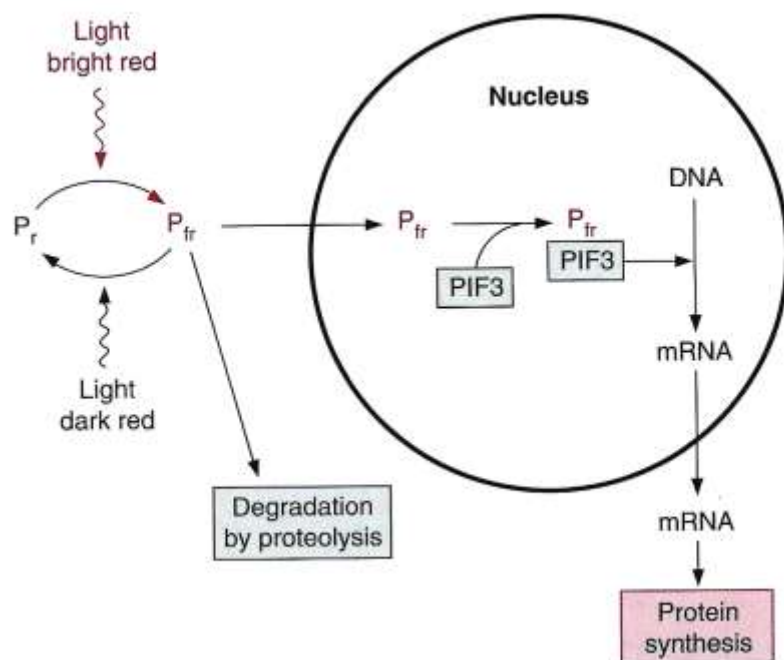


- Solubilní dimerní proteiny
- Apoprotein (120-130 kDa) s navázaným tetrapyrolelem (chromofor)
- **Fytochrom ve dvou konformacích**
  - $P_r$  (660 nm) – tetrapyrol navázaný na apoproteinu
  - $P_{fr}$  (730 nm) – absorpce světla mění konformaci tetrapyrolu
  - $P_{fr}$  – aktivní forma
  - Absorpce vzdáleně červeného světla – konverze na  $P_r$
- 660 nm – 88% ve formě  $P_{fr}$
- 720 nm – 3% ve formě  $P_{fr}$
- U arabidopsis 5 různých fytochromů (A-E)
- Fytochrom A – sledování vzdáleně červeného světla
- Fytochrom B - sledování červeného světla
- Fytochrom A ovlivňuje transkripci 10% genů



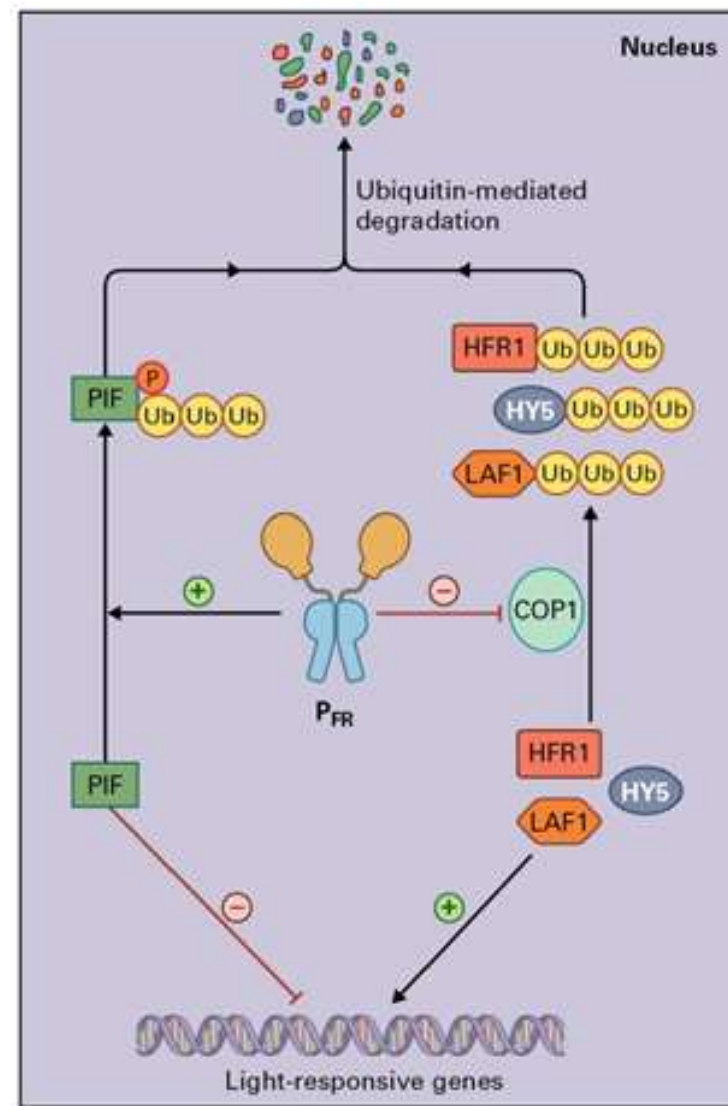
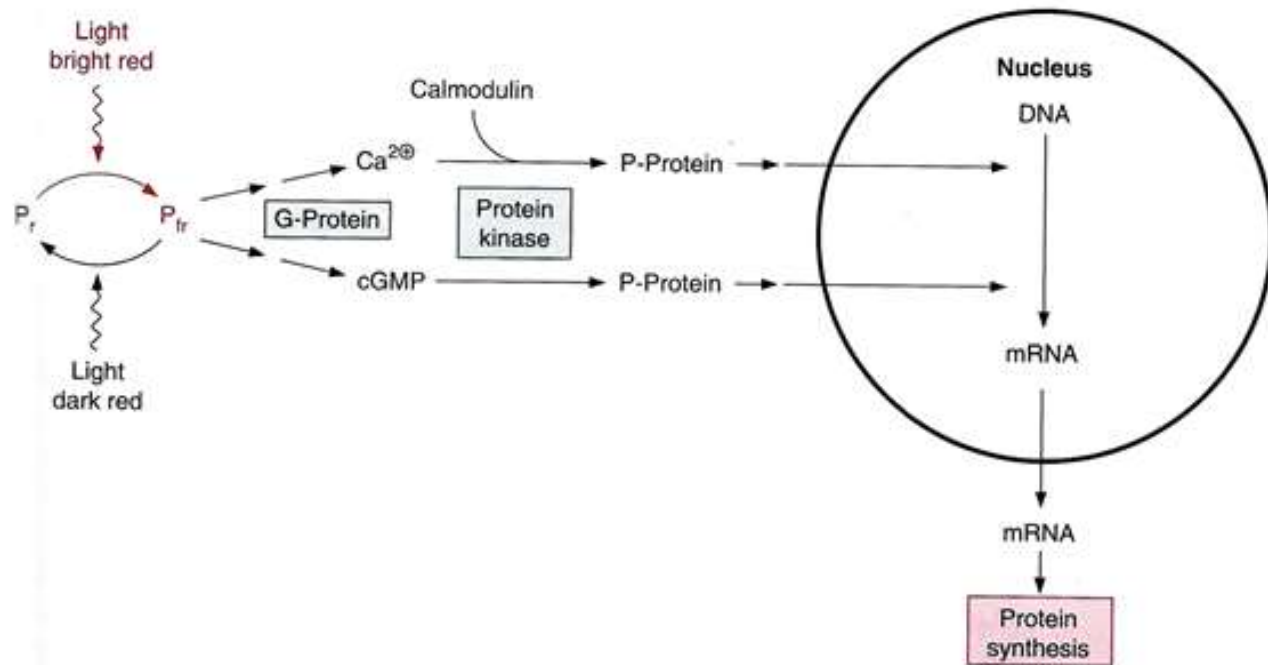


- **Fytochrom je příliš velká na průchod do jádra**
- **Proteiny FHY1/FHL – import do jádra**
- **V jádře interakce s Fytochrom Interakčním Faktorem (PIF)**
- **V jádře součást velkých signálních komplexů (jaderných tělísek)**
- **Jaderná tělíska mizí během noci a objevují se před svítáním**



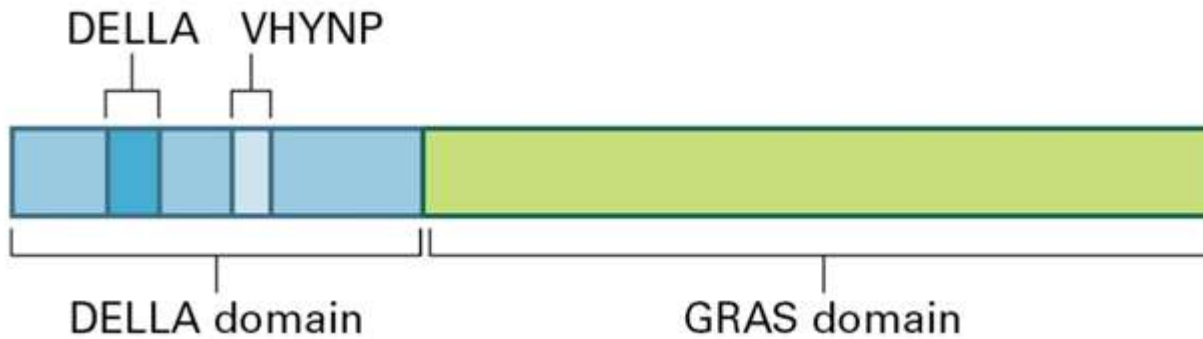
• **Fytochromy jsou rovněž spojeny s:**

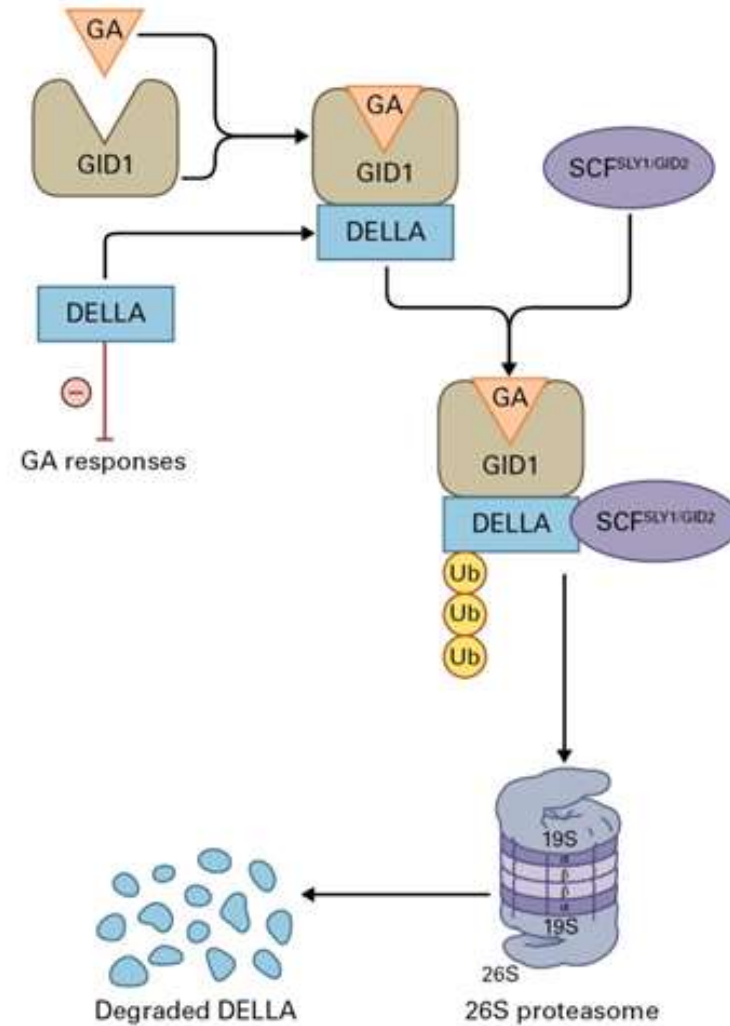
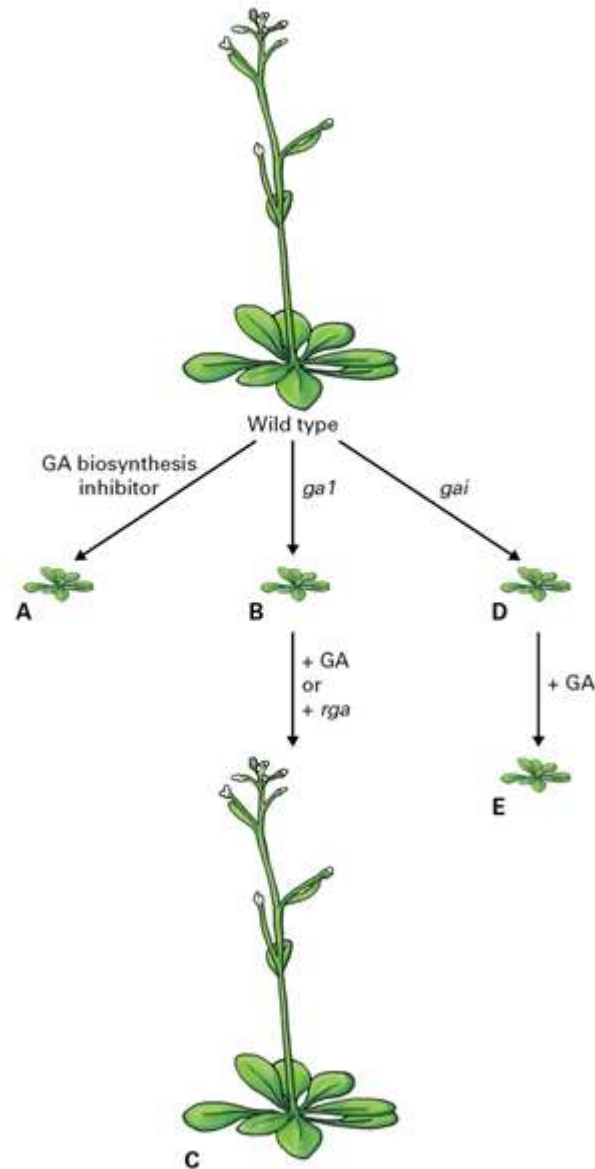
- protein-kinázami
- Vápníkem
- G-proteiny (cGMP)



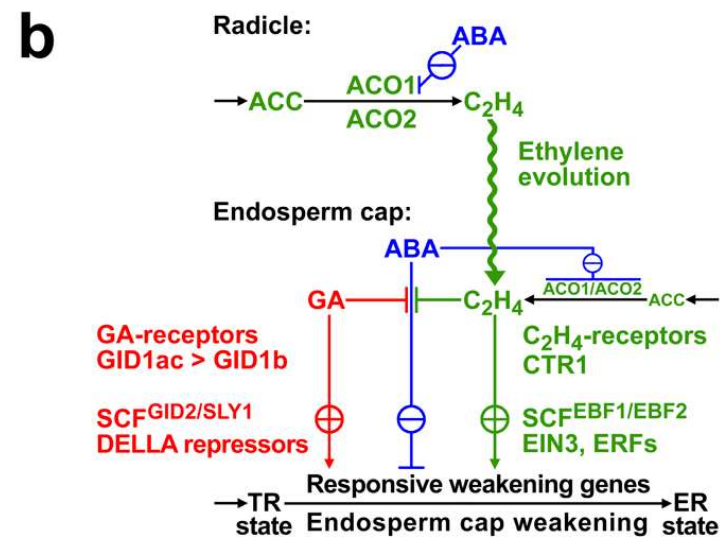
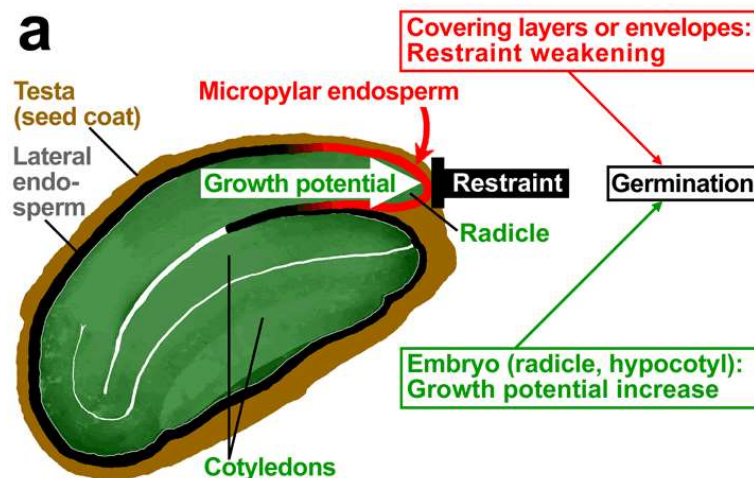
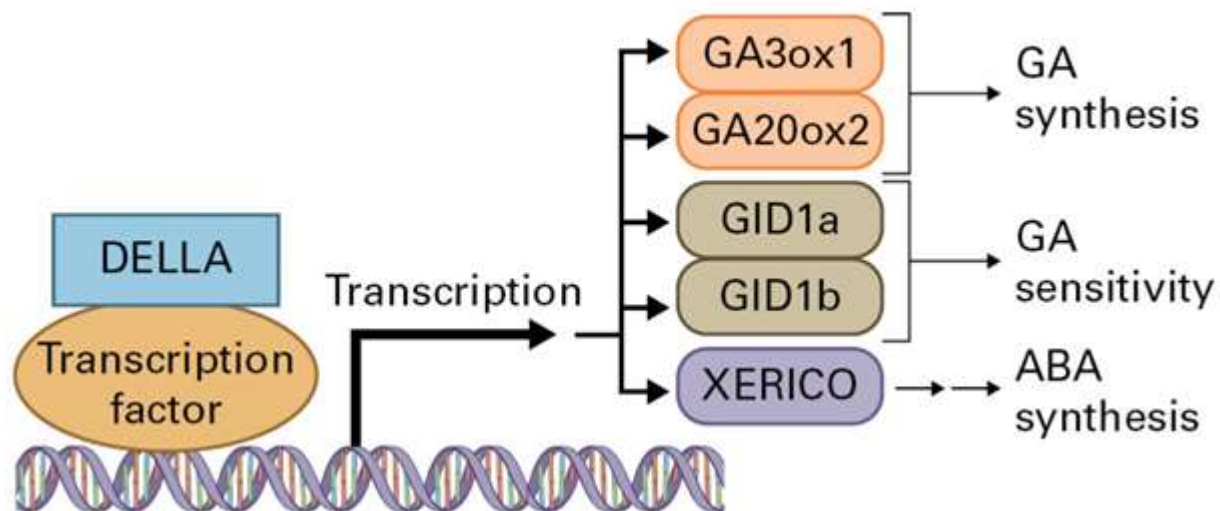


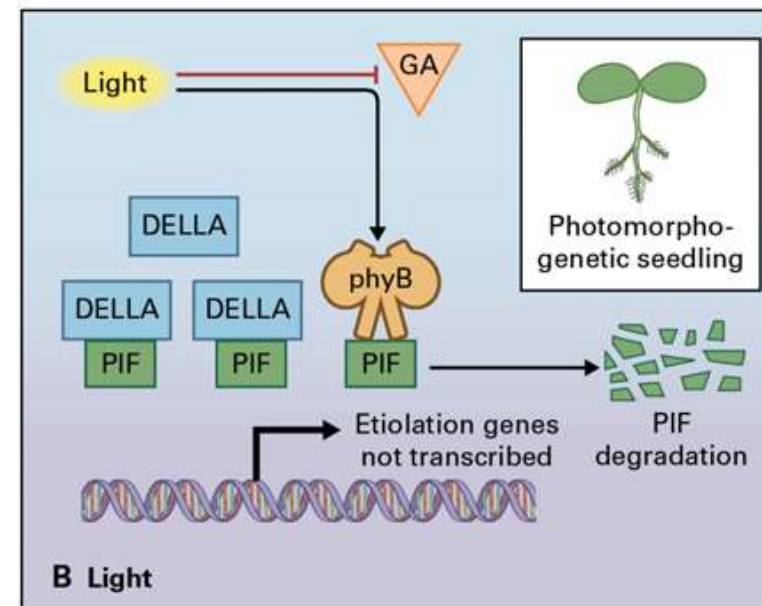
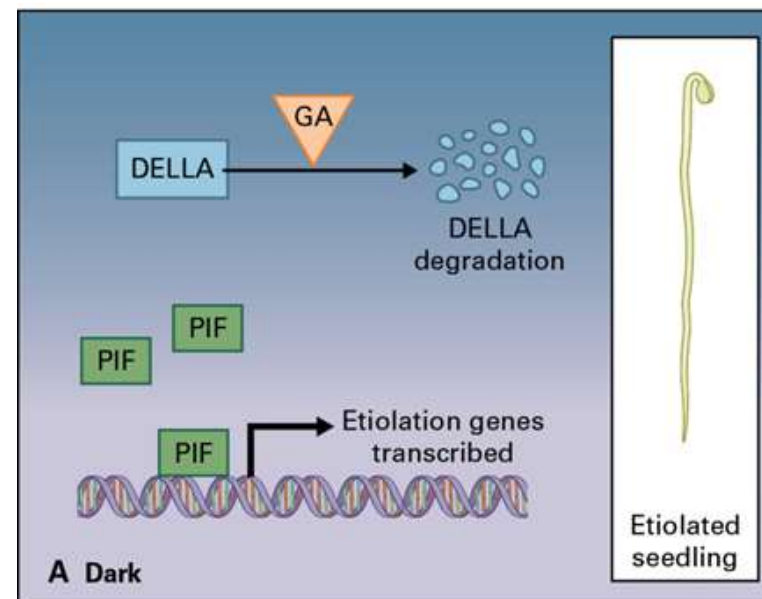
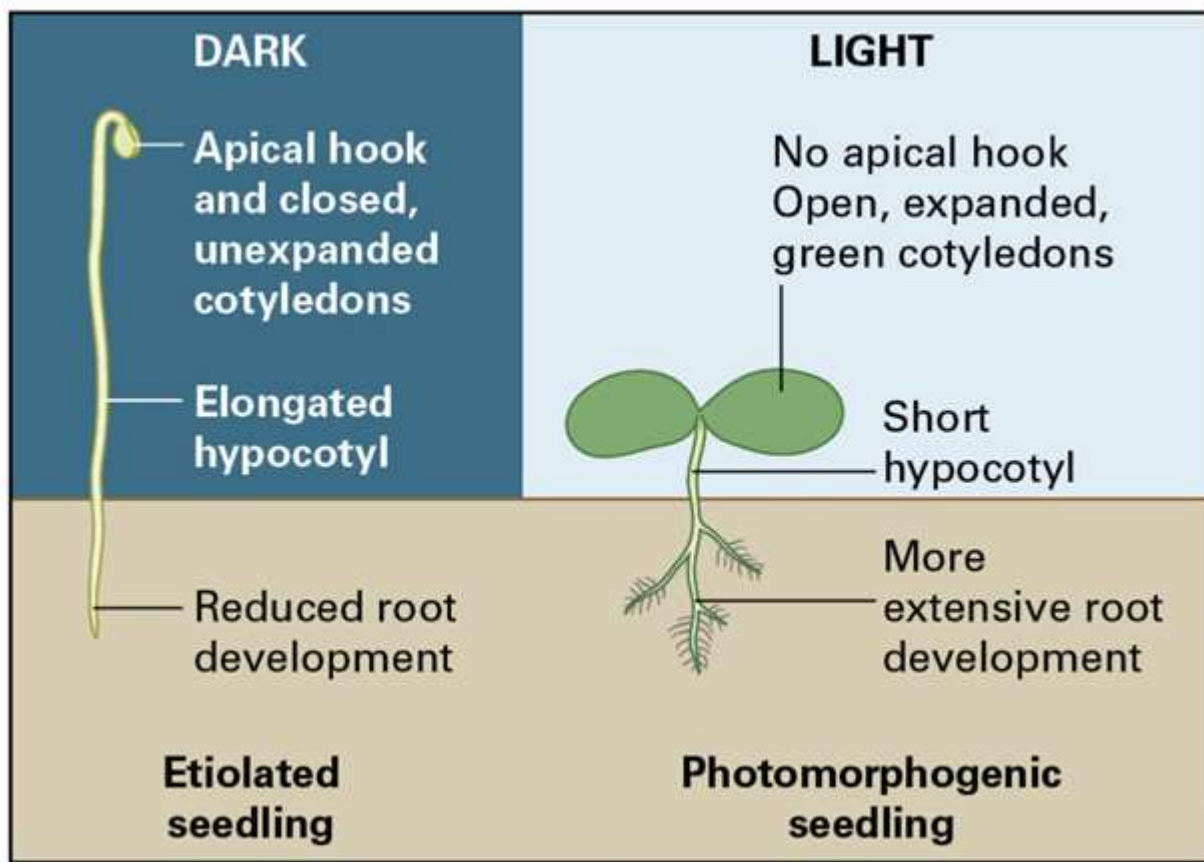
- Mutantní rostliny s omezenou schopností syntézy giberelinů (GA) špatně klíčí
- GA je zprostředkována ubiquitinylační dráhou degradace proteinů zpomalujících růst
- Tyto proteiny nazýváme tzv. DELLA proteiny
- DELLA proteiny – jaderné proteiny obsahující GRAS doménu (GIBBERELIC-ACID INSENSITIVE (GAI), REPRESSOR of GAI (RGA) and SCARECROW (SCR))
- Receptor GA – GID1 proteiny (GA-insensitive dwarf1)





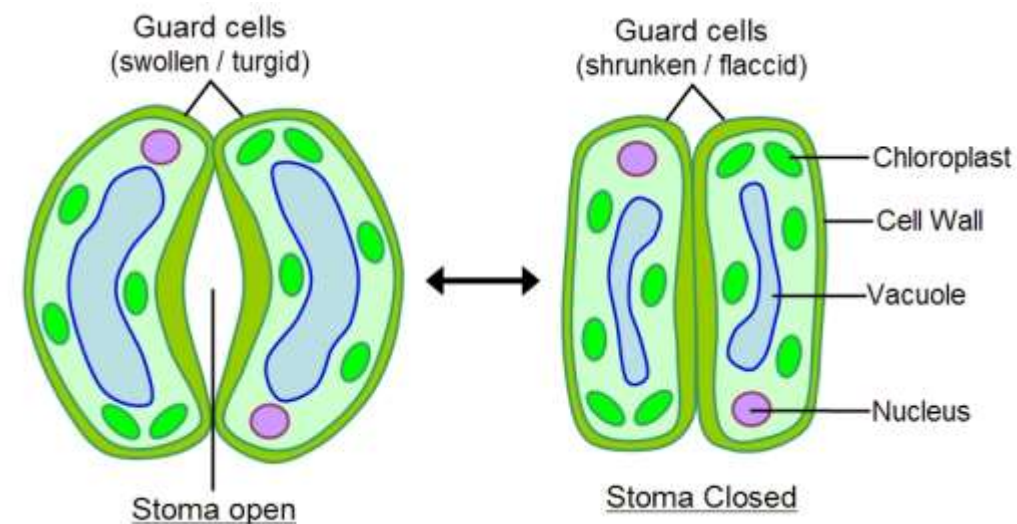
- **Dvě funkce DELLA proteinů v jádře:**
  - Aktivace transkripce cílových genů
  - Inhibice aktivity některých fytochrom interagujících proteinů
- **Geny aktivované DELLA**
  - Geny pro biosyntézu GA
  - Geny pro rozpoznání GA
  - Gen podporující syntézu ABA (XERICO)







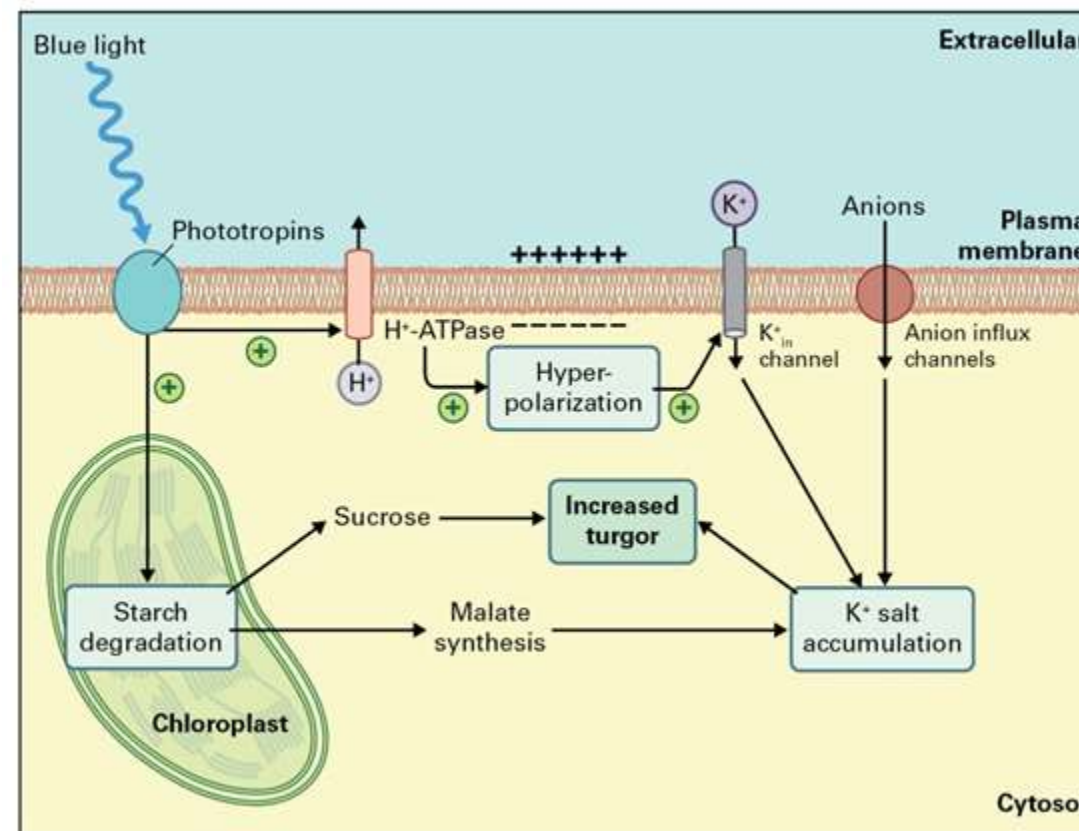
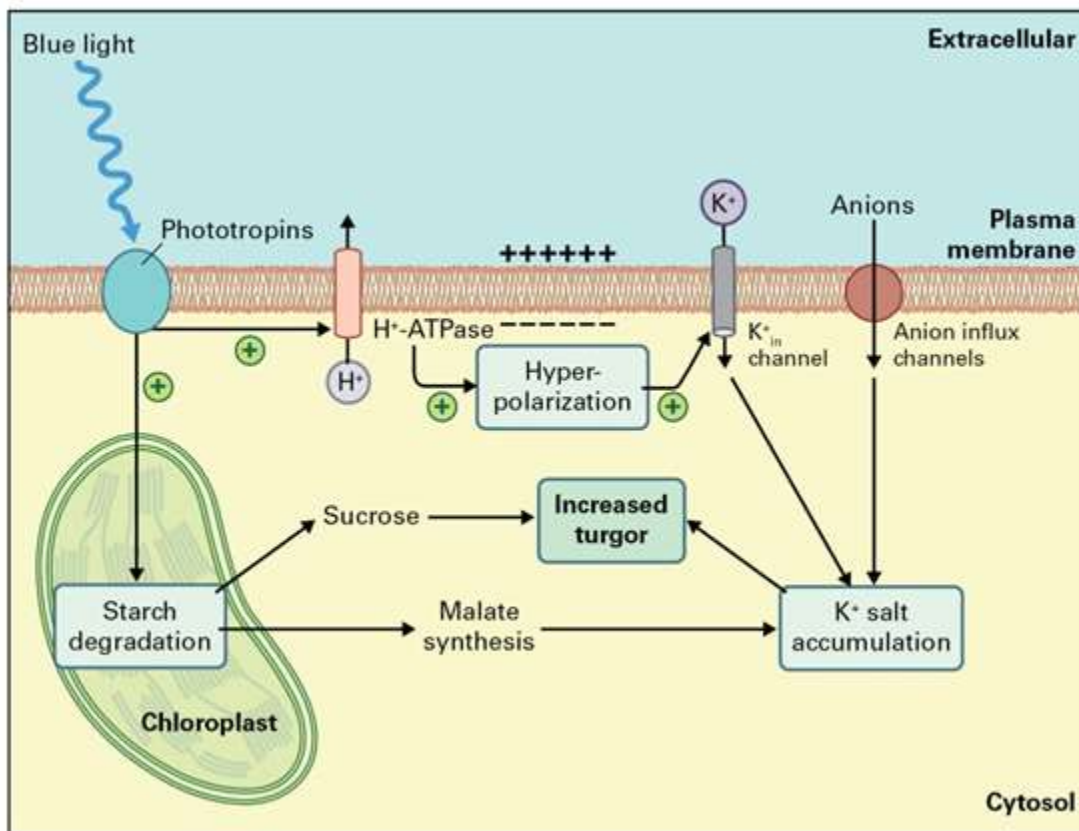
- Průduchy umožňují difúzi  $\text{CO}_2$  do listů a odpar vody z listů
- Otevírání průduchů je řízeno:
  - Oxidem uhličitým
  - Vlhkostí
  - Fytohormony (ABA)
  - Teplota
  - Ozón
  - Cirkadiální rytmy
- Velikost průduchu – turgor ve dvou svěracích buňkách
- Změna tvaru svěracích buněk
  - extenzivní přenos váčků mezi cytoplasmou/membránou



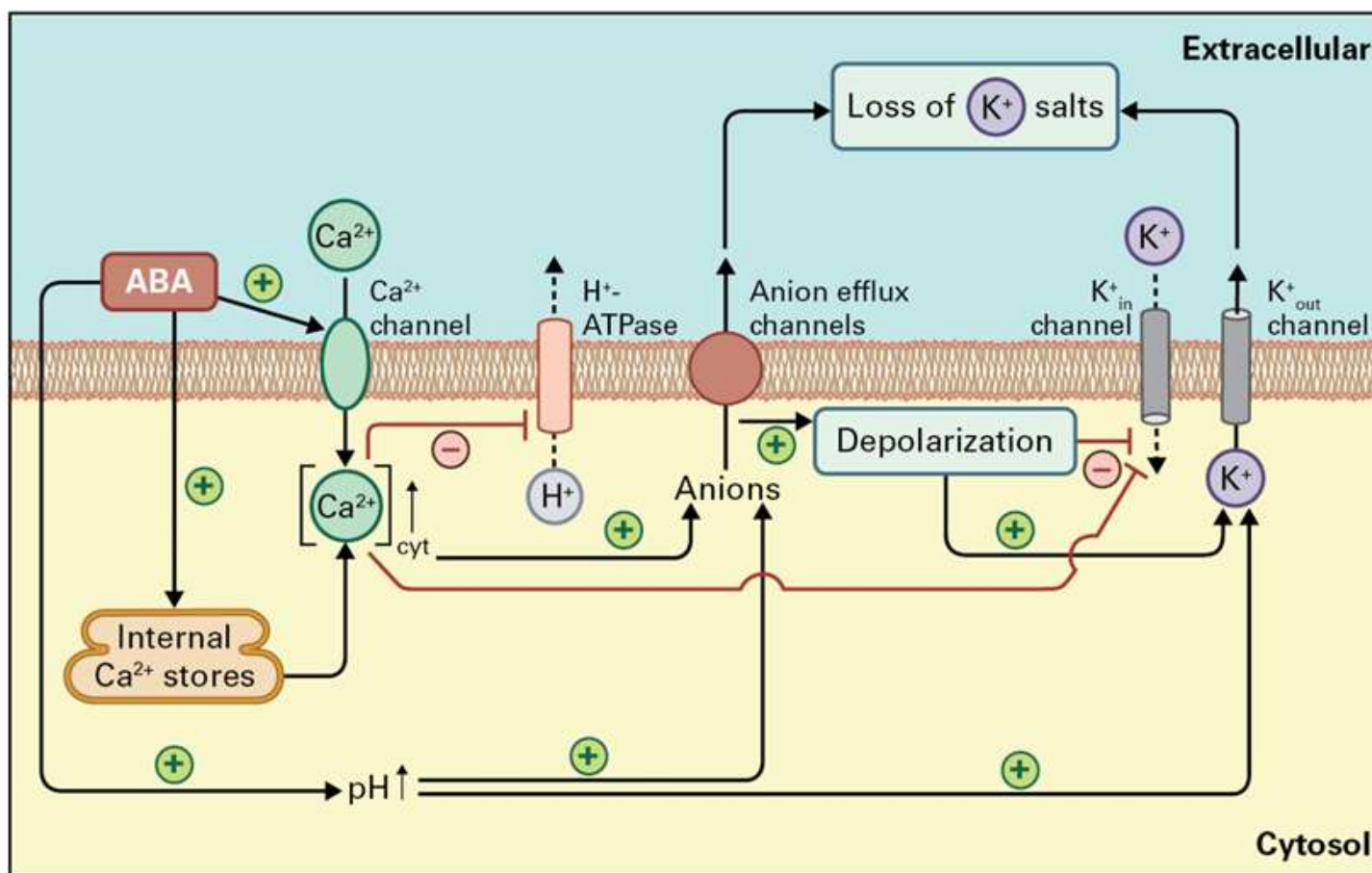
<https://www.youtube.com/watch?v=llmgFYmbAUg>



- U většiny druhů je otevírání řízeno světlem – fototropiny (modré světlo)
- Aktivace  $H^+$ -ATPasy = hyperpolarizace PM = vtok draslíku dovnitř buněk
- Narůstající koncentrace  $K^+$  kompenzována malátem,  $Cl^-$  a  $NO_3^-$  = nasátí vody = zvětšení turgoru
- Během rána jsou draselné soli nahrazeny sacharózou – udržení turgoru přes den



- ABA slouží jako signál pro zavření průduchů
- V případě nedostatku vláhy u kořenu je transportována do nadzemních částí
- ABA zavírá průduchy pomocí depolarizace PM a přeměnou sacharózy/malátu na škrob



- Dlouhodobě zvýšená koncentrace  $\text{Ca}^{2+}$  nestačí k trvalému uzavření
- Role oscilací  $\text{Ca}^{2+}$  v cytoplasmě:
  - dlouhodobé působení ABA – pomalé oscilace (10 min)
  - Vysoká koncentrace  $\text{CO}_2$  - pomalé oscilace (10 min)
  - Nízká koncentrace  $\text{CO}_2$  – rychlé oscilace (5 min)
- **GCA2 lokus (*Arabidopsis*) nutný pro oscilace**
- Mechanismus vnímání  $\text{CO}_2$  je neznámý

