

Samčí gametofyt

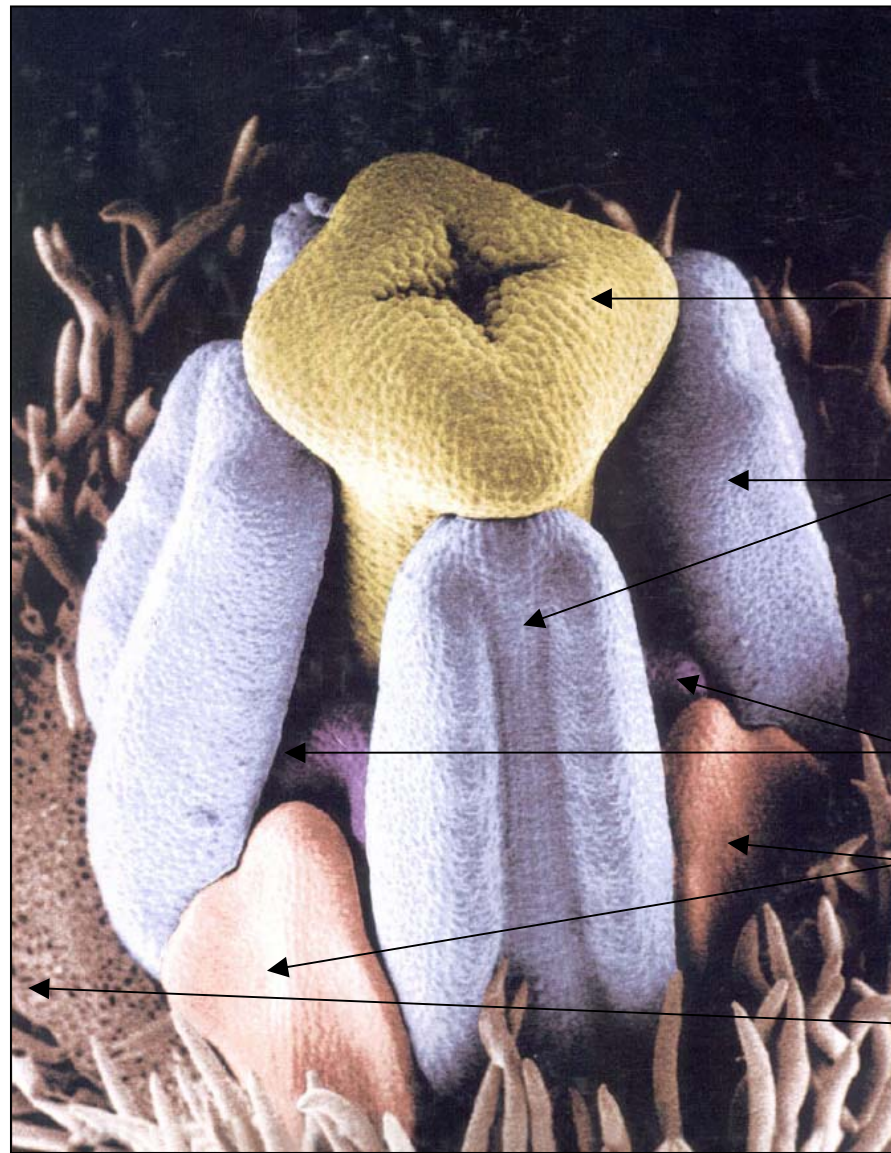
mikrosporogeneze
mikrogametogeneze

Clarkia xantania (Onagraceae)

Am. J. Bot.

<http://www.botany.org/plantimages>

Photo:
C. J. Runions
Cornell University



blizna s čnělkou

větší prašníky

menší prašníky

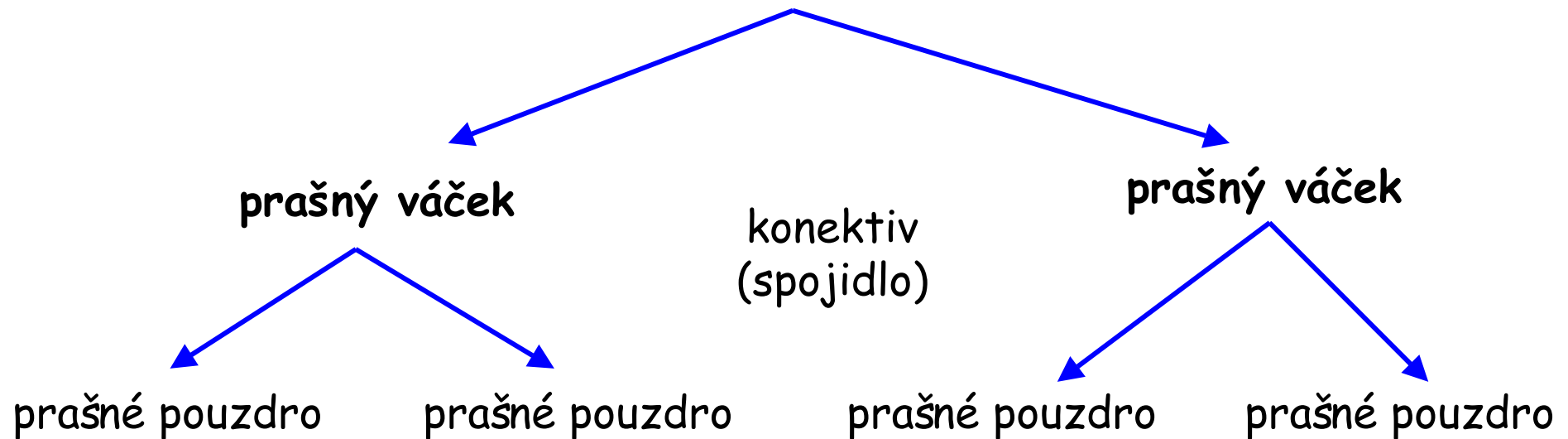
petaly

sepaly s trichomy

SE micrograph of an early floral developmental stage

Samčí rozmnožovací orgán = tyčinka soubor tyčinek = *androecium*

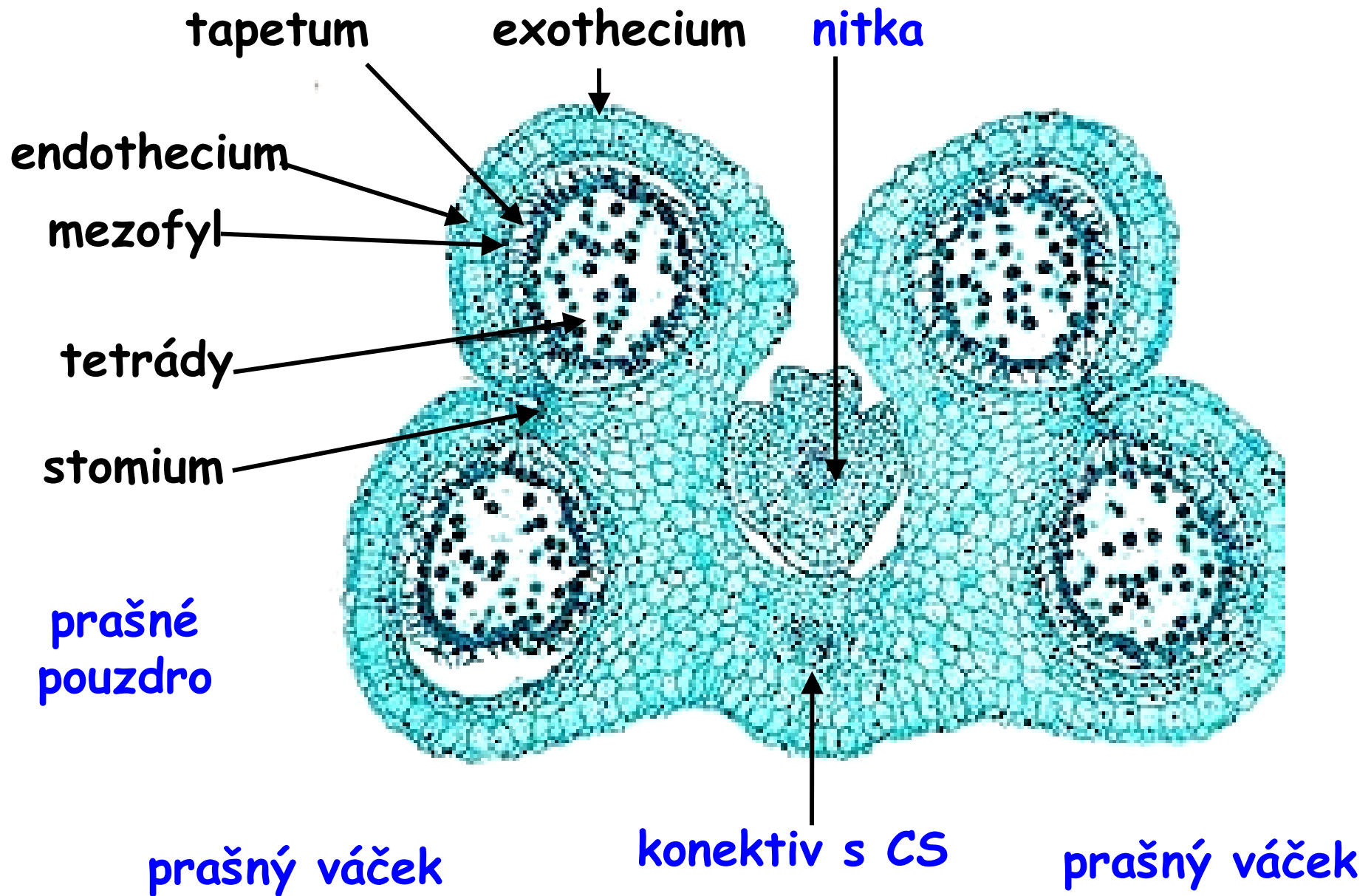
- tyčinka se zakládá jako meristematičtý hrbolek na vrcholu květního základu
 - z baze → nitka (filamentum)
 - z apexu → prašník (anthera)



Stavba prašníku

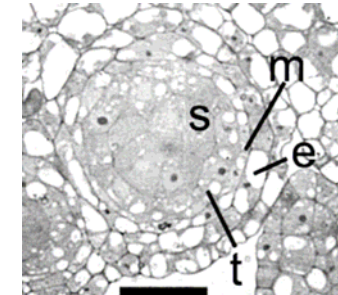
- **exothecium** = pokožková vrstva s kutikulou
stomium, hypostomium
- **endothecium** = subepidermální, vláknitá vrstva
- střední vrstva = **mezofyl**, parenchymatické pletivo
- **tapetum** = výstelka prašného pouzdra
 - žlaznaté (sekretorické)
 - ameboidní = periplazmodium

Řez prašníkem lilie

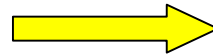


Mikrosporogeneze

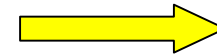
vývoj mikrospor ze sporogenních buněk



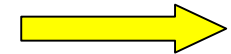
subepidermální buňky
meristem. hrbolku



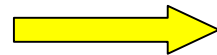
primární
archespor



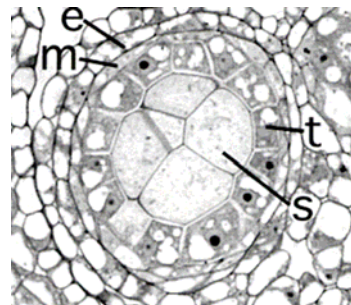
sporogenní
buňky



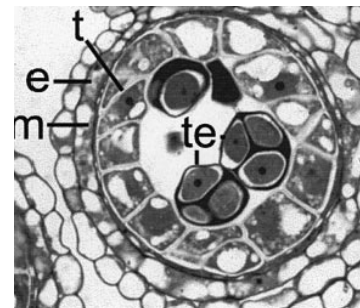
redukční
meiotické
dělení



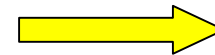
mikrosporocyty
pylové mateřské
buňky (PMC)



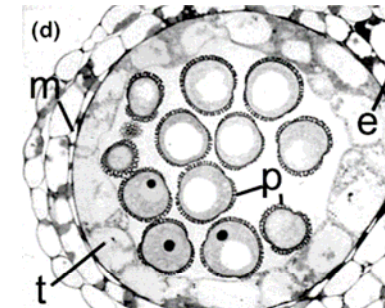
tetrády
mikrospor



kaláza

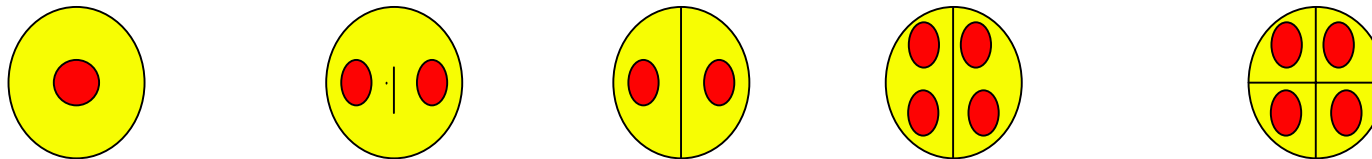


mikrospory

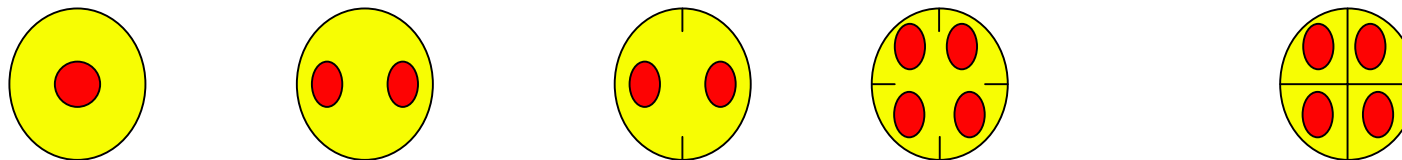


Typy tetrád

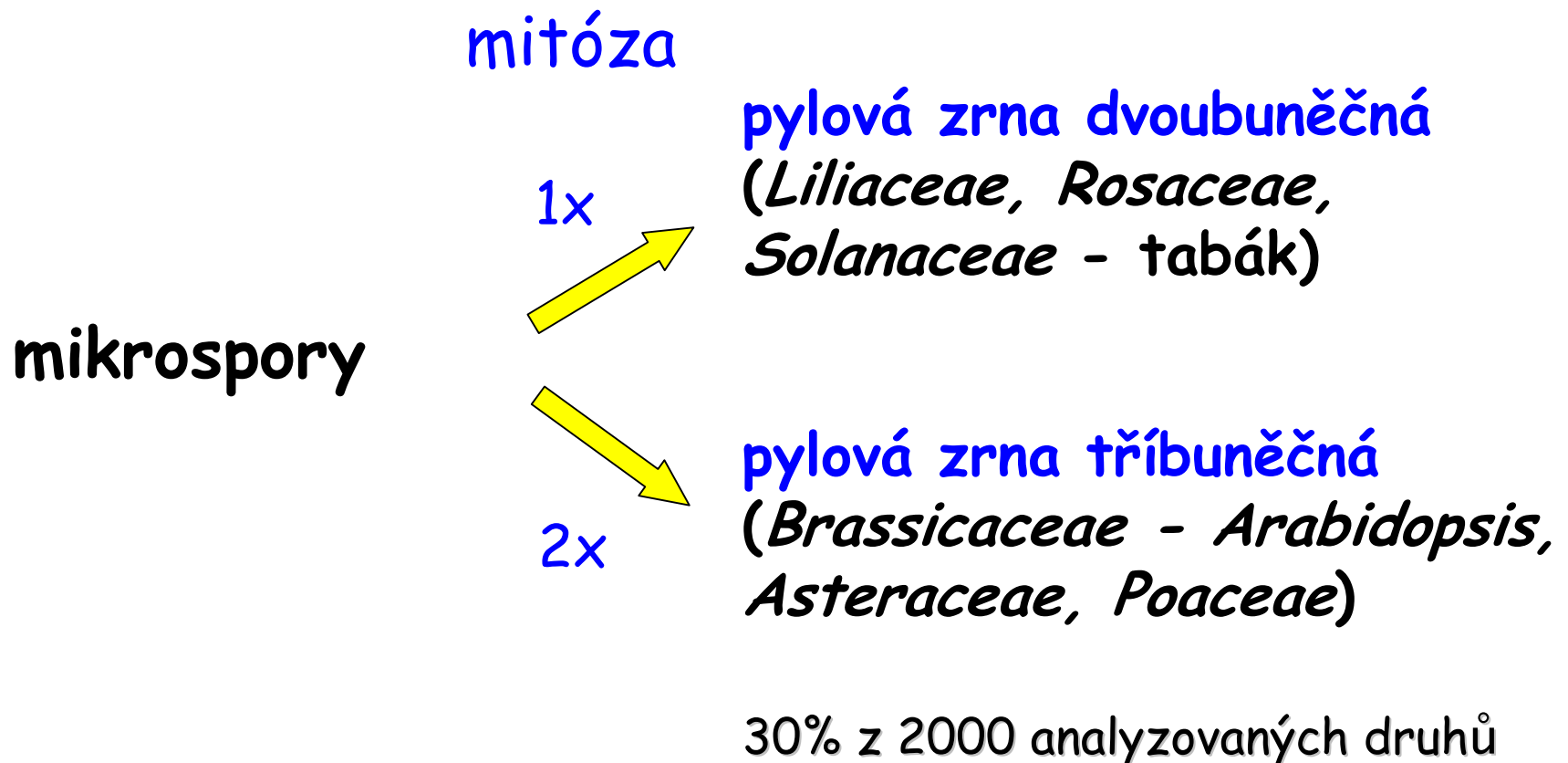
sukcesivní typ - ihned po I. meiotickém dělení vzniká centrifugálně přehrádka (diáda mikrospor) a po II. meiotickém dělení tetráda (častý u **jednoděložných rostlin**)



simultánní typ - po I. meiotickém dělení přehrádka nevzniká, teprve po skončení II. meiotického dělení začíná centripetálně (od periferie dovnitř) tvorba brázd a následně přepážek (typický u **dvouděložných rostlin**)



Mikrogametogeneze = vývoj samčích gamet



Funkce tapeta

- produkce enzymu **kalázy** (β -D-1,3-glukanáza) rozkládá kalózu a uvolňuje mikrospory z tetrád)
- syntéza prekurzorů exiny
- syntéza a vylučování **pylového tmelu** (depozice na povrchu pylových zrn)
- syntéza **proteinů** (depozice ve vnější vrstvě pylových zrn - exině)

Meióza = redukční dělení

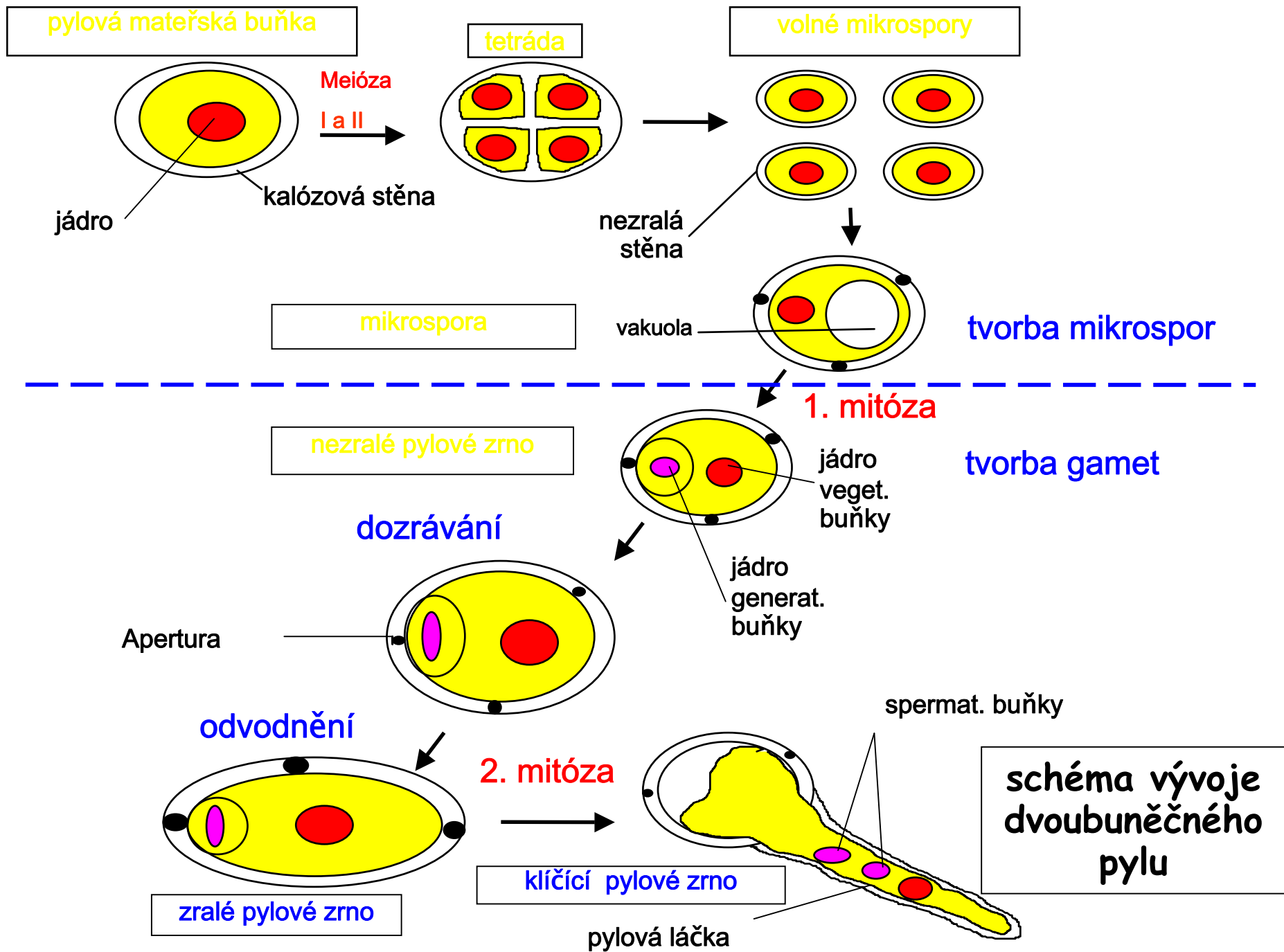
I. heterotypické dělení - redukční segregace homologních chromosomů

- profáze
 - leptoten
 - zygoten - bivalenty
 - pachyten
 - diploten - chiasmata, CO
 - diakineze
- metafáze
- anafáze
- telofáze

interfáze mezi I. a II. dělením
je krátká = nedochází k
syntéze DNA

II. homeotypické dělení = ekvační - dochází k segregaci alel

průběh je shodný s mitózou
profáze II. bezprostředně
navazuje na telofázi I.



Sporoderma - stěna pylového zrna

intina = **pektocelulózová** - spojení intiny s okolním prostředím = apertury (póry), někdy i kanálky

exina = **sporopolenin** = velmi rezistentní polymer lipidické povahy

– **endexina** = hladká lamelární vrstva

– **ektexina** = strukturovaná:

základní vrstva

bakuly

tektum

pylový tmel - na povrchu exiny: lipidy, proteiny, flavonoidy, aromatické látky

Stavba exiny pylového zrna pelyňku (*Artemisia*)

sporopolenin

ektexina

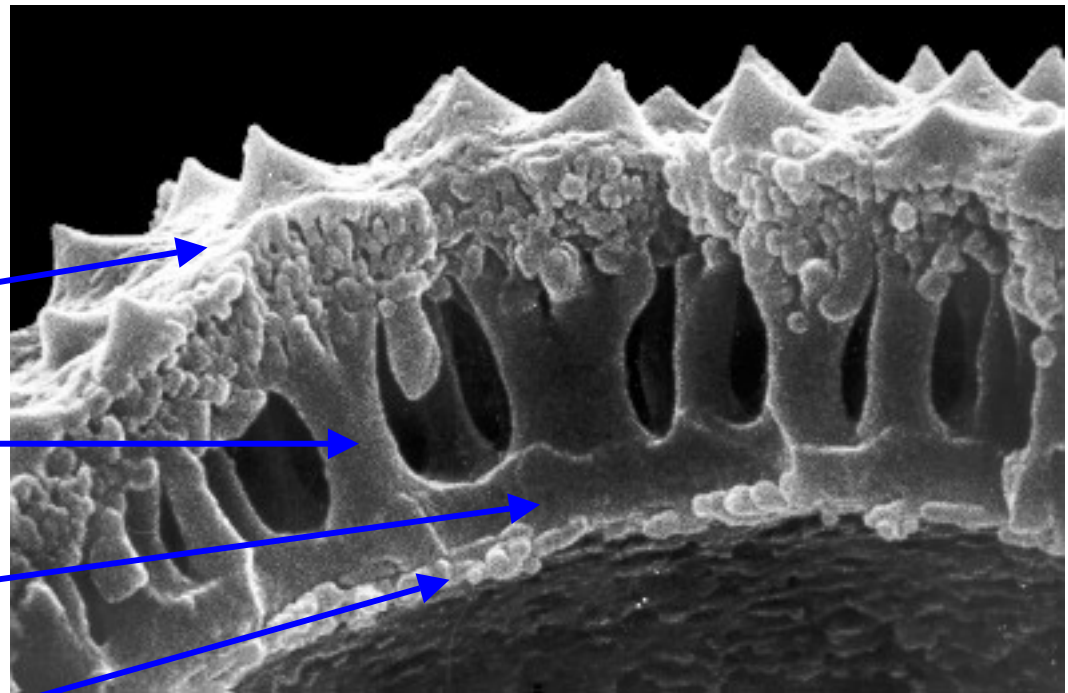
tektum

bakuly

základní vrstva

endexina

lamelární vrstva



TEM pylového zrna pryšce (*Euphorbia*)

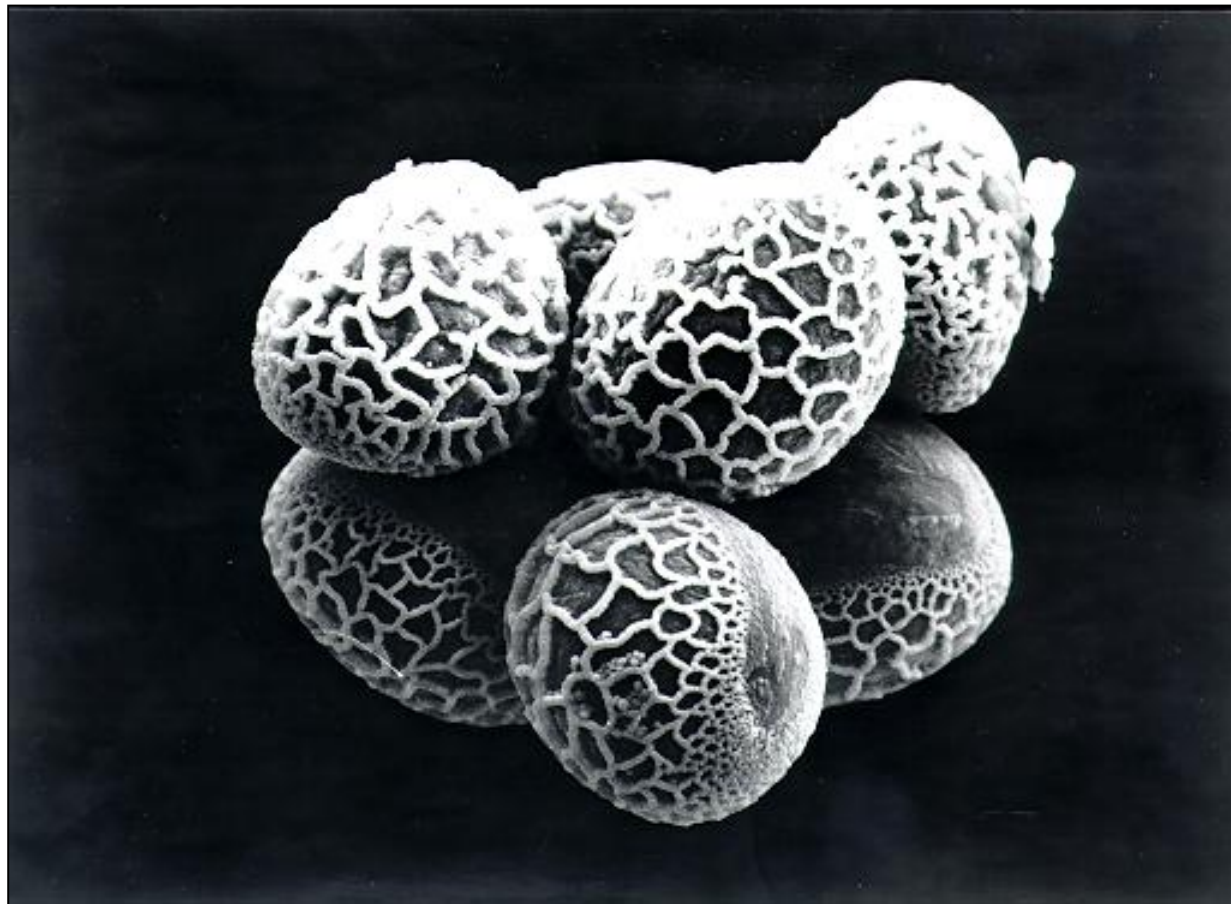


(Cresti *et al.* 1992)

dvoubuněčný pyl:
u 75% studovaných
kvetoucích rostlin

dělení generativní
buňky na 2 buňky
spermatické probíhá
v pylové láčce

Hydratovaná pylová zrna lilie



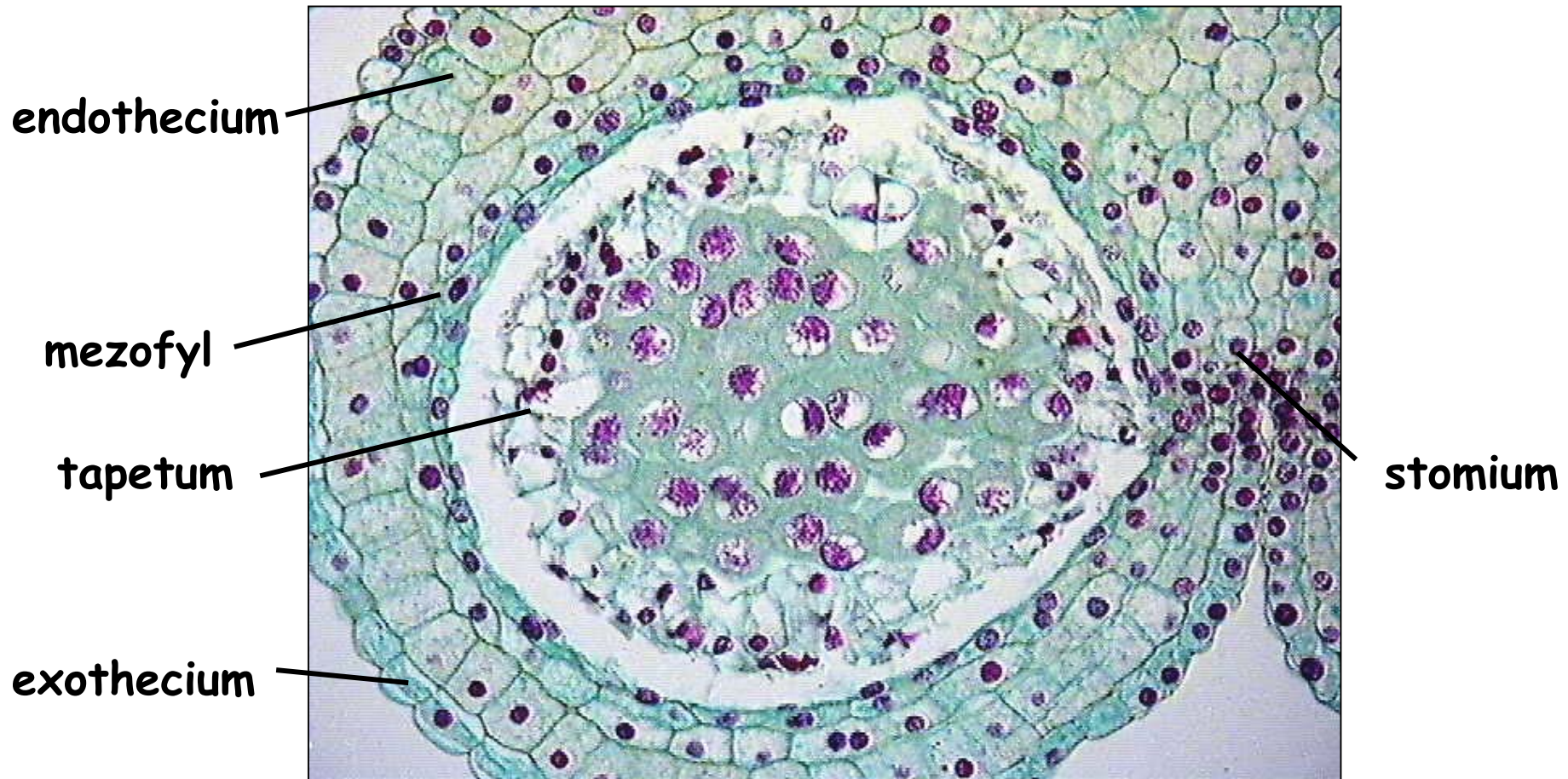
Mikrosporogeneze u *Lilium*

IASPRR

International Society for Sexual Plant Reproduction Research

<http://images.iaspr.org/lily/>

Mikrosporocyty v rané profázi I.



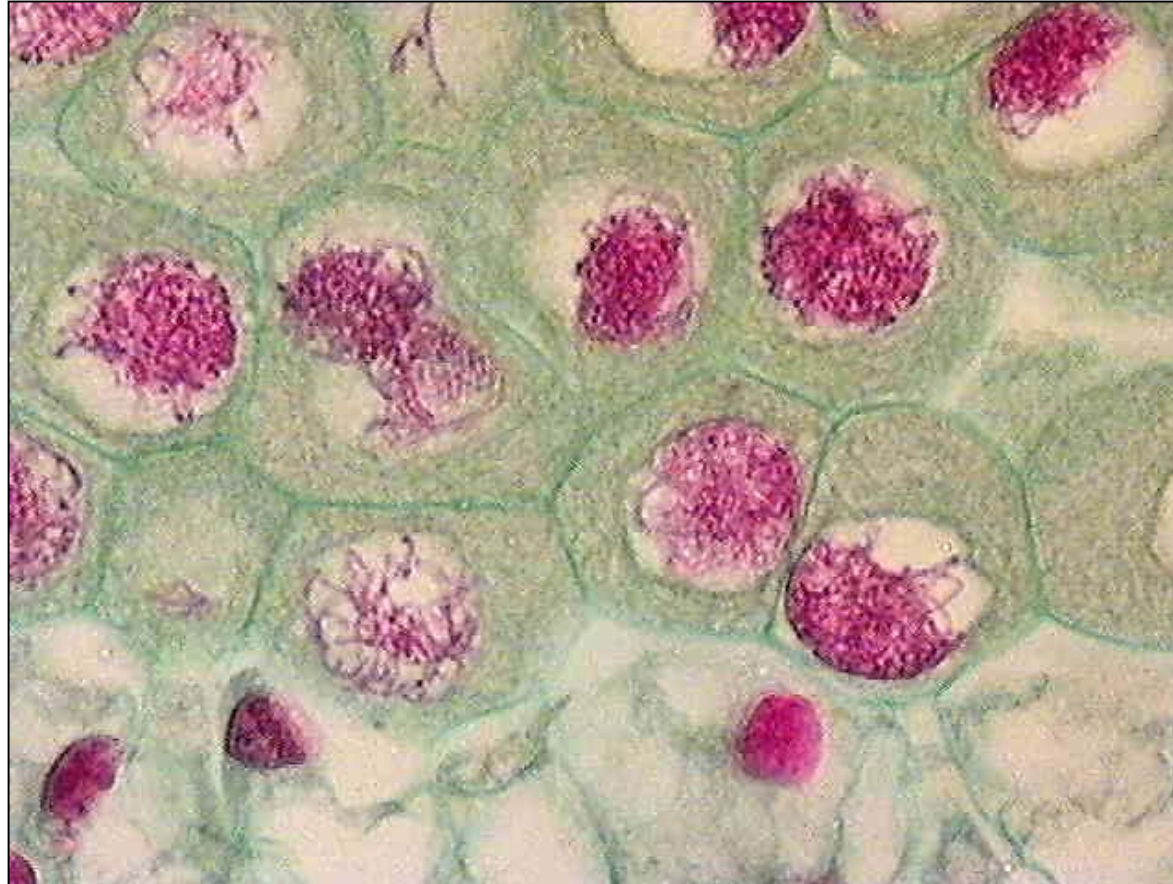
většinu profáze I představuje precizní párování homologních chromosomů

Mikrosporocyty v rané profázi I.



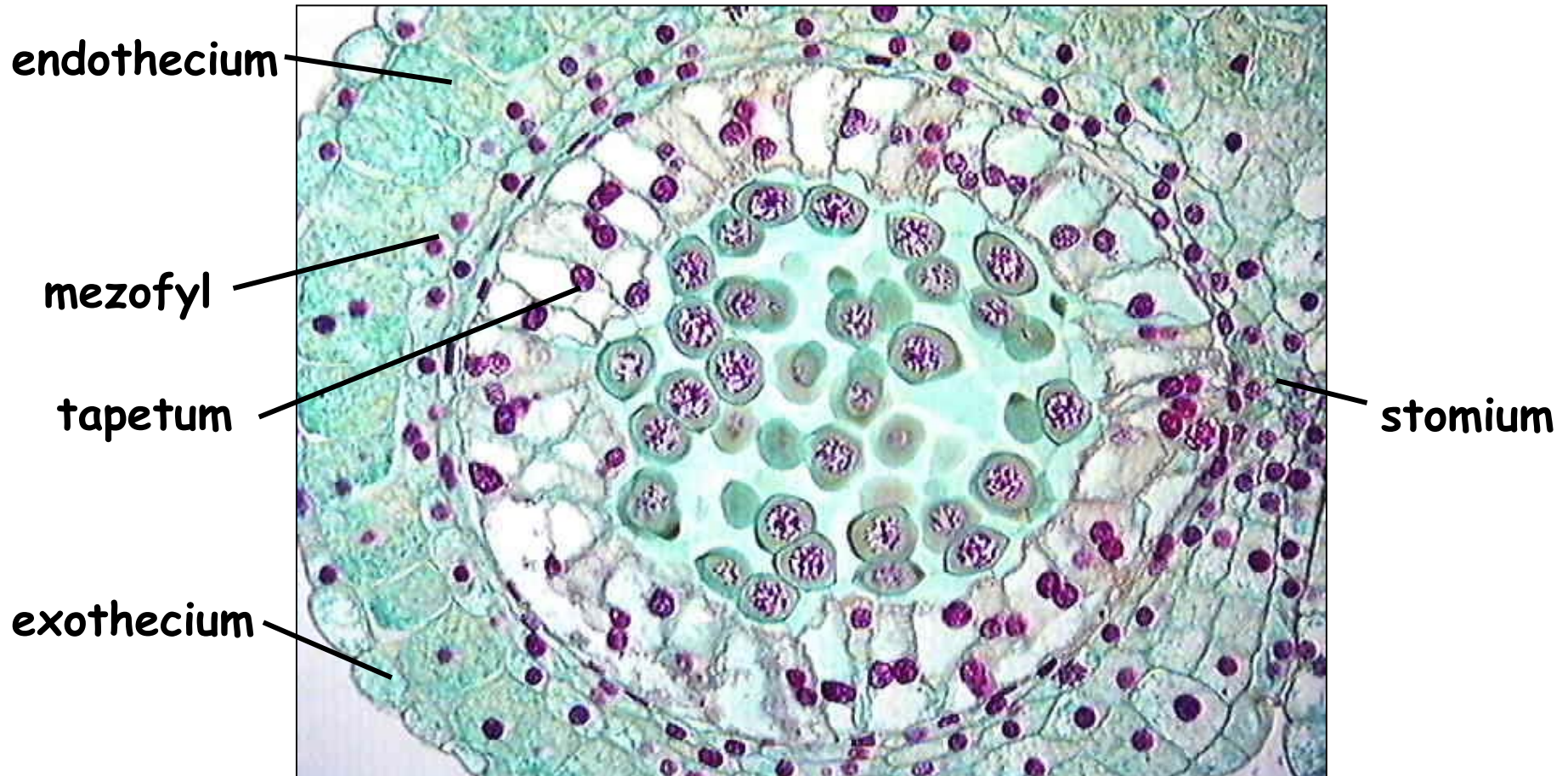
detail

Střed profáze I.



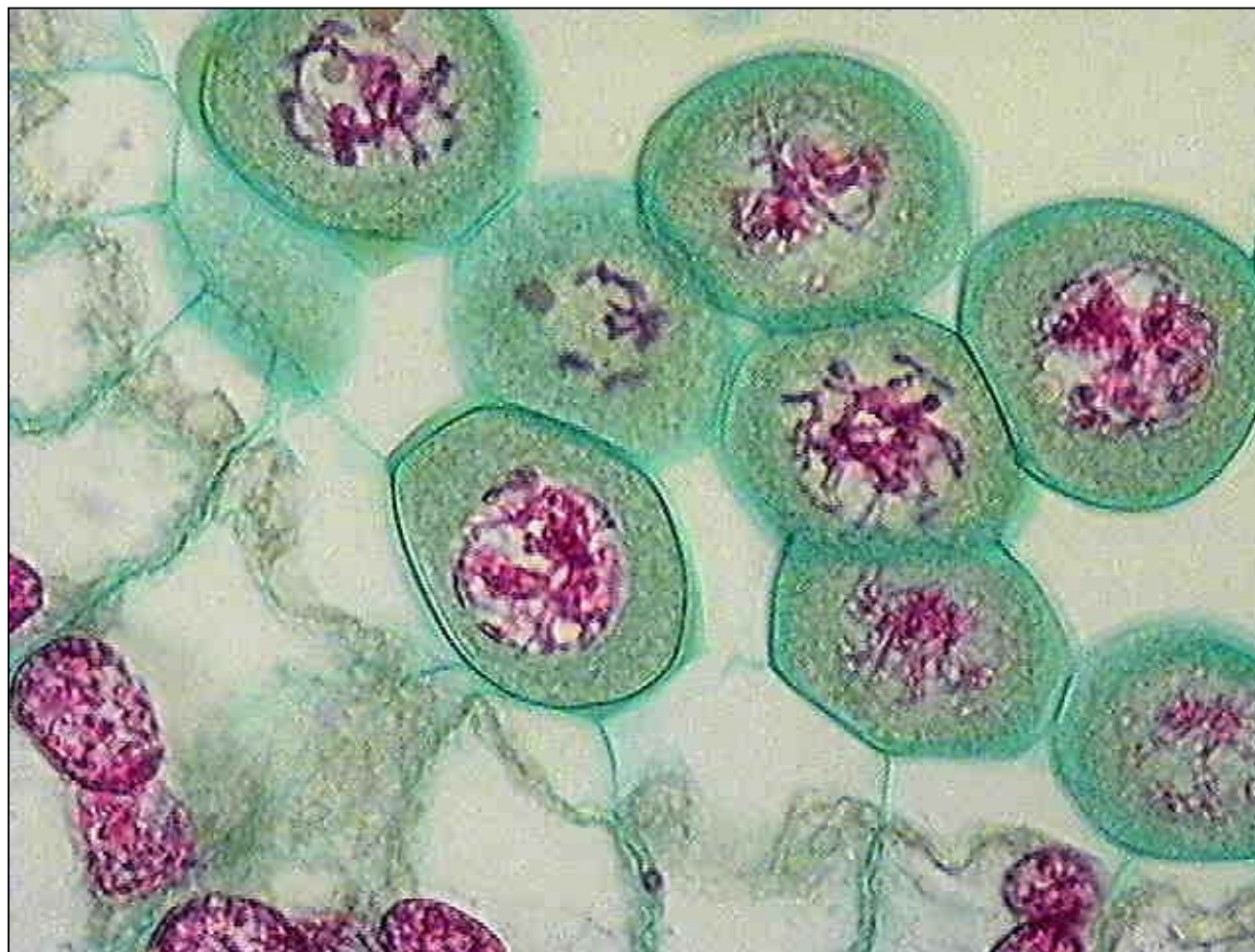
pachytene - chromosomy jsou velmi prodloužené,
spárované homologní chromosomy vyměňují genetický materiál

Pozdní profáze I.



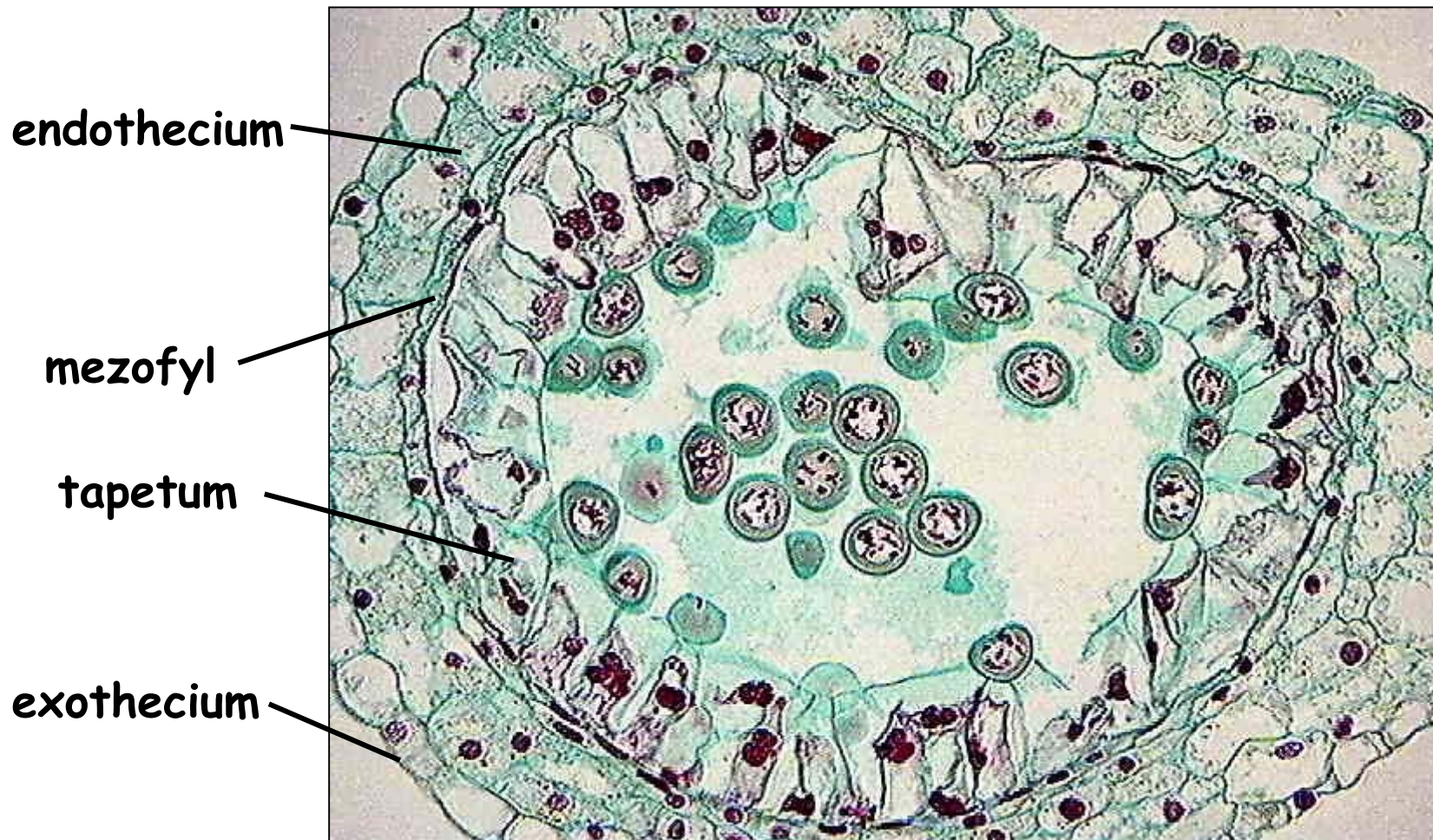
pokračuje kondenzace homologních chromosomů - blíží se diakinese

Pozdní profáze I.



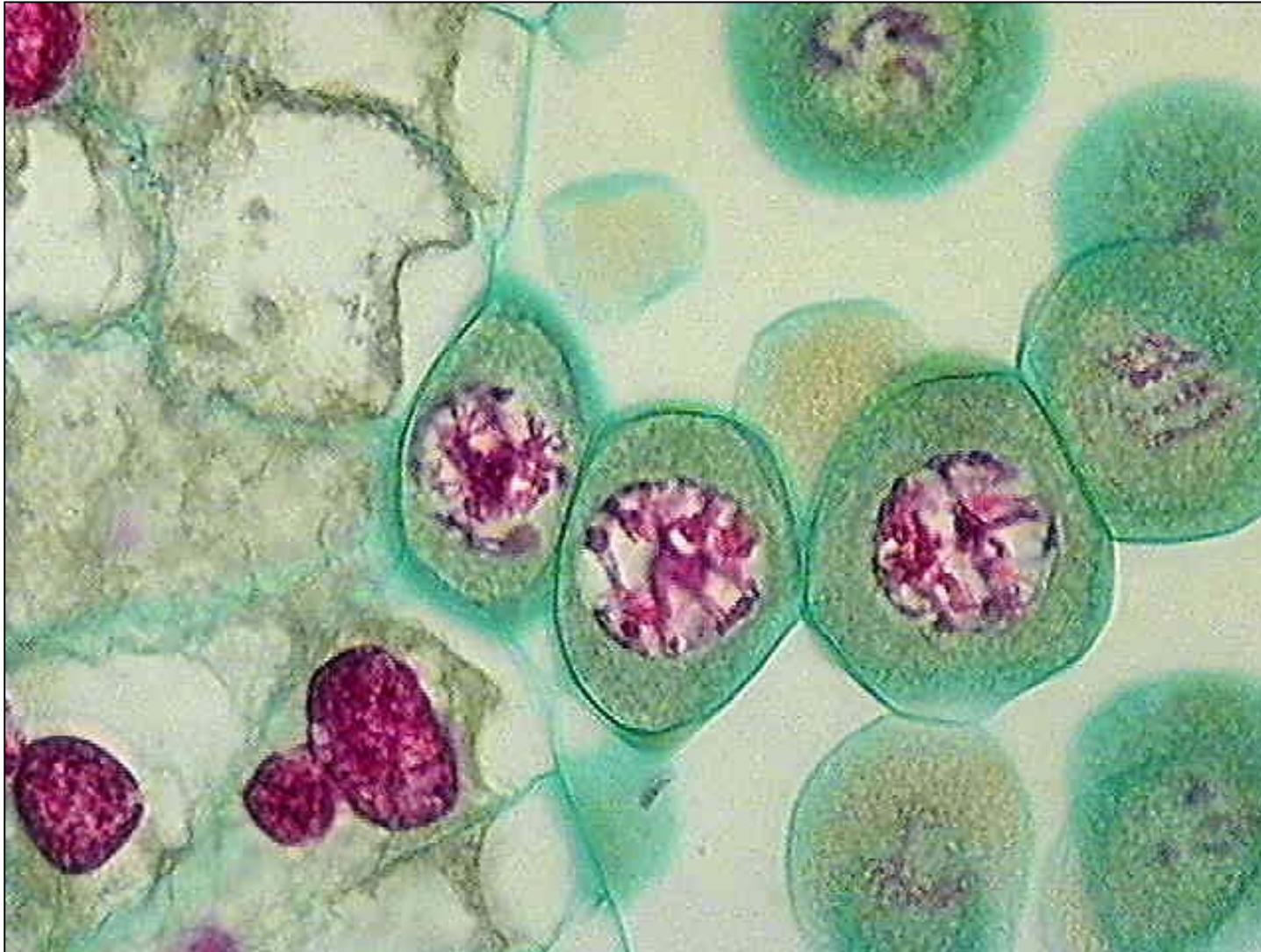
detail předchozího snímku

Diakinesis

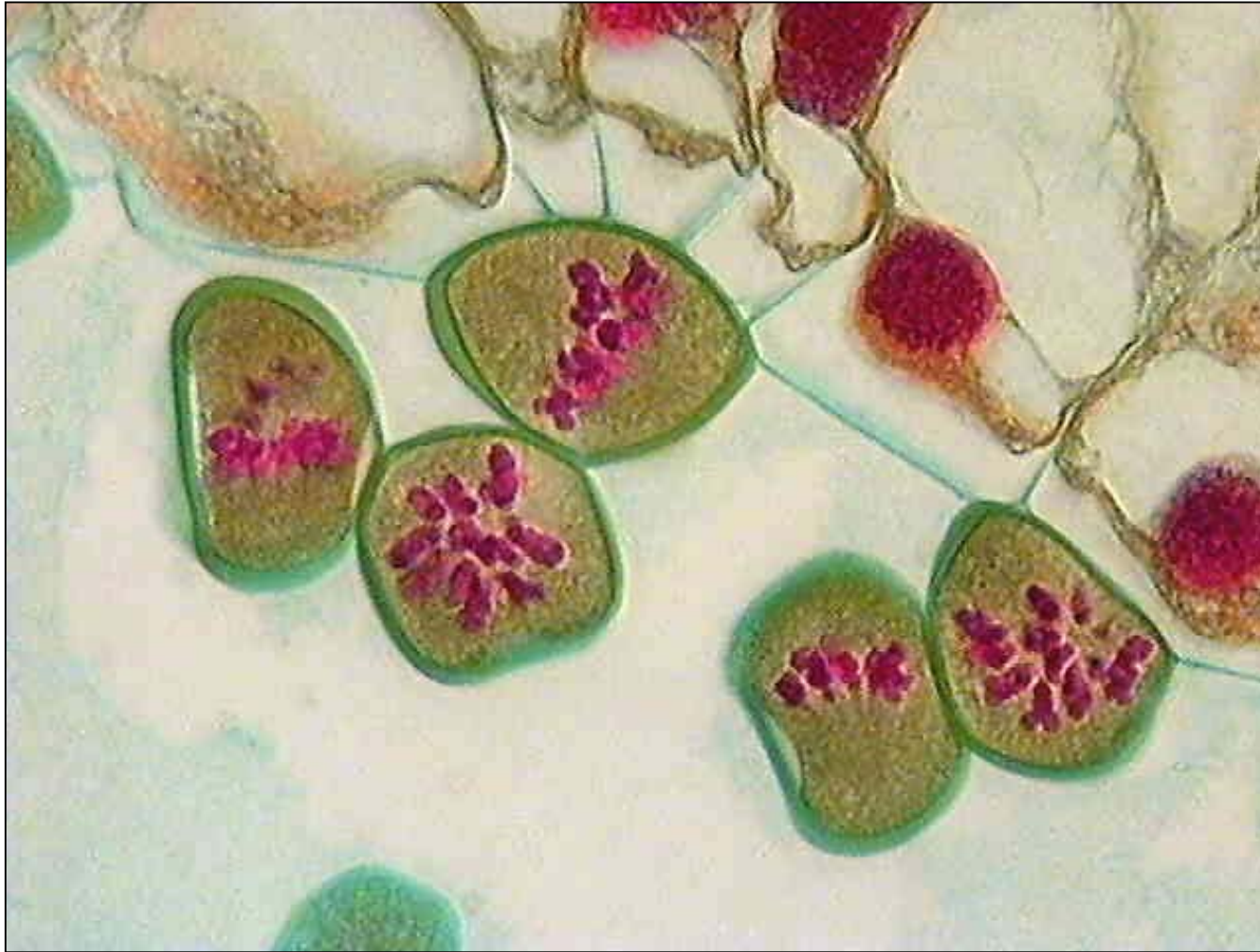


diakineze = poslední stadium profáze I před metafází

Diakinesis



Metafáze I.



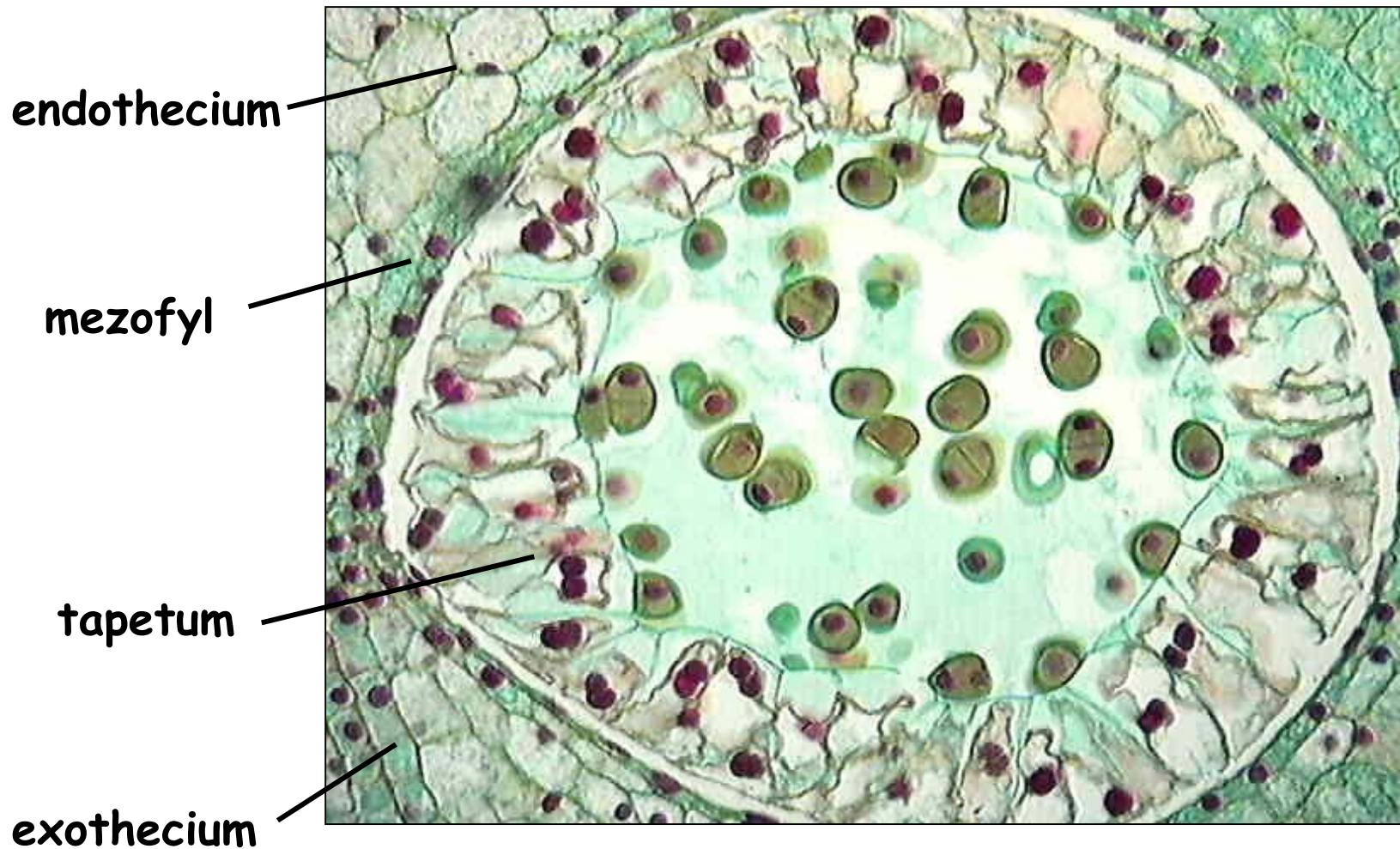
metafázní chromosomy

Anafáze I.



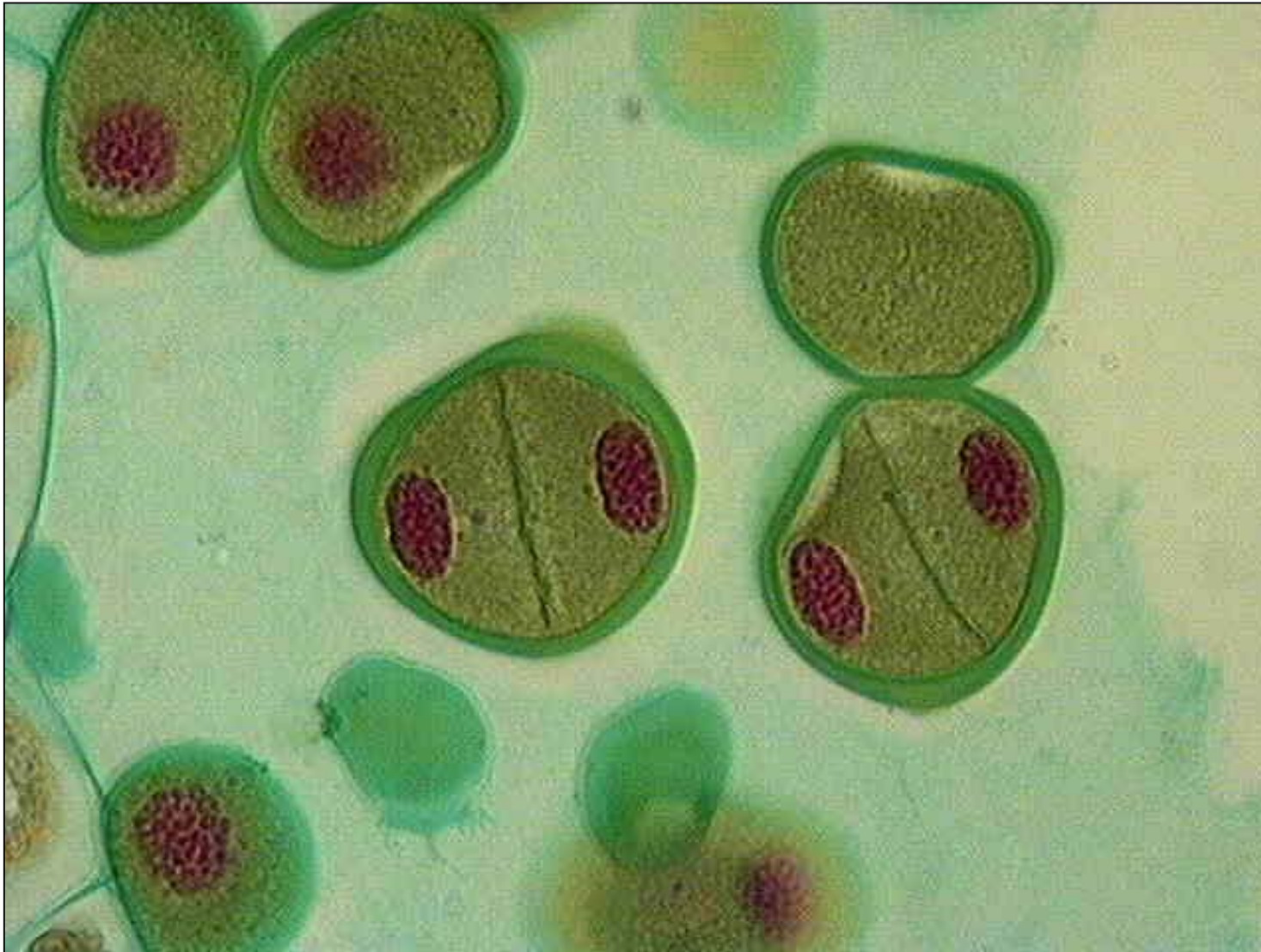
homologní chromosomy přemístěné na opačné
buněčné póly = přesné dělení genetického materiálu

Telofáze I.



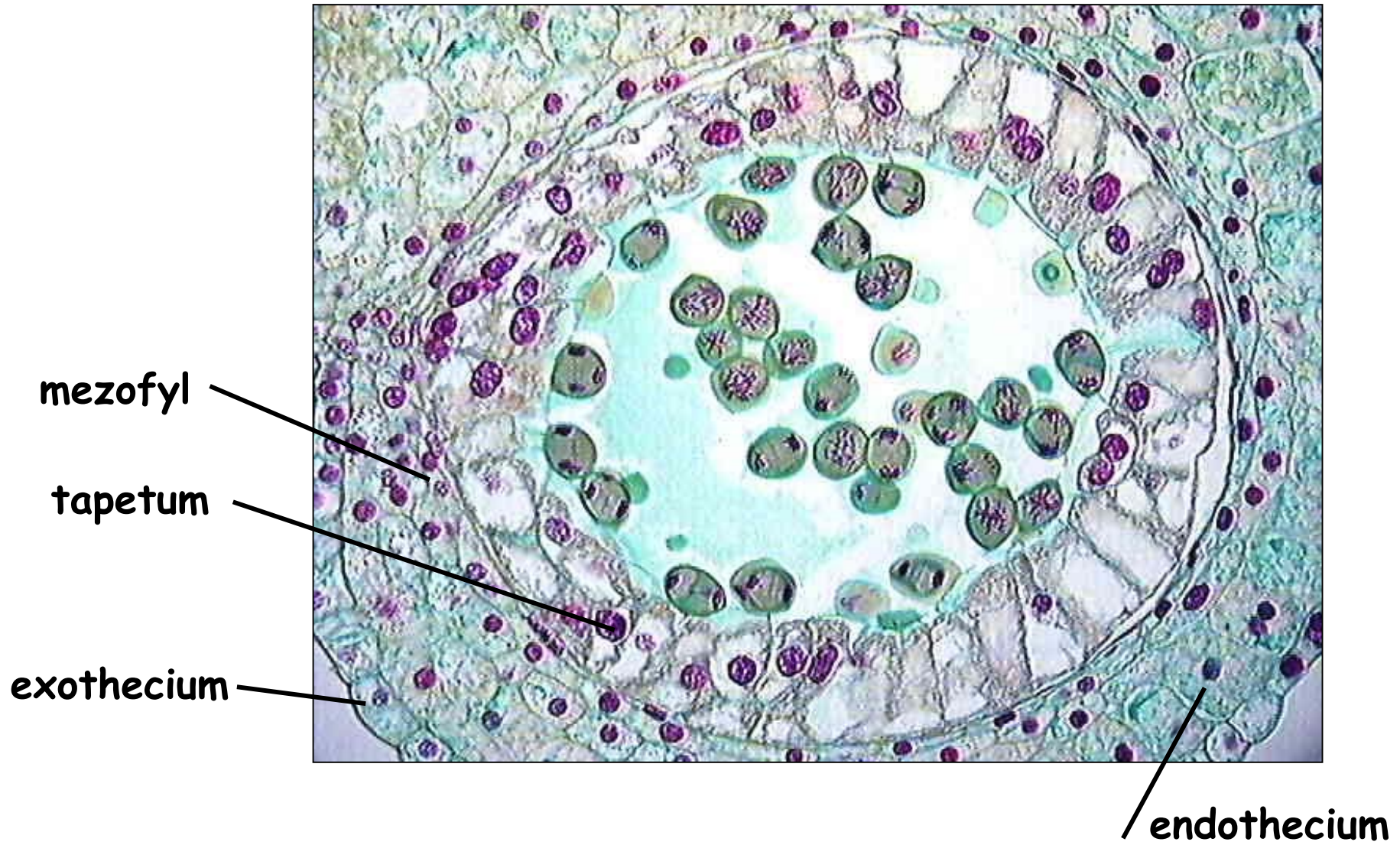
výrazná buněčná přepážka se tvoří mezi jádry po I. meiotickém dělení u lilie (diády), druhé meiotické dělení probíhá rychle

Telofáze I.



diády

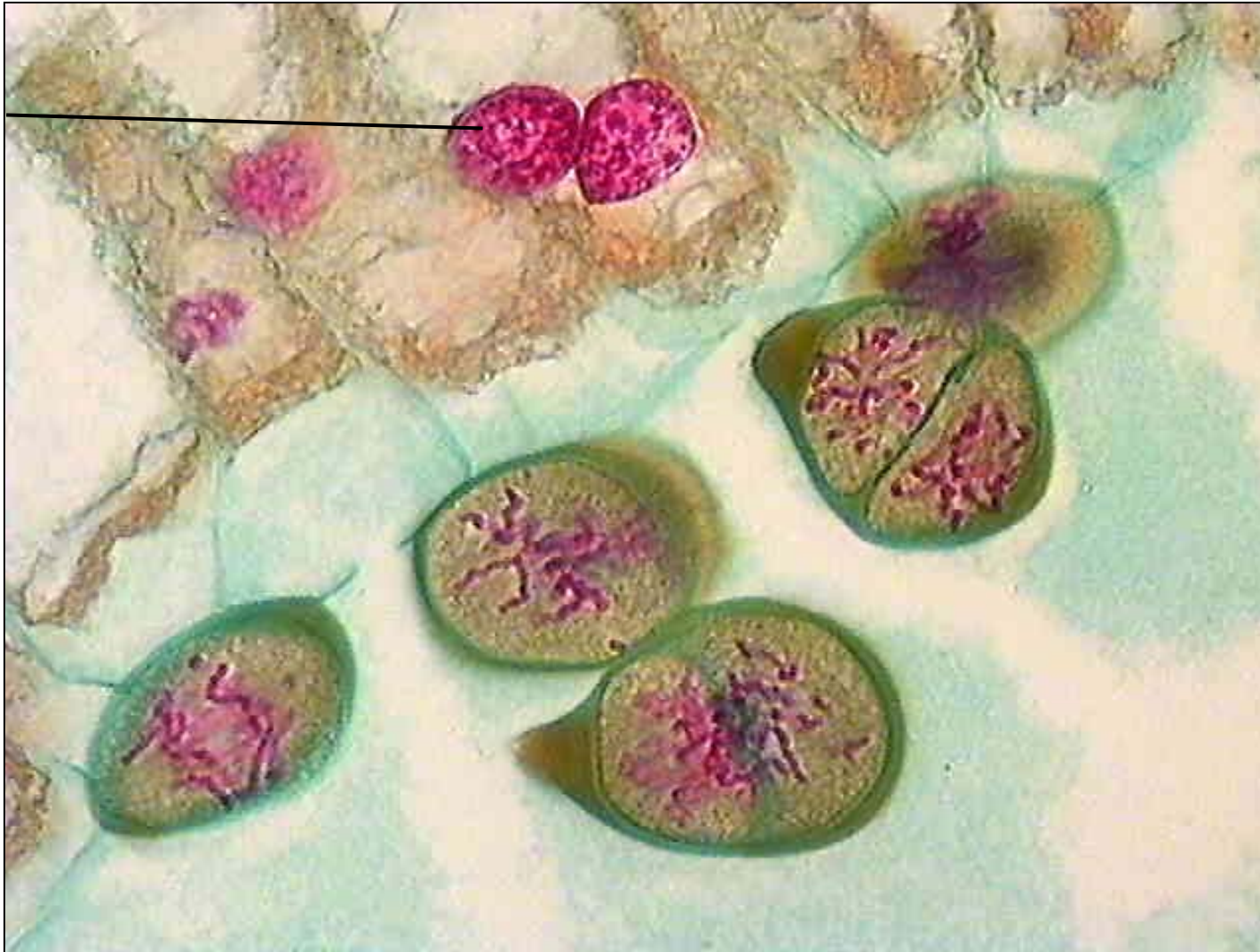
Metafáze II.



separace chromatid během II. meiotického dělení

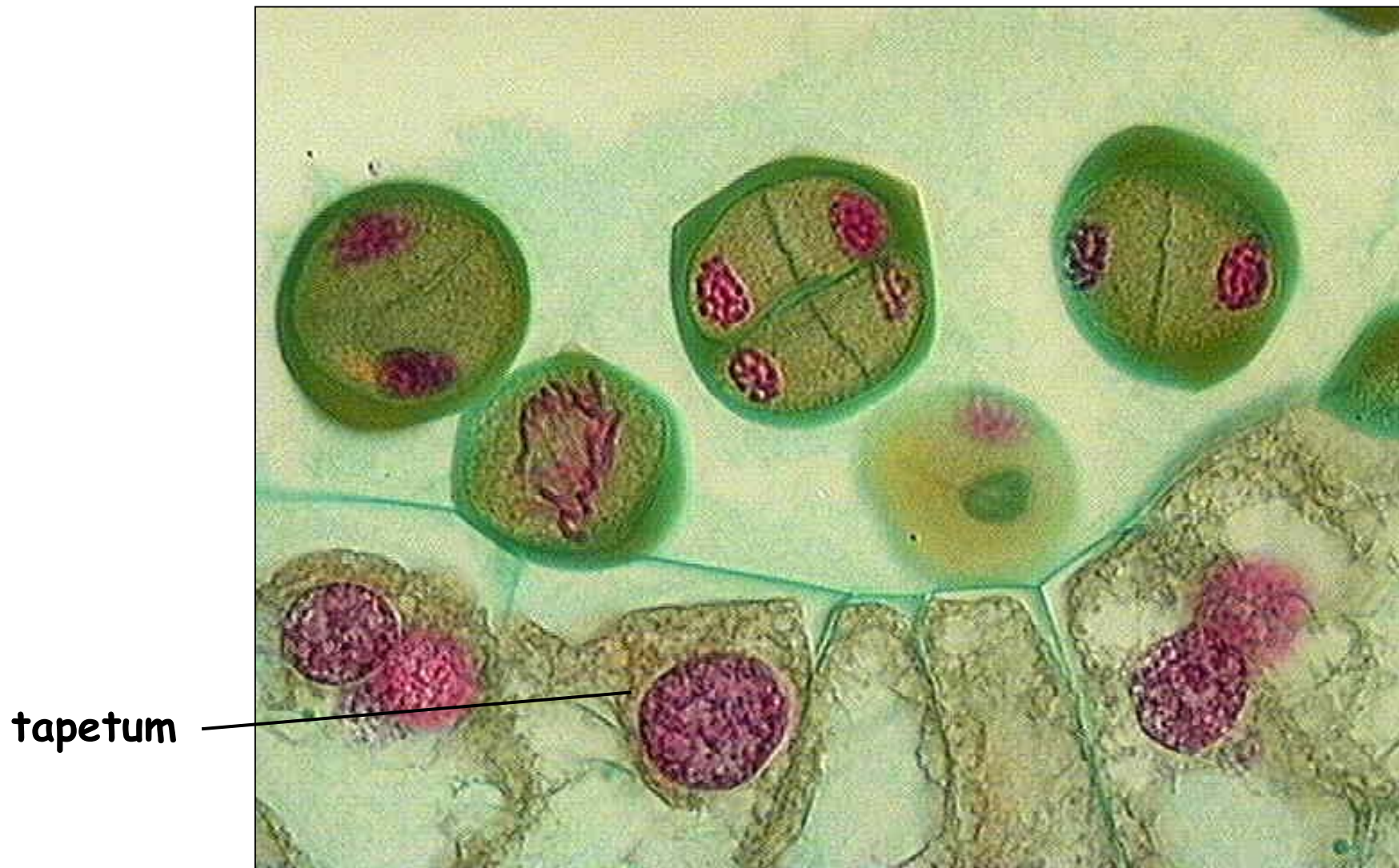
Metafáze II.

tapetum



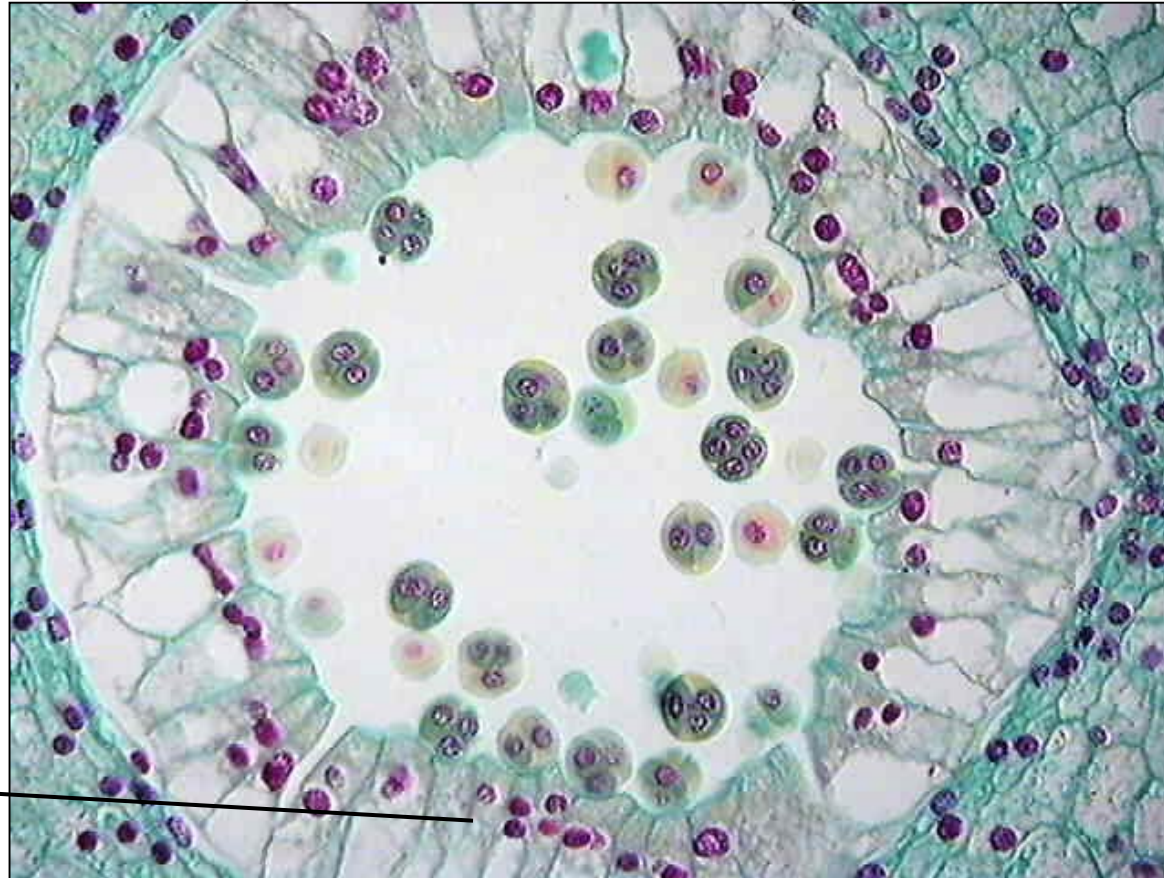
detail

Telofáze II.



Cytokineze tetrád. Separace buněk začíná brzy od stěny mikrosporocytu.

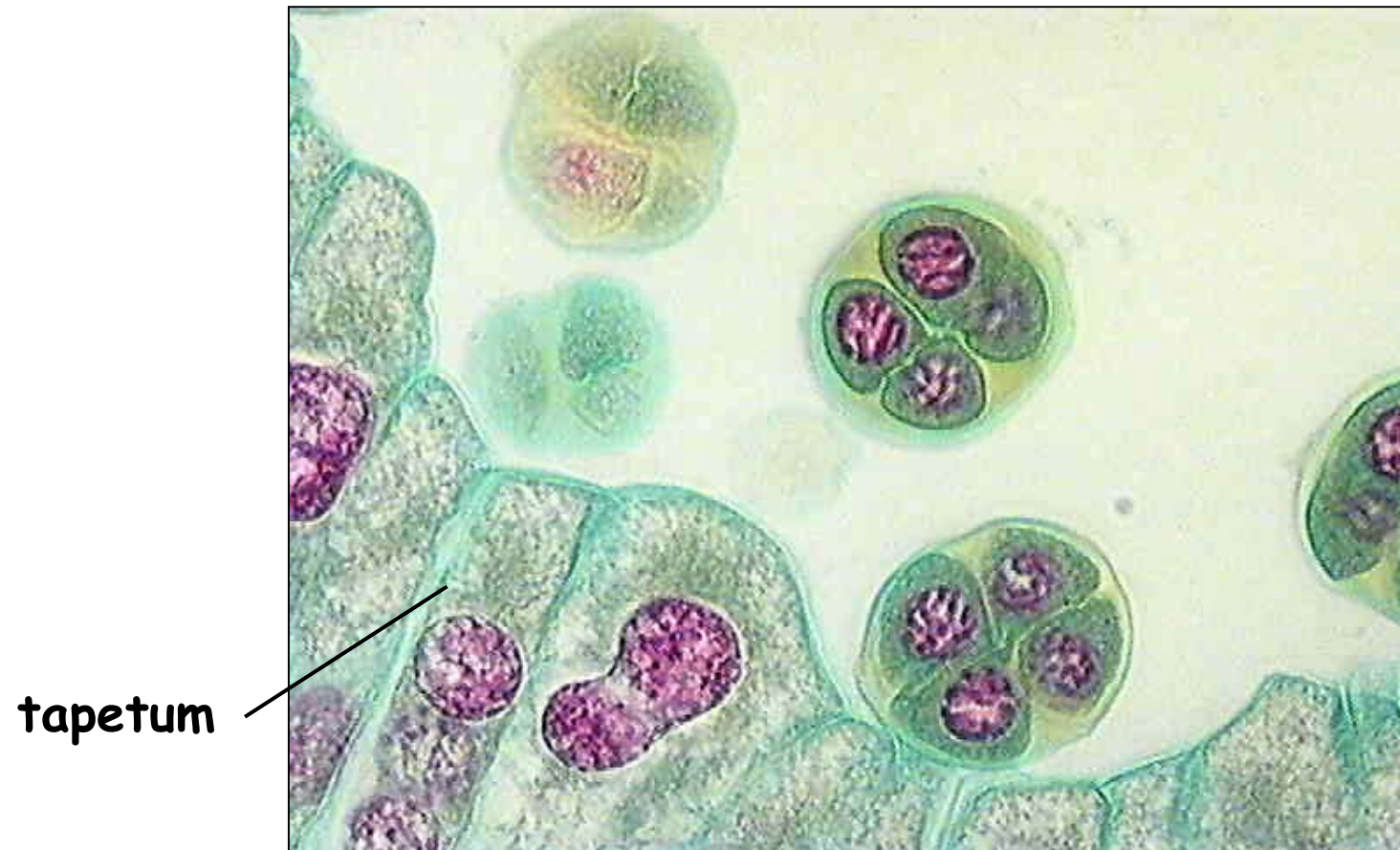
Tetrády v "callose special wall"



tapetum

Kalóza tvoří obal **tetrád** uvnitř staré stěny mikrosporocytu. Mikrospory se oddělují od stěny mikrosporocytu, zakulacují se a tvoří **primexinu** = prekursoru templátu pro pozdější ukládání **exiny**.

Tetrády v "callose special wall"



Kalóza tvoří obal **tetrád** uvnitř staré stěny mikrosporocytu. Mikrospory se oddělují od stěny mikrosporocytu, zakulacují se a tvoří **primexinu** = prekursor templátu pro pozdější ukládání **exiny**.

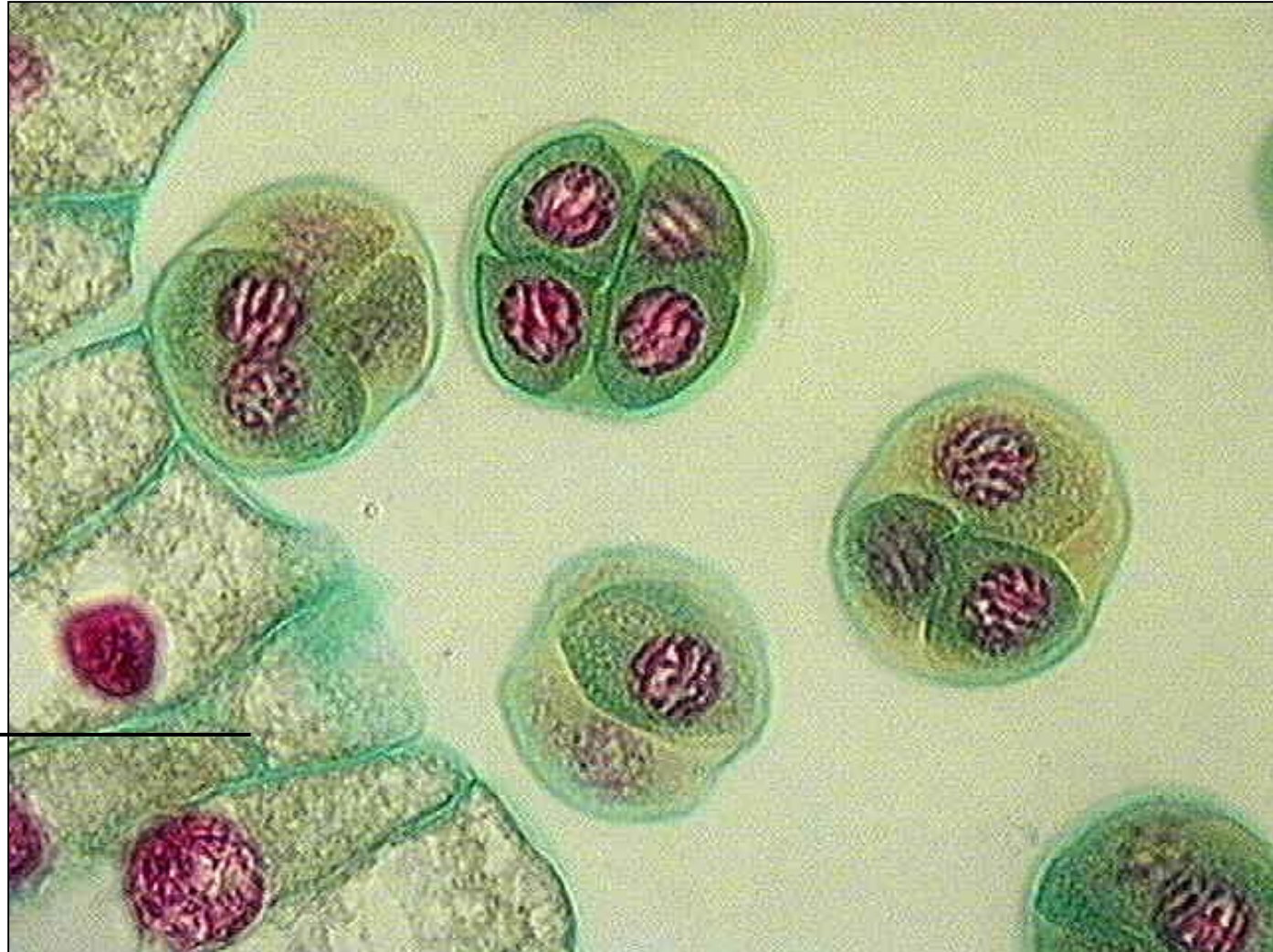
Tetrády mikrospor



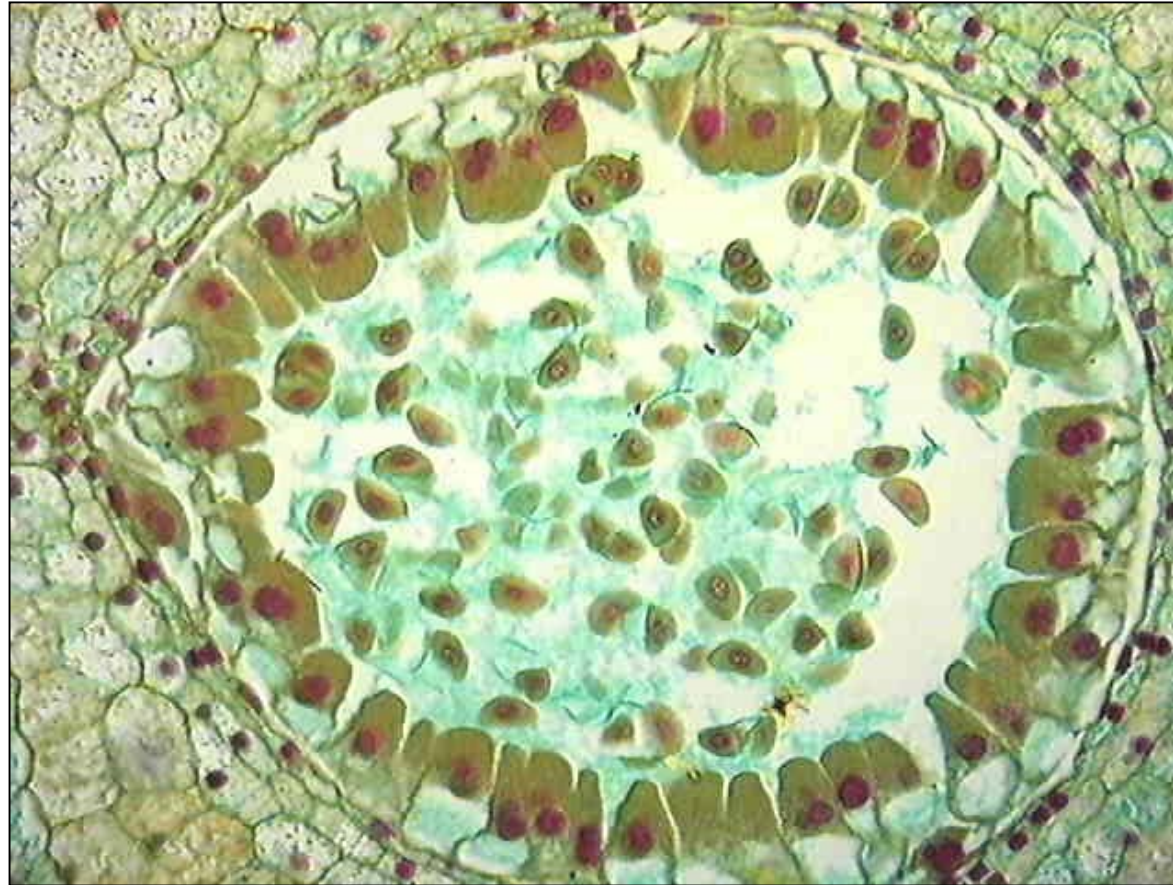
Dokončování tvorby tetrád mikrospor - jejich prodlužování

Tetrády mikrospor

tapetum



Mikrospory uvolněné z tetrad



mikrospory mají již **exinu** (vnější stěna tvořená sporopoleninem), plní se zásobními materiály a zůstávají po krátké období pružné

Mikrospory uvolněné z tetrad

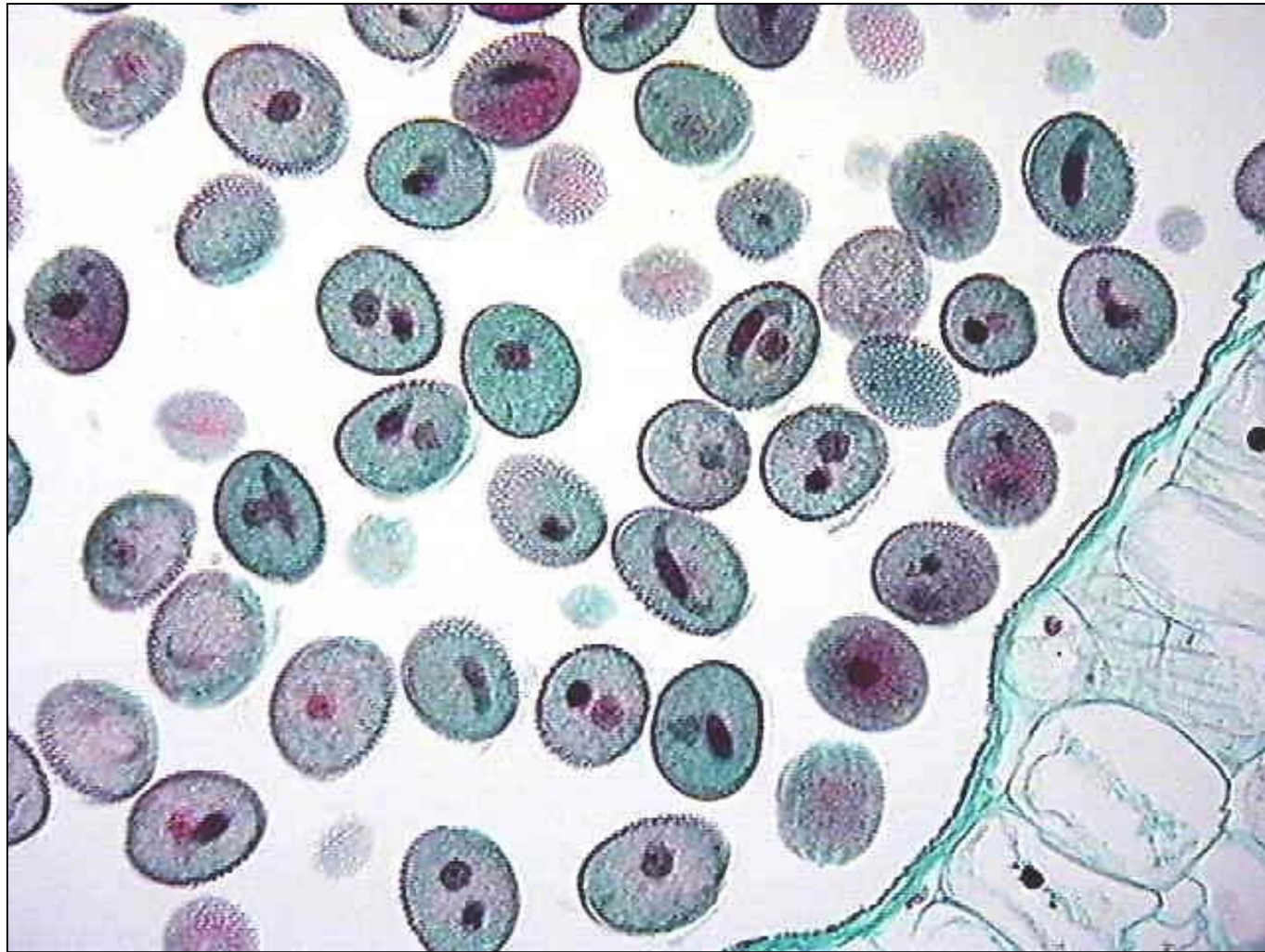


mikrospory mají **exinu** (vnější stěna tvořená sporopoleninem)

Mikrogametogeneze u *Lilium*

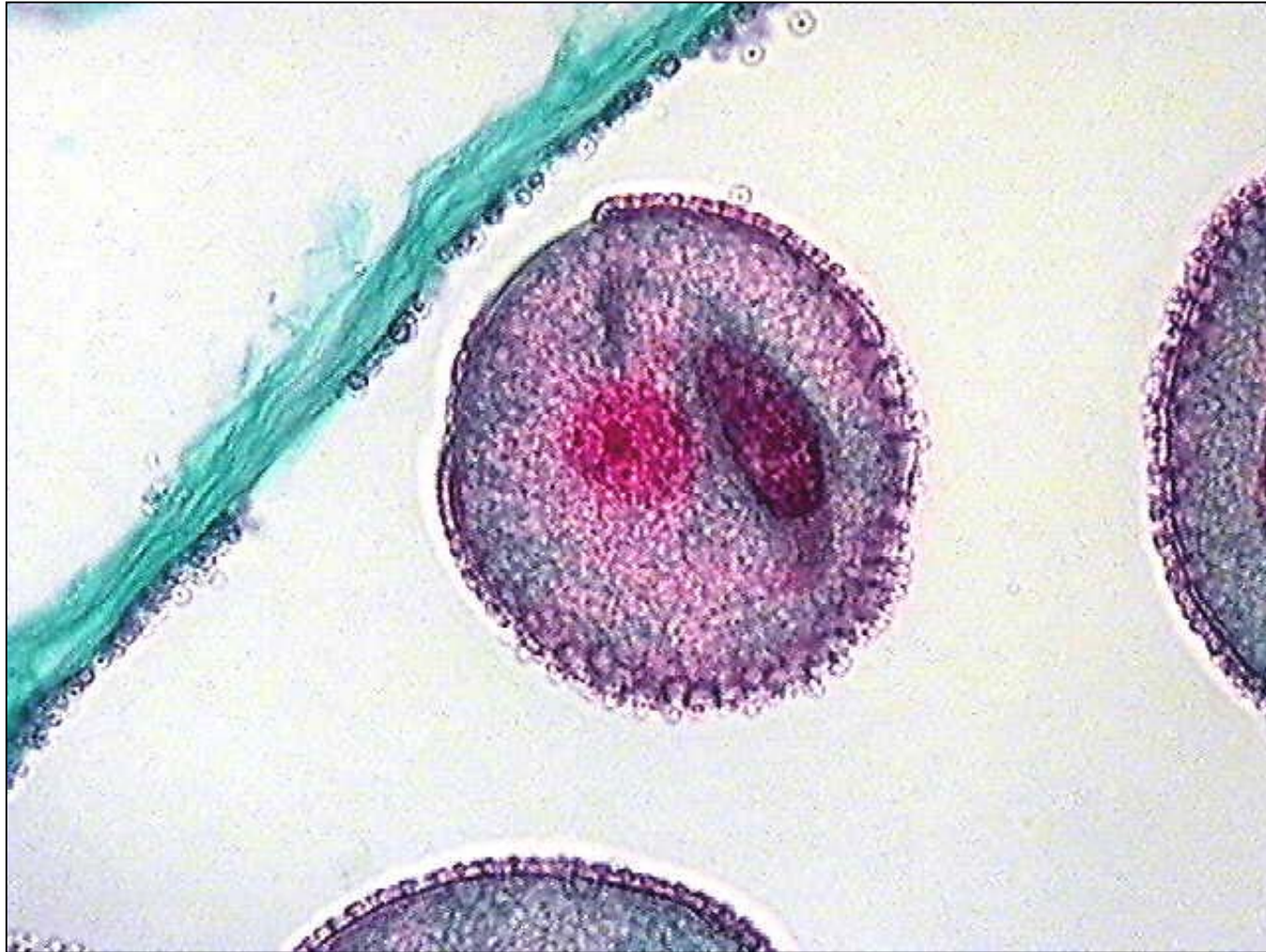
IASPRR

Dvoubuněčný pyl



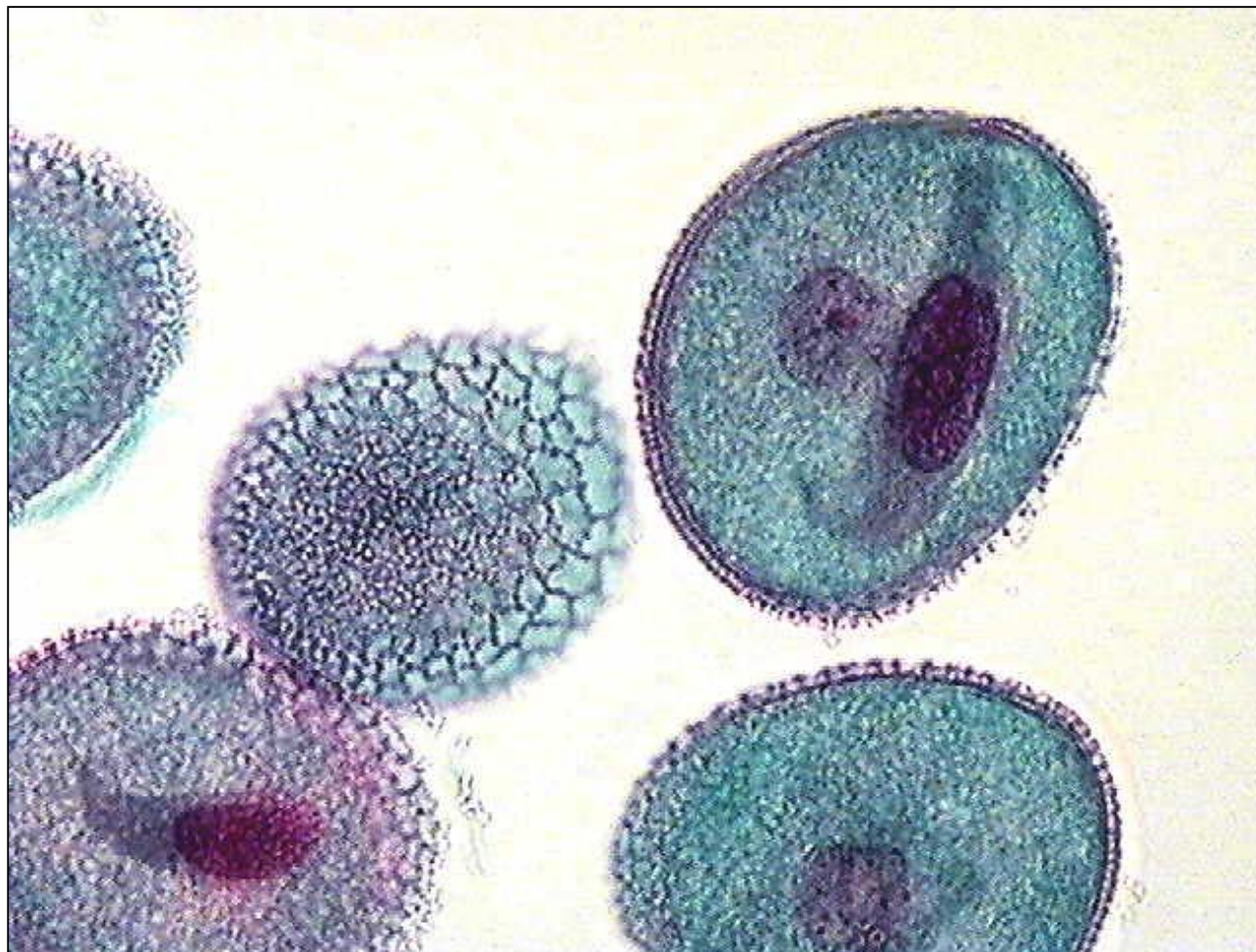
Generativní buňky se tvoří zpočátku v kontaktu s intinou (vnitřní vrstva stěny pylu), později se vnoří do cytoplasmy = "a cell within a cell".

Dvoubuněčný pyl



detail buňky generativní v buňce vegetativní

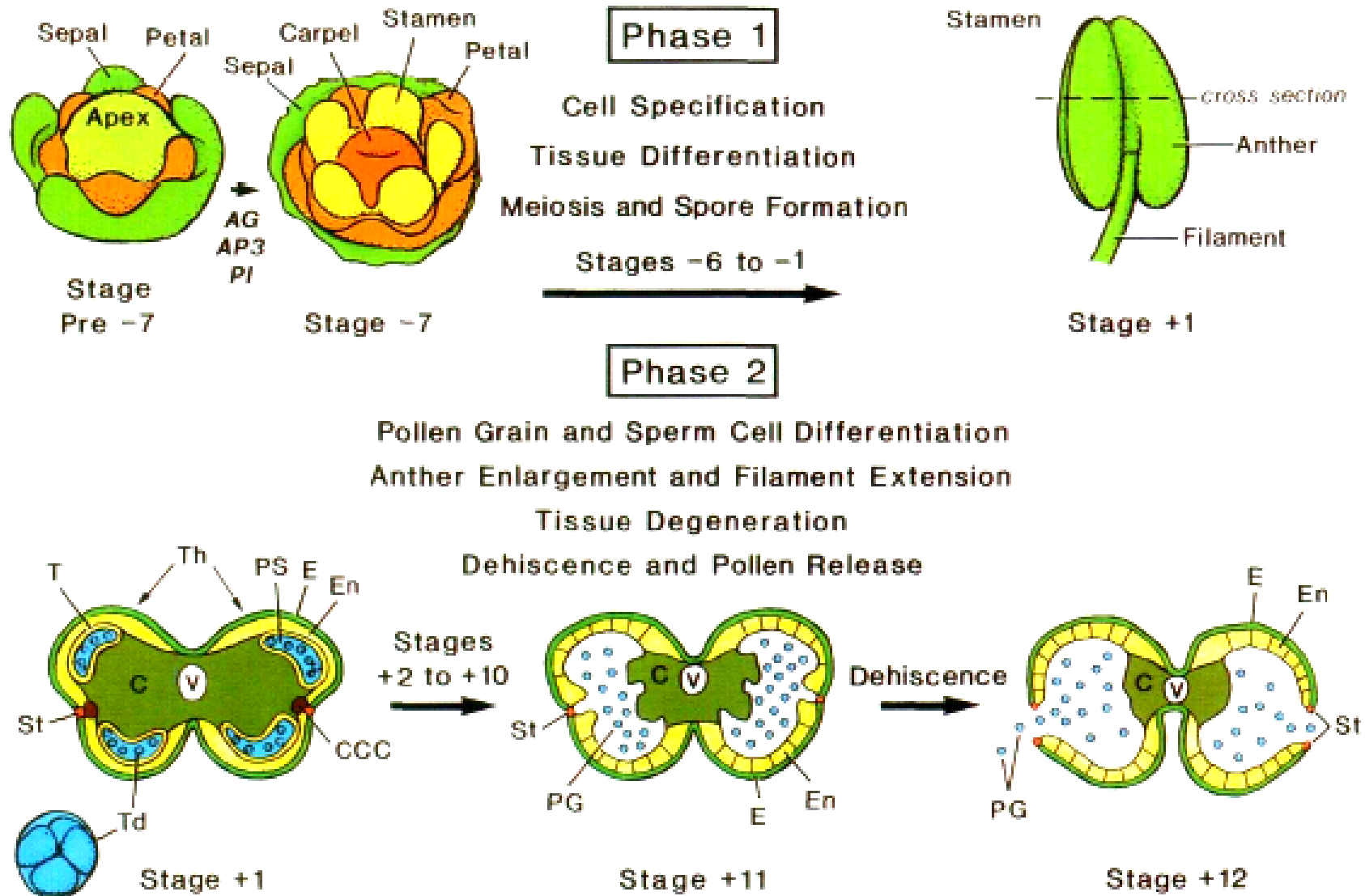
Dvoubuněčný pyl



Tvar generativní buňky často vřetenovitý, buňka je v kontaktu s vegetativním jádrem = "male germ unit" (MGU).
Cytoplazma generativní buňky je hustá - méně vakuol a organel.

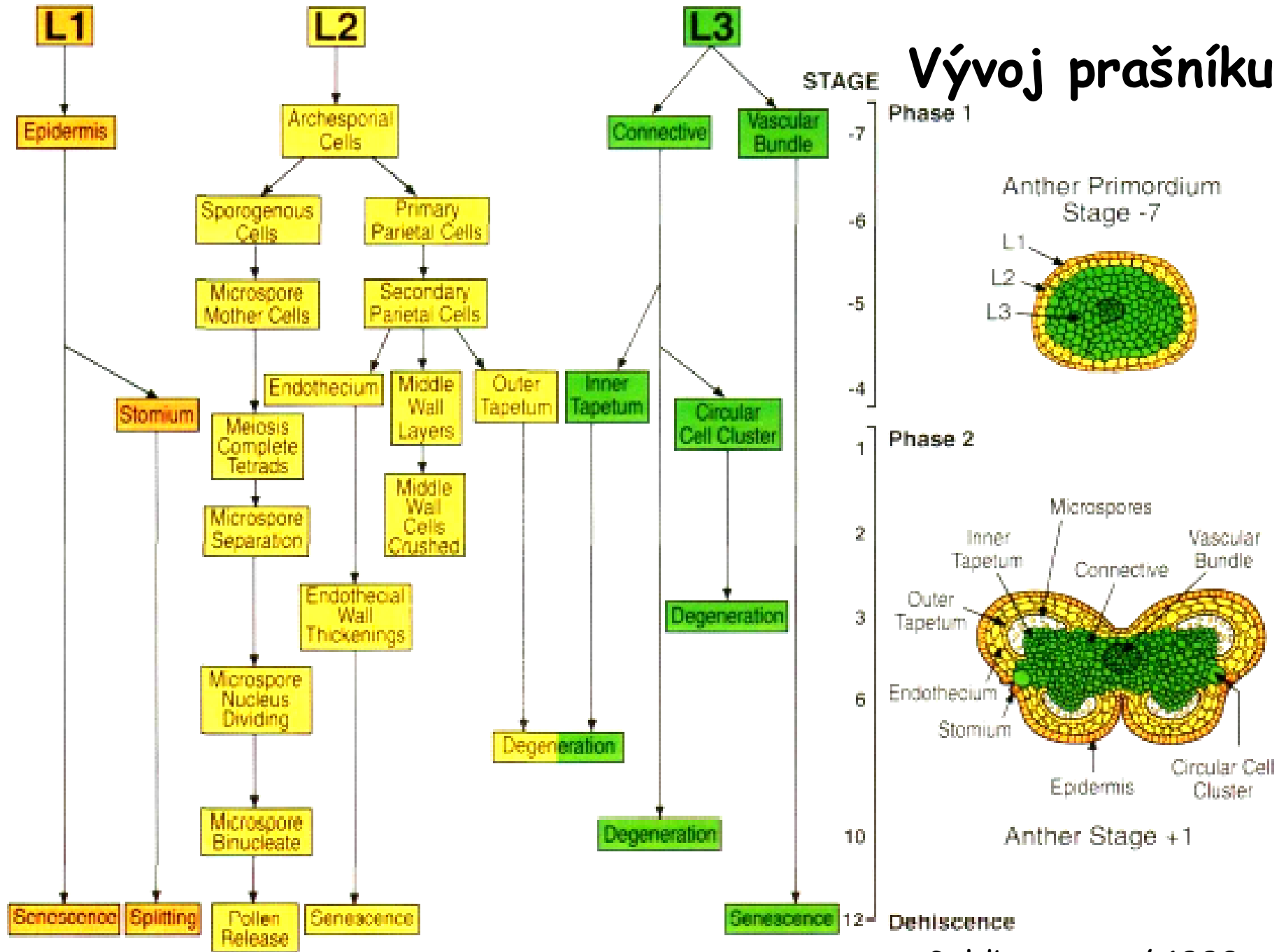
Mikrosporogeneze a mikrogametogeneze u tabáku

Schéma vývoje pylu u tabáku



Goldberg *et al.* 1993

Vývoj prašníku

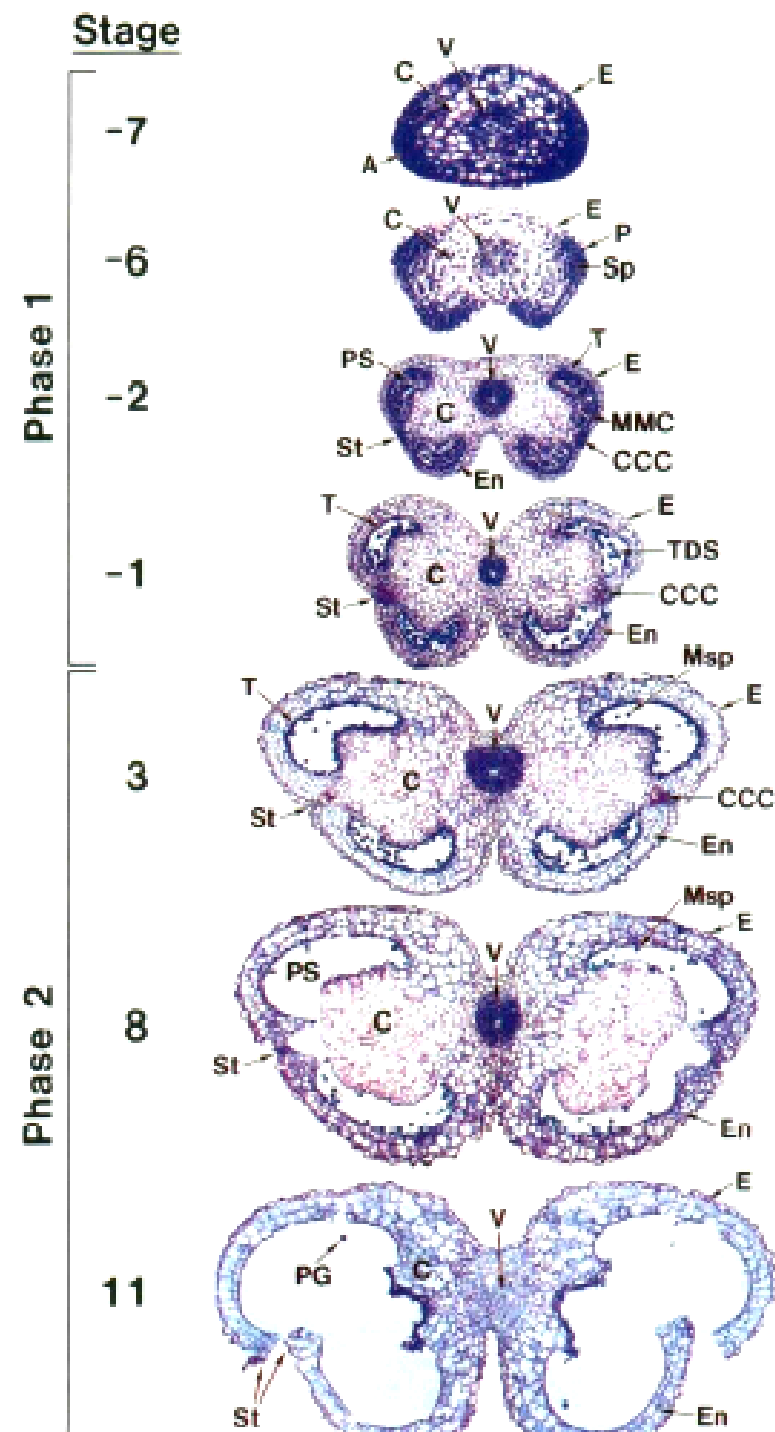


Goldberg et al. 1993

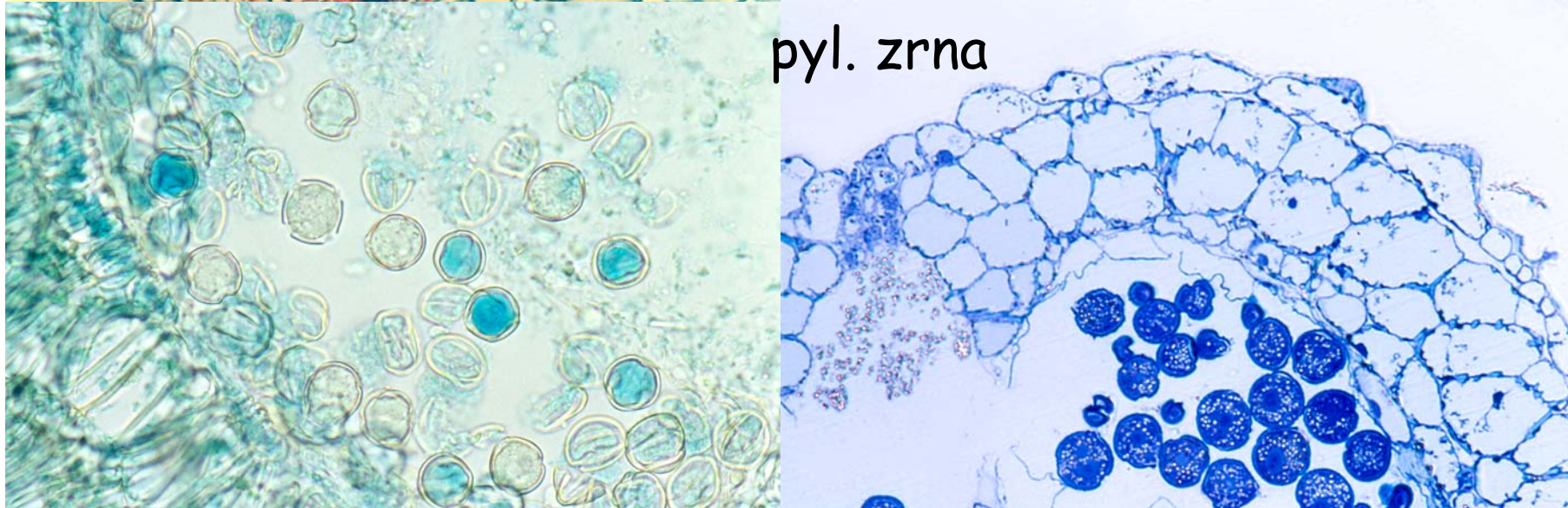
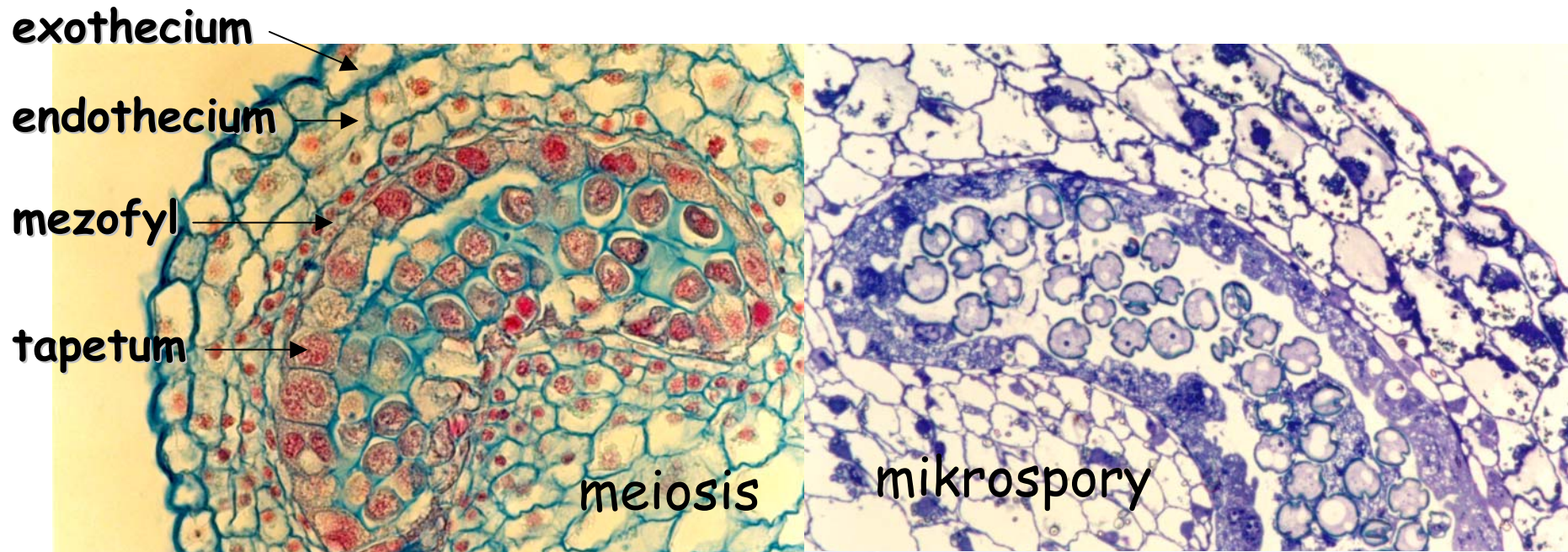
Stadia vývoje prašníku tabáku

Koltunov *et al.* 1990

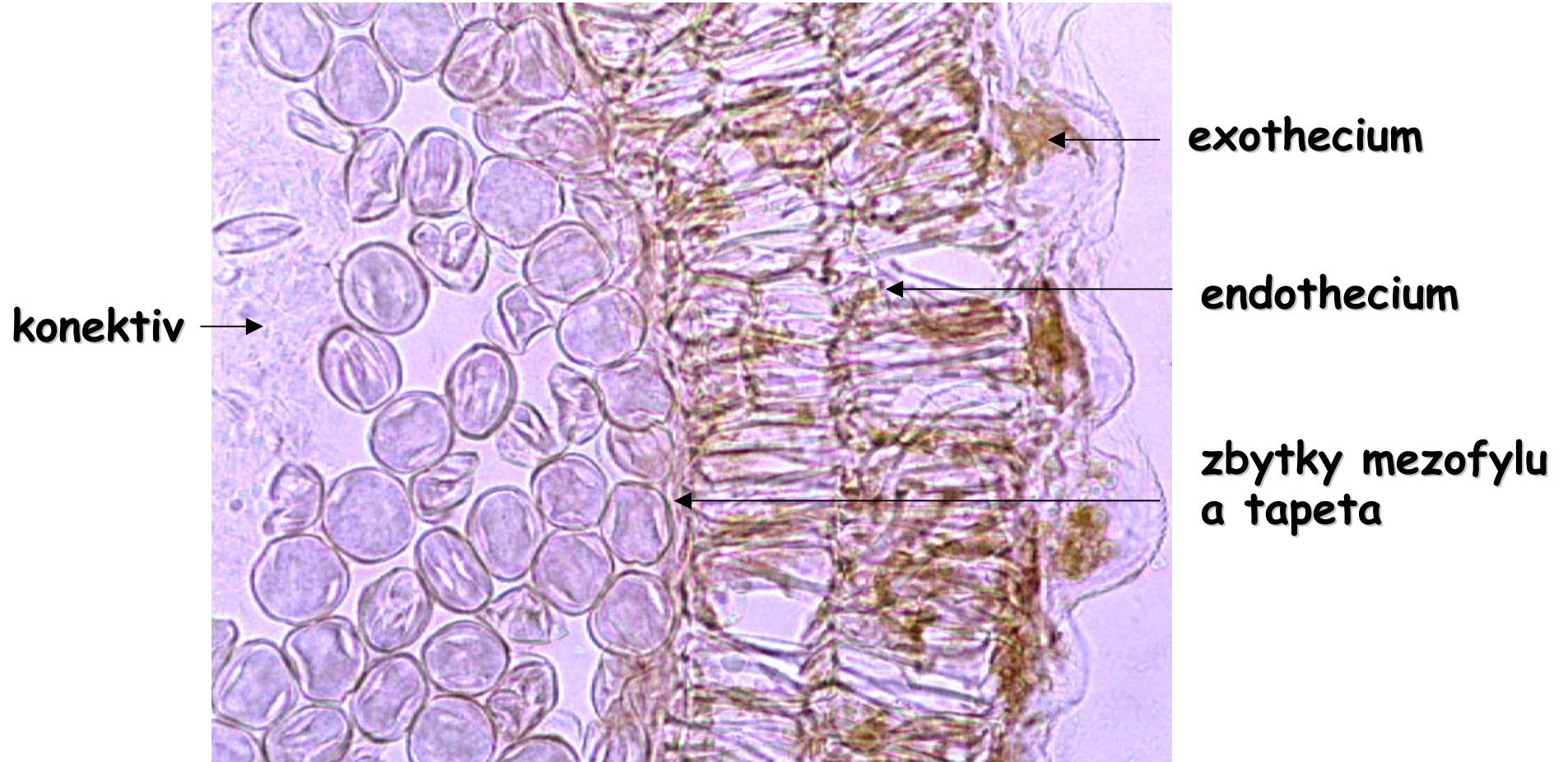
-7	primordia tyčinek	začátek diferenciacce
-6		intenzivní dělení
-2	prašníky pod bliznou	meioza
-1	petaly na úrovni sepalů	tetrády
3	koruna přes kalich	mizí tapetum
8		spojení prašných pouzder
11	koruna zpola otevřená	zralá pyl. zrna
12	otevření květu	otevírání prašníků



Vývoj prašníku tabáku



Nicotiana tabacum L.



kryostatový řez - asi 40 um



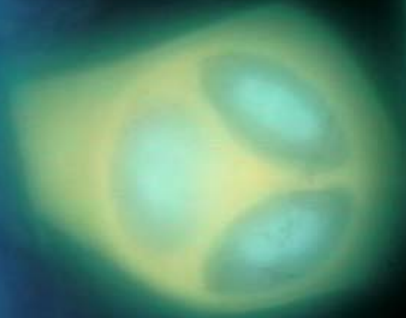
metafáze I.dělení



počátek tvorby tetrád

mikrosporogeneze *Nicotiana tabacum* L.

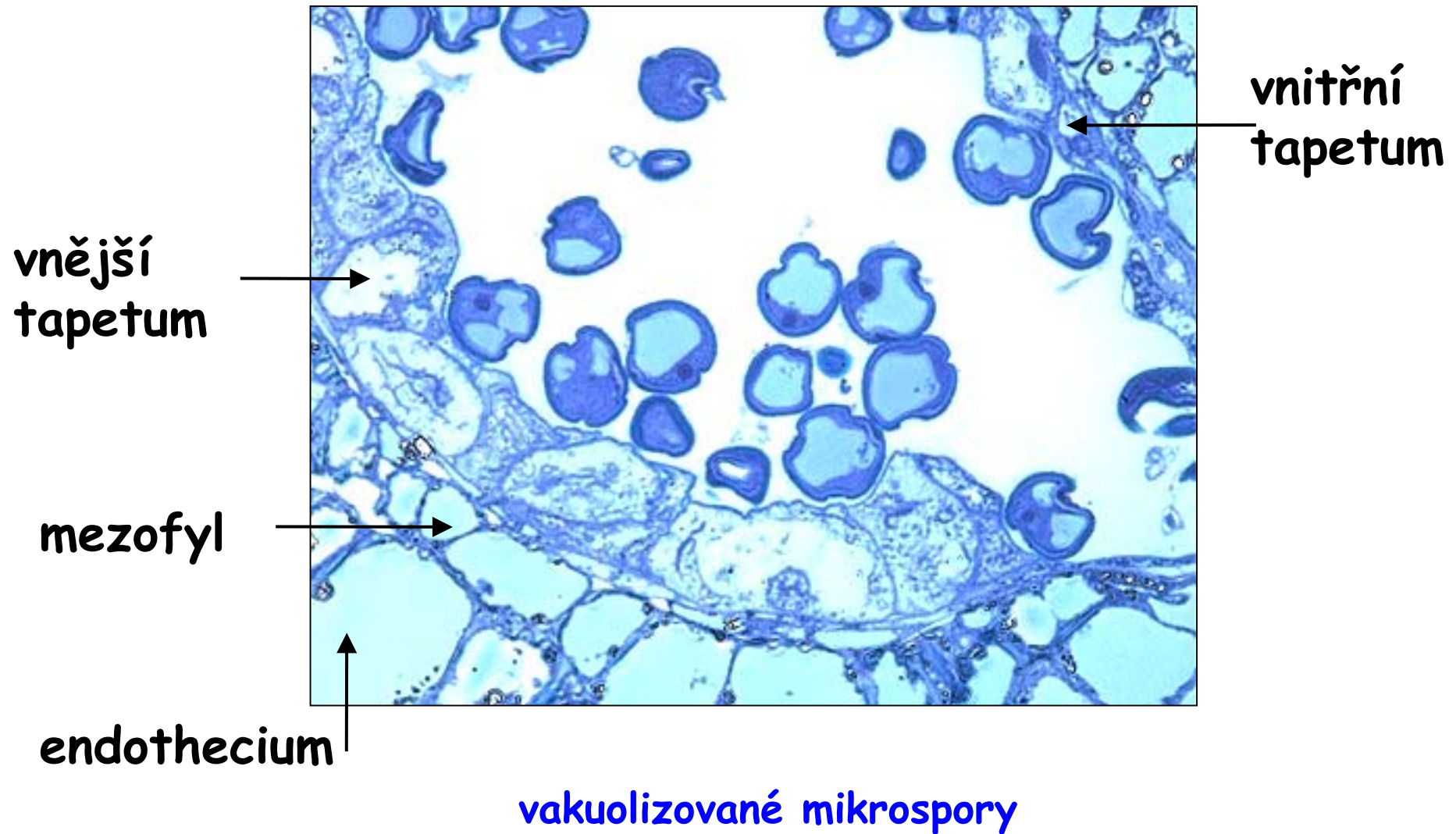
tetrády



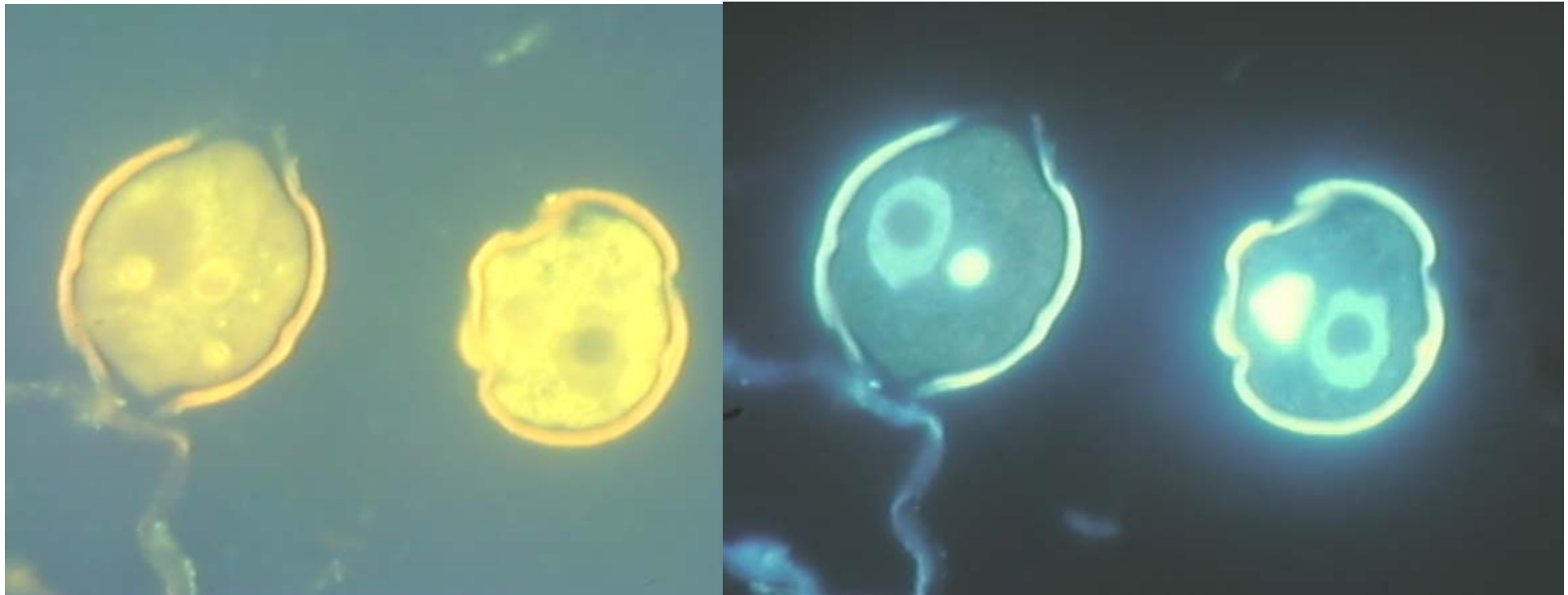
mikrospora se zbytky kalózy



Nicotiana tabacum L. SR1



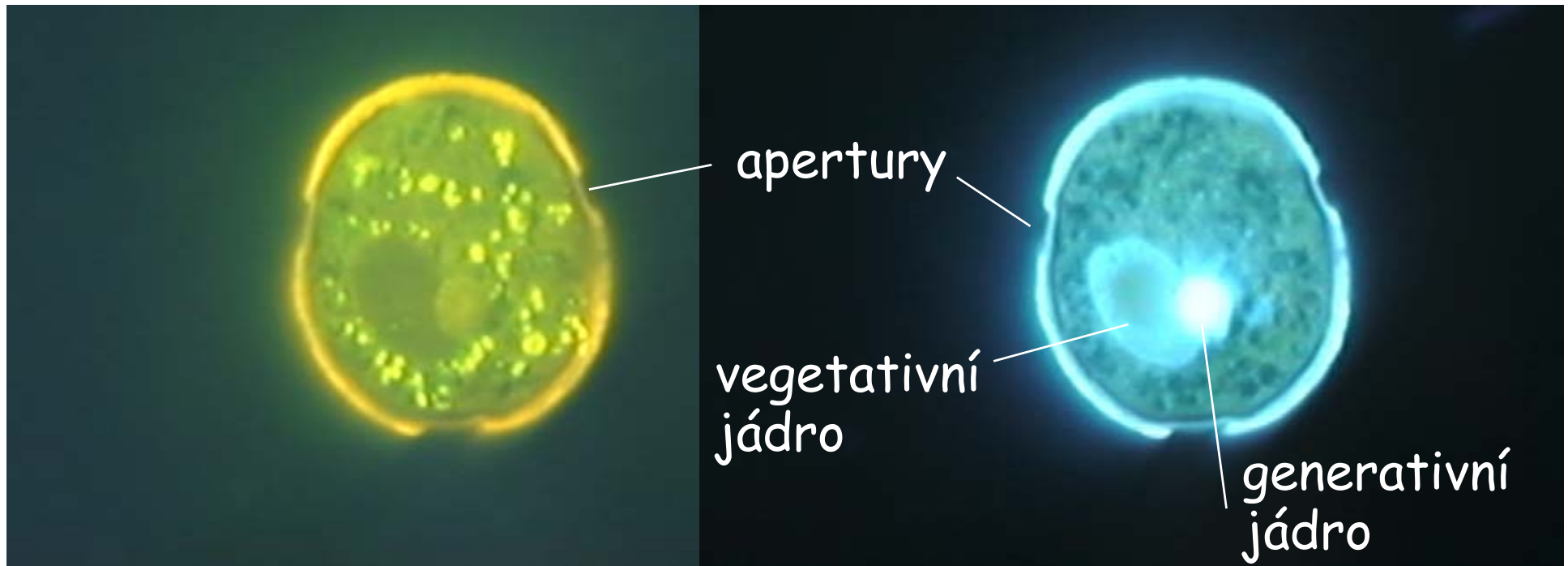
Pylová zrna *Nicotiana tabacum* L.



PEG sections

DAPI

Pylová zrna *Nicotiana tabacum* L.



autofluorescence exiny a plastidů

PEG sections

DAPI, UV

fluorescence DNA,
autofluorescence exiny

Nicotiana tabacum L.

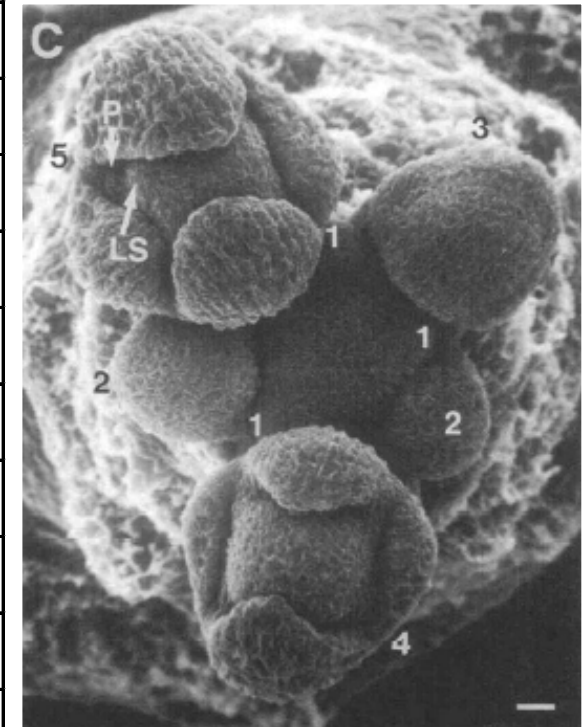


desikovaný pyl
3 (- 4) apertury

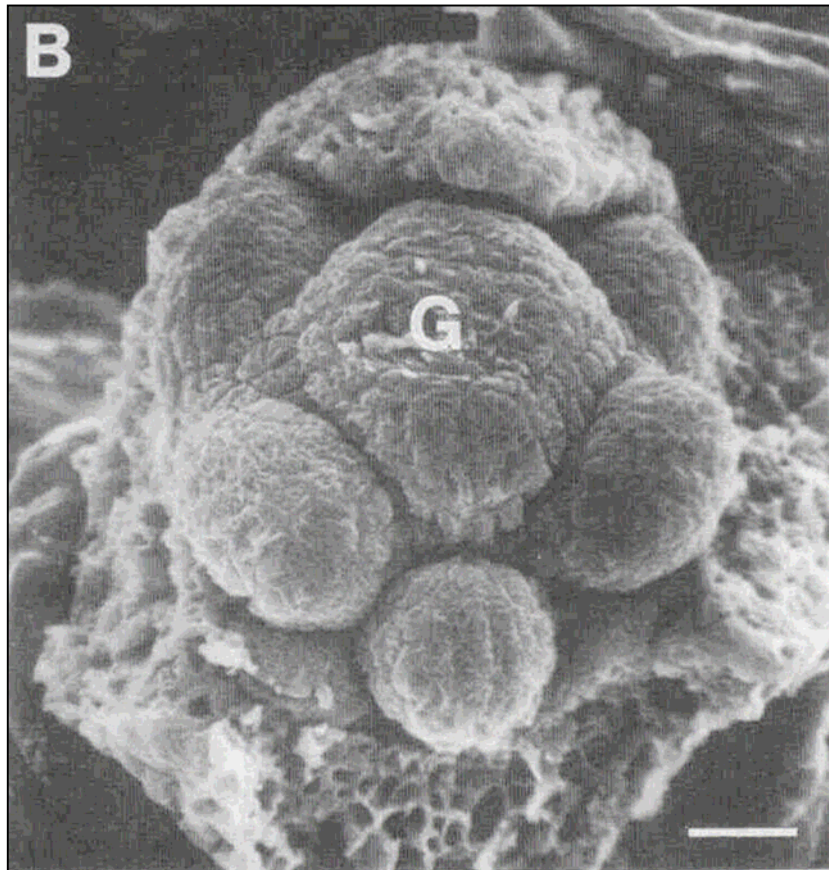
SEM, vysušeno metodou
„critical point dry“, pozlaceno

Přehled stadií vývoje květu u *A. thaliana* (Smyth *et al.* 1990)

Stadium	Charakteristický znak
1	Vznik květního základu
2	Tvorba květního primordia
3	Formace primordií sepalů
4	Sepaly překrývají meristem
5	Vznik primordií petalů a tyčinek
6	Sepaly uzavírají pupen
7	Zakládání nitky u primordií dlouhých tyčinek
8	Diferenciace prašných pouzder
9	Primordia petalů na bázi užší, rychlý růst nahoře
10	Petaly na úrovni krátkých tyčinek
11	Diferenciace bliznových papil
12	Petaly na úrovni dlouhých tyčinek

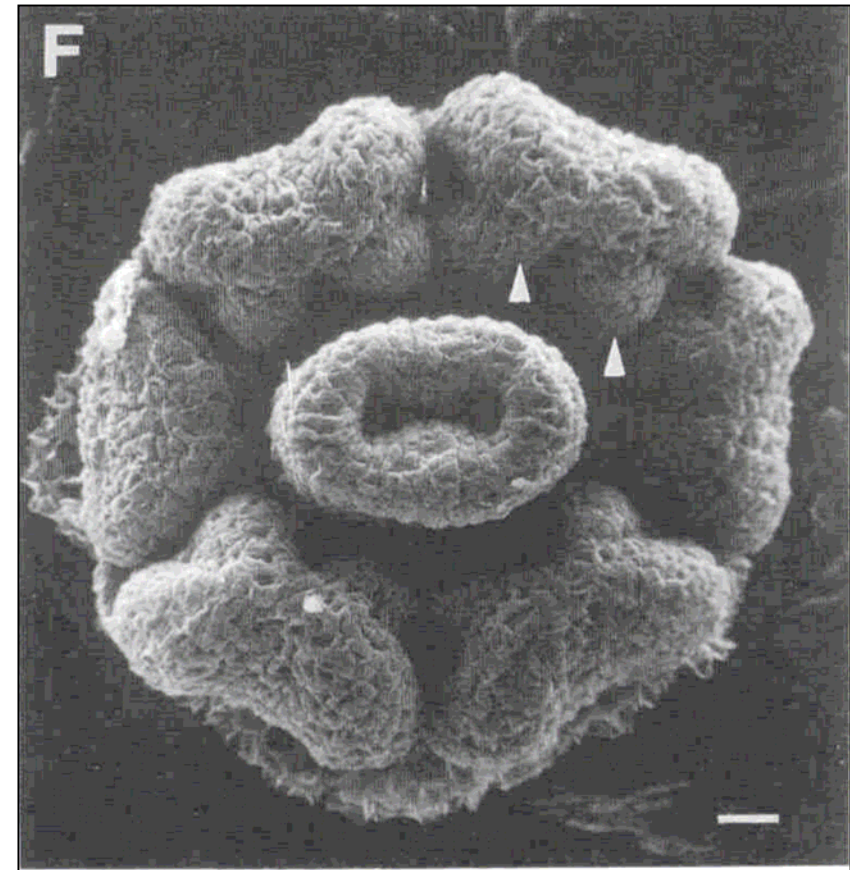


Vývoj květu u *A. thaliana* (Smyth *et al.* 1990)



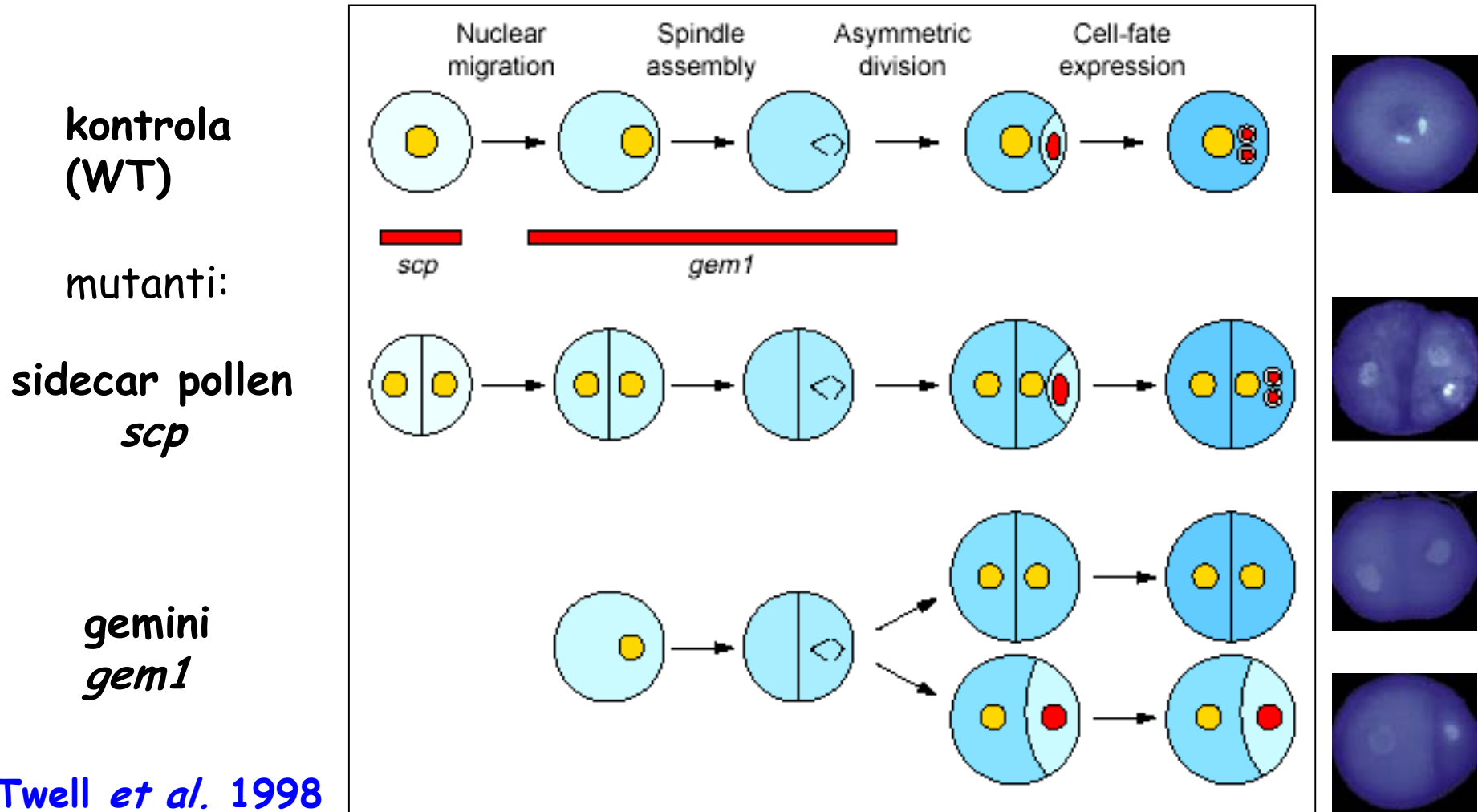
5. Vznik primordií petalů a tyčinek

The Plant Cell, 2, 755-767, 1990



8. Diferenciace prašných pouzder u dlouhých tyčinek

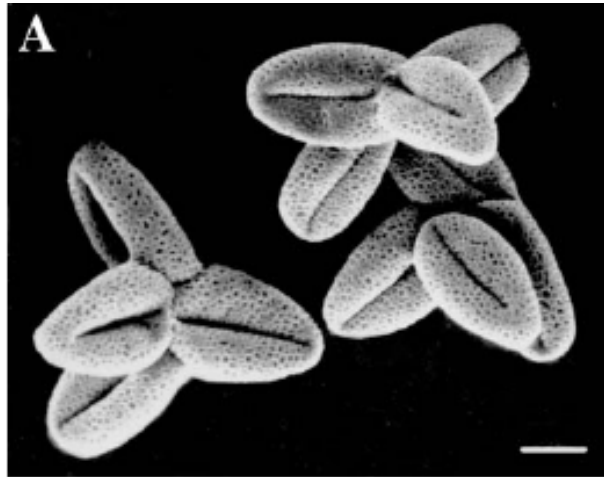
Polarita mikrospor a vývoj pylu *Arabidopsis*



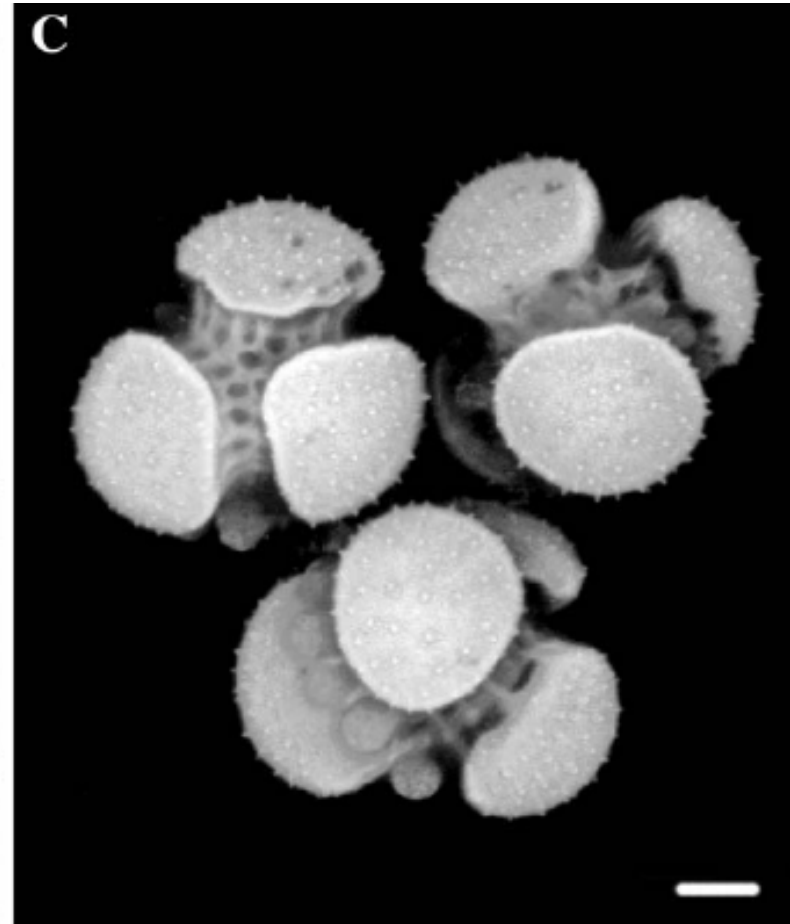
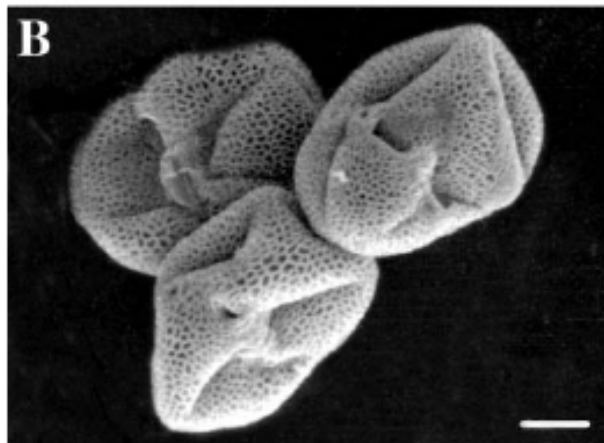
Twell *et al.* 1998

Tetrády pylu

Arabidopsis
mutant
quartet



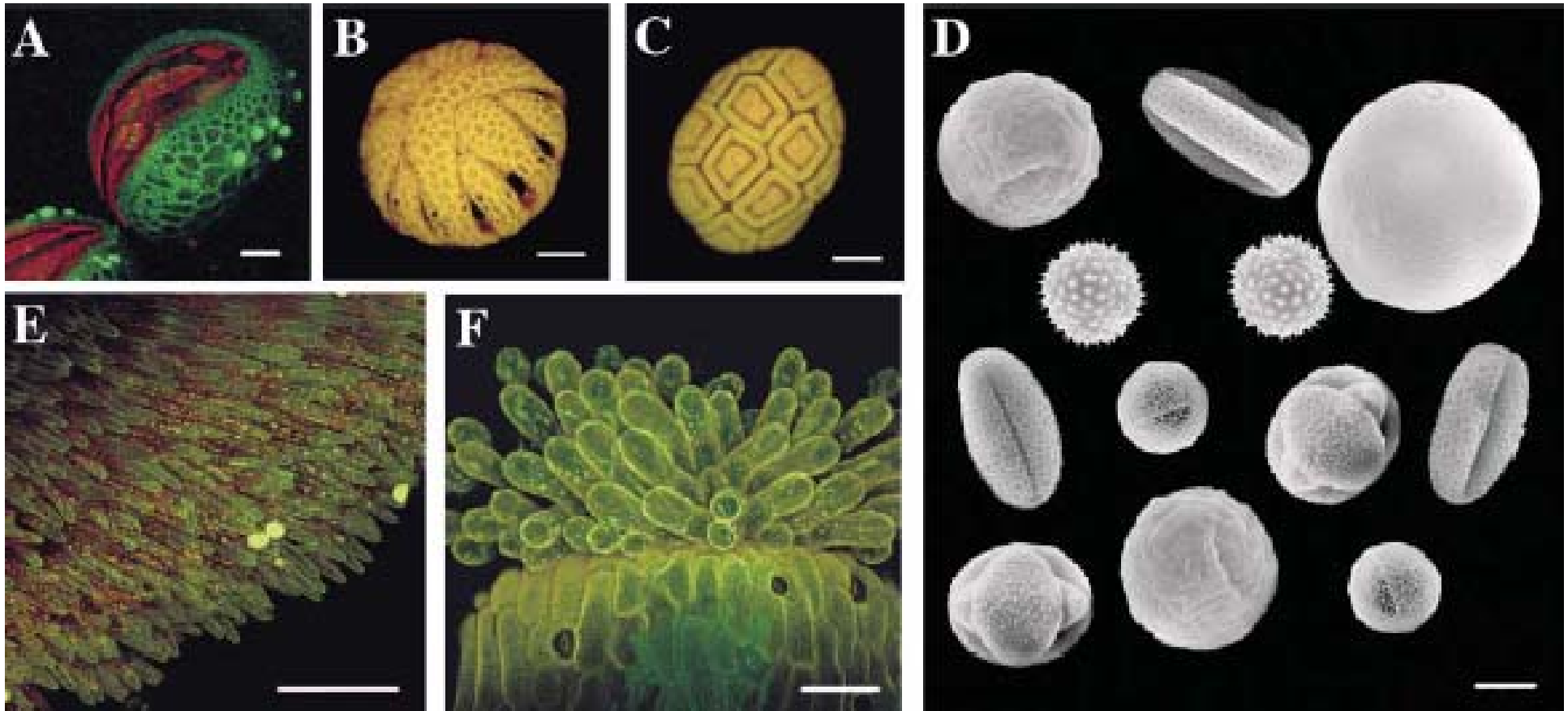
Arabidopsis
mutant
tes/stud
abnormální
tvar
apertur



přirozené tetrády pylu
Drosera binata

Edlund *et al.* 2004

Variabilita morfologie pylu



Torenia

Arabidopsis

Edlund *et al.* 2004

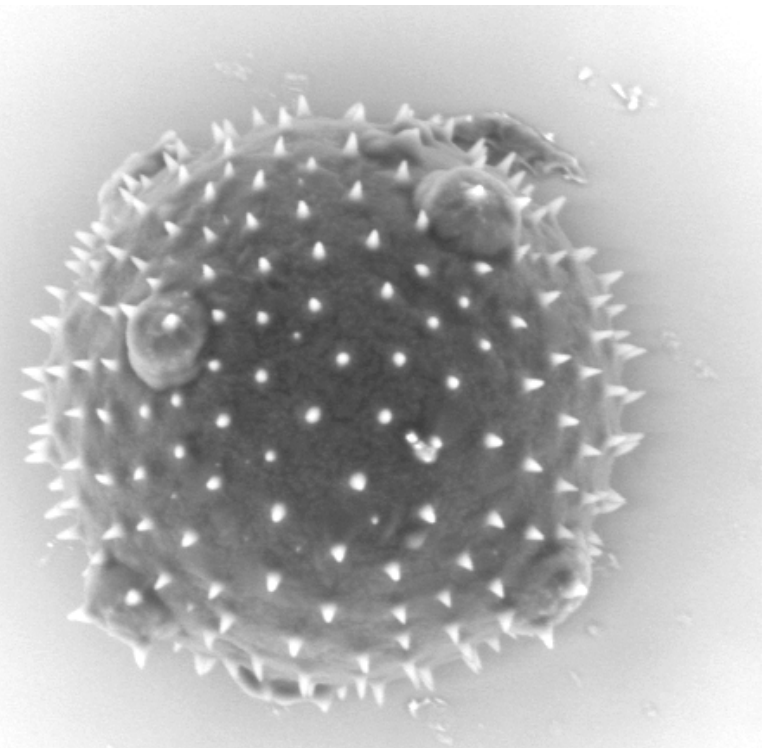
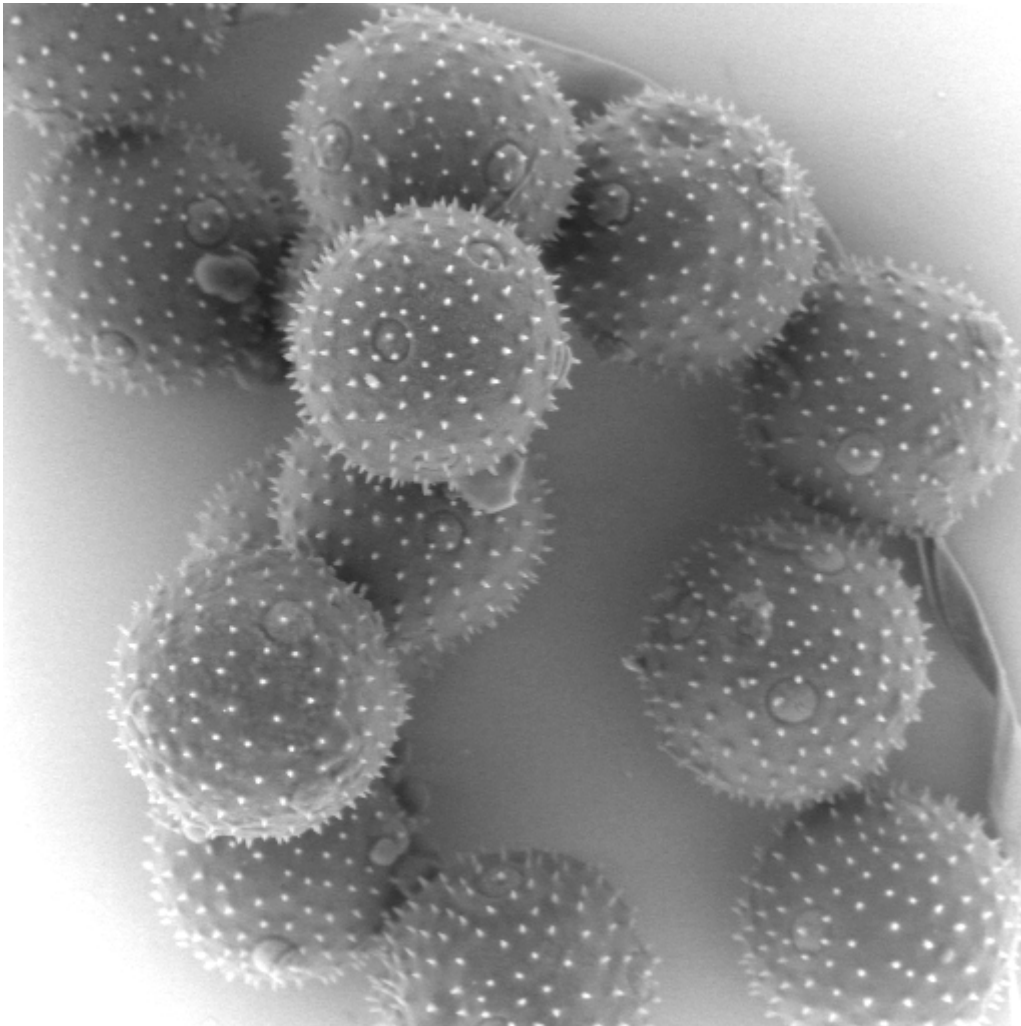
Variabilita velikosti pylových zrn

Taxon	velikost / μm /
<i>Myosotis</i>	2 - 5
anemofilní druhy	asi 60
<i>Malva</i>	150 až 250
<i>Cucurbita</i>	až 250
<i>Zostera marina</i>	2000

variabilita i v rámci jedné rostliny, častá i polymorfie

Stanley *et* Linskens 1974, Unar 1992

Cucurbita pepo L.
AQUASEM



mnoho apertur =
polysyfonické klíčení
pylu

Diferenciální barvení pylu

Alexander 1969

- 95% ethanol 10 ml
- malachitová zeleň 10 mg (1 ml 1% rozt. v 95% eth.)
- destilovaná voda 50 ml
- glycerol 25 ml
- fenol 5g
- chloralhydrát 5g
- kyselý fuchsin 50 mg (5 ml 1% vodný roztok)
- oranž G 5 mg (0,5 ml 1% vodný roztok)
- ledová kys. octová 1 - 4 ml