

Oplození

1. progamogenetická fáze:

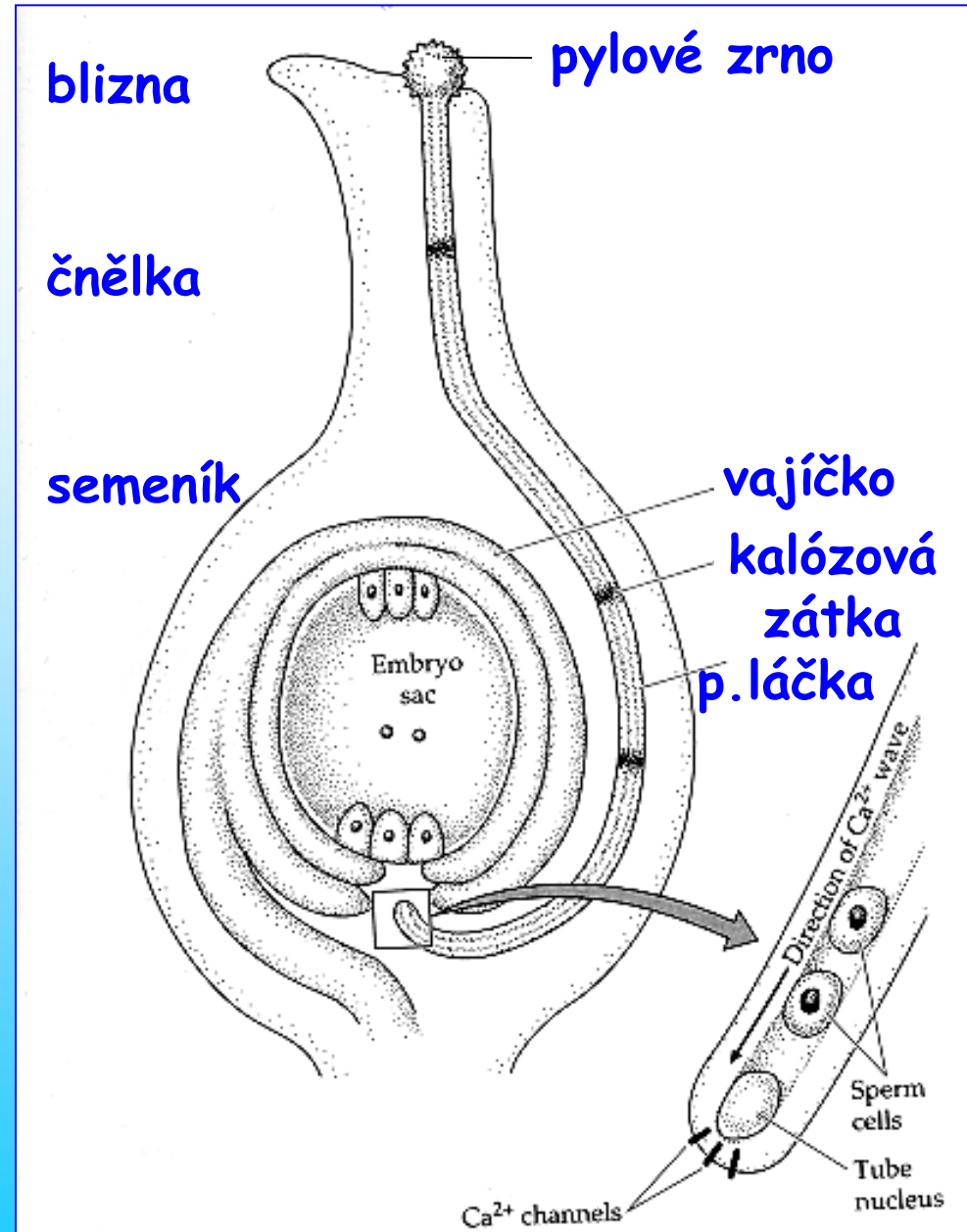
- přenos pylu z prašníku na bliznu (opylení s.s.)
- vyklíčení pylového zrna na blizně
- růst pylové láčky k vajíčku
- průnik pylové láčky do zárodečného vaku

2. gamogenetická fáze: syngamie a konfluace oplození s.s.)

3. postgamogenetická fáze

Schéma gynecea s vajíčkem

pestík =
soubor plodolistů =
gynaecium



Dehiscence (otvírání) prašníků

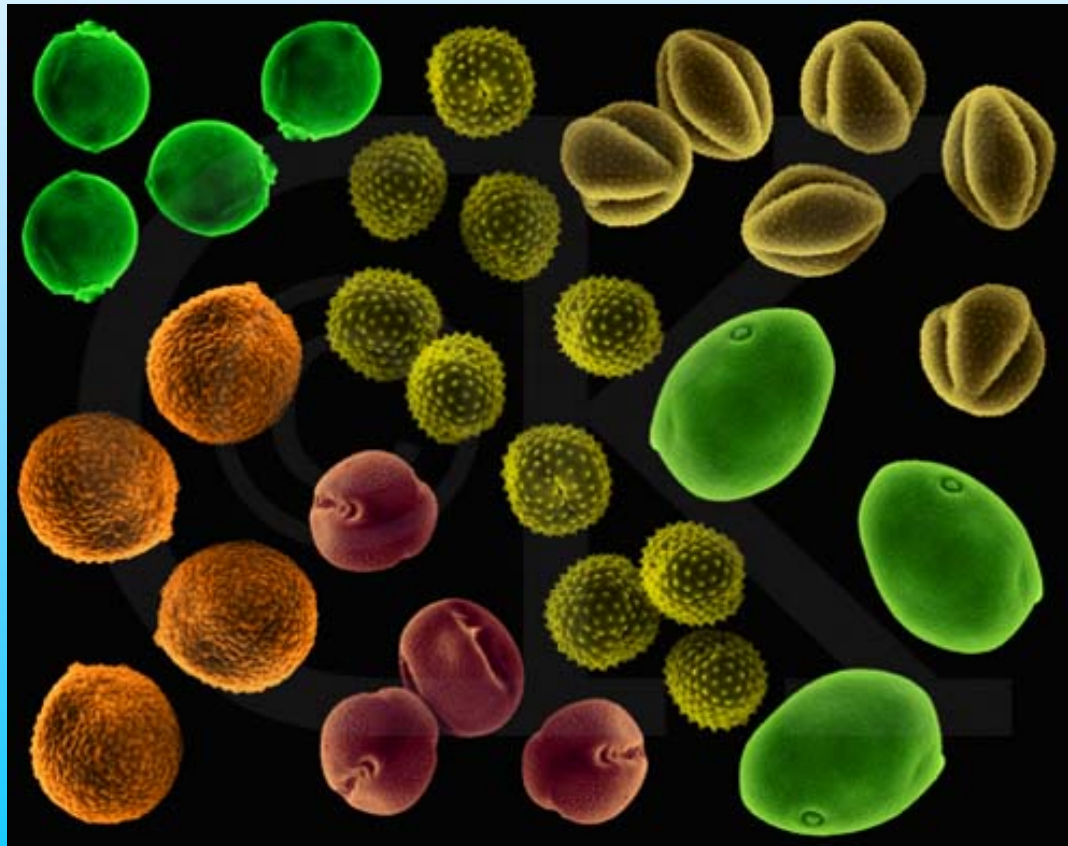
- koordinována s dozráváním pylu
- zahrnuje program postupné destrukce buněk
- je zakončena prasknutím stomia
- kontrola JA

fáze dehiscence:

- degenerace mezofylu a tapeta
- expanze buněk endothecia - fibrosní stěna
- degenerace septa mezi prašnými pouzdry
- prasknutí stomia
- nerovnoměrné sesychání buněk endothecia

Zralé pylové zrno při dehiscenci

- metabolicky v klidu
- silně desikované (obsah vody jen 15 - 35%)



Přenos pylu na bliznu = opylení

podle způsobu přenosu pylu

větrosnubnost x hmyzosnubnost

anemofilie

entomofylie

zoofilie

hydrofilie

samosprašnost x cizosprašnost

autogamie x allogamie

zvýšení možnosti autogamie: kleistogamie (Oxalis, Viola)

snížení možnosti autogamie: autoinkompatibilita:

heteromorfní - heterostylie

dichogamie = protandrie x proterogynie

Místa interakcí v pestíku *Haworthia*

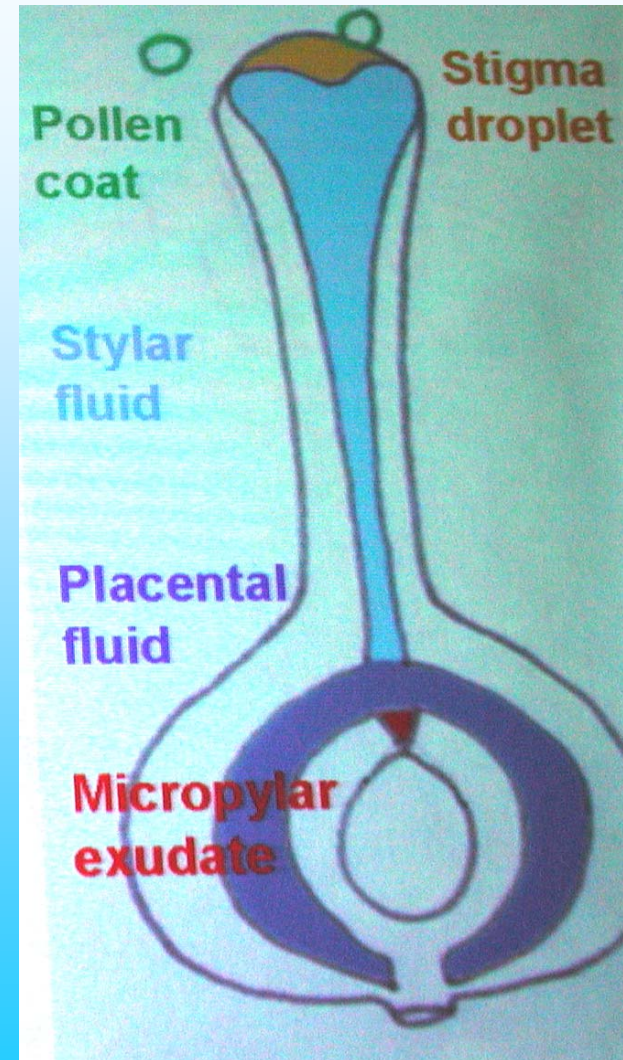
Povrch pylového zrna:
pylový tmel
proteiny ve sporodermě

Bliznový exudát

Tekutina kanálu čnělky

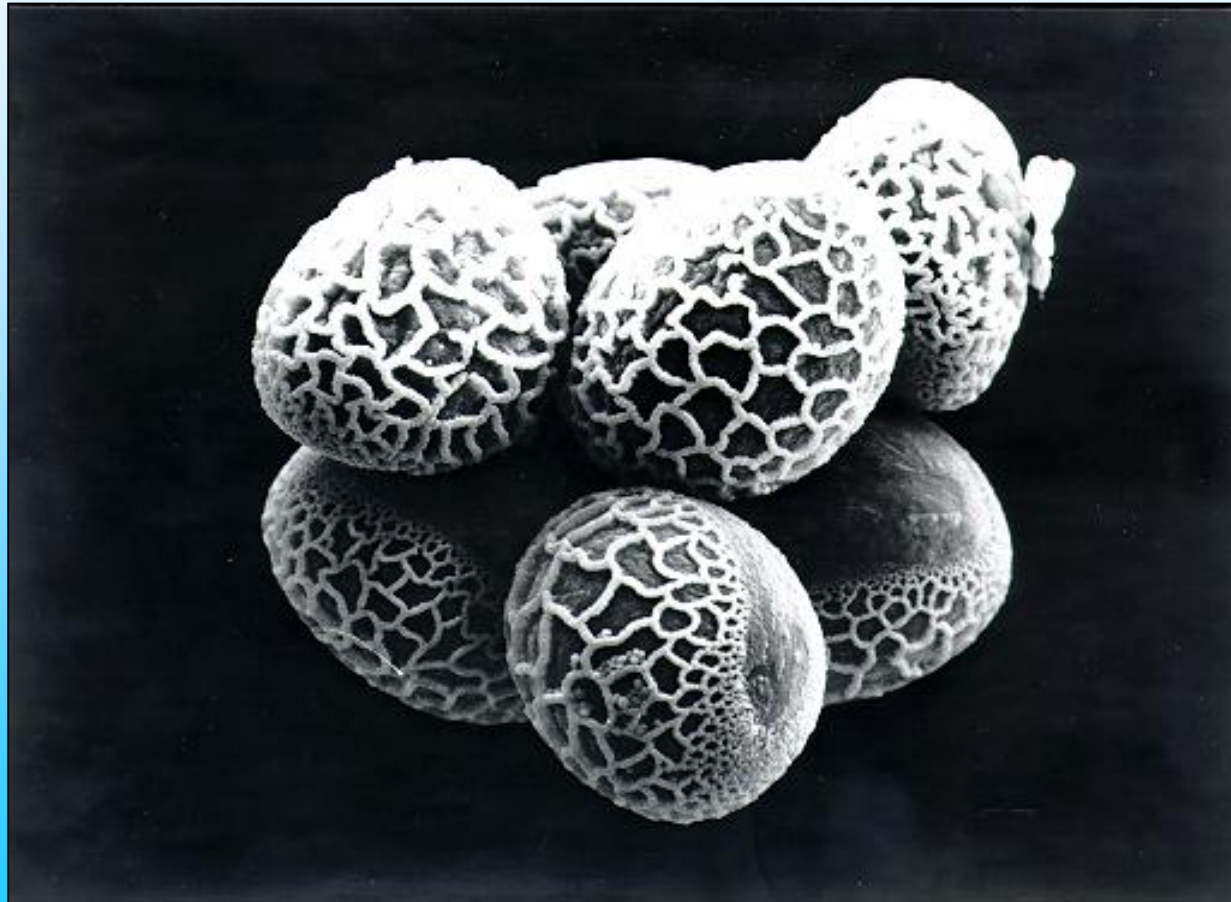
Placentární tekutina

Exudát mikropyle



Willemssee

Hydratovaná pylová zrna lilie

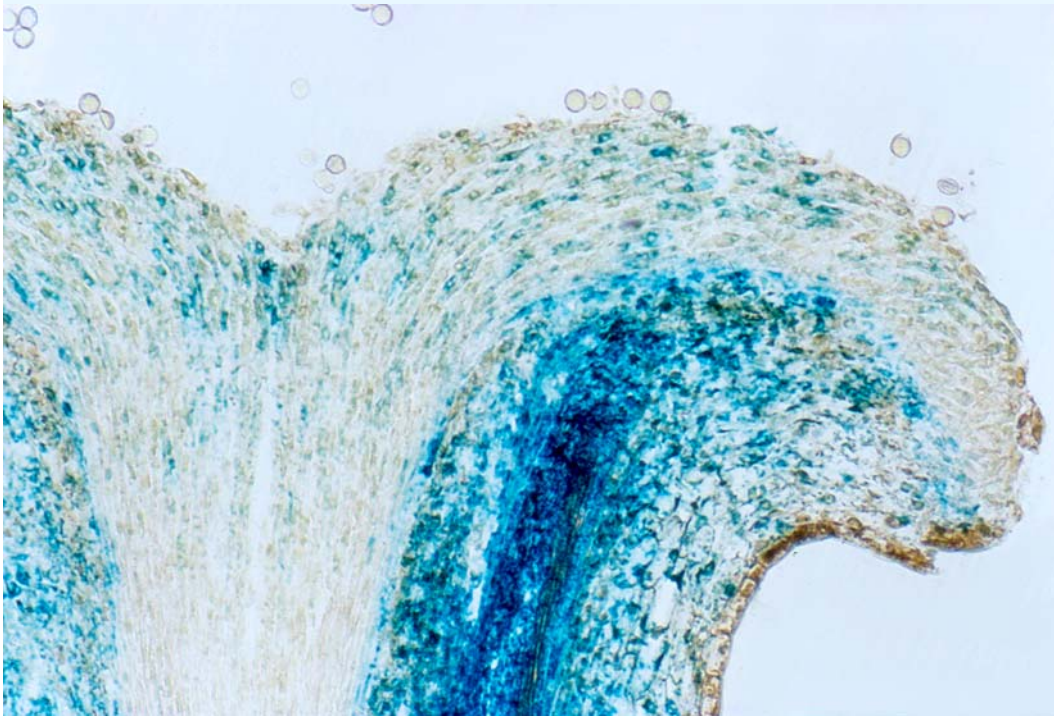


Adheze pylu na blizny - první kontakt

- přenos pylu - biotické nebo nebiotické přenašeče
- adheze pylu podmíněná
 - morfologií exiny
 - pylovým tmelem (lipidy a proteiny, glykoproteiny)
 - typem blizny
 - vlhká - exudát
 - suchá - pelikula

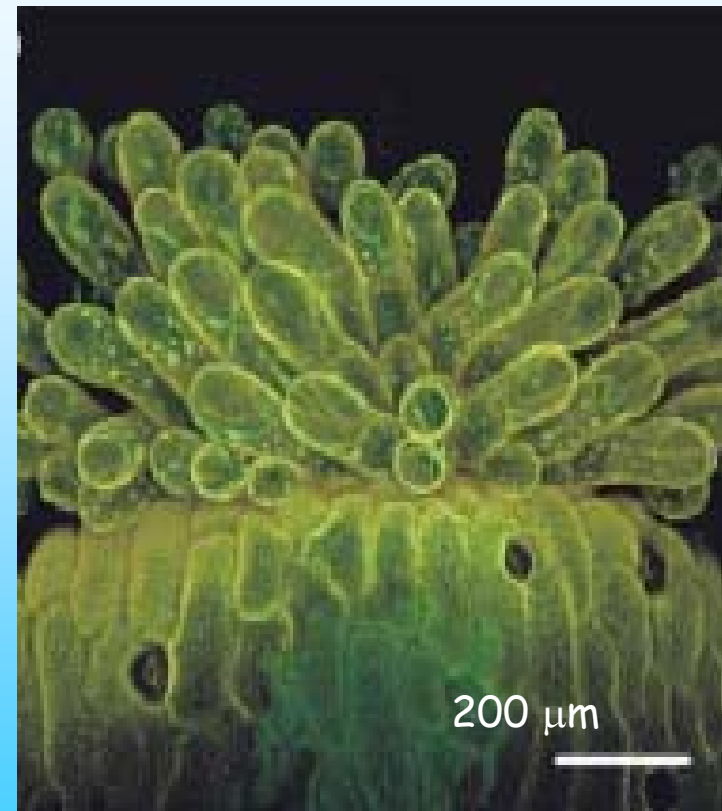
Typy blizen

vlhké blizny s exudátem



vlhká blizna tabáku
indigogenní reakce
na beta-glukosidasu

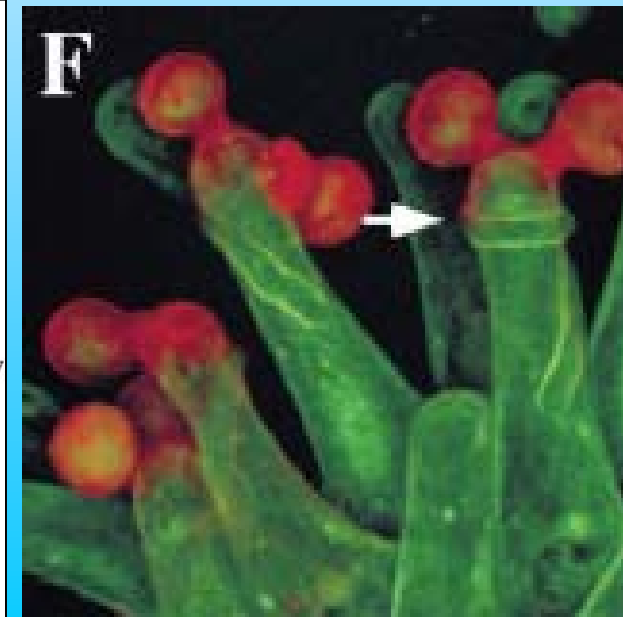
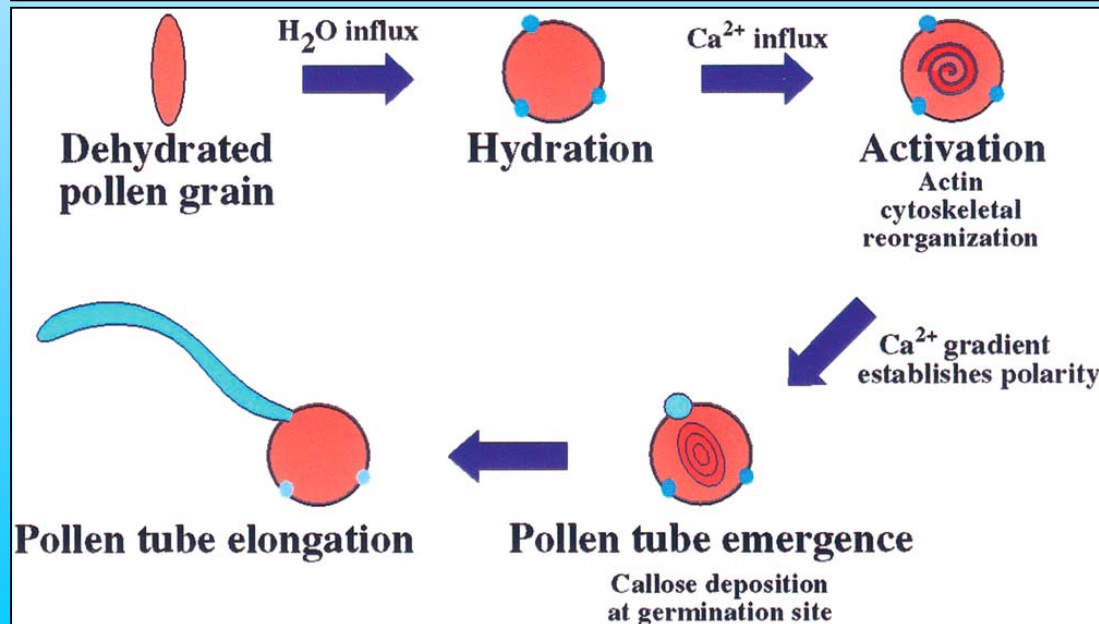
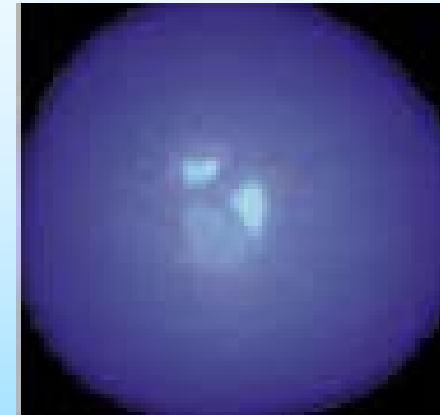
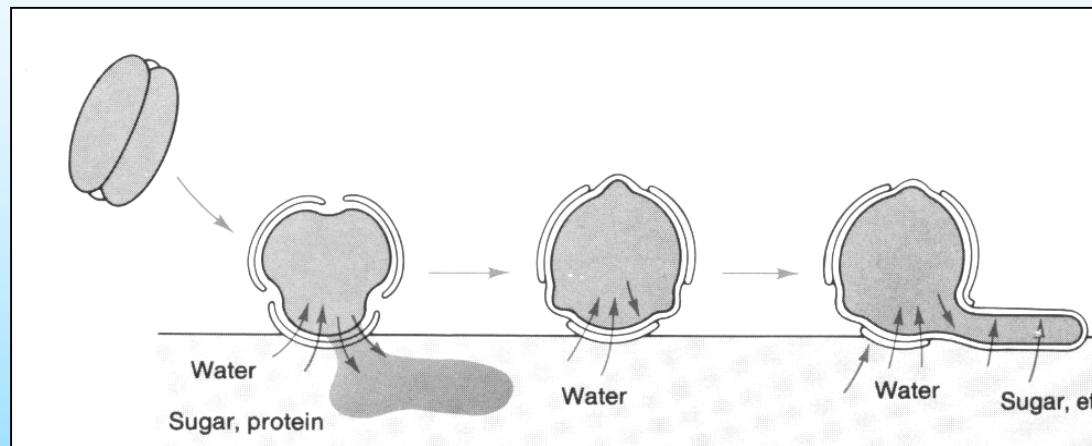
suché blizny s papilami



suchá blizna *Arabidopsis*
barvena FM1-43

Aktivace pylového zrna

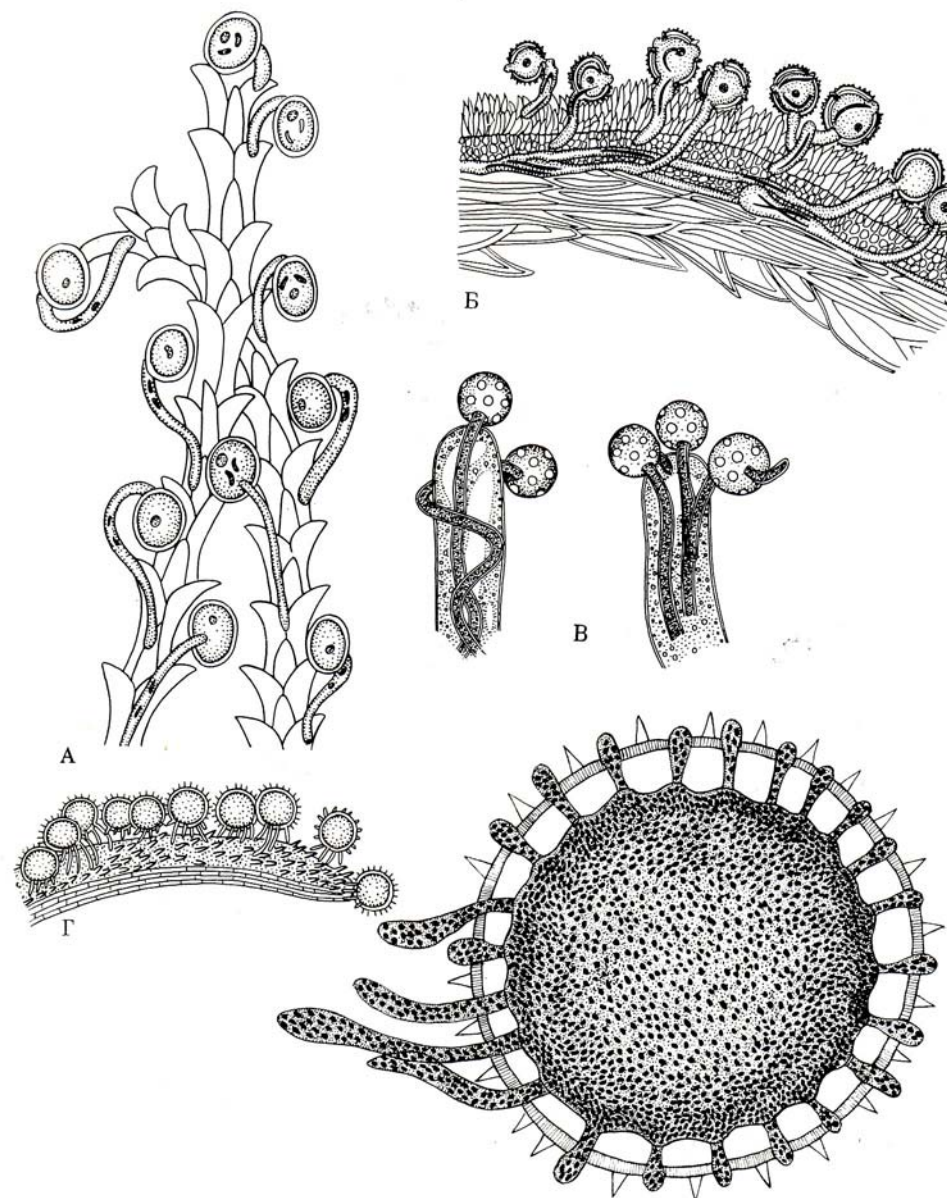
rehydratace ve vlhku (na blizně, *in vitro*)



Klíčení pylového zrna

- hydratace pylu vede k vývoji vysoce polarizované buňky - aktinový cytoskelet se přesunuje k místu klíčení, přesunuje se vegetativní jádro
- klíčení:
 - monosyfonické
 - polysyfonické

Klíčení pylu



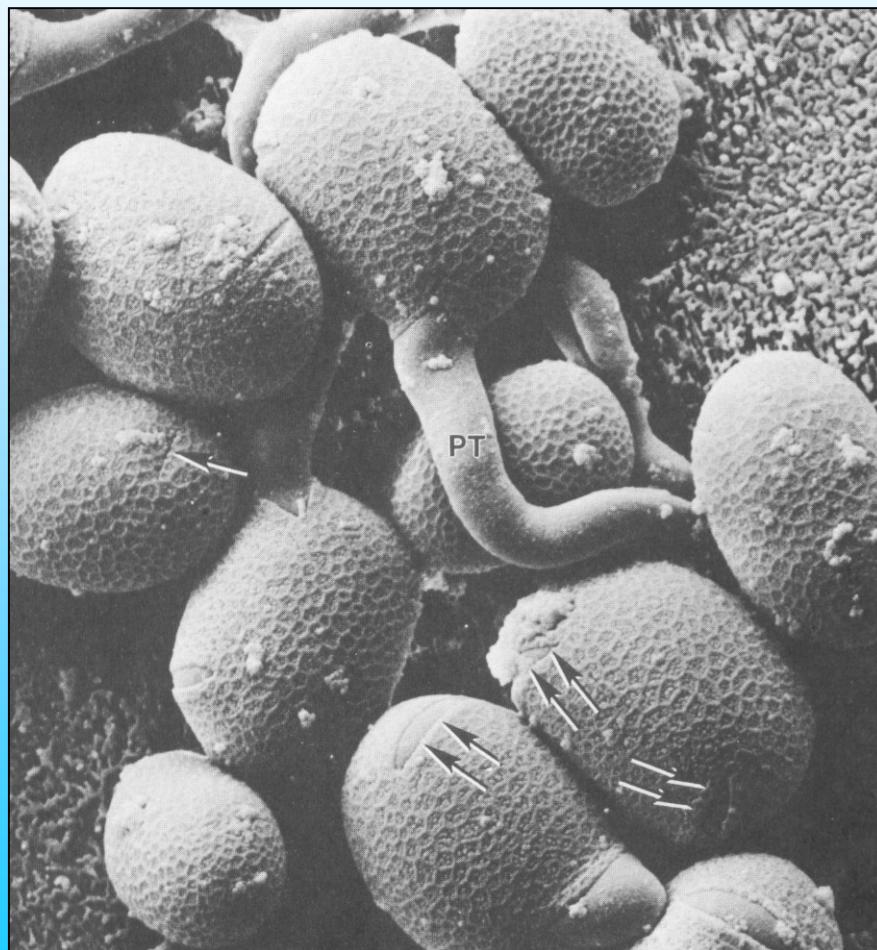
monosyfonické
klíčení pylu

polysyfonické
klíčení pylu

Ontogeneze pylové láčky

- aktivace pylového zrna - hydratace
- klíčení pylového zrna
- invaze pylové láčky do blizny - AcP, esterasy (kutinasy), proteasy, RNAasy
- růst pylové láčky
- stárnutí pylové láčky

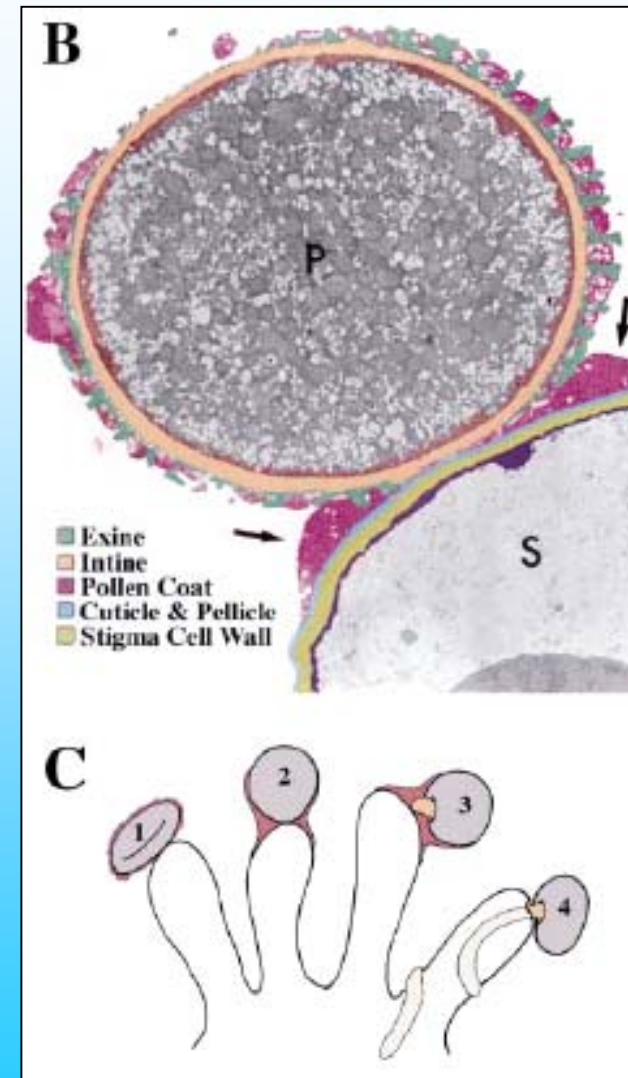
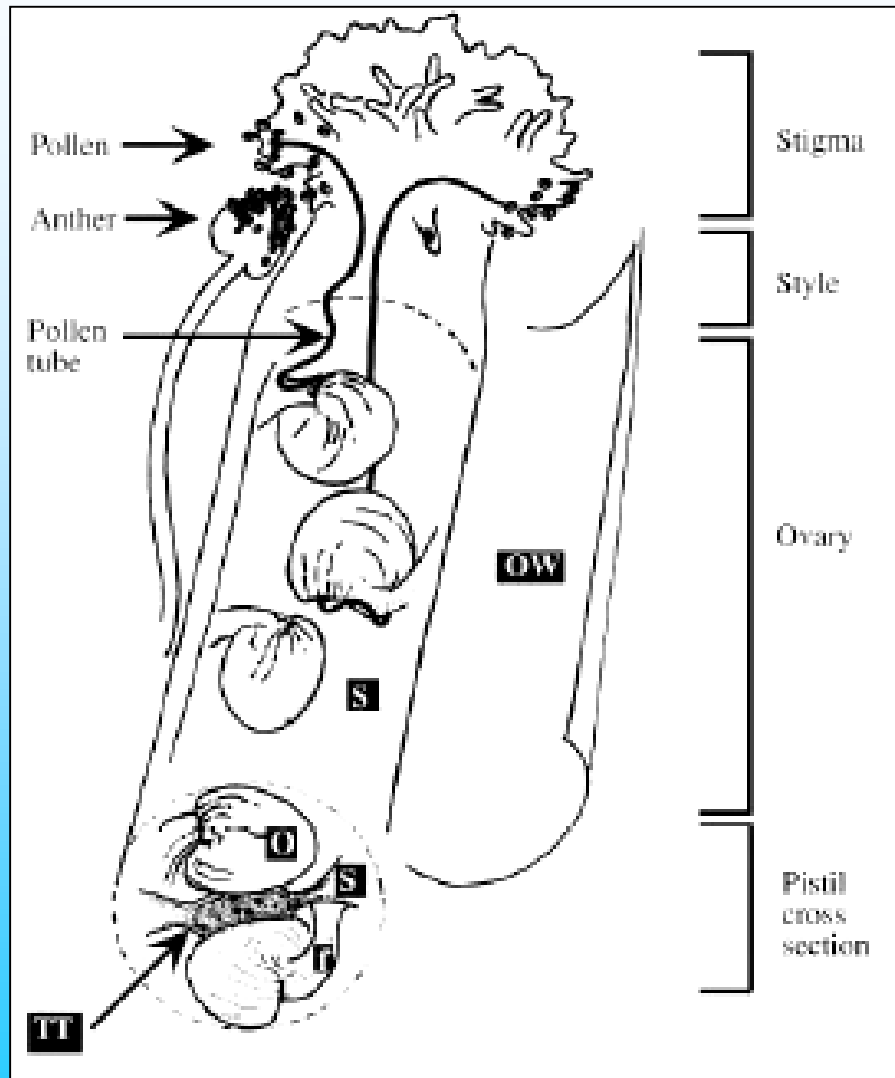
Klíčící pylová zrna netýkavky *Impatiens glandulifera*



(Cresti *et al.* 1992)

←← aperture

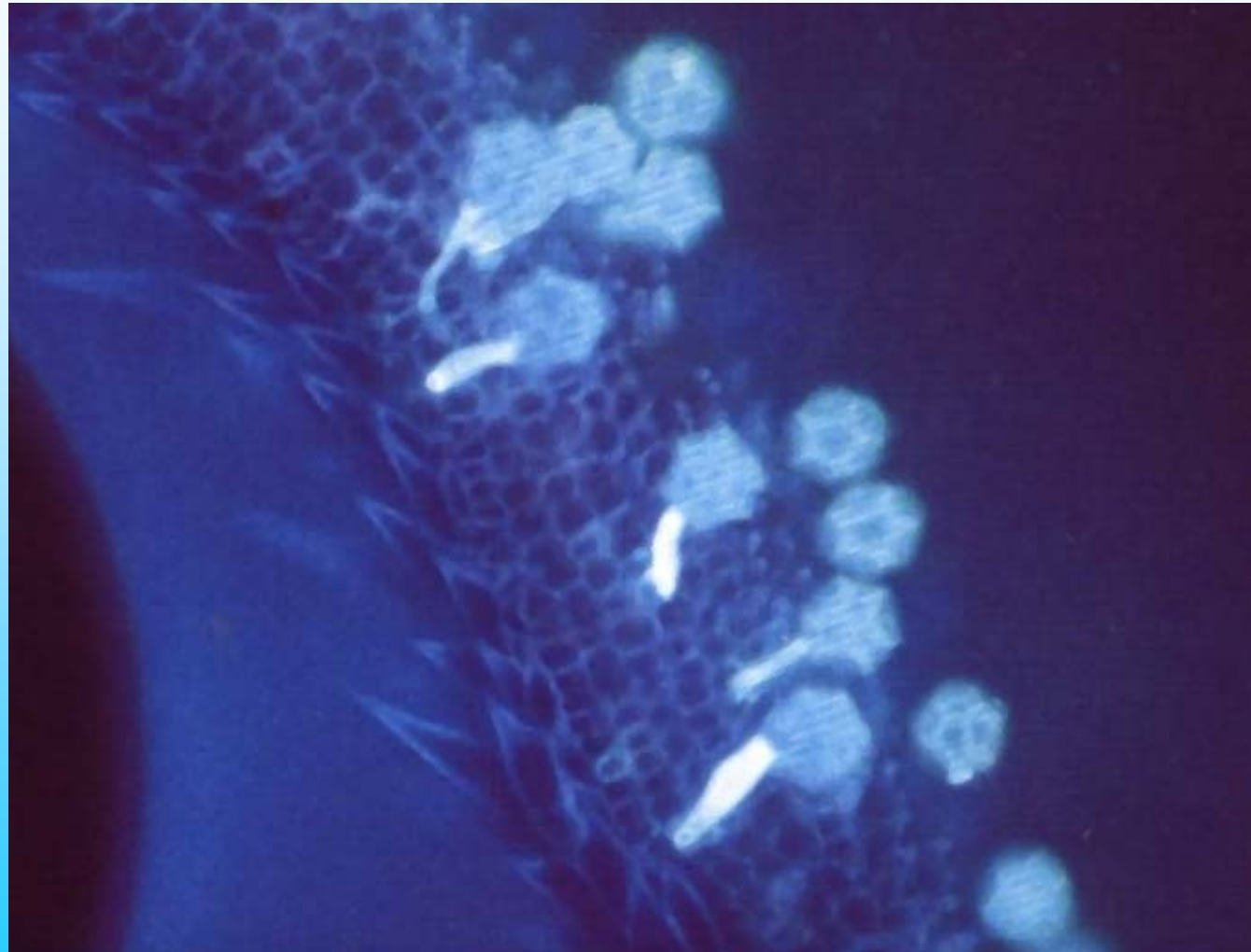
Opylení u Arabidopsis



Edlund *et al.* 2004

Fluorescence pylových láček pylu klíčícího na blizně

monosyfonické
klíčení pylu

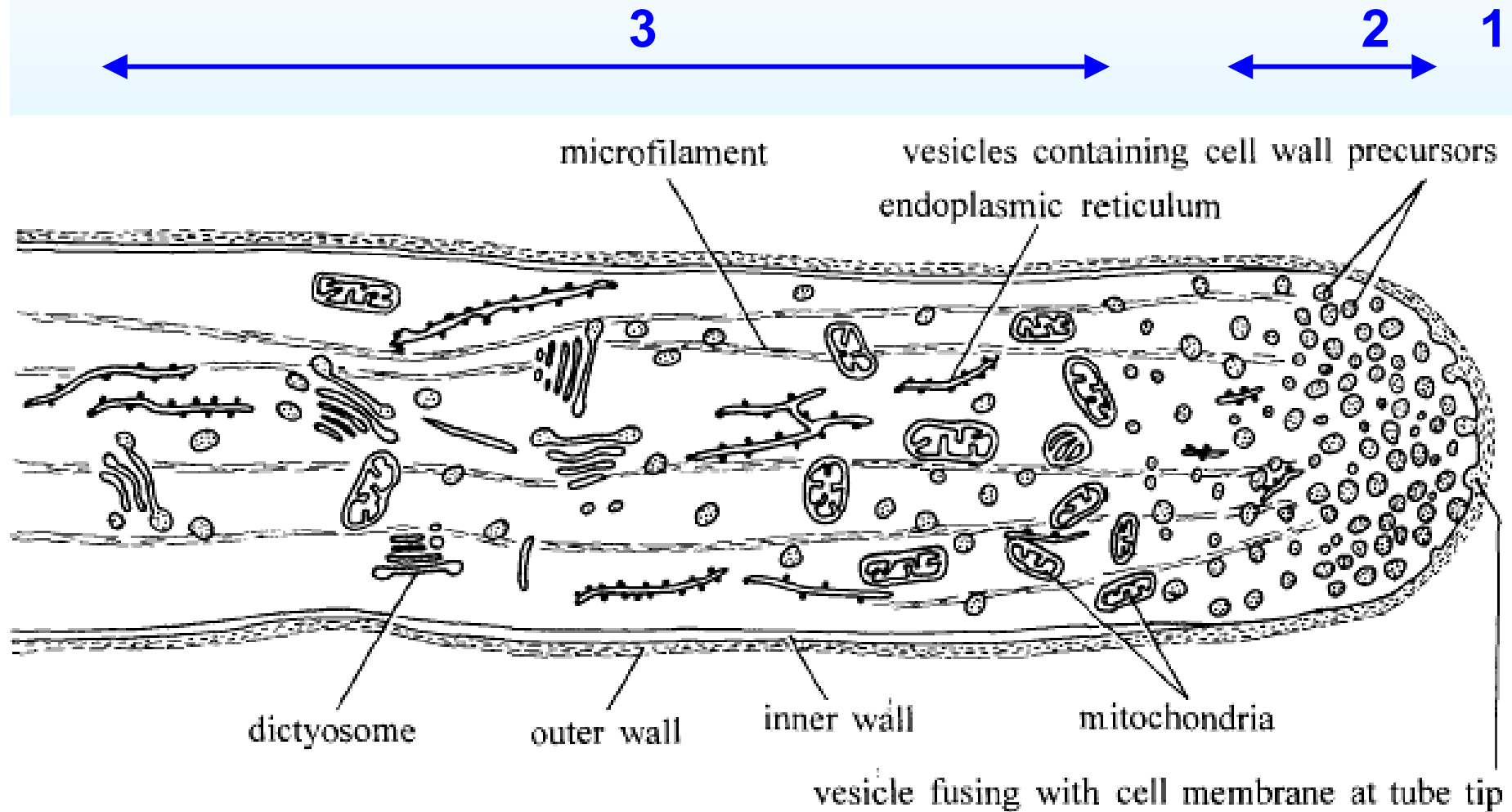


Anilinová modř, UV

Zóny pylové láčky

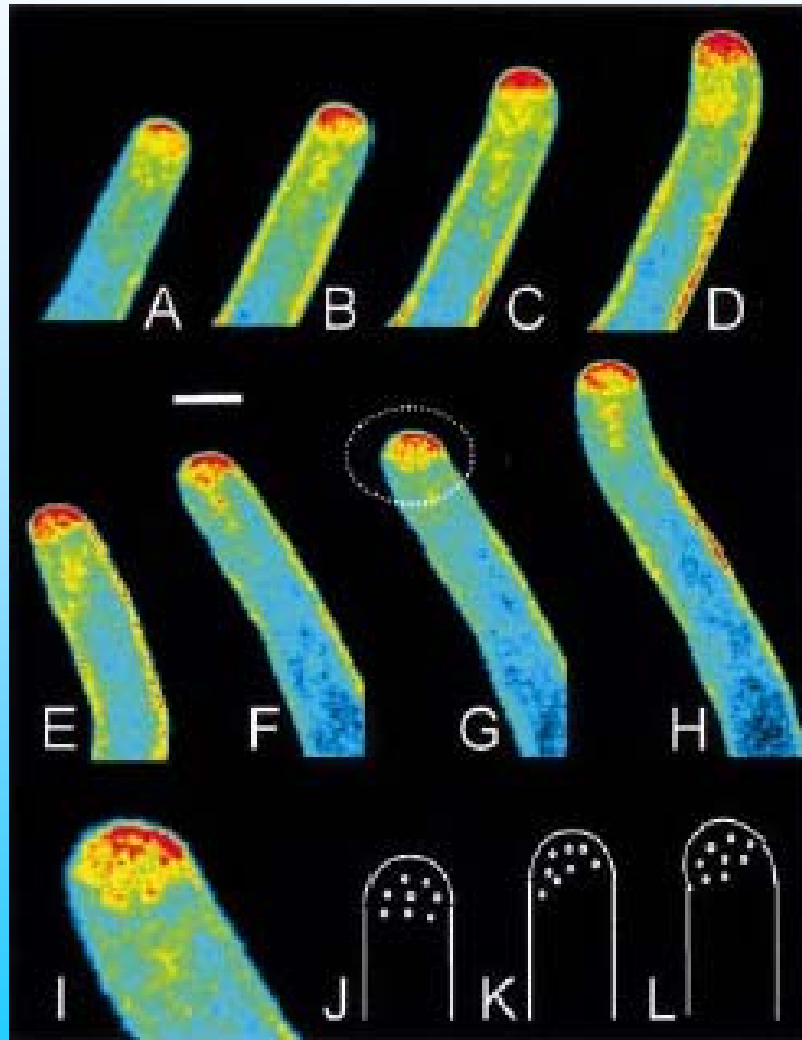
1. čepička
2. pod čepičkou = zóna vysokého obsahu proteinů (arabino-galaktanové proteiny)
3. zóna komplexního endomembránového systému
4. vakuolizovaná část (kalózové zátky)

Struktura vrcholu pylové láčky



Mascarenhas 1993

Růst pylových láček

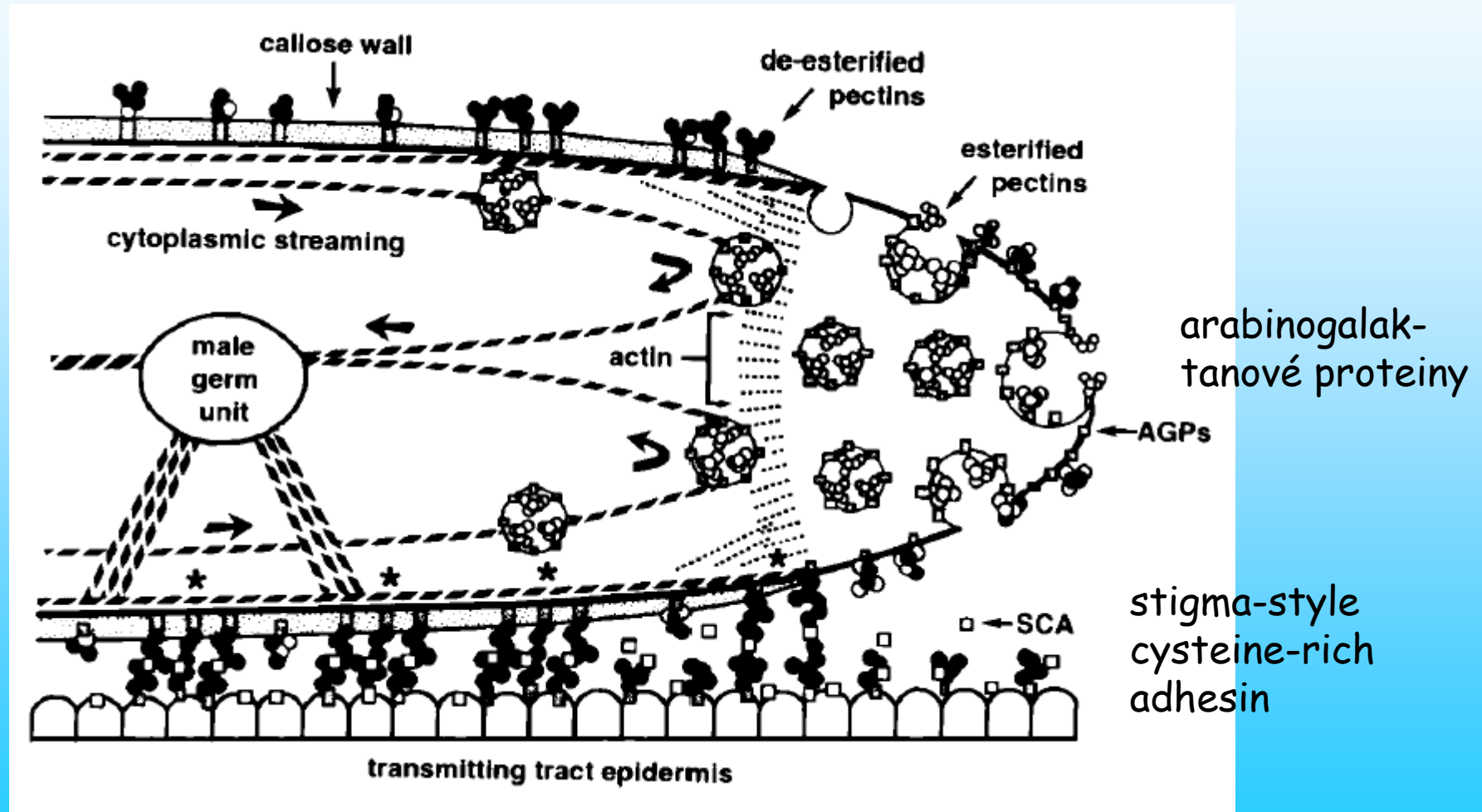


rychlost až 50um /min
je umožněna vysoce
polarizovanou fúzí váčků,
které transportují složky
buněčné stěny k vrcholu

hlavní roli v regulaci
hraje gradient $[Ca^{2+}]$

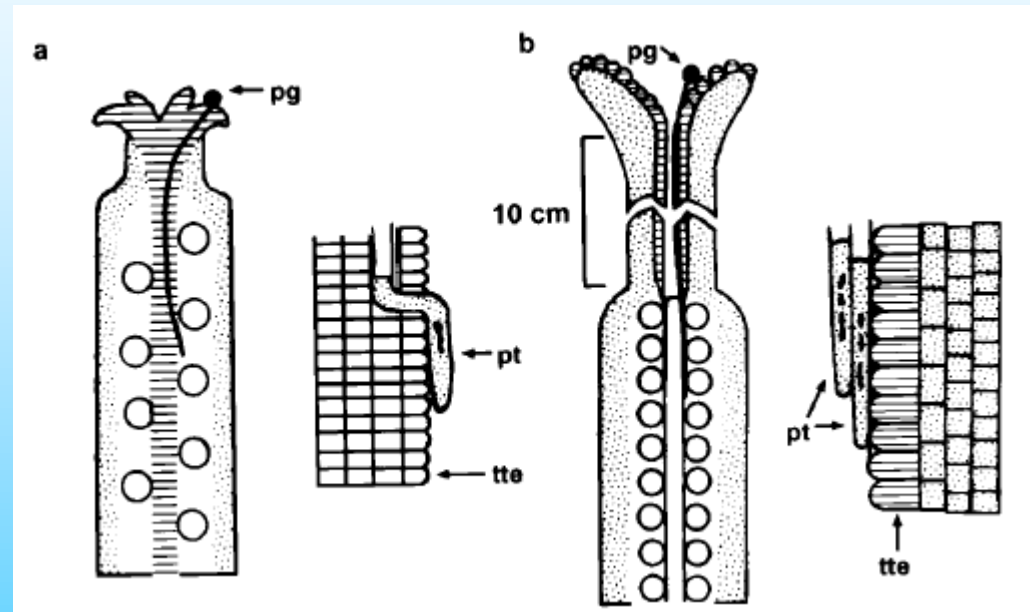
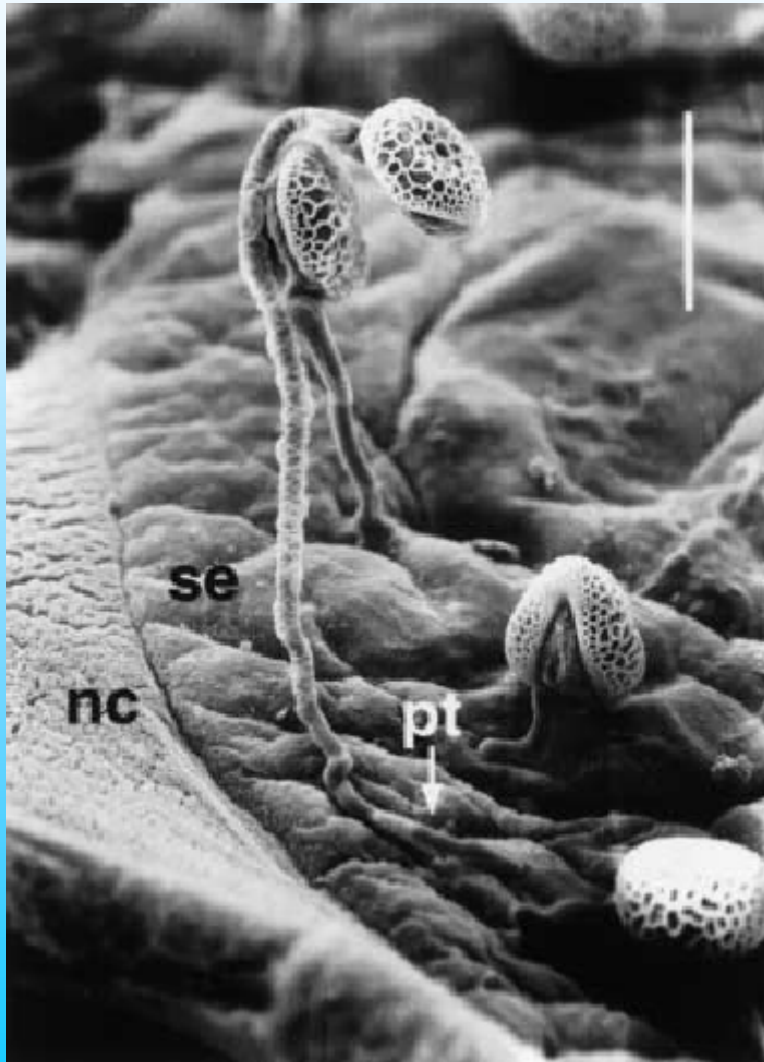
Camacho *et* Malhó 2003

Model pro růst pylové láčky lilie



Lord 2000

Plné a duté čnělky



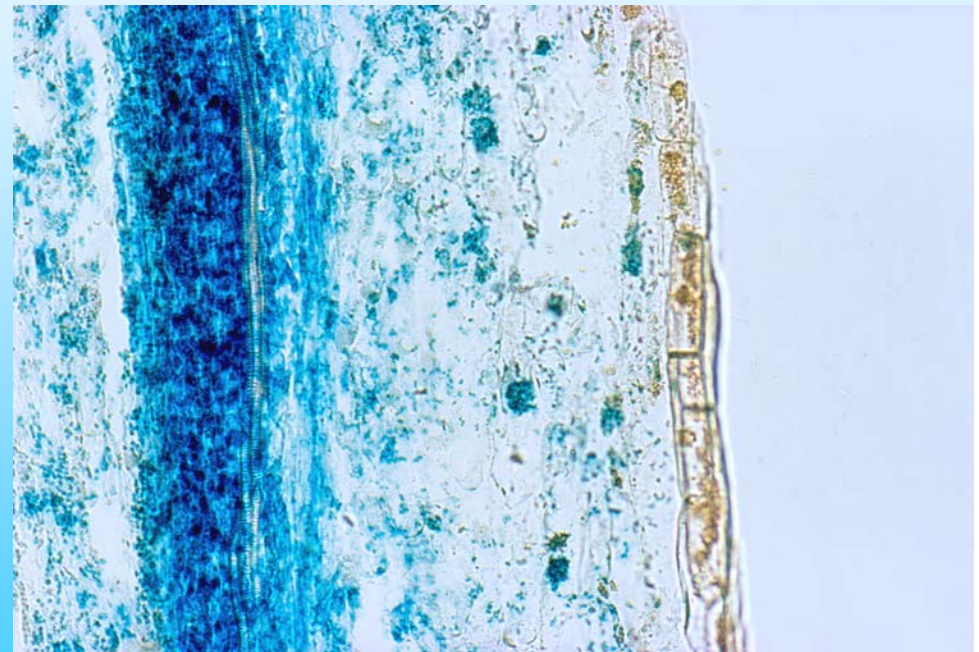
Arabidopsis

Lilium

Lord 2001

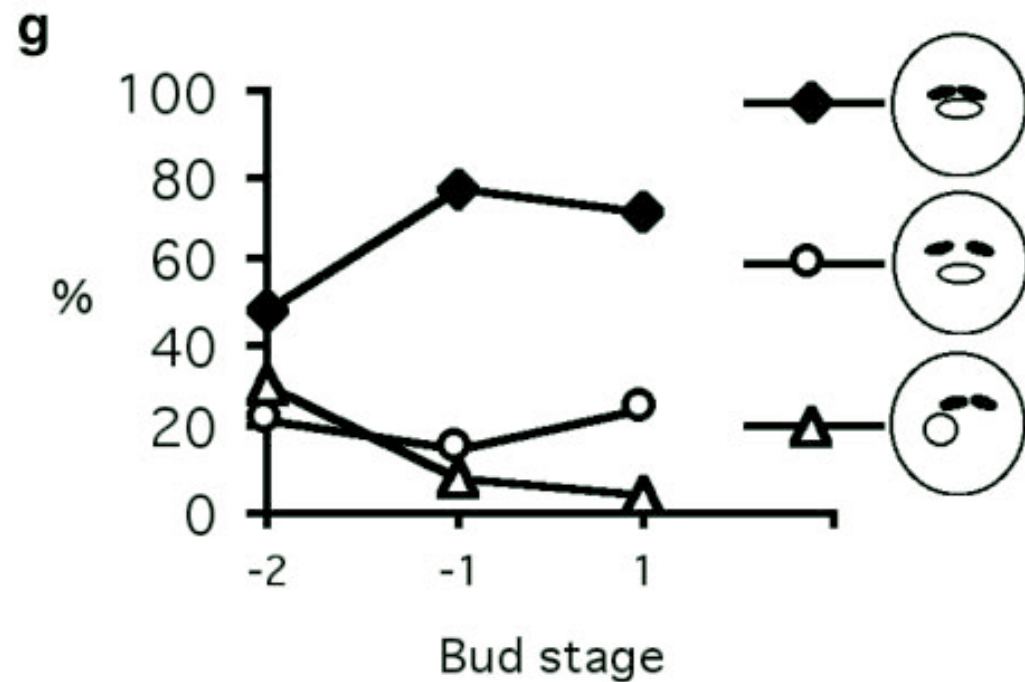
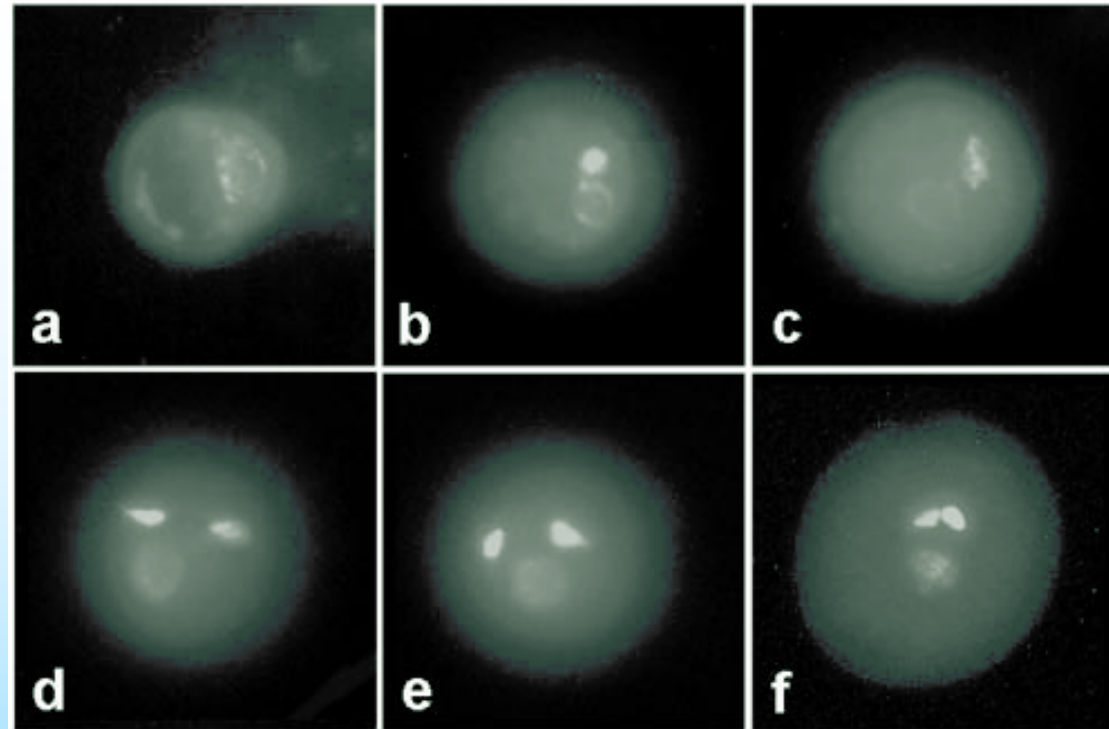
Detail čnělky tabáku

podélný kryostatový řez
indigogenní metoda
detekce aktivity beta-
glukosidasy



plná čnělka s převodovým pletivem

Tvorba MGU u Arabidopsis



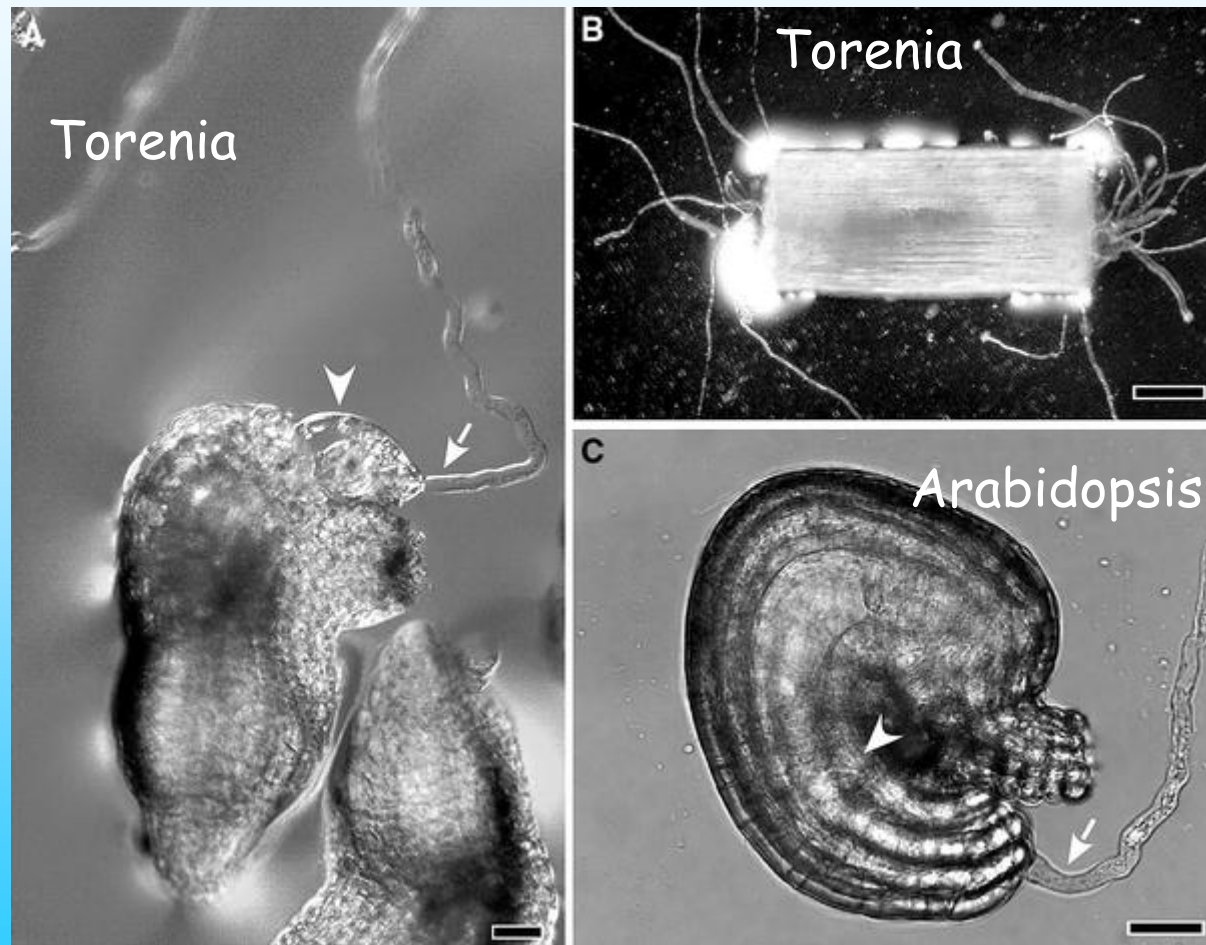
Lalanne *et* Twell :PP 2002

Stárnutí pylové láčky

u láček pěstovaných *in vitro* nebo při inkompatibilitě

- zastavení růstu
- vytvoření kalózové čepičky na vrcholu
- vakuolizace vrcholové části
- degenerace celého obsahu

Chemoregulace růstu pylových láček



Higashiyama *et* Hamamura 2007

Diferenciální barvení pylu

Alexander 1969

96% ethanol	10 ml
malachitová zeleň	10 mg
destilovaná voda	50 ml
glycerol	25 ml
fenol	5 g
chloralhydrát	5 g
kyselý fuchsin	50 mg
oranž G	5 mg
ledová kys. octová	1 - 4 ml

abortovaná pylová zrna jsou zbarvena zeleně, dobře vyvinutá (neabortovaná) červeně

Hodnocení viability pylu

- barvení - často nadhodnocuje životaschopnost pylu
- fluorescenční mikroskopie - aktivita enzymů: esterázy (substrát FDA), peroxidázy (substrát TTC)
- klíčivost pylu *in vitro*

médium pro klíčení pylu *in vitro*:

Brewbaker - Kwack (1964)	100 ml
H ₃ BO ₃	10mg
Ca(NO ₃) ₂ · 4 H ₂ O	30mg
MgSO ₄ · 7 H ₂ O	20mg
<u>KNO₃</u>	<u>10mg</u>
+ 10% sacharóza	

nebo 10% sacharóza a 1% agar (nanesení média na podložní sklo)

Bariéry oplození

- vnější
 - nepřiměřená teplota a vlhkost
 - nedostatečná výživa
 - působení fyzikálních nebo chemických vlivů
- vnitřní
 - prezygotické**
 - inkompatibilita
 - inkongruita (nedostatek informace a koordinace)
 - samčí nebo samičí sterilita
 - postzygotické**
 - malformace vývoje endospermu
 - bariéry klíčení embrya

Inkompatibilita (neslučitelnost)

- neschopnost rostlin tvořit semena, přestože mají funkční gamety
- před 200 lety - **Kölreuter** - *Verbascum* - po samoopylení netvořila semena, zatímco po cizosprášení ano
- **Stout (1917)** - studium fertility *Cichorium intybus*

Typy inkompatibility

- **vnitrodruhová** (autoinkompatibilita)
 - heteromorfní (distylie, tristylie)
 - homomorfní
 - sporofytického typu
 - gametofytického typu
- **mezidruhová**
- **mezirodová**

Funkce inkompatibility

- **zabránění samoopylení**
 - podporuje cirkulaci genů v populaci

- **zabránění mezidruhovému nebo vzdálenějšímu (mezirodovému) křížení** (zábrana „gene flow“)
 - podporuje stabilitu druhu

Nettancourt *et* Devreux 1977

Inkompatibilita sporofytického typu

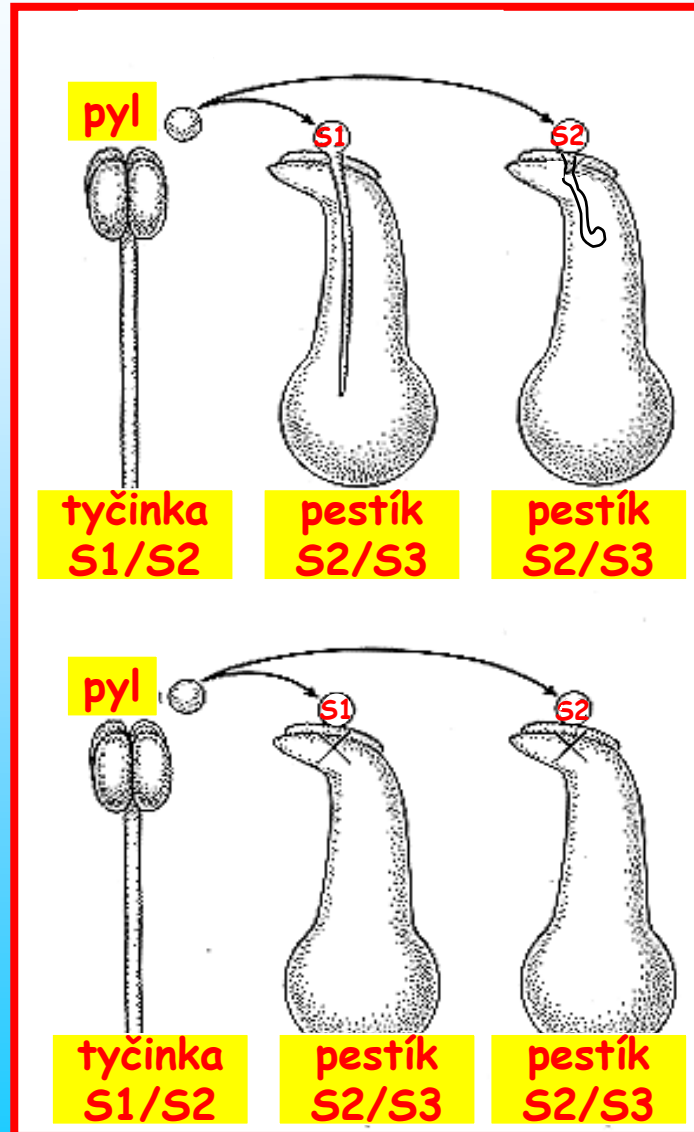
- je daná genotypem rostliny, která produkuje pyl (**sporofytem**). Bez ohledu na genotyp si pyl ponechává fenotypovou reakci dominantní alely
- projevuje se **již na povrchu blizny** (proteiny z tapeta)
- suché blizny a 3 buněčný pyl

Inkompatibilita gametofytického typu

- je určována genotypem samotného pylového zrna (**gametofytu**)
- projevuje se **až při prorůstání pylových láček** přes pletiva čnělky a zárodečného vaku - zastavování růstu pyl. láček
- vlhké blizny
 - u čeledí *Viciaceae*, *Solanaceae*

Inkompatibilita

gametofytického
typu



sporofytického
typu

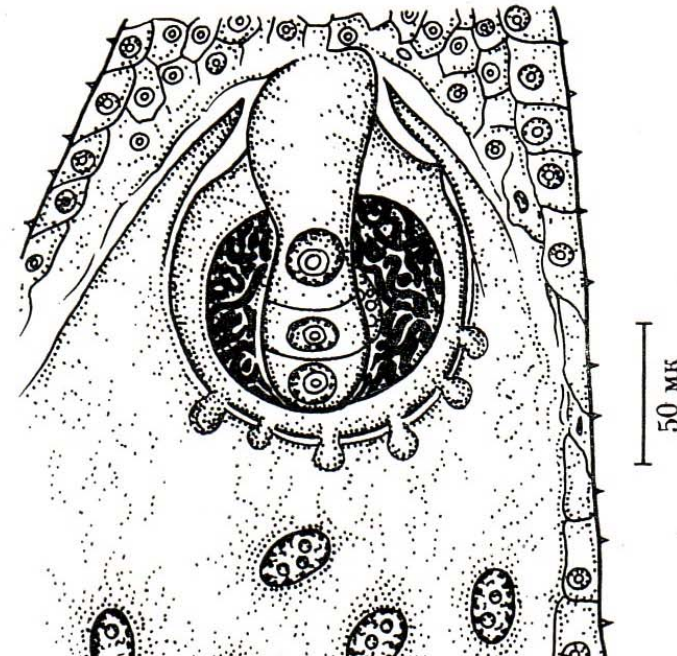
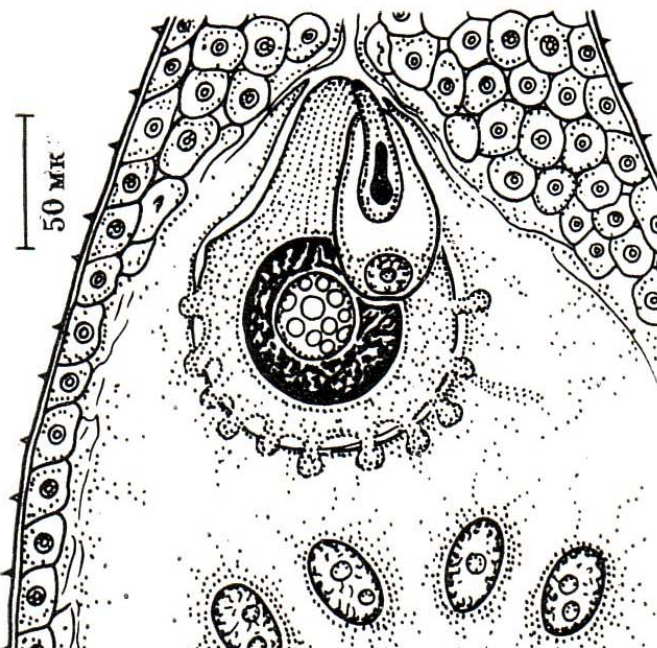
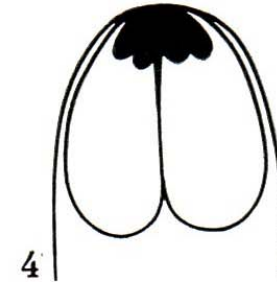
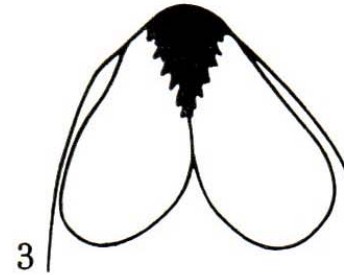
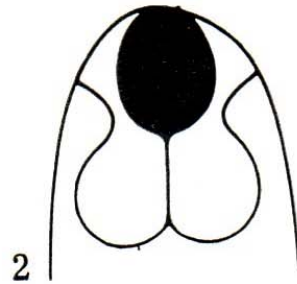
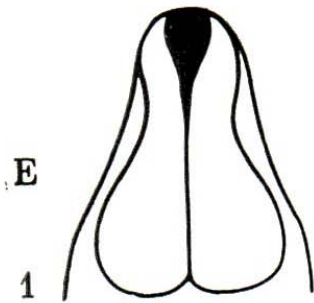
Synergidy a filiformní aparát

Petunia

Torenia

Zea

Gossypium

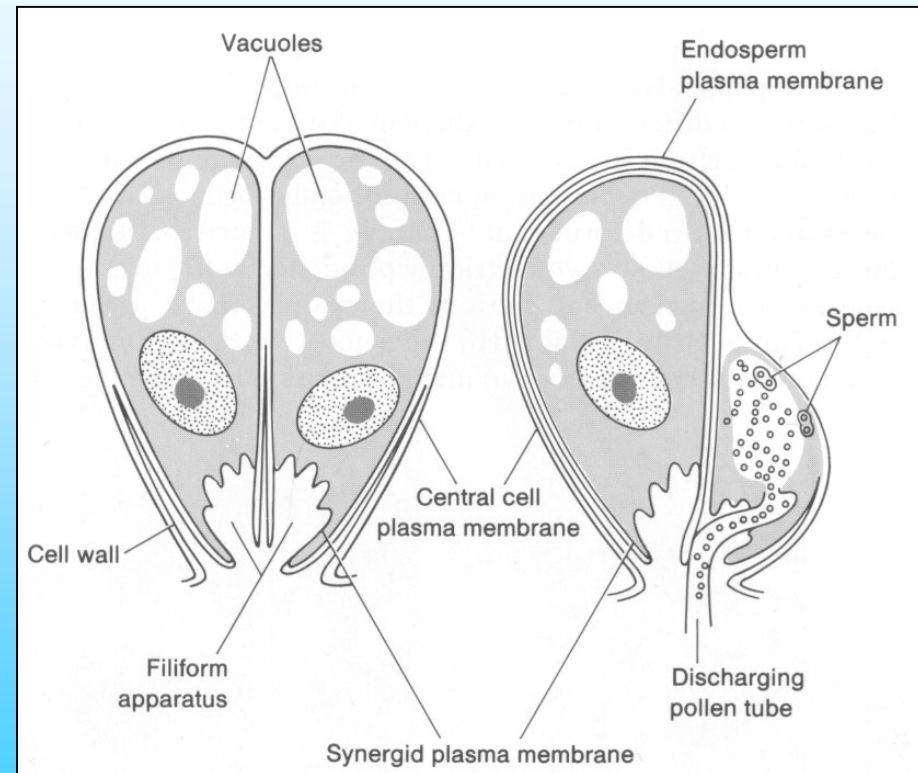


Synergidy

pylová láčka vstupuje do z.v. přes **receptivní synergidu**

známky receptivity synergidy:

1. reorganizace cytoskeletu
2. Ca^{2+} akumulace
3. degenerace organel a plazmatické membrány



keiten sind auf die mannigfaltigste Weise combinirt. Man sieht daraus, dass sich die von Ascherson aus der \pm dichten resp. fehlenden Haarbekleidung der Blätter und Scheiden genommenen Unterschiede zwischen den var. var. *Siegertiana*, *cujavica* und *Browniana* nicht festhalten lassen. Da ich mir die einzelnen Haare auf den Schläuchen der schlesischen und theilweise auch der russischen *Siegertiana* nicht wohl als den Anfang zur Ausbildung einer Schutzvorrichtung, sondern nur umgekehrt als Relict eines früher stärker entwickelten Haarkleides vorstellen kann, so bleibt mir eben nur die Annahme einer Grundform mit behaarten Schläuchen, was, wie wir sehen werden, für die Nomenclatur von ziemlicher Bedeutung ist.

(Fortsetzung folgt).

Botanische Ausstellungen u. Congresse.

Bericht über die Sitzungen der botanischen Section der Naturforscherversammlung in Kiew (Russland) vom 20. bis 30. August 1898.

Sitzung am 22. August.

Leiter der Section: Prof. Baranetzky, Prof. Nawaschin, Herr Puriewitsch und Herr N. Zinger.

Prof. Tichomrow (Moskau) theilt seine Untersuchungen mit über Mechanische Elemente der Gewebe bei *Cinchona*.

Bis jetzt steht in den Lehrbüchern der Pharmakognosie die ältere Definition der Bastfasern bei *Cinchona* als so dickwandige Zellen, dass deren Höhlung nur ein Punkt oder eine enge Spalte ist. Nach des Ref. Untersuchungen der frischen China-Rinde in Java (Staatspflanzungen Lembang und Nagrak), an *Cinchona Ledgeriana*, *C. Calisaya*, *C. Weddeliana*, *C. Schukraftii*, *C. Succirubra*, und *C. officinalis* angestellt, erweist es sich, dass in der ganz unbeschädigten Rinde die innersten Bastfasern eine im Vergleiche zur dünnwandigen Zellmembran bedeutende Höhlung haben. Später wurde dasselbe auch bei den wildwachsenden *Cinchonen* Amerikas erwiesen, was früher in Folge mangelhafter Präparirung ausser Acht gelassen worden ist.

Prof. Palladin (Warschau) spricht:

Ueber den Einfluss des Lichtes auf synthetische Prozesse in den grünen Pflanzentheilen.

Bei der Etiolirung der *Vicia-Faba*-Keimlinge erhält man bekanntlich kleine, gelbliche Blätter, welche viel Eiweiss, keinen Kohlenwasserstoff und keine Stärke enthalten. Diese Blätter cultivirte Ref. auf einer 10% Lösung von Rohrzucker. Der Zucker wird dabei zu Stärke verarbeitet. Ref. untersuchte die verschied-

1898: This is the short description of double fertilization from a 24 August 1898 meeting presentation given in Russia by **Sergius Nawaschin** reported in German in *Botanisches Zentralblatt*.

Prof. Nawaschin (Kiew) spricht über seine „Neuen Beobachtungen über Befruchtung bei *Iritillaria tenella* und *Lilium Martagon*.“

In Bezug auf Bildung des Sexualapparates hatte der Ref. die Bildung der echten Cellulosemembranen an sämtlichen 3 Zellen des Sexualapparates beobachtet. Vor dem Eindringen der männlichen Sexualzellen in den Embryosack werden diese Membranen aufgesaugt. Die beiden männlichen Zellen dringen in das Protoplasma des Embryosackes ein und sind beinahe spindelförmig, indem ihr Körper unter verschiedenen Umständen sich sehr mannigfaltig biegt. Ref. glaubt, dass dieselben beweglich seien. Eine der beiden männlichen Zellen dringt in das Ei ein, die andere copulirt mit dem näheren Polkerne. In beiden Fällen verschmelzen die Kerne erst nach einem gewissen Zeitraume.

Der mit der männlichen Zelle copulirende Polkern copulirt weiter mit dem anderen Polkerne, worauf sämtliche Kerne verschmelzen. Das Verschmelzen des Eies mit der männlichen Zelle geht noch später vor sich, wenn im Embryosacke schon bis 8 Endospermkerne vorhanden sind.

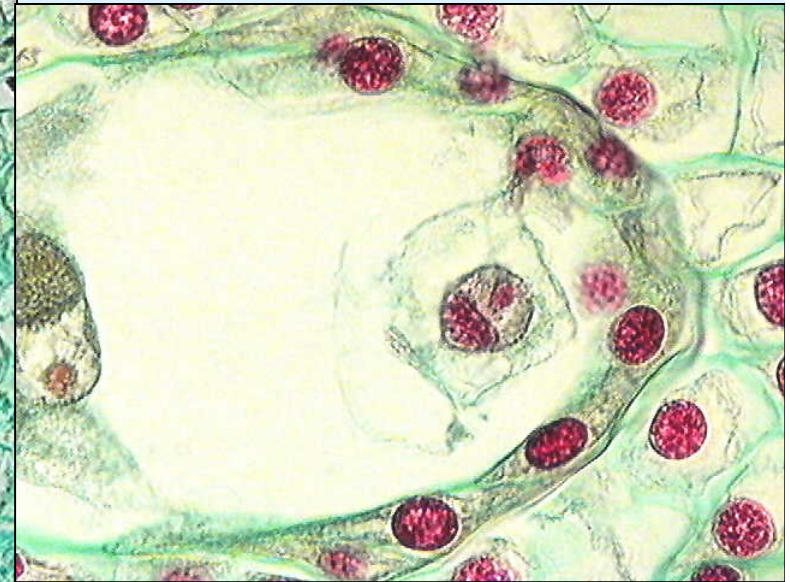
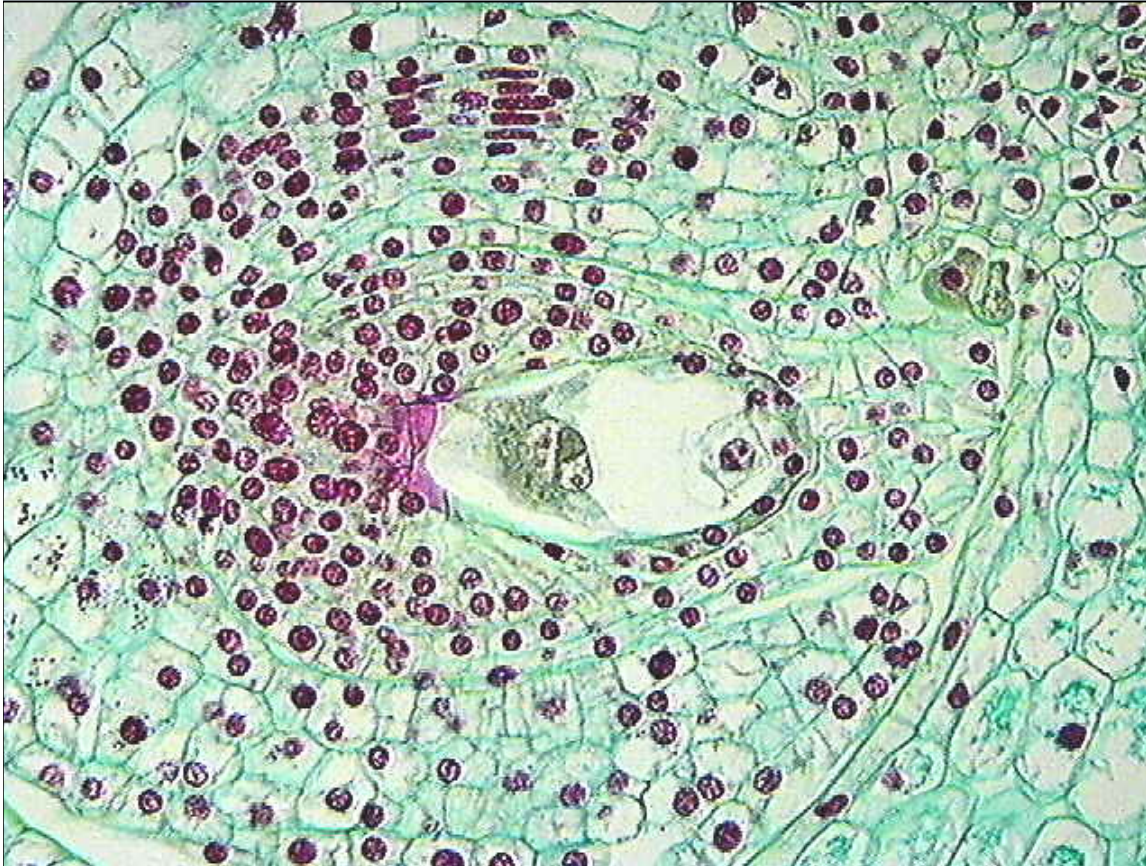
Der Embryo zeigt normale Entwicklung.

Herr Prof. Belajew macht nach dieser Mittheilung in einigen Worten auf die Wichtigkeit der Beobachtungen Prof. Nawaschin's aufmerksam.

Průběh syngamie

- apozice plazmatické membrány vaječné a spermatické buňky
- spermatické jádro s částí cytoplasmy se dostává do vaječné buňky
- fúze jader
- fúze jadérek

Syngamie



IASPRR

Na mikropylárním pólu zárodečného vaku (vpravo) je malé jadro spermatické buňky a väčšie jadro vaječné buňky, po fúzi vznikne **zygota**

Chalazální konec zárodečného vaku druhé oplození = konfluace



IASPRR

splývající polární jádra (méně hustá) a tmavší samčí jádro
výsledkem této fúze (*triple fusion*) bude 5N endosperm ($1N + 1N + 3N$).

Konfluace - Triple fusion



IASPRR

jádro vlevo je 3N (dříve chalazální) **polární jádro**, uprostřed je **samčí spermatické jádro**, vpravo 1N (dříve mikropylární) **polární jádro**