

# Embryogeneze krytosemenných rostlin

vývoj zygotického embrya

# Definice embrya

původní:

embryo = základ rostliny obsažený v semeni

rostliny semenné - *Embryophyta* (Engler 1886)

rozšířená:

embryo = základ sporofytu cévnatých rostlin

# Embryogeneze - vývoj embrya

= proces přeměny jednobuněčné zygoty v embryo obsahující základy orgánů budoucí rostliny

klíčící rostliny různých taxonů vyšších rostlin jsou pozoruhodně jednotně utvářené:

apikálně-bazální osa + meristémy

radiální symetrie koncentricky uspořádaných pletiv

další vývoj - postembryonální aktivita meristémů

# Vznik embrya

embryo se vyvíjí ze **zygoty**

**zygota** - vzniká v zárodečném vaku ve vajíčku

fúzí **vaječné buňky (oosféry)** s **buňkou spermatickou**  
= **oplození**

**oplození**

**jednoduché**

rostliny cévnaté výtrusné

rostliny nahosemenné

**dvojité** - krytosemenné rostliny (**syngamie a konfluace**)

# Sergej Gavrilovič Navašin

(1857 - 1930)



- Studoval v Petrohradu
- a na univerzitě v Moskvě
- prof. botaniky v Kijevě
- 1898 objevuje dvojí oplození u rostlin
  - Novyje nabljuděnija nad oplodotvorenijem u *Fritillaria tenella* i *Lilium martagon* (součást sborníku Dněvnik X. sjezda russkich estěstvoispytatělej i vračej v Kijevě)
  - krátké sdělení v německém *Botanisches Zentralblatt*

# Karyogamie a plasmagamie

Karyogamie = splývání jader

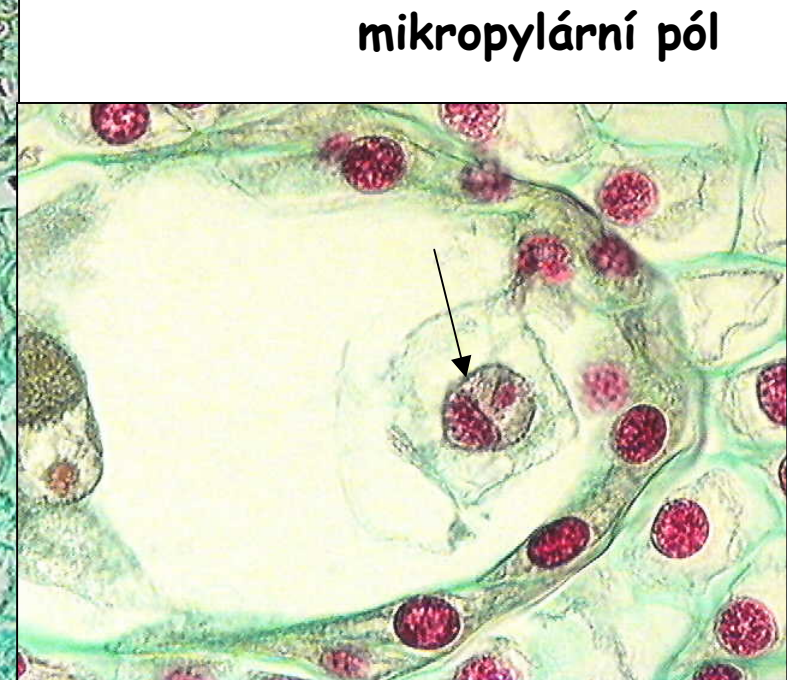
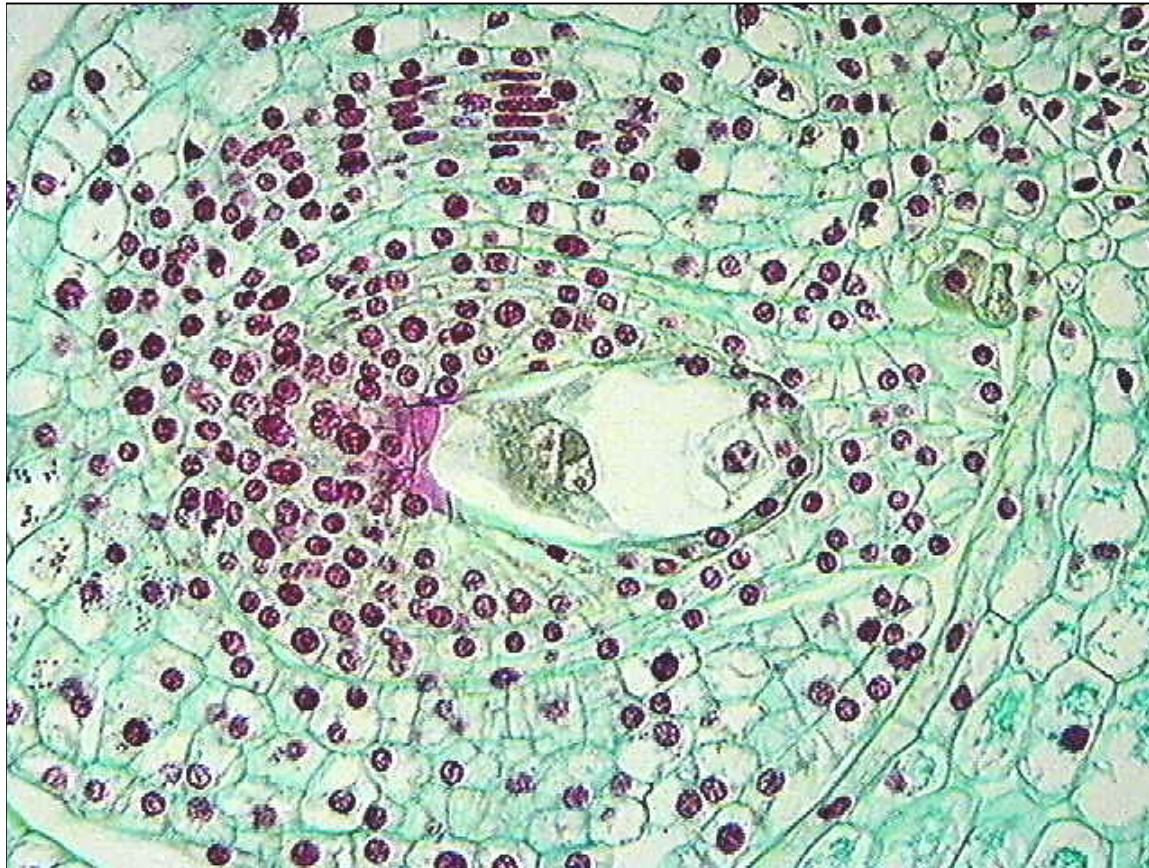
- **syngamie** - splývání jader vaječné a spermatické buňky
- **konfluace** - splývání jader centrální a spermatické buňky

Plasmagamie = splývání cytoplasmy buněk

# Průběh syngamie

1. apozice plazmatické membrány vaječné a spermatické buňky
2. spermatické jádro s částí cytoplasmy se dostává do vaječné buňky
3. fúze jader
4. fúze jadérek

# Syngamie u lilie



mikropylární pól

***IASPRR***

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



# Chalazální konec zárodečného vaku lilie: 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 u lilie - detail



**IASPRR**

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

# Vývoj zygoty

## zygota

- mění velikost
- zesiluje a doplňuje buněčnou stěnu
- je bez plazmodezmů
- je polární

dělení zygoty - většinou **inekvální** - **buňka apikální** → **embryo**  
**buňka bazální** → **suspensor**

## suspensor

**tvárově rozmanitý orgán dočasné funkce**

- u mnohobuněčných suspensorů se mohou deriváty buňky bazální stát buňkami embrya, např. *Brassicaceae* (*Arabidopsis*)

**rudimentární** (*Ruta, Myosotis*)

**chybí** (*Viola, Tilia*)

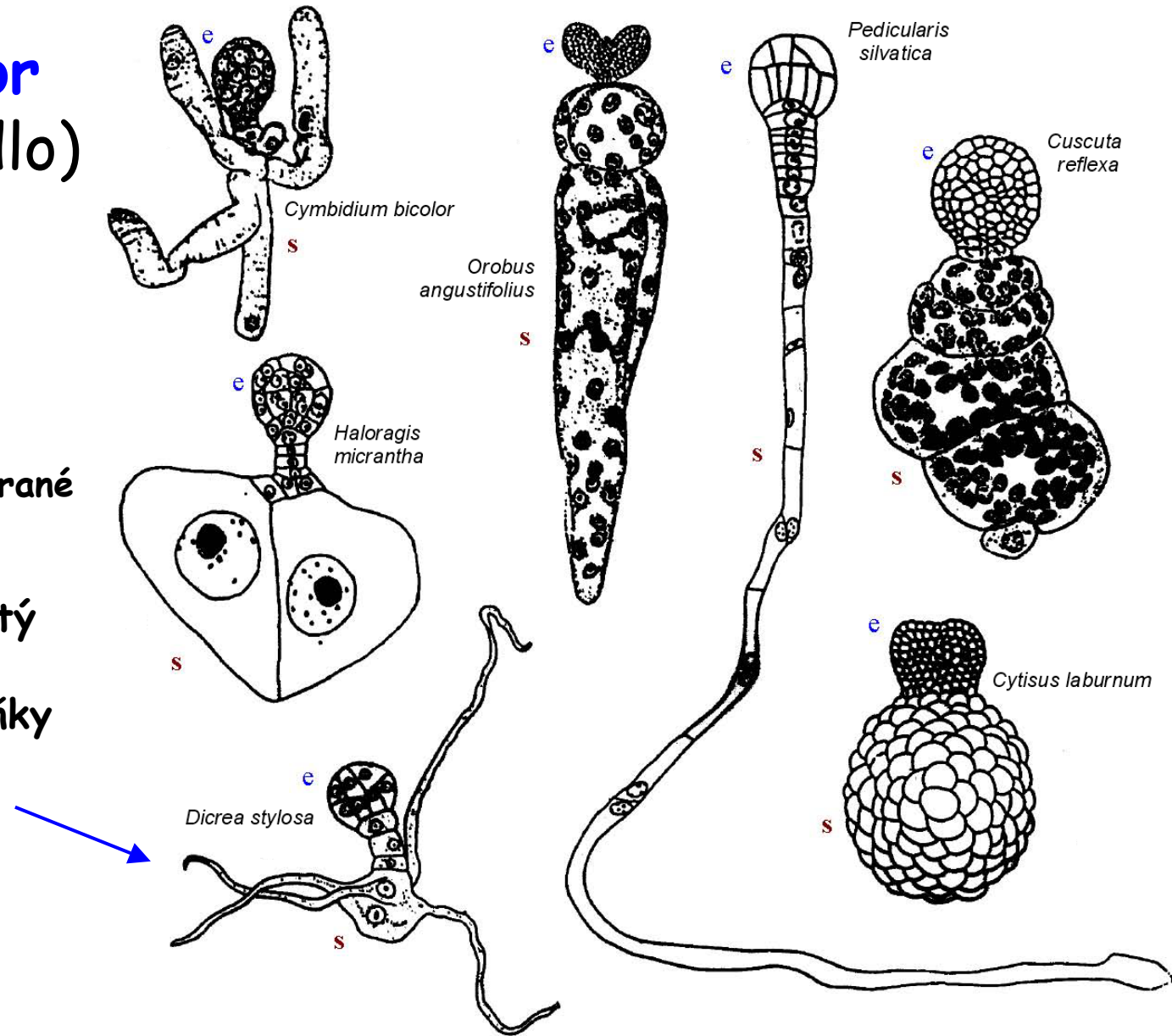
**suspensorová haustoria**

# Suspenzor (zavěšovací orgán)

dočasná funkce v rané embryogenezi

tvarově rozmanitý orgán

- polyploidní buňky
- haustoria



# Diferenciace suspensoru

gen *YDA* (*YODA*) - MAPKKK

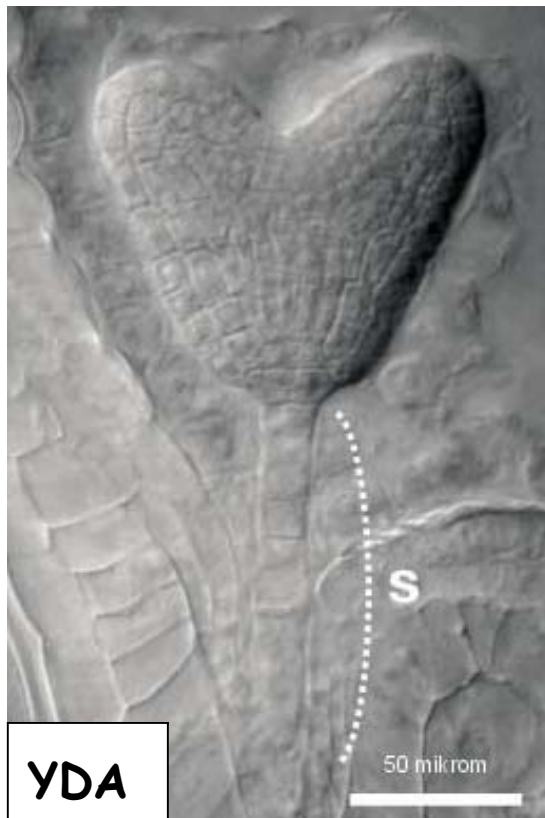
exprimuje se v zygotě a bazální buňce - v apikální buňce ne

mutant *yda* - zygota se neprodužuje

- bazální buňka je malá

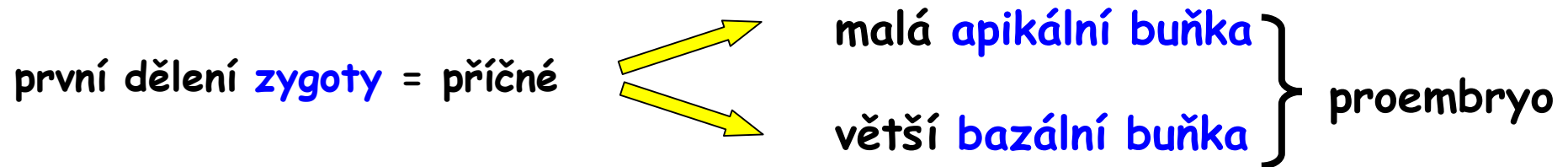
pokud se vůbec dělí, je dělení neuspořádané

embryo se zpožďuje ve vývoji, pak abortuje



Lukowitz W. et al.  
*Cell* 2004

# Embryogeneze u *Arabidopsis* (typ Onagrad)



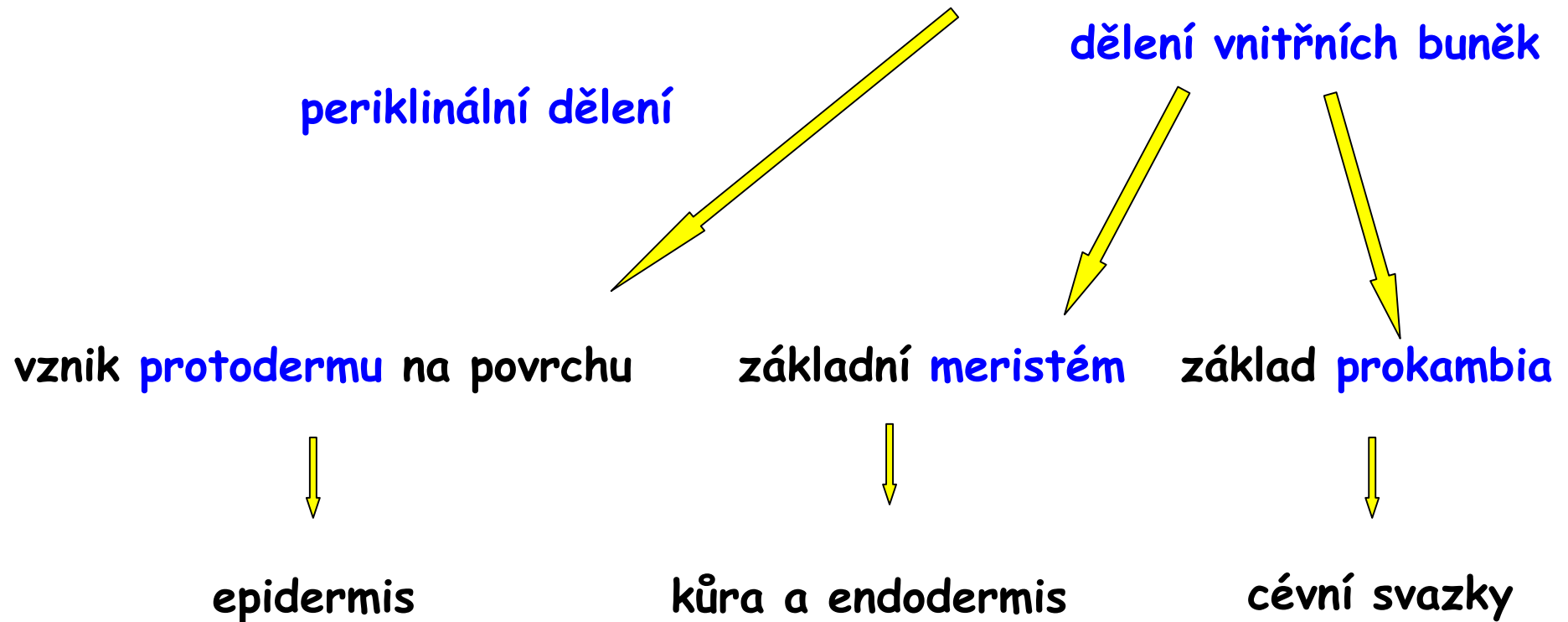
bazální buňka → **suspensor + hypofýza**  
(arabinogalaktan. epitopy, PIN7)

apikální buňka → **vlastní embryo**  
transkripční faktory AtML1, WUS

*PIN-FORMED 1 - 7* (PIN1-7)  
= regulátory transportu auxinu

# Embryogeneze u *Arabidopsis*

formace radiálních vzorů - začíná ve stadiu 8 buněk



# Vývoj embrya v čase

## Morfologická stadia embryogeneze

### u dvouděložných rostlin

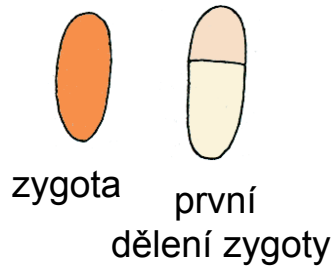
zygota  
lineární embryo  
globulární embryo  
srdcovité embryo  
hruškovité (torpédovité)  
zralé embryo (dvě dělohy)

### u jednoděložných rostlin

zygota  
lineární embryo  
globulární embryo  
zralé embryo (jedna děloha,  
laterální SAM)

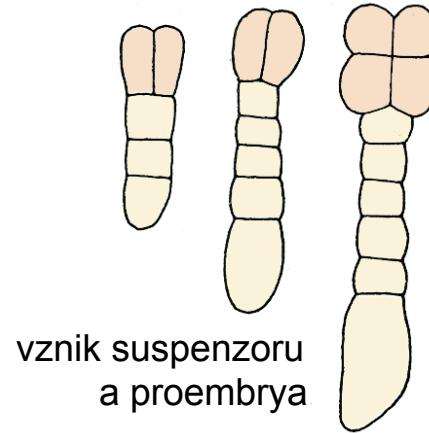


# Schéma embryogeneze dvouděložných krytosemenných rostlin

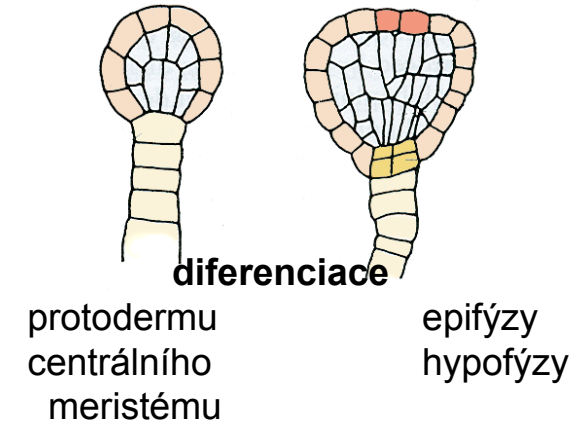


Raven, Everet et Eichhorn  
Biology of Plants. 2005

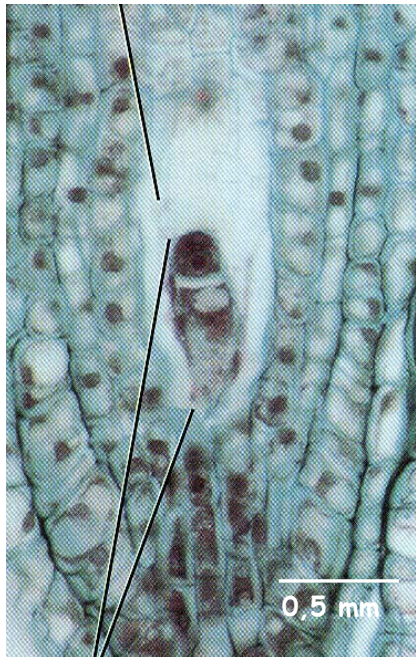
## lineární embryo



## globulární embryo



## zárodečný vak

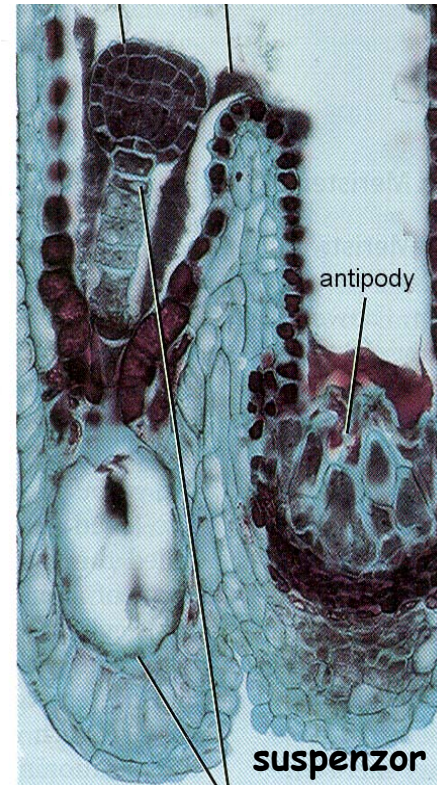


apikální a bazální buňka

## endosperm

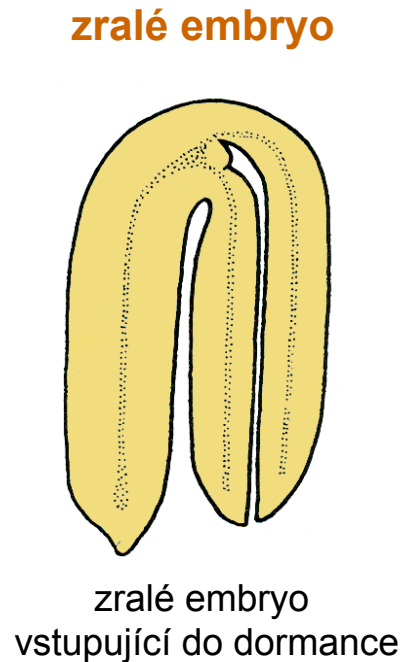
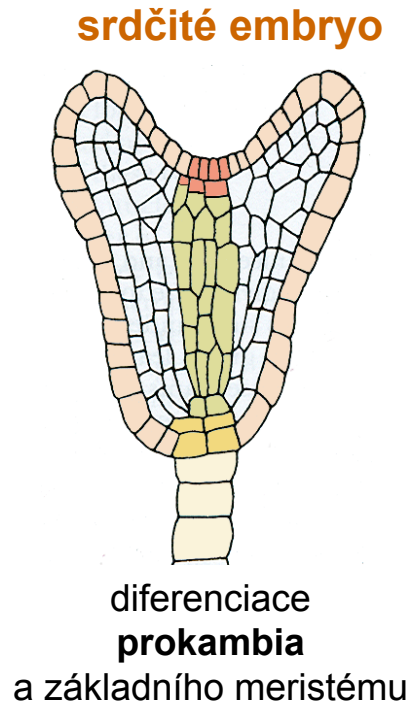
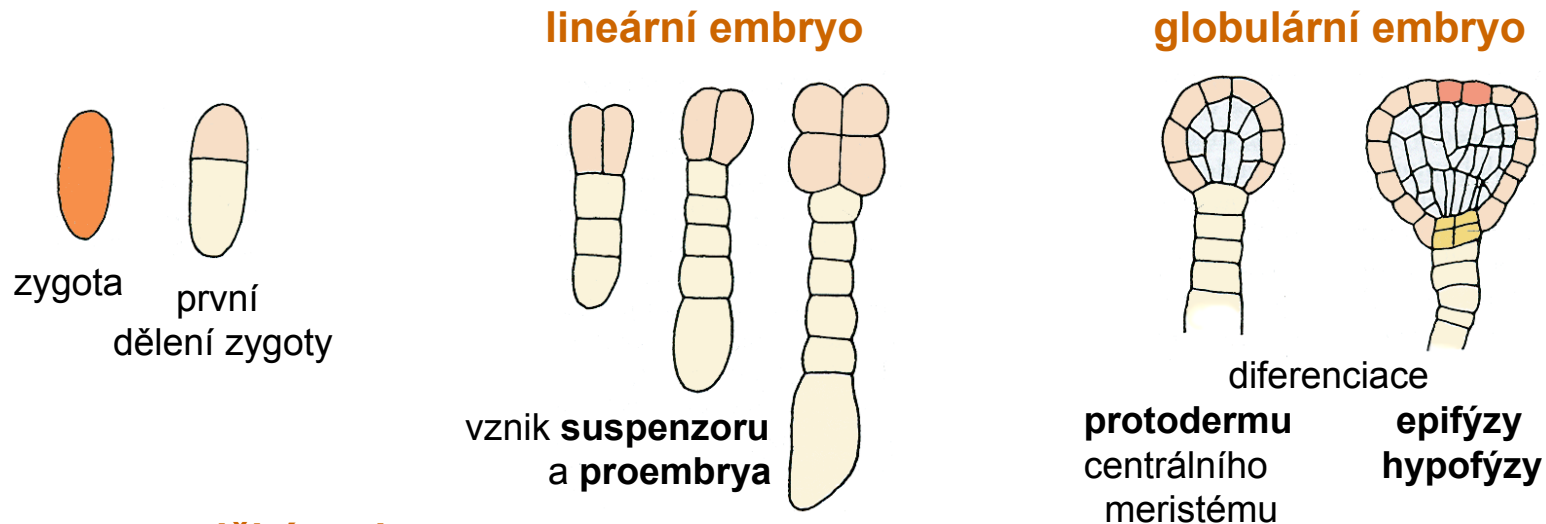


suspenzor



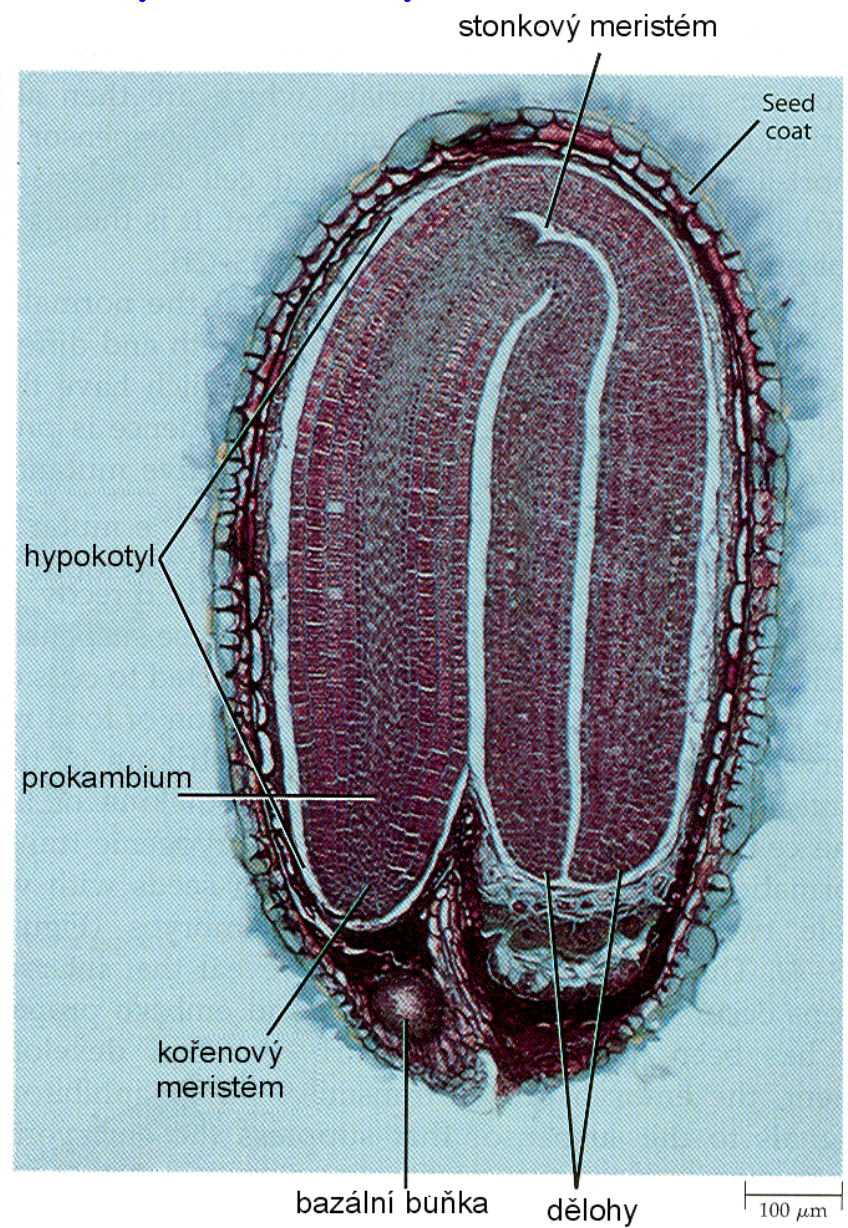
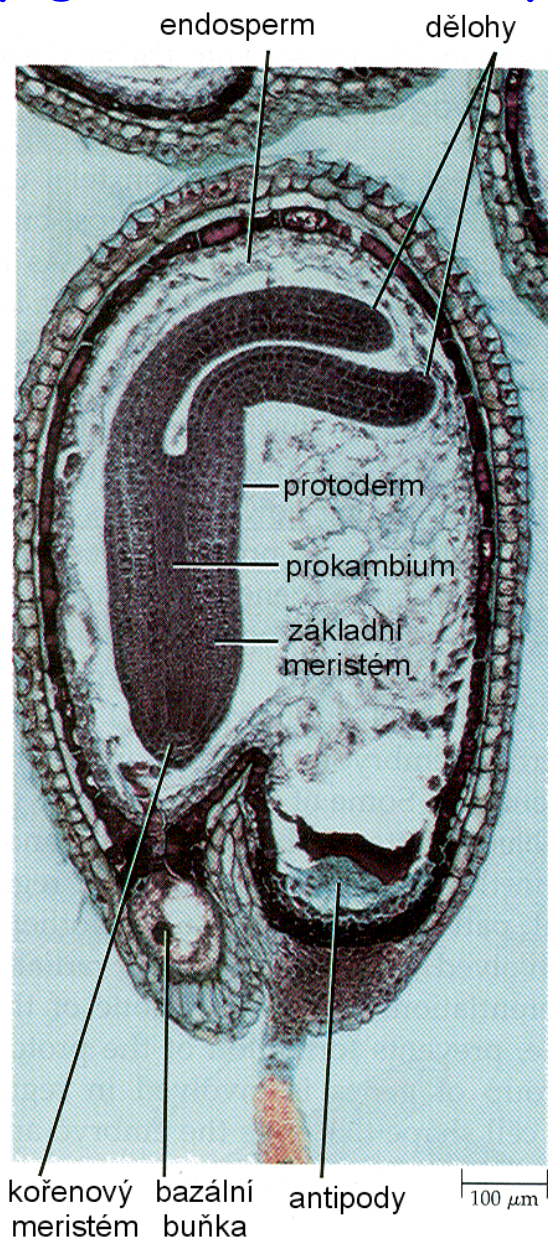
suspenzor s bazální buňkou

# Schéma embryogeneze dvouděložných krytosemenných rostlin



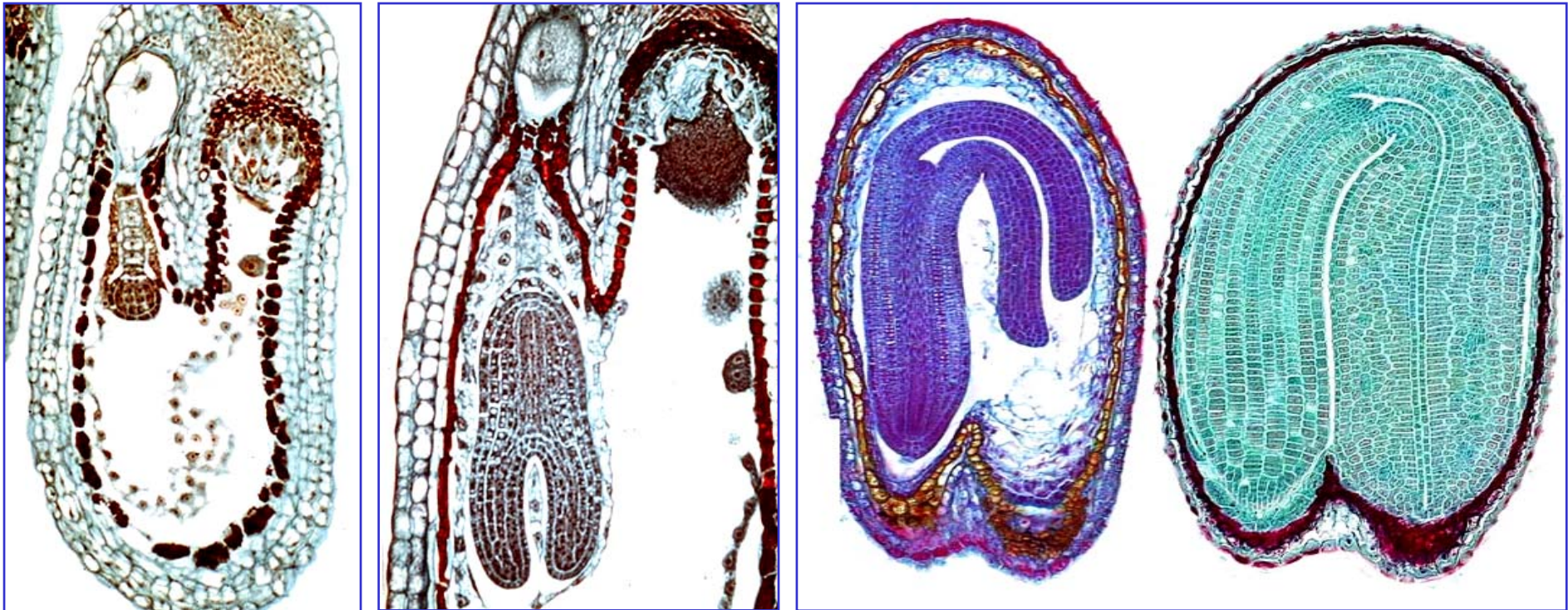
u *Arabidopsis* je **hypofýzou** buňka přiléhající suspenzoru (=derivát buňky bazální) později se dělí na horní buňku **čočkovitou** → **kořenový meristém** **spodní buňka** → **kolumela** → **kořenová čepička**

# Schéma embryogeneze dvouděložných krytosemenných rostlin



Raven, Everet et Eichhorn  
Biology of Plants. 2005

# *Capsella bursa-pastoris* - vývojová stadia embrya



globulární embryo

torpédovité embryo

starší torpédovité  
embryo

zralé embryo

<http://botit.botany.wisc.edu>

# Zrání embrya

ukládání zásobních látek

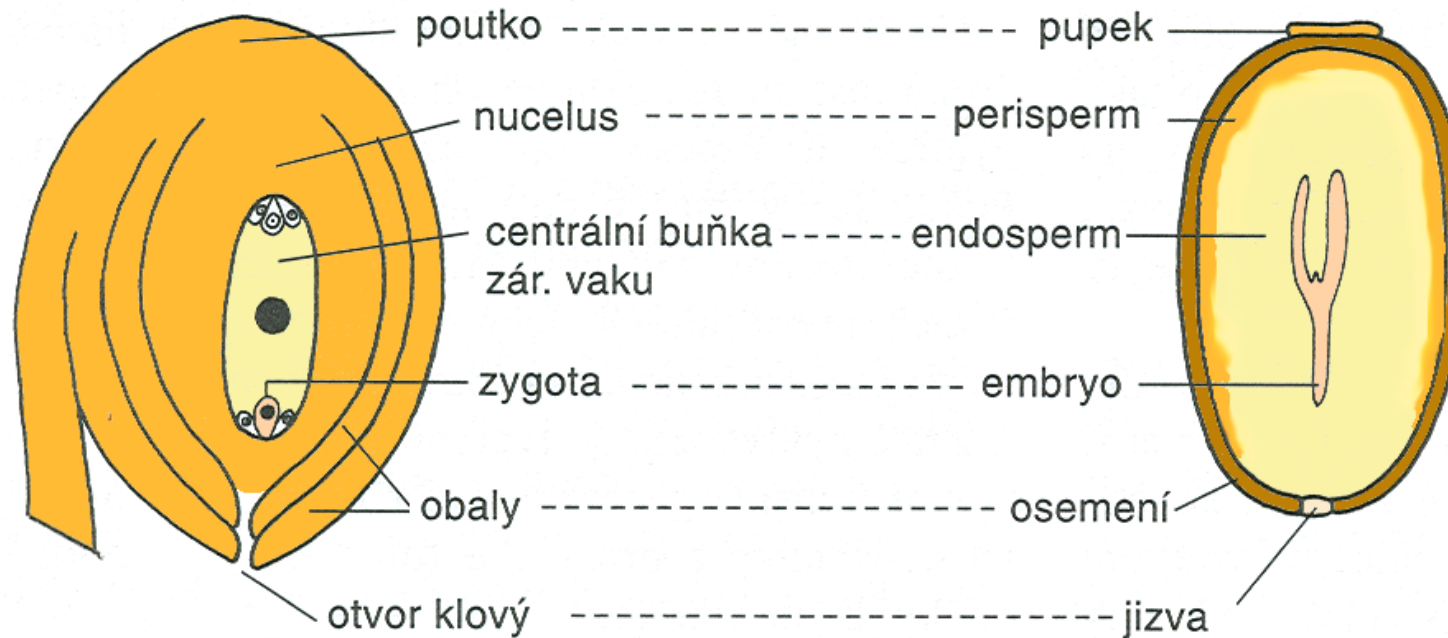
dehydratace a tvorba ochranných proteinů

(LEA = late embryo abundant)

zvýšená koncentrace inhibičních látek

(ABA = kyselina abscisová)

přeměna vajíčka a integumentů v semeno



přeměna **pestíku** (nebo jeho části) v plod

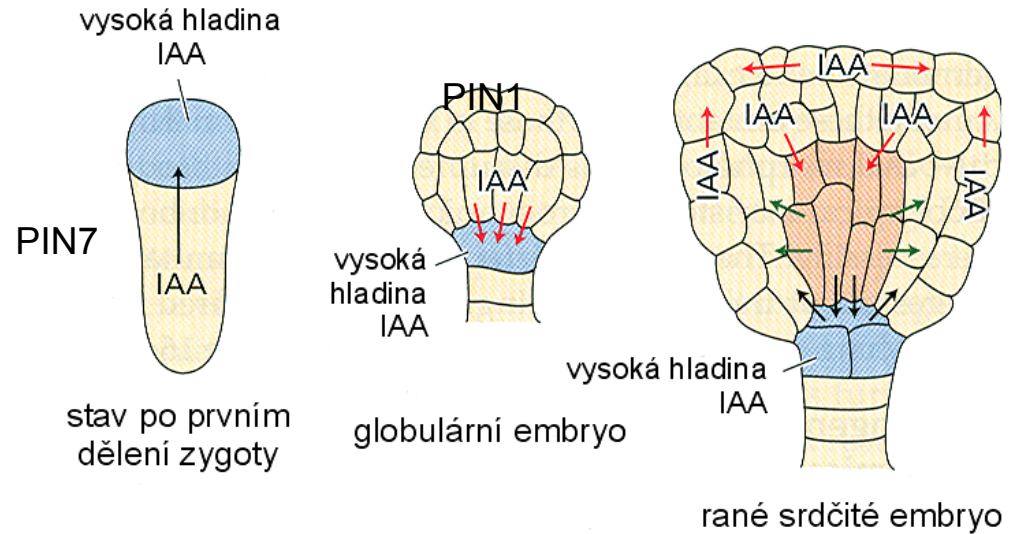
## Vstup embrya do dormance

gen *LEC1* (*LEAFY COTYLEDON1*) kóduje transkripční faktor,  
který se váže na box CCAAT  
exprimuje se od stádia oktantu po celou embryogenezi  
v embryu,  
suspenzoru  
i endospermu

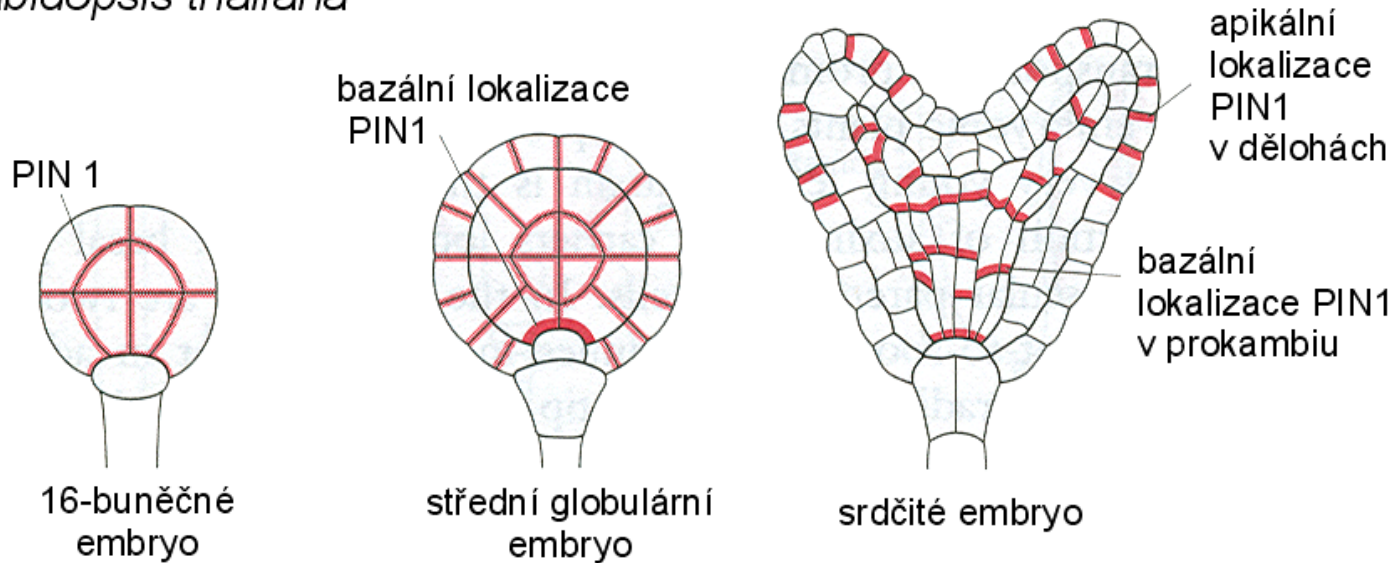
mutant *lec1* tvoří méně zásobních proteinů, nevstupuje do dormance a  
nepřežije desikaci (lze překlenout *in vitro*)  
dělohy mají charakter listů (tvoří trichomy)

v postembryonálním vývoji je gen umlčen  
ektopická exprese při klíčení → tvorba zásobních látek  
dělohy se na světle nezvětšují

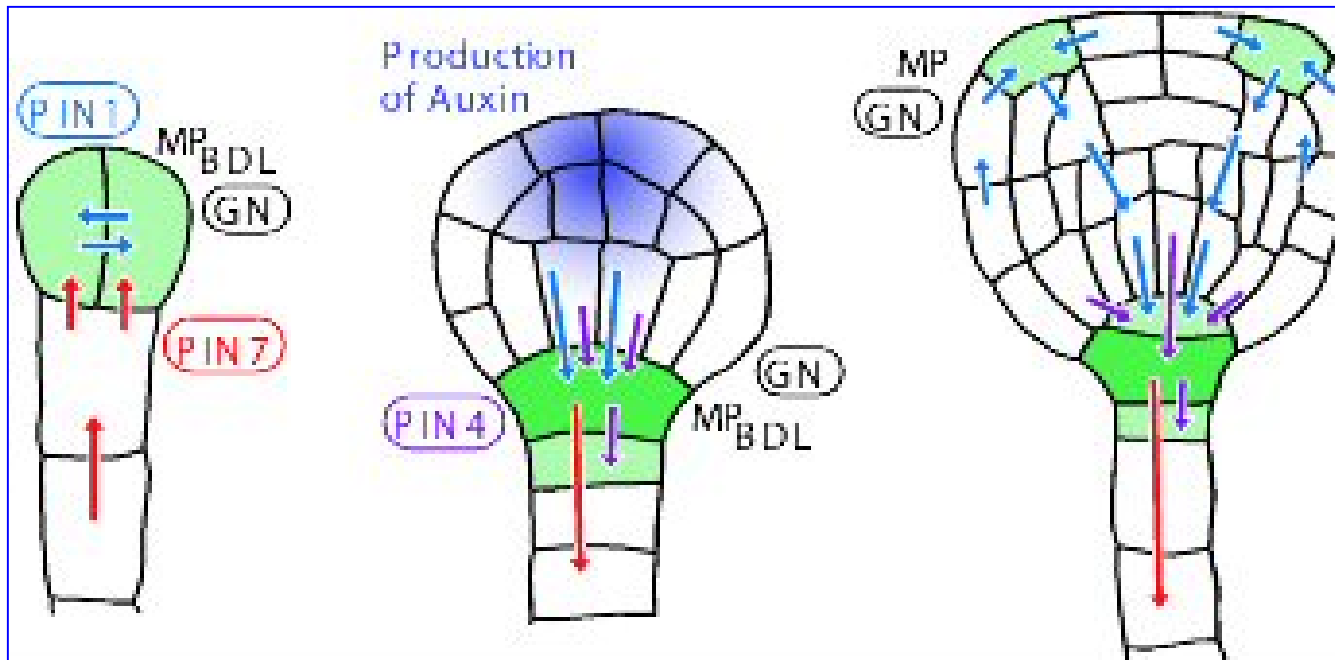
# Polarita embrya transport auxinu



## lokalizace PIN1 v embryu *Arabidopsis thaliana*



# Role distribuce auxinu při formování embrya (J. Friml)



specifikace apikálních buněk - hromadění auxinu

specifikace kořenového pólu - produkce a transport auxinu do hypofýzy a suspenzoru

specifikace základů děloh - hromadění auxinu v ve dvou místech apexu GE

*mp, bdl* - mutanty v odpovědi na auxin  
*gn* - mutant transportu auxinu

**absence kořenového pólu**



# Diferenciace kořene - nezbytný je polární transport auxinu

## geny *HBT* (*HOBBIT*)

exprimuje se v dolní tetrádě oktantu - kóduje složku ubiquitinové E3 ligázy typu APC  
- u mutantu *Arabidopsis hbt* se nedělí hypofýza, je zvýšená hladina některých **Aux/IAA**

*MP* je epistatický k *HBT*

*MP* a *BDL* se neexprimují v hypofýze, ale v jejím derivátu - buňce čočkovité

## *PLT1*, *PLT2* (*PLETHORA*)

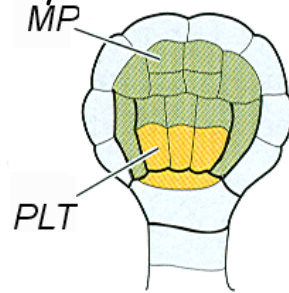
kódují transkripční faktory AP2/EREBP = ERF (etylén)

Taiz a Zeiger (2006)

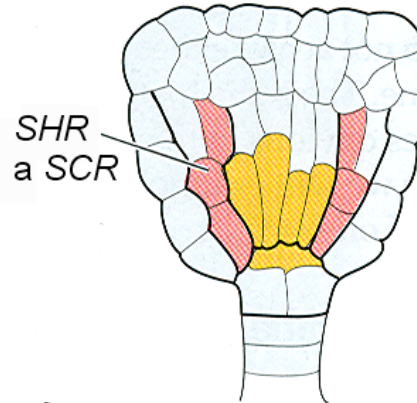
## *SHR* (*SHORT ROOT*)

## *SCR* (*SCARECROW*; strašák)

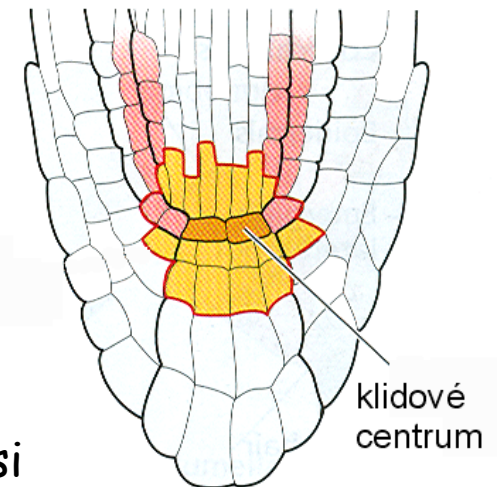
transkripční faktory skupiny **GRAS**



exprese *MP* a *PLT* závisí na IAA



*PLT* indukuje expresi *SHR* a *SCR*



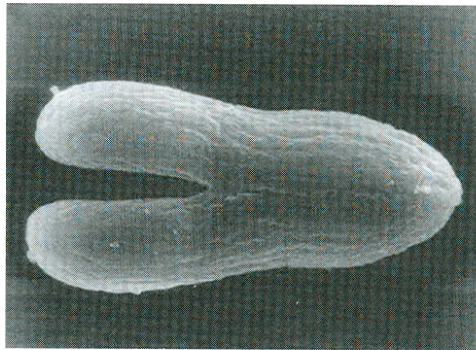
*PLT*, *SHR* a *SCR* se exprimují v klidovém centru a základu kolumely

## diferenciace kořenové čepičky

geny kódující **ARF10** a **ARF16**

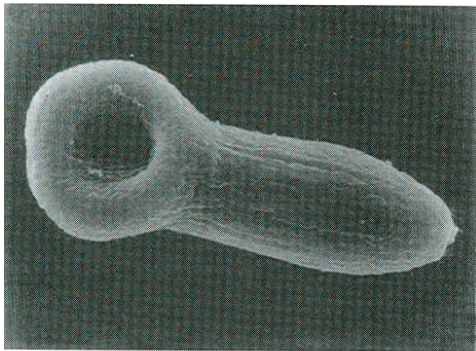
- stimulovány **auxinem** a inhibovány miRNA

# projevy poruch transportu auxinu



normální jedinec  
*Brassica juncea*

50 μm

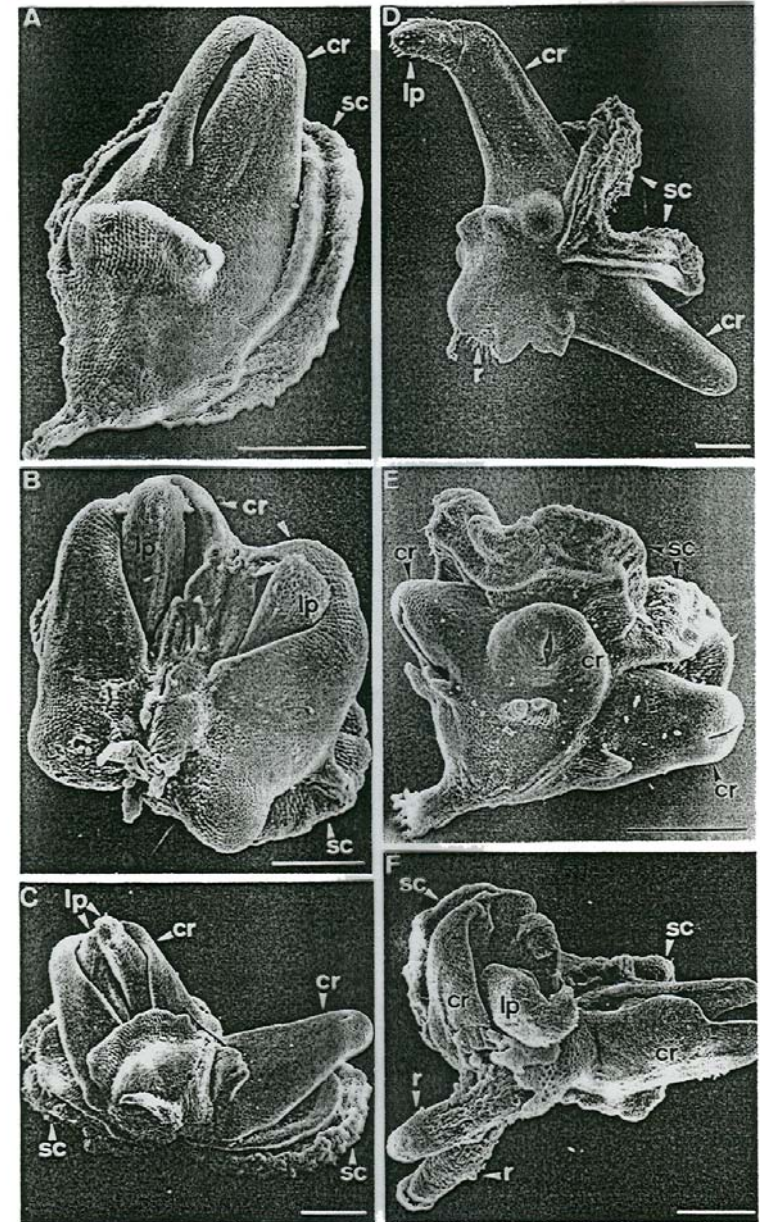


mutant *pin1*

50 μm



efekt kyseliny skořicové  
- působí inhibici transportu IAA



Vliv inhibitorů polárního transportu auxinu na vývoj zygotických embryí pšenice.  
A - 12 dní staré embryo (inhibitory neaplikovány).  
B-F - embrya po působení kyseliny N-1-naftylftalamové nebo qercetinu.  
cr - koleoptile, lp - primordium prvního listu, r - primární kořen, sc - skutelum.

Fischer C. *et al.*  
Plant Cell , 1997

# Embryogenetické typy

první dělení  
zygoty  
= **příčné**

Solanad

Chenopodiad

Caryophyllad

Onagrad

Asterad

dělení  
apikální buňky  
= **příčné**

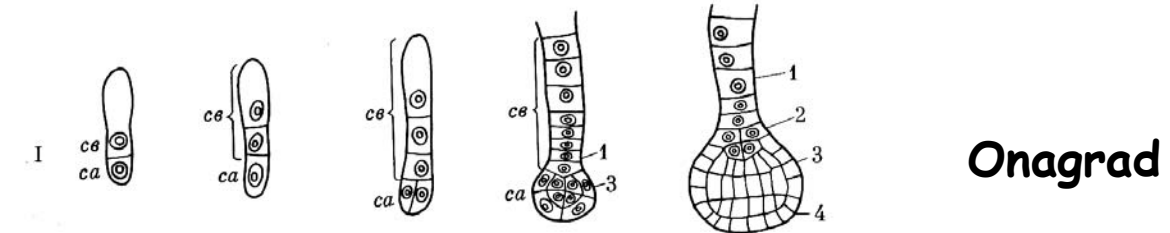
první dělení  
zygoty  
= **podélné**

Piperad

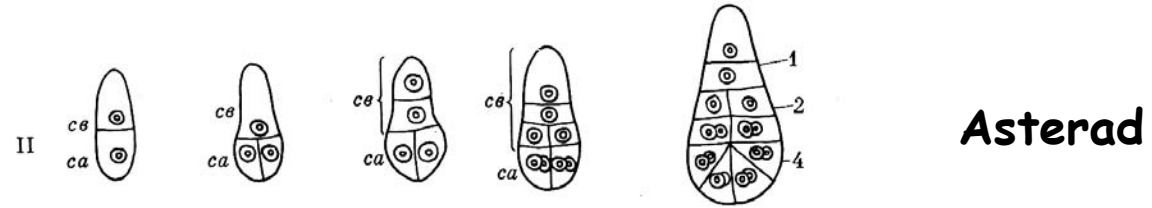
dělení  
apikální buňky  
= **podélné**

# Embryo - genetické typy

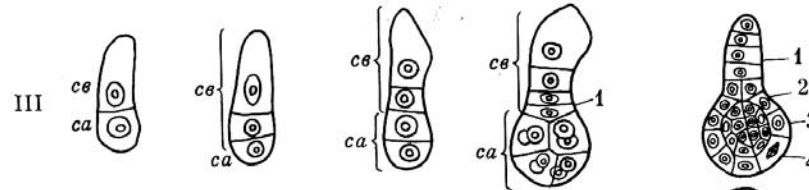
Schnarf 1929



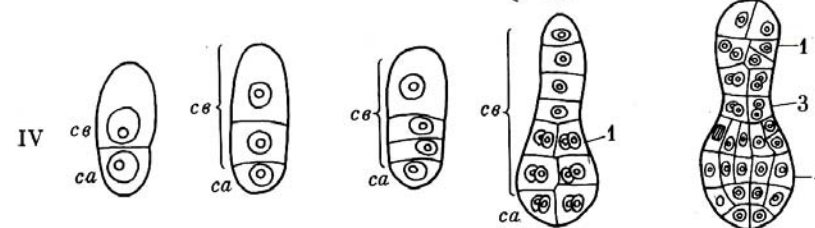
Onagrad



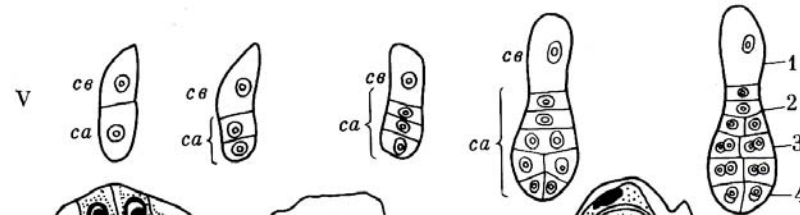
Asterad



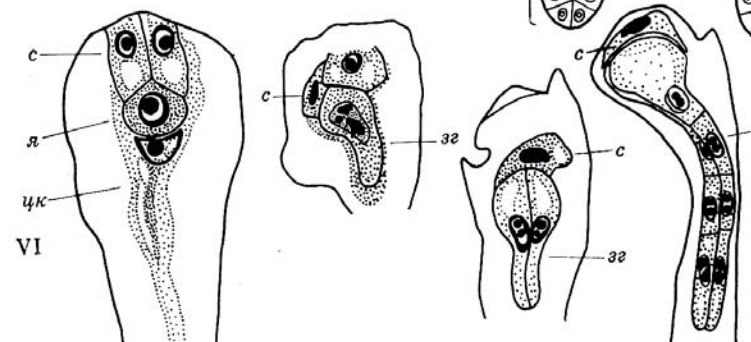
Solanad



Chenopodiad



Caryophyllad



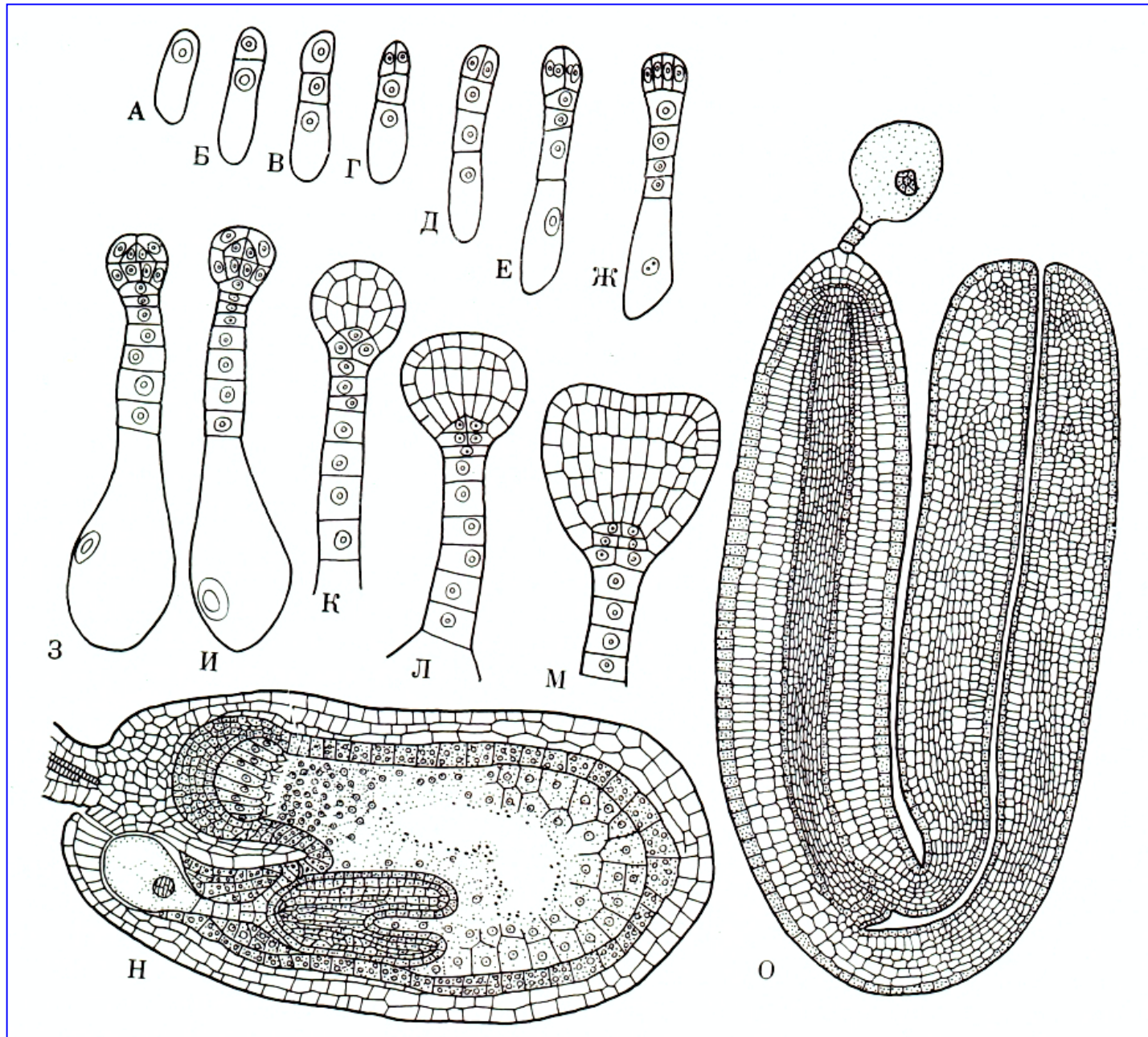
Piperad

# Výskyt embryogenetických typů

- **Solanad** - *Solanaceae* (lilek, tabák), *Papaveraceae*, *Linaceae*
- **Chenopodiad** - *Chenopodiaceae* (merlík, řepa)
- **Caryophyllad** - *Silenaceae*, *Fumariaceae*, *Viciaceae*
- **Onagrad** - *Onagraceae*, *Brassicaceae*, *Ranunculaceae*, *Lamiaceae*, *Euphorbiaceae*, *Viciaceae*, *Liliaceae*
- **Asterad** - *Asteraceae*, *Rosaceae*, *Polygonaceae*, *Liliaceae*, *Poaceae*
- **Piperad** - *Piperaceae*, *Dipsacaceae*, *Euphorbiaceae*

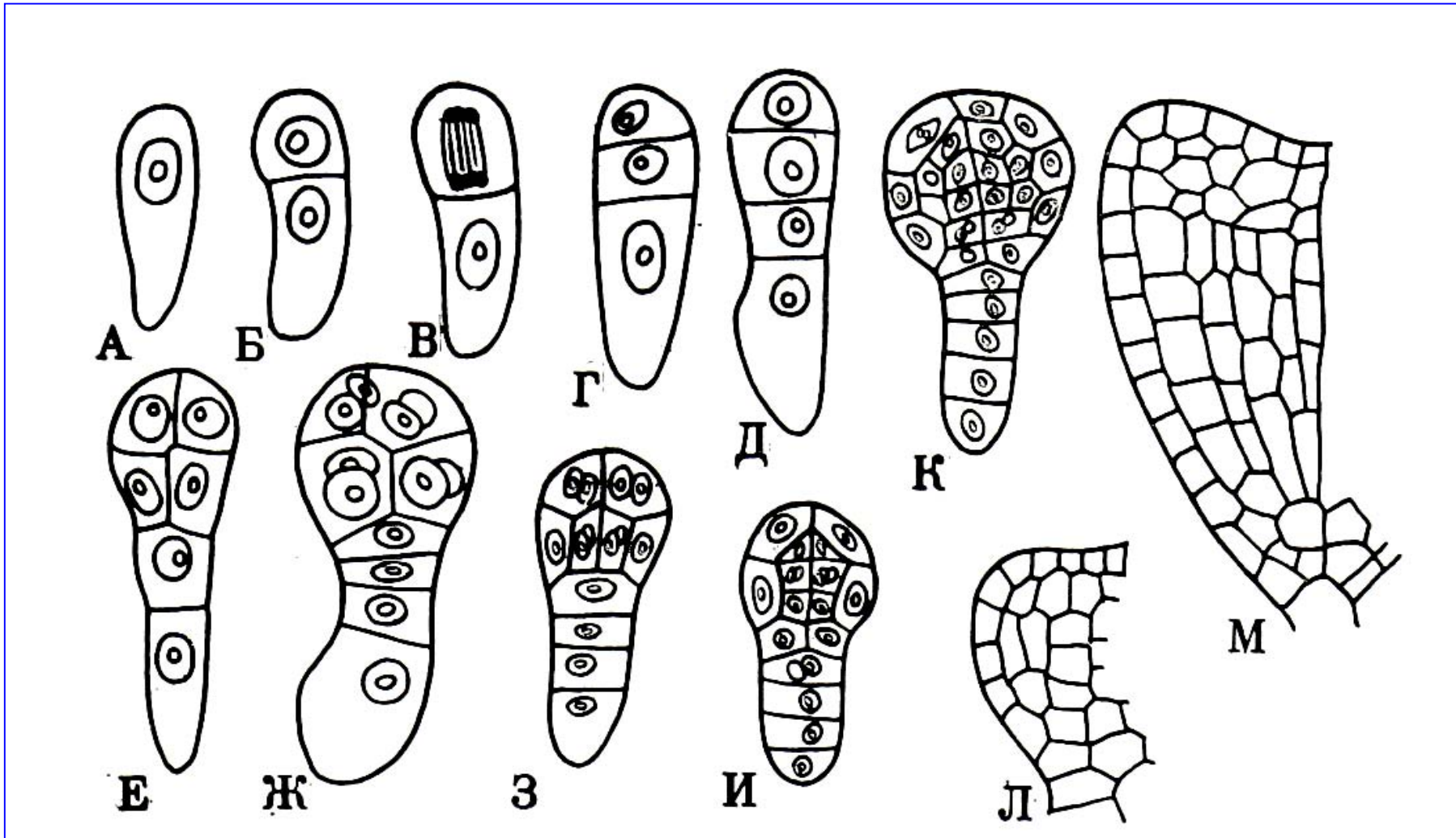
# Onagrad - *Capsella*

Poddubnaja-Arnoldi 1976



# Solanad

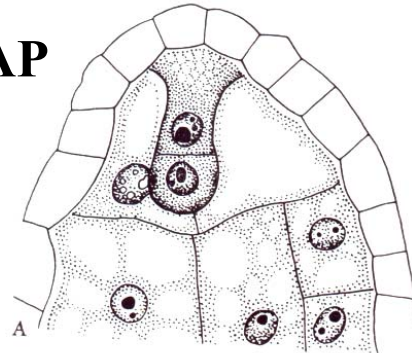
Poddubnaja-Arnoldi 1976



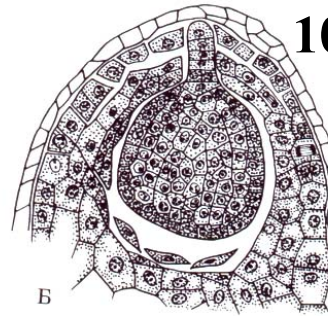
# Vývoj embrya a endospermu - *Nicotiana*

*N. ruta* ×  
*N. tabacum*

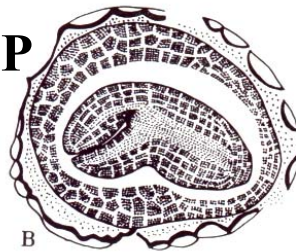
5 DAP



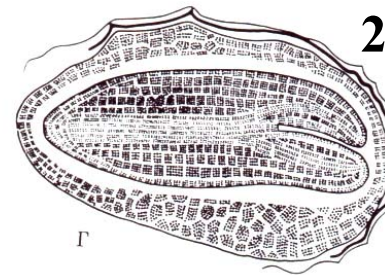
10 DAP



15 DAP

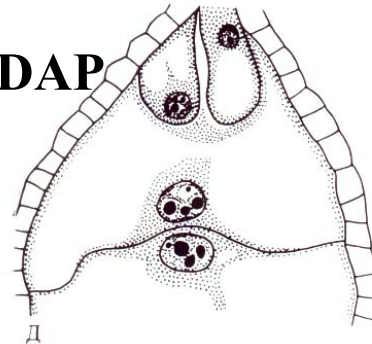


20 DAP

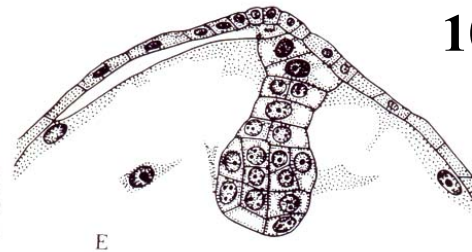


*N. tabacum* ×  
*N. ruta*

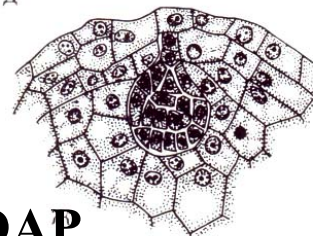
5 DAP



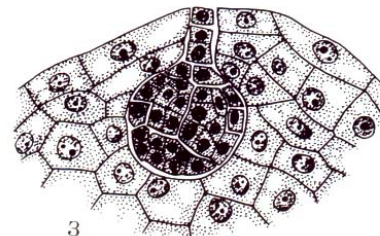
10 DAP



15 DAP



20 DAP



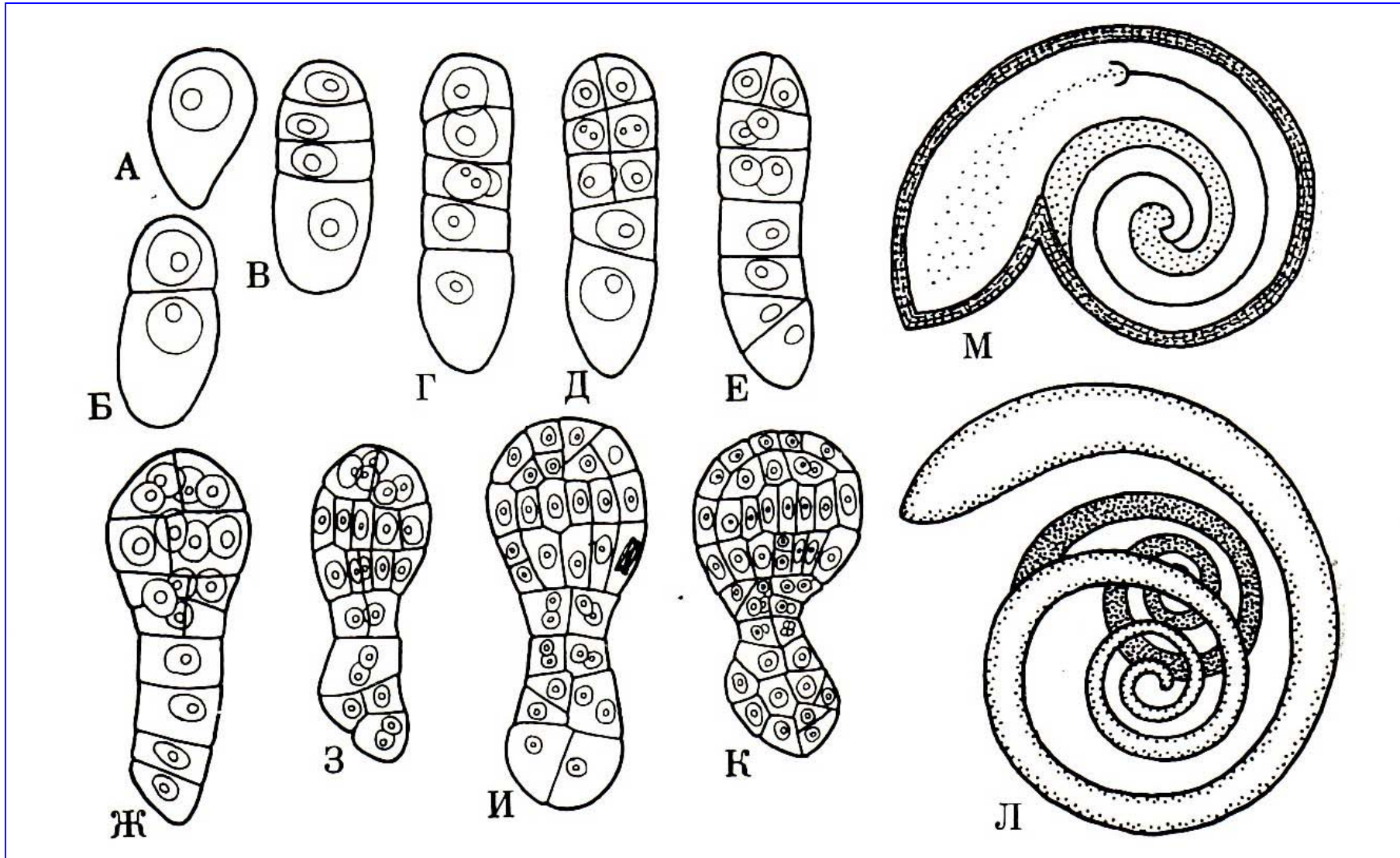
Podubnaja-Arnoldi 1976

zpomalení  
vývoje embrya  
při křížení  
tabáku s pylem  
*N. ruta*



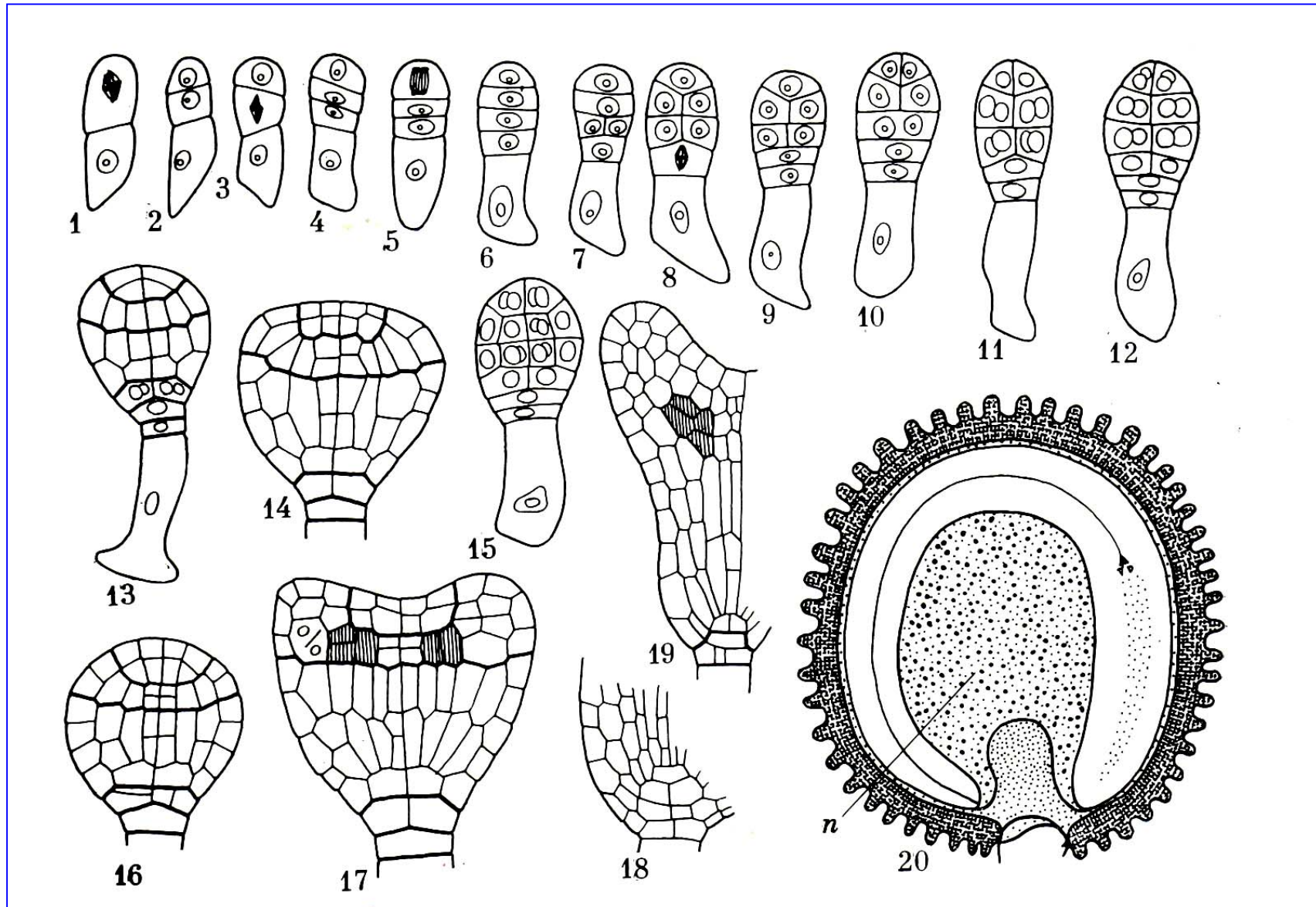
# Chenopodiad

Poddubnaja-Arnoldi 1976

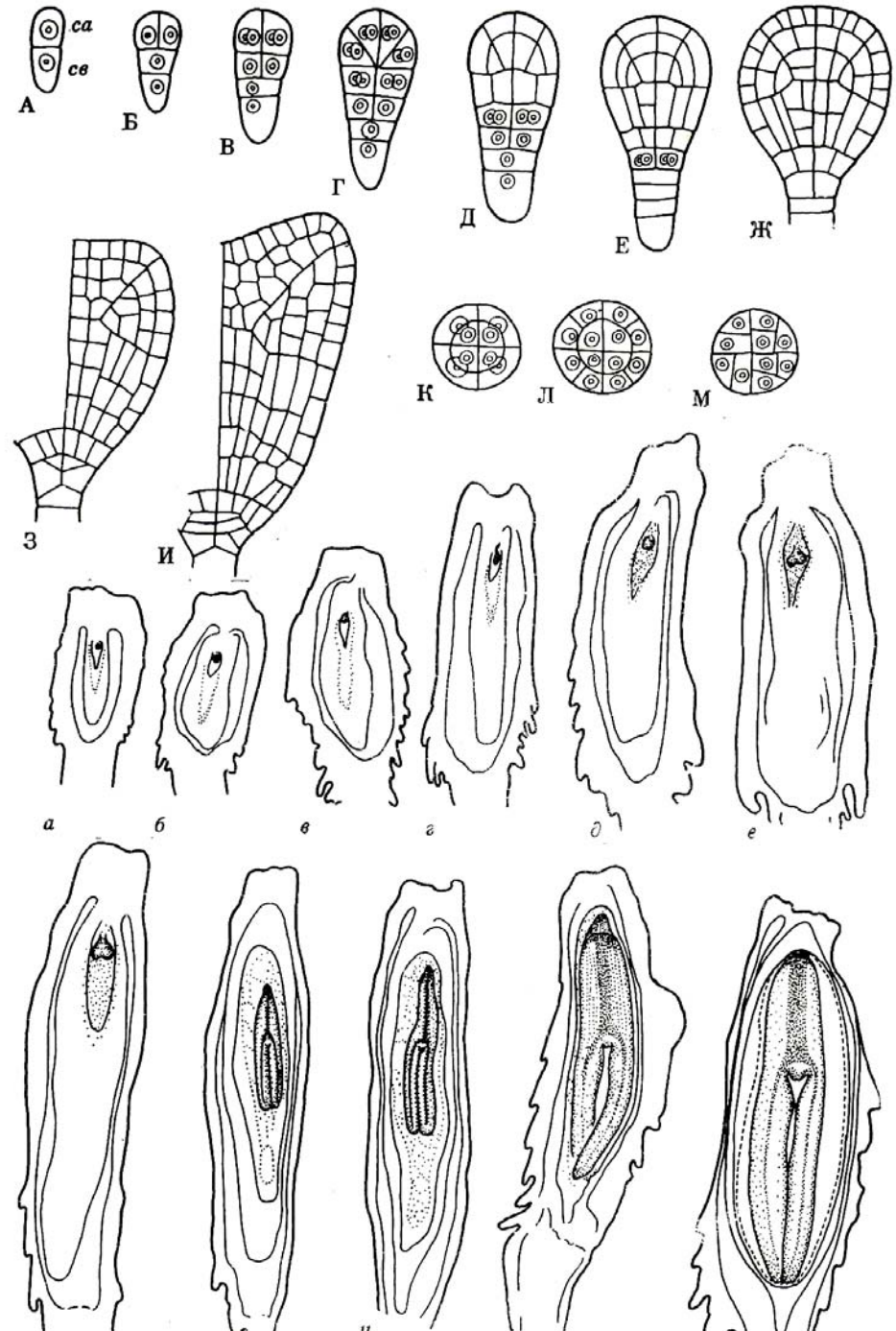


# Caryophyllad (*Sagina*)

Poddubnaja - Arnoldi 1976

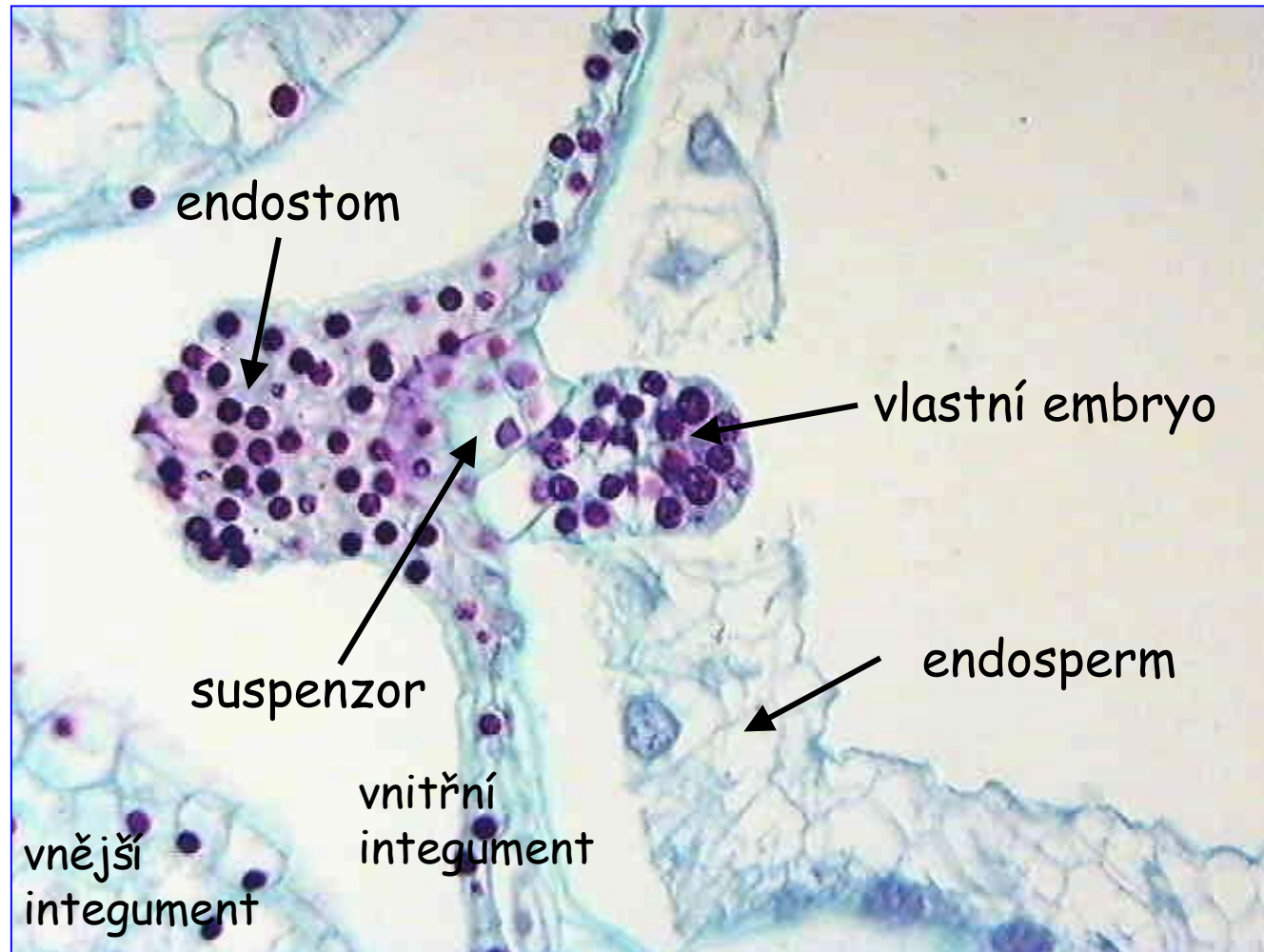


# Asterad



Poddubnaja-Arnoldi 1976

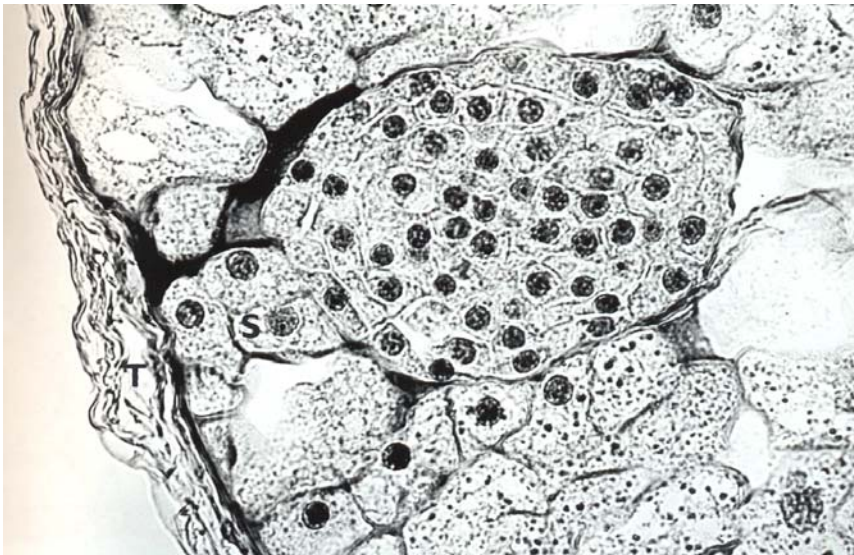
# Embryo lilie (*Lilium*)



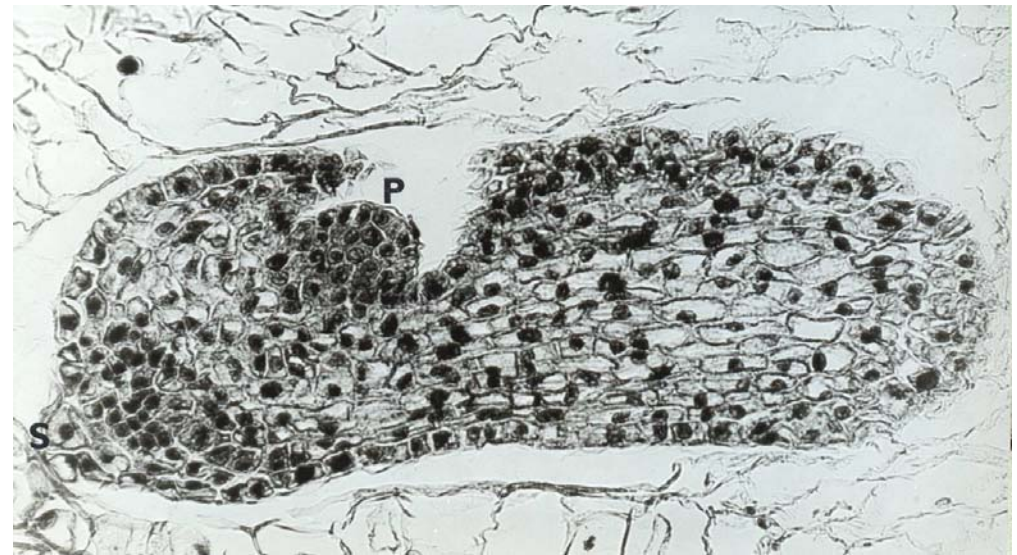
IASPRR

embryo jednoděložné rostliny v globulární fázi vývoje

# Embrya jednoděložných rostlin

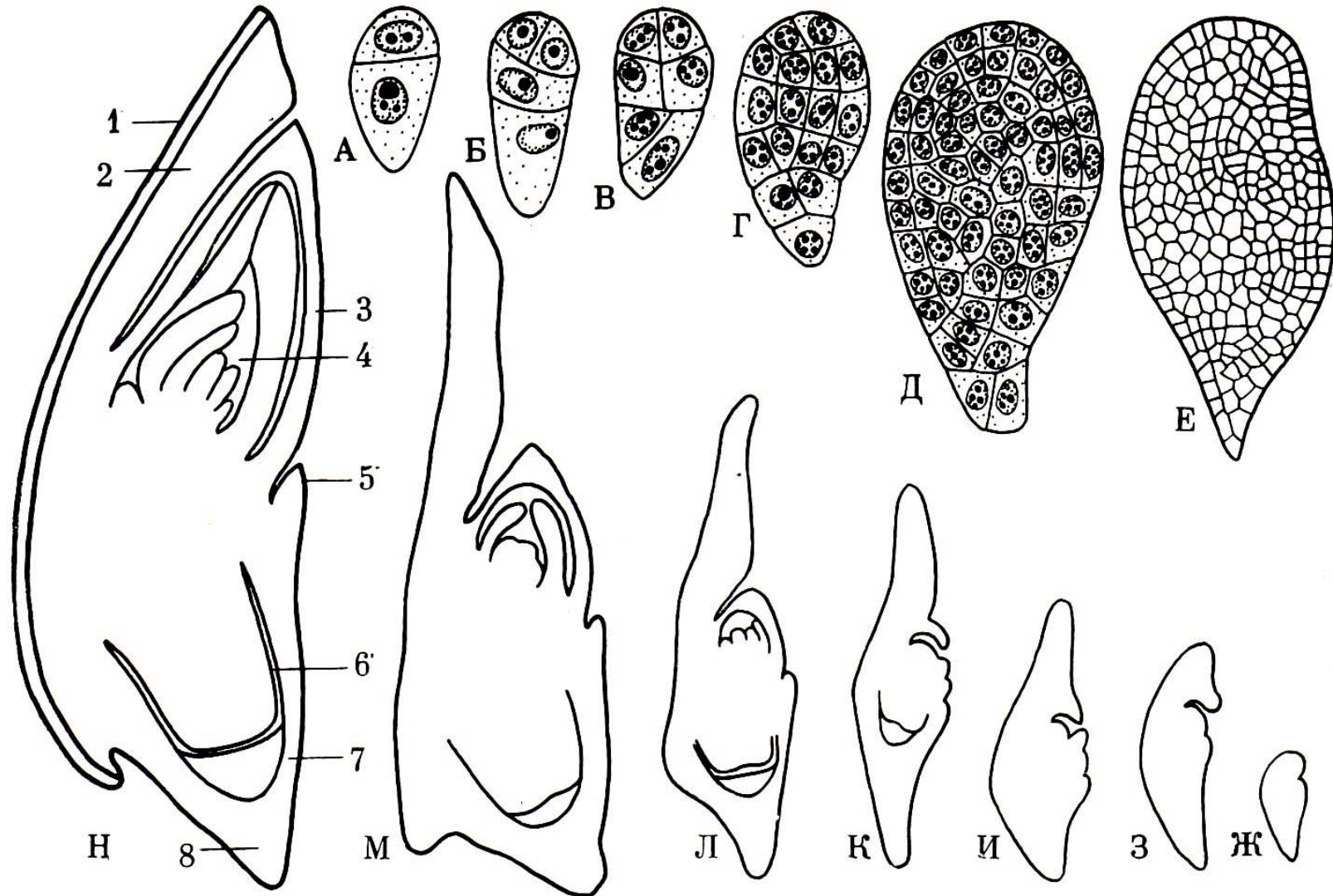


*Galanthus nivalis*



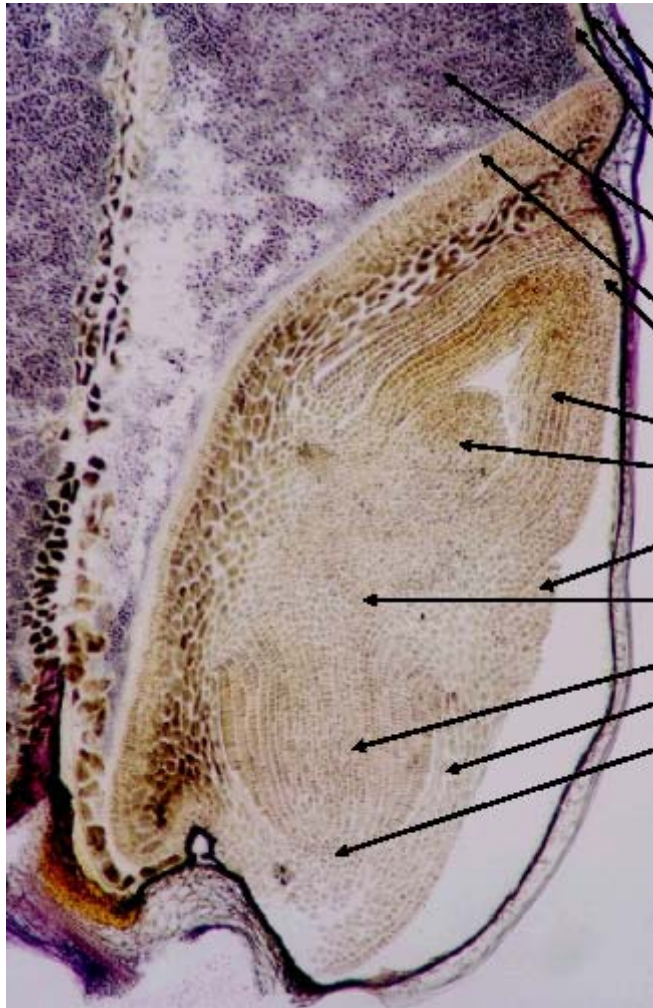
*Narcissus pseudonarcissus*

# Embryogeneze u kukuřice



Podlubnaja-Arnoldi 1976

# Podélný řez obilkou pšenice



perikarp } u obilek srůstá  
testa }

aleuronová vrstva

endosperm

**embryo:**

šíték (scutellum)

koleoptile

list

plumula

epiblast (rudiment 2. dělohy)

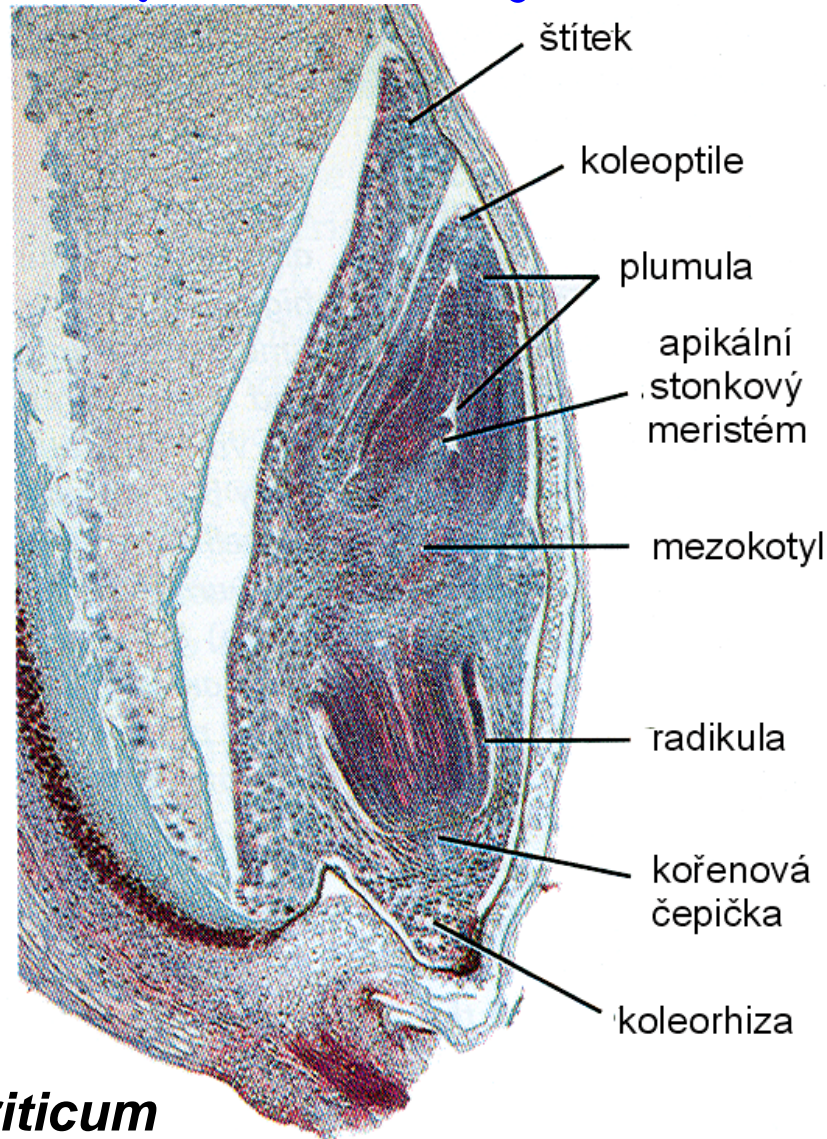
mezokotyl

radikula

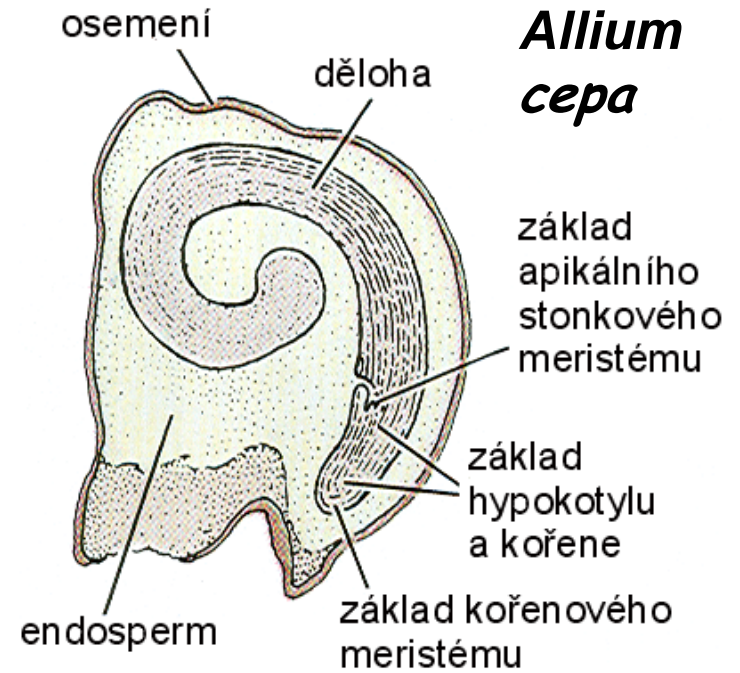
koleorhiza

kalyptra

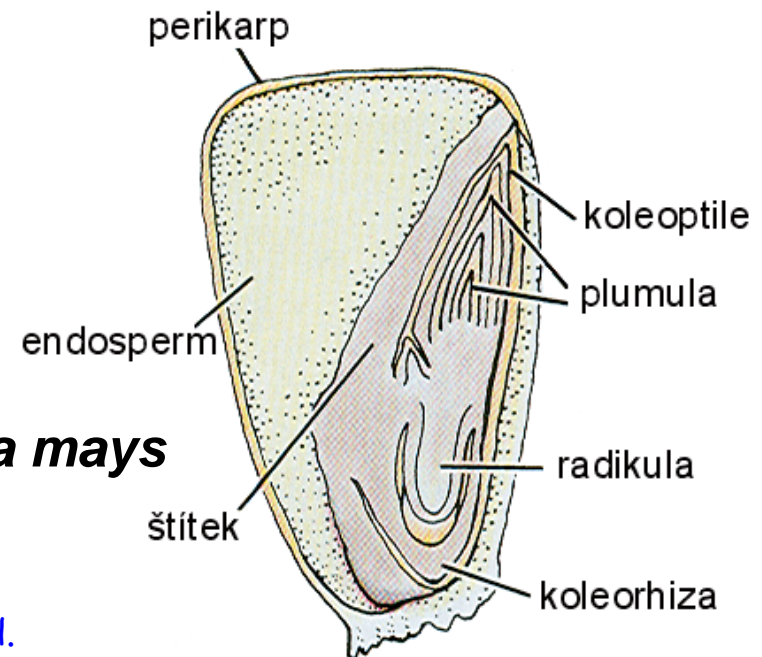
# Embrya rostlin jednoděložných



***Triticum***



***Allium cepa***



***Zea mays***



# Robert Brown

(1773 -1858)

skotský botanik

- zavedl pojem **nucellus** (kolem 1830), považoval jeho pletivo za výživu embrya a nazýval jej **albumen primarium**.
- Pro **endosperm**, který se tvoří ve vznikajícím semeni, používal termín **albumen secundarium** (= dnešní označení primární a sekundární živné pletivo).
- popsal, že embryo je radikulou vždy orientováno k mikropyle



# Endosperm rostlin krytosemenných

pletivo obklopující a vyživující embryo v průběhu vývoje  
počátek vývoje = **konfluace** - oplození centrální buňky zárodečného vaku = vznik primární endospermální buňky

**typy endospermu** podle způsobu dělení:

- **jaderný (nukleární)** - zpočátku volnojaderné dělení, později **celularizace** - výskyt u jednoděložných i dvouděložných rostlin (*Brassicaceae* - *Capsella*, *Galanthus*, *Cocos*),
- **buněčný (celulární)** - po každém dělení jádra tvorba buněčné stěny - častější u dvouděložných (*Viciaceae*, *Solanaceae*, *Campanulaceae* - *Jasione*)
- **helobiální** - po prvním dělení vznik přepážky, v každé pak probíhá volnojaderné dělení - častější u jednoděložných (*Juncus*, *Najas*)

endosperm může i chybět (*Orchidaceae*, *Trapaceae*)

# Endosperm

**ploidie** - záleží na typu zárodečného vaku:

obecně 3N, u *Oenothera* 2N

u typů *Fritillaria*, *Peneia*, *Peperomia* polyploidní (extrém 300N)

**složení:**

**zásobní látky**

**polysacharidy** (škrob, galaktomananové hemicelulózy u datle, luštěnin)

**proteiny** (proteinová tělíska - fragmenty ER, vakuoly) - zásobní, funkční

**lipidy** (tuky a oleje - lipidová tělíska oleozomy)

**fytin** - hexafosfátový ester *myo*-inozitolu, Ca a Mg sůl

# Endosperm

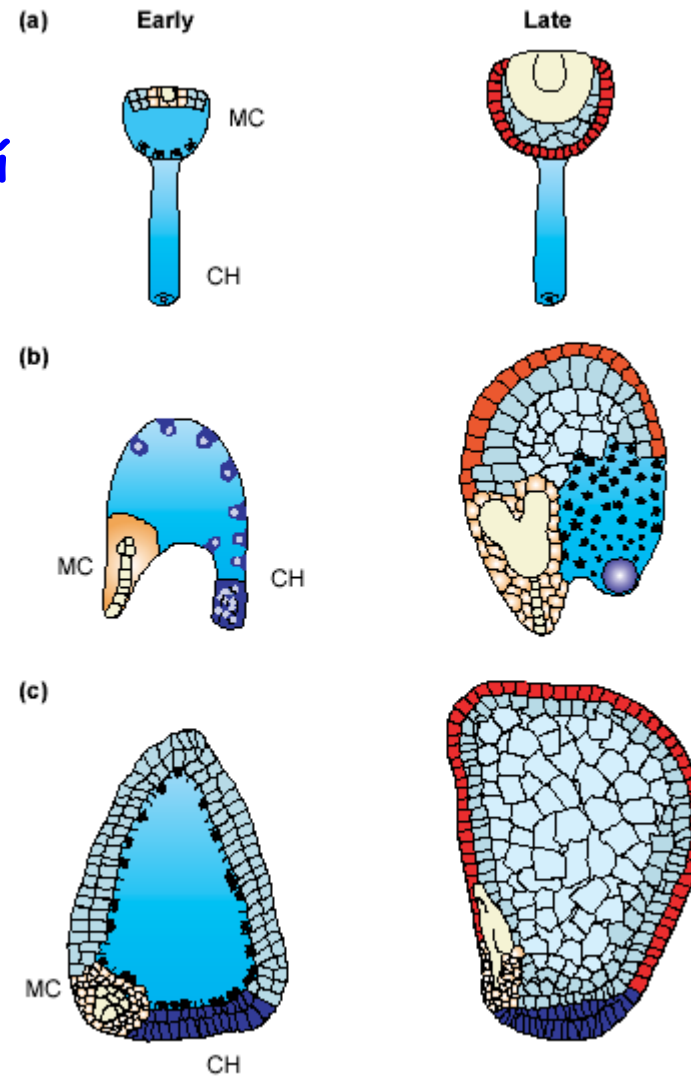
dočasný - v průběhu dozrání embrya je „spotřebován“ =  
bezbílečnatá semena

v semeni přetrvává v době zralosti embrya = bílečnatá semena

zbytek nucellu v době zralosti embrya = perisperm

# Typy endospermu

helobiální



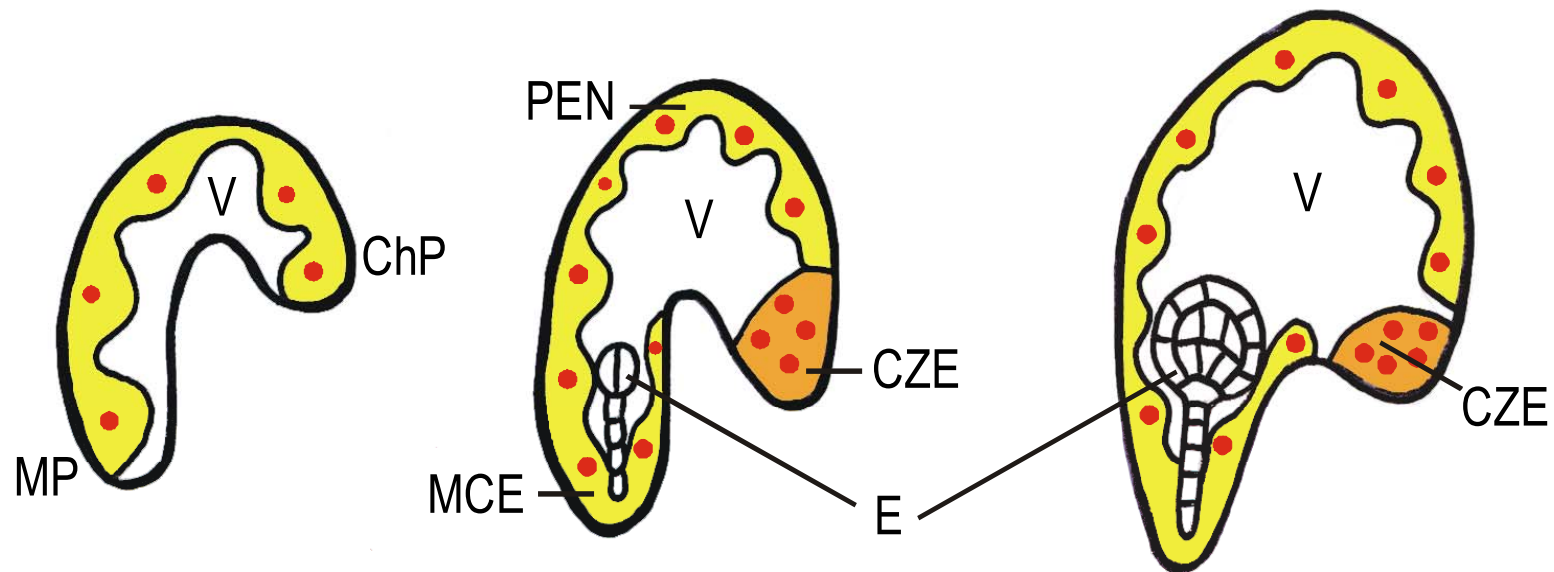
buněčný

jaderný  
převládá

jaderný u kukuřice

Costa et al. TIPS 2004

# Raná stadia vývoje jaderného endospermu u *Arabidopsis* (coenocyt)



**MP** - mikropylární pól

**V** - vakuola

**ChP** - chalazální pól

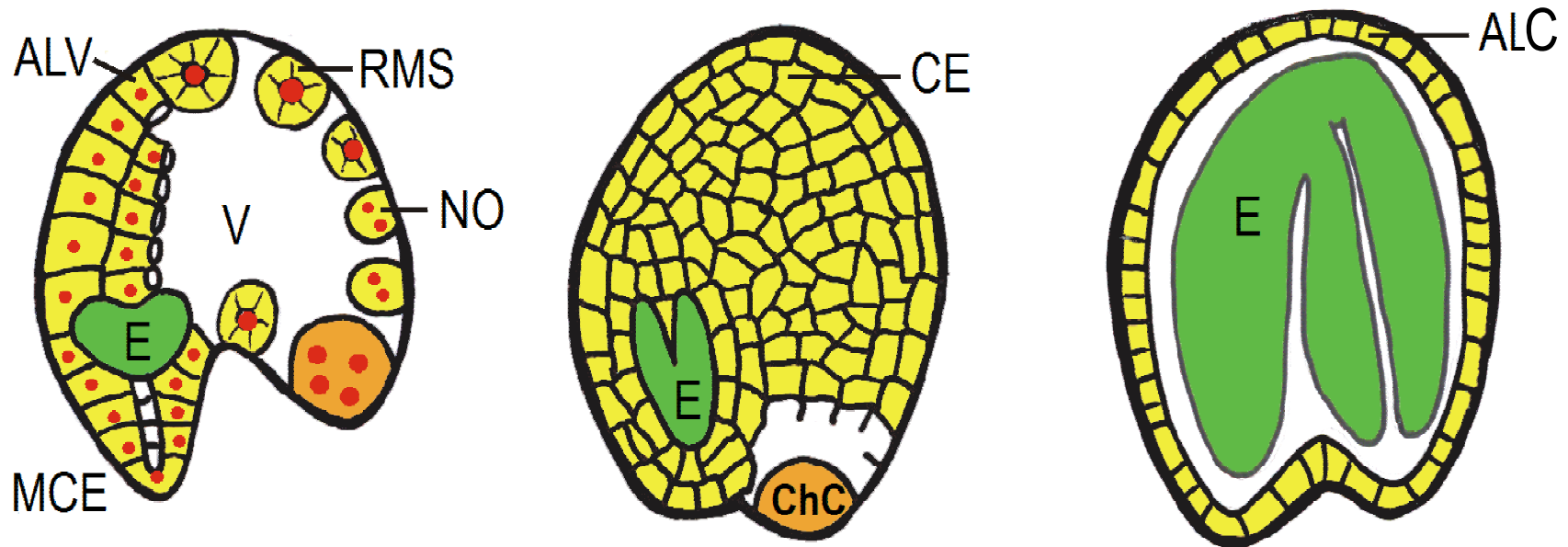
**E** - embryo

**MCE** - mikropylární endosperm

**PEN** - periferální endosperm

**CZE** - chalazální endosperm

# Celularizace endospermu u *Arabidopsis*



MCE -mikropylární buněčný endosperm

ALV - alveoly

RMS - radiální mikrotubulární systém

NO - endospermální noduly

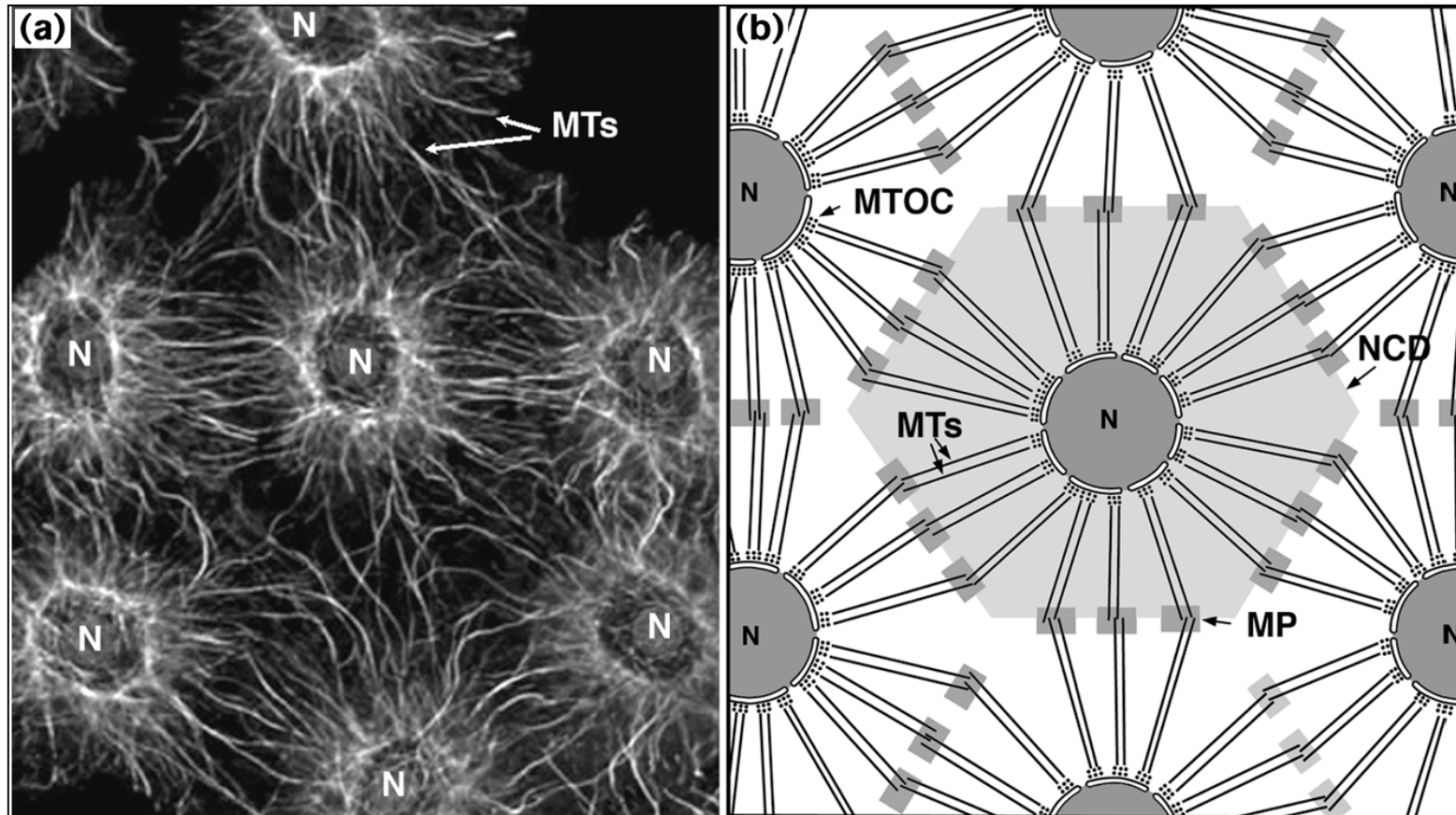
E - embryo

CE - buněčný endosperm

ChC - chalazání cysta

ALC - „aleurone-like cells“

# Celularizace jaderného endospermu



jaderný endosperm  
*Coronopus didymus*  
čel. *Brassicaceae*

NCD - nukleo-cytoplazmatická doména  
MP - minifragmoplast  
MTOC - centrum organizující mikrotubuly  
MT - mikrotubuly  
N - jádro

Otegui M., Staehelin A.: Cytokinesis in flowering plants: more than one way to divide a cell. *Curr. Opin. plant Biol.* 3 (2000): 493 - 502



# Celularizace jaderného endospermu

**MP** - minifragmoplast

**MT** - mikrotubulus

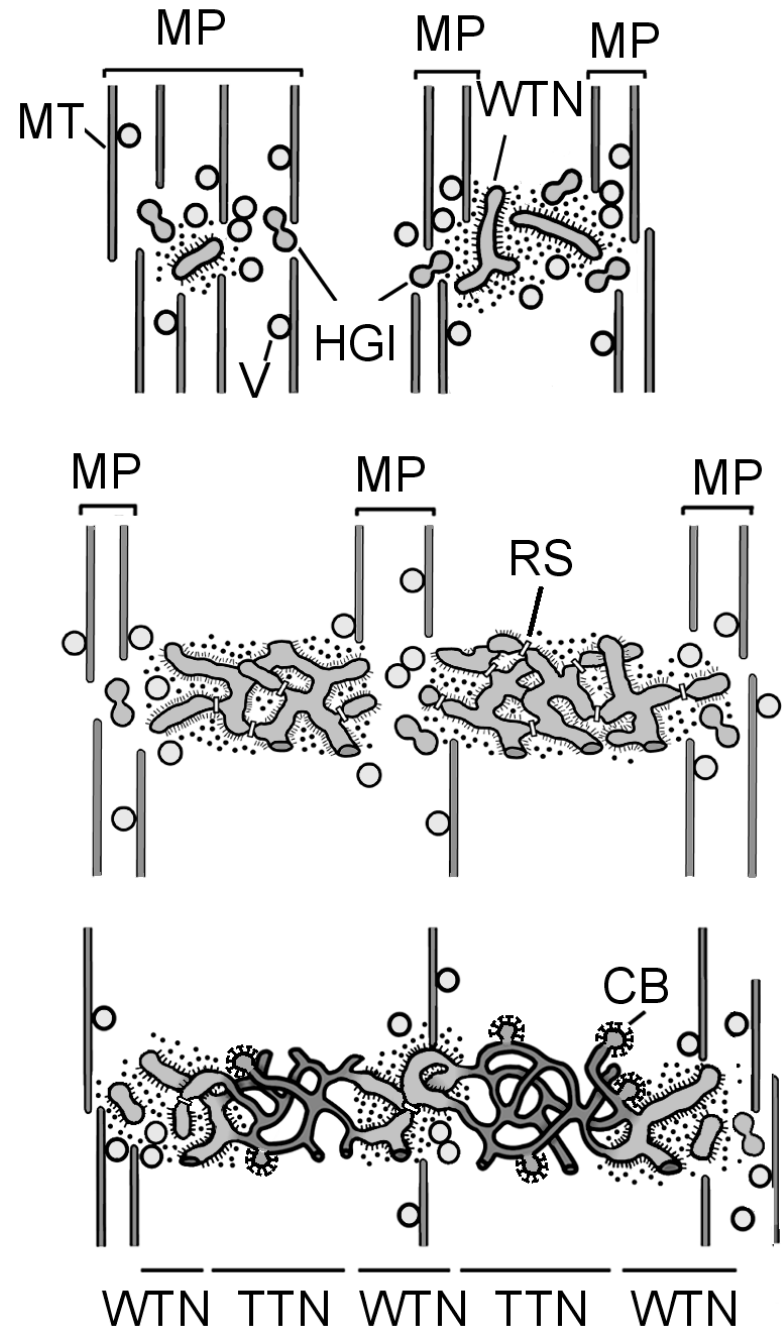
**HGI** - fúze váčků typu přesýpacích hodin (angl. *hourglass intermediates*)

**RS** - ring-like structure

**WTN** - síť širokých tubulů

**TTN** - síť tenkých tubulů

**CB** - klatrinové vezikuly tvořící se na membráně (angl. *clathrin-coated budding vesicle*)



# Geny důležité pro vznik endospermu

*DME* (*DEMETER*)

*MEA* (*MEDEA*)

*FIS* (*FERTILISATION INDEPENDENT SEED*)

*FIE* (*FERTILISATION INDEPENDENT ENDOSPERM*)

*DME* exprimován pouze v centrální buňce zárodečného vaku,  
demetyluje = aktivuje *FIS1/MEA* a *FIS2*

*FIS*: *FIS1/MEA* (metyltransferáza H3-K27me)

*FIS2* (transkripční faktor Zn-prsty)

*FIS3/FIE* (protein WD-40 - interakce s proteiny)

# Apomixe u kvetoucích rostlin

objev apomixe (Smith, 1841) =  
samičí rostliny *Alchornea ilicifolia*  
(*Euphorbiaceae*) z Austrálie  
tvořily semena v Kew Gardens  
v Londýně (bez přítomnosti  
samčích rostlin)



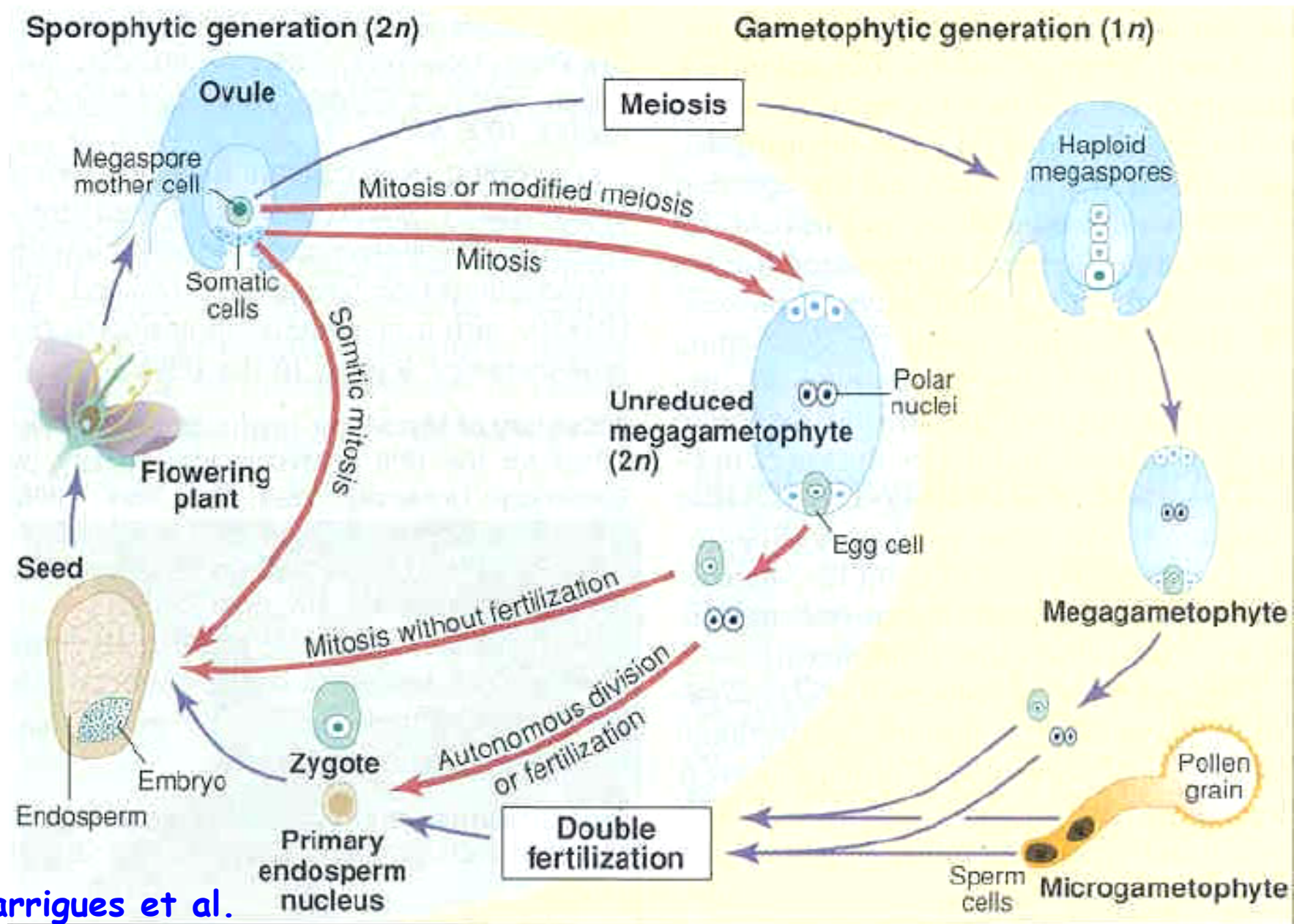
1908 Winkler termín apomixis = "substitution of sexual  
reproduction by an asexual multiplication process without  
nucleus and cell fusion"

současný náhled: apomixis je synonymem termínu  
"agamospermie" (Richards, 1997)

# Význam apomixe

- umožňuje tvorbu velkých **geneticky uniformních** populací
- zachovává **hybridní vigor** v následných semenných generacích
- plánuje se:
  - rychlá tvorba a **množení** nejlepších odrůd
  - **redukce** nákladů a času při šlechtění
  - překonání problémů spojených s pohlavním rozmnožováním, jako jsou opylovači, kros-kompatibilita
  - redukce přenosu virů u vegetativně množených plodin

# Srovnání pohlavního rozmnožování a apomixe

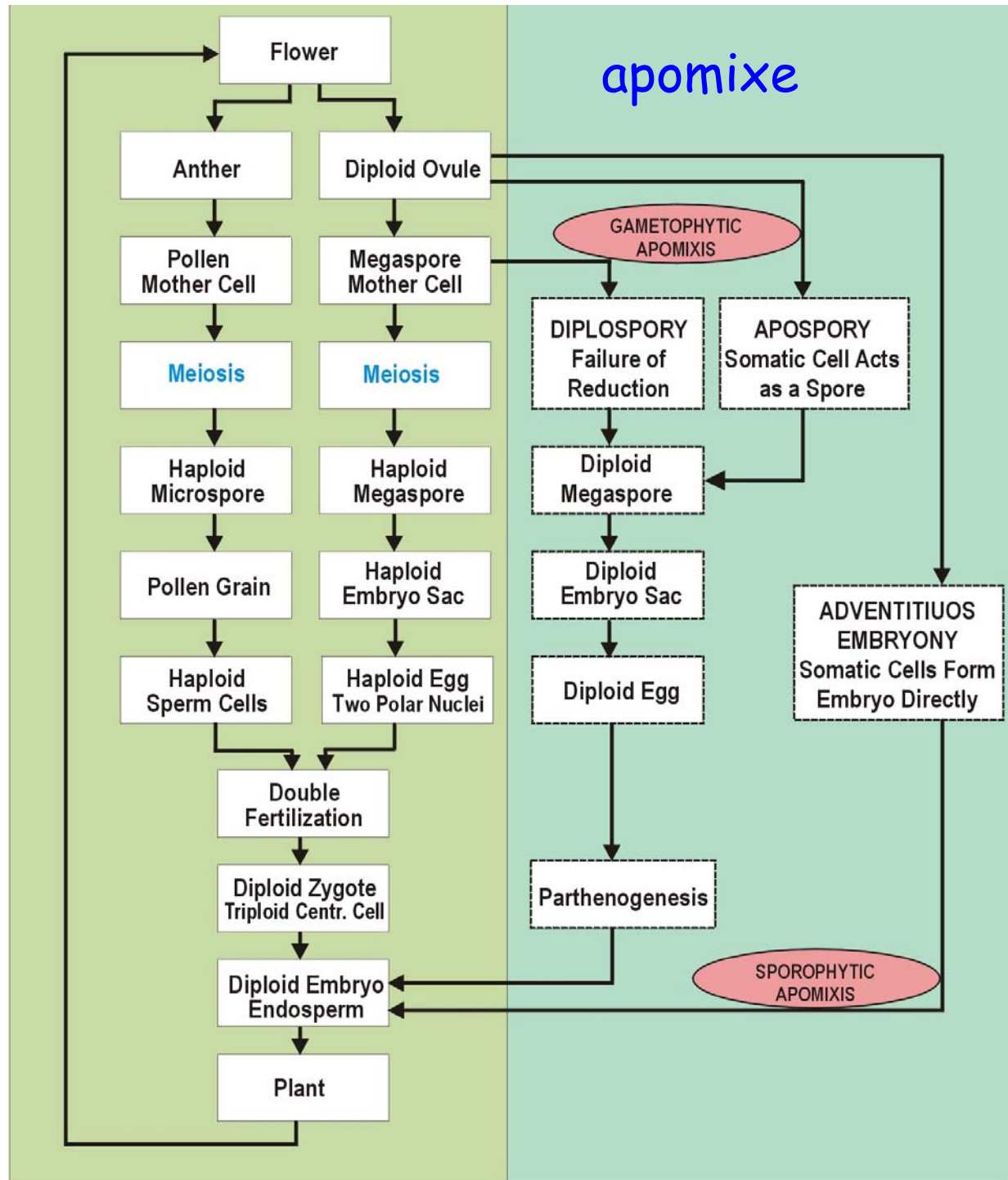


# Mechanismy apomixe

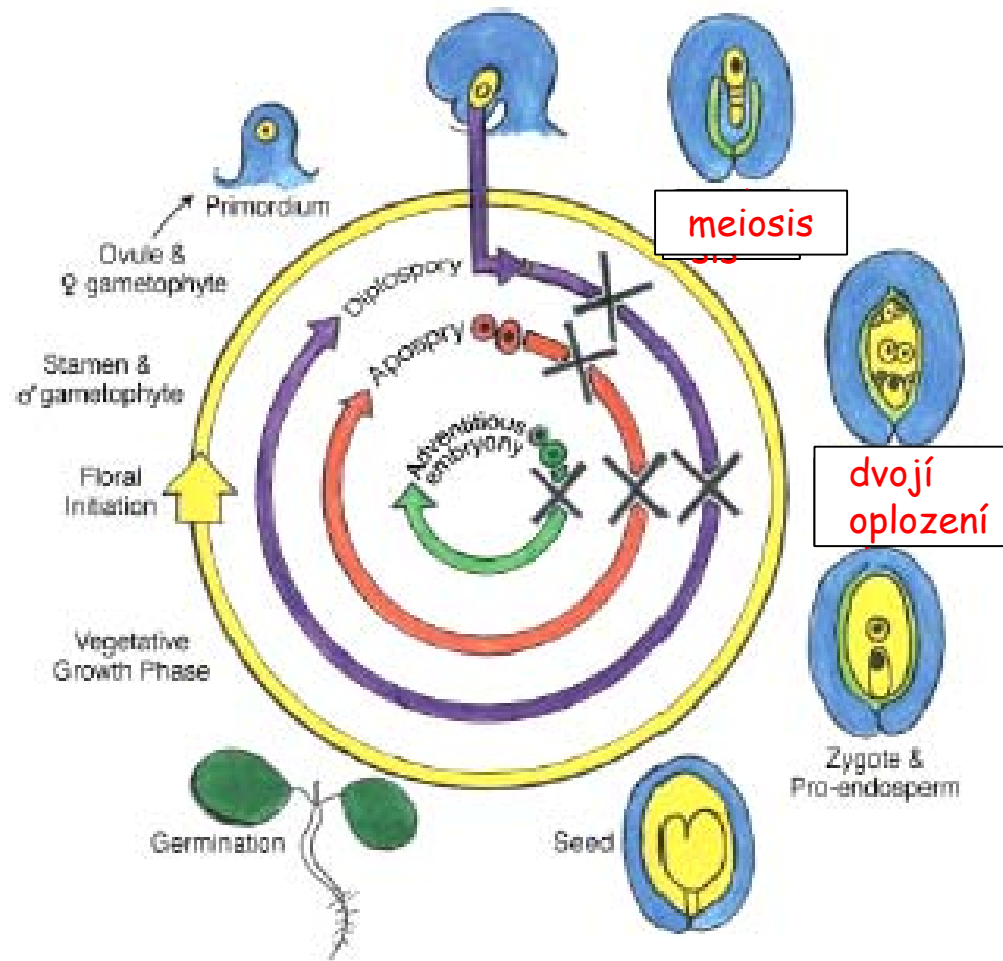
- tvorba buněk schopných tvořit embryo bez předcházející meiosis (**apomeiosis**),
- spontánní tvorba embrya nezávislá na oplození (**parthenogenesis**)
- schopnost autonomně produkovat endosperm nebo využití endospermu vyvíjejícího se po oplození

Koltunov 1993

# Srovnání pohlavního rozmnožování a apomixe

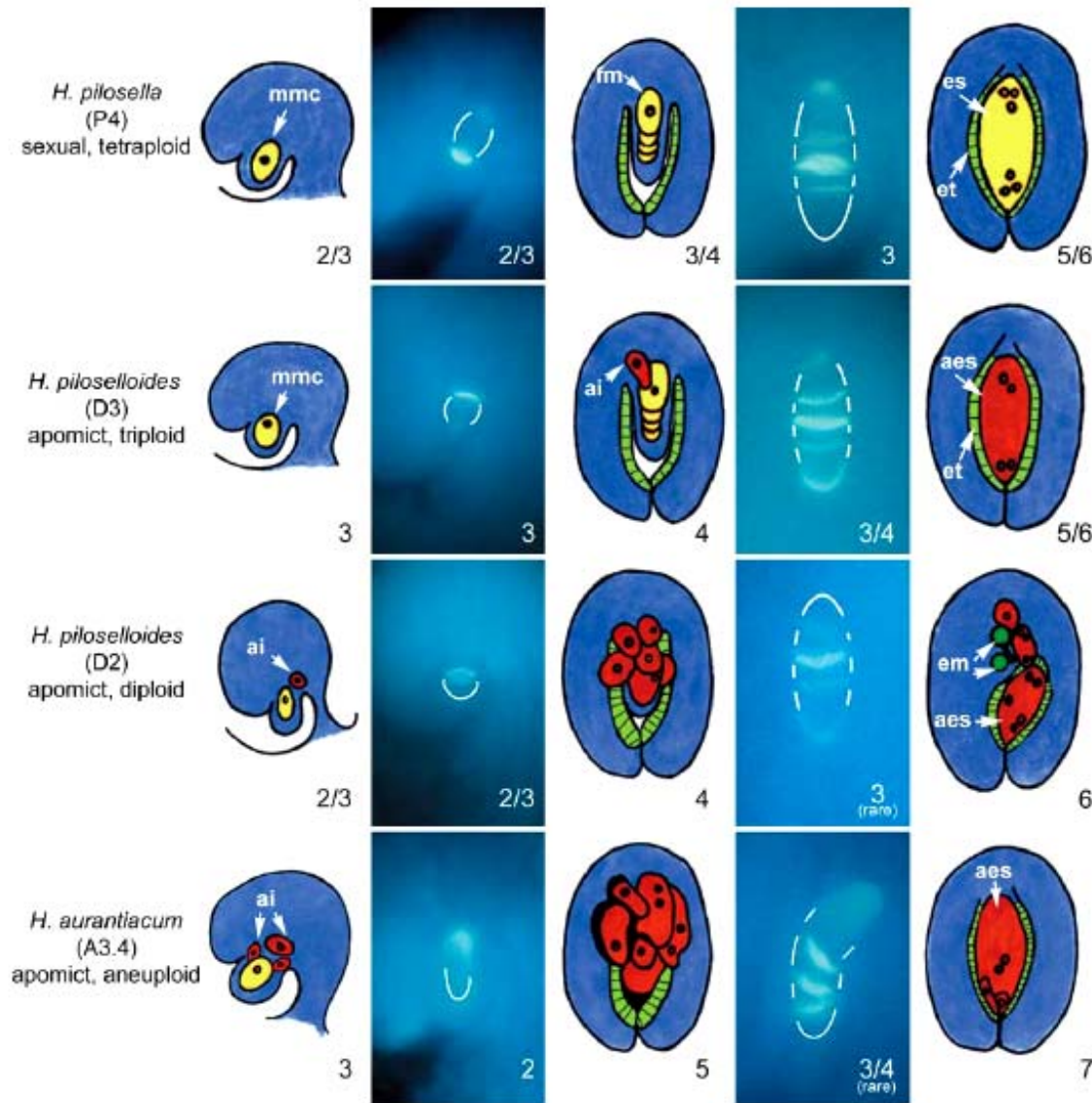


# Srovnání pohlavního rozmnožování a apomixe





# Aposporie u rodu *Hieracium*



ai iniciála aposporie

aes aposporický zárodečný vak

kalózové stěny barvené anil. modří

Bicknell a Koltunov 2004