

Vývoj embrya a endospermu



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

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

Embryogeneze - vývoj embrya

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

pozoruhodná jednota utváření klíčící rostliny různých taxonů vyšších rostlin :

apikálně-bazální osa = meristémy

radiální symetrie = koncentricky uspořádaná pletiva

další vývoj = postembryonální aktivita meristémů

Vývoj 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

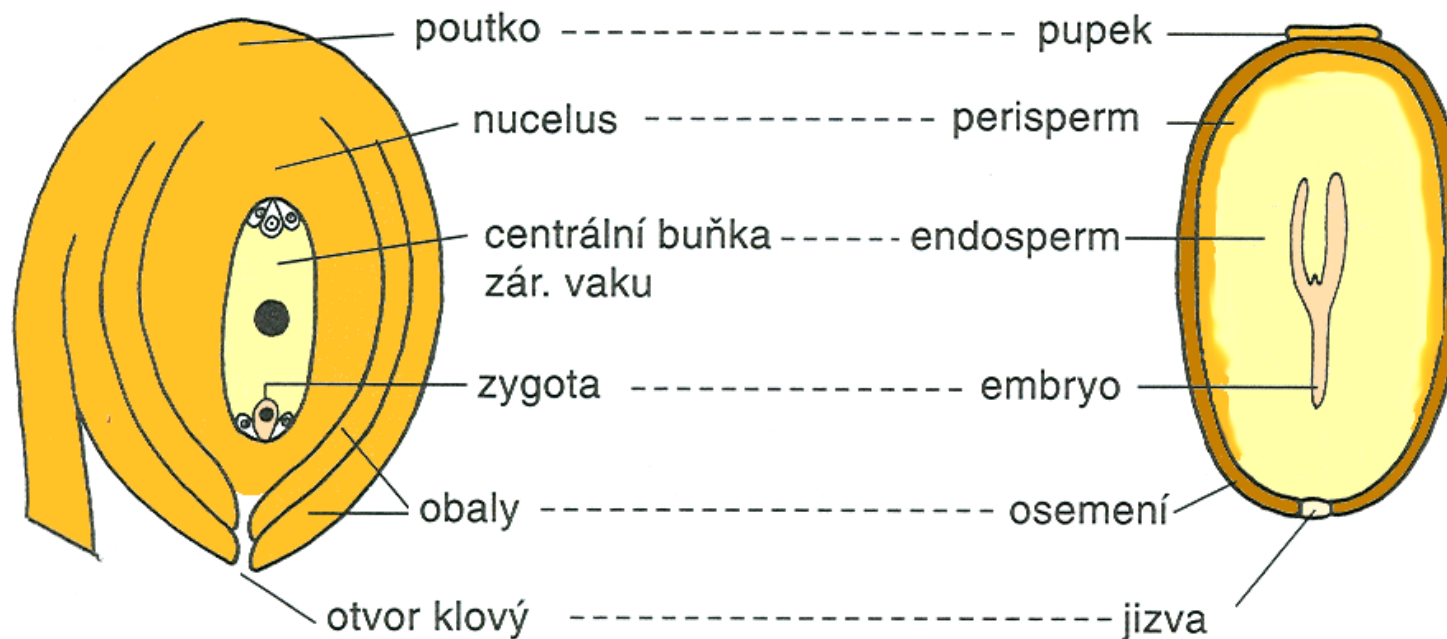
rostliny nahosemenné

dvojí - krytosemenné rostliny

syngamie = splynutí vaječné buňky s buňkou spermatickou

konfluace = splynutí centrální buňky zárodečného vaku s druhou buňkou spermatickou

Od vajíčka k semeni



1. přeměna oplozeného vajíčka v semeno
2. přeměna **pestíku** (nebo jeho části) v **plod**

Vývoj embrya v čase

je charakterizován sledem typických morfologických stadií

u dvouděložných rostlin

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

u jednoděložných rostlin

zygota
lineární embryo
mnohobuněčné embryo
„válcovitý útvar“
zralé embryo (laterálně
založený SAM a rudiment
2. dělohy)

Embryogenetické typy

první dělení
zygoty
= **příčné**

Solanad

Chenopodiad

Caryophyllad

Onagrad

Asterad

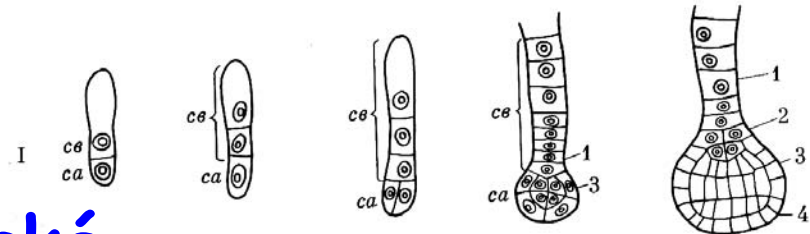
dělení
apikální buňky
= **příčné**

první dělení
zygoty
= **podélné**

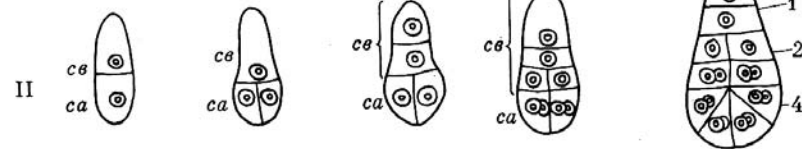
Piperad

dělení
apikální buňky
= **podélné**

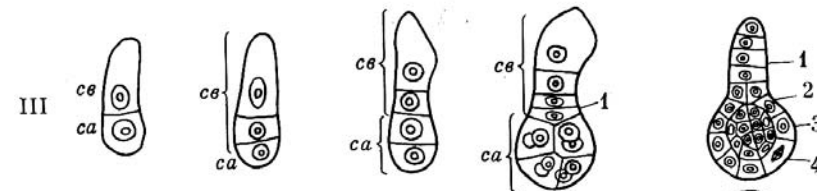
Embryogenetické typy



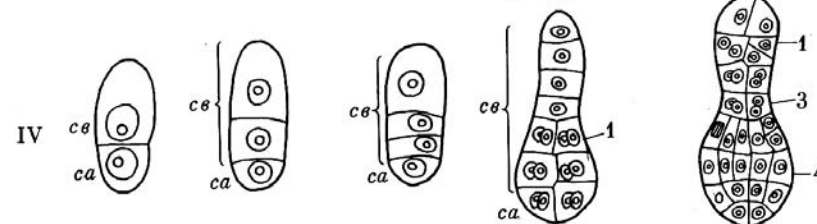
Onagrad



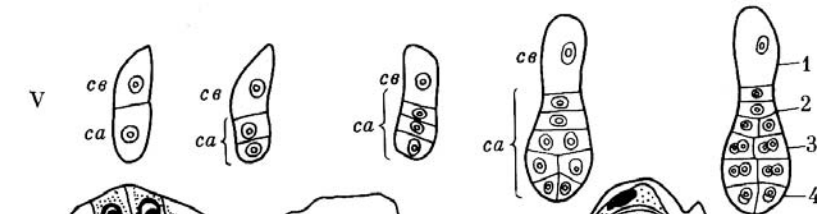
Asterad



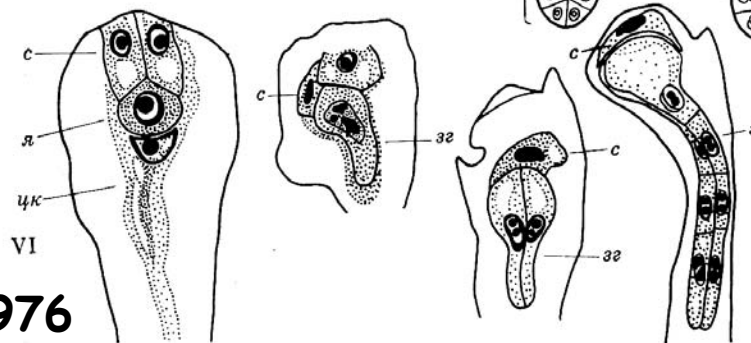
Solanad



Chenopodiad



Caryophyllad



Piperad

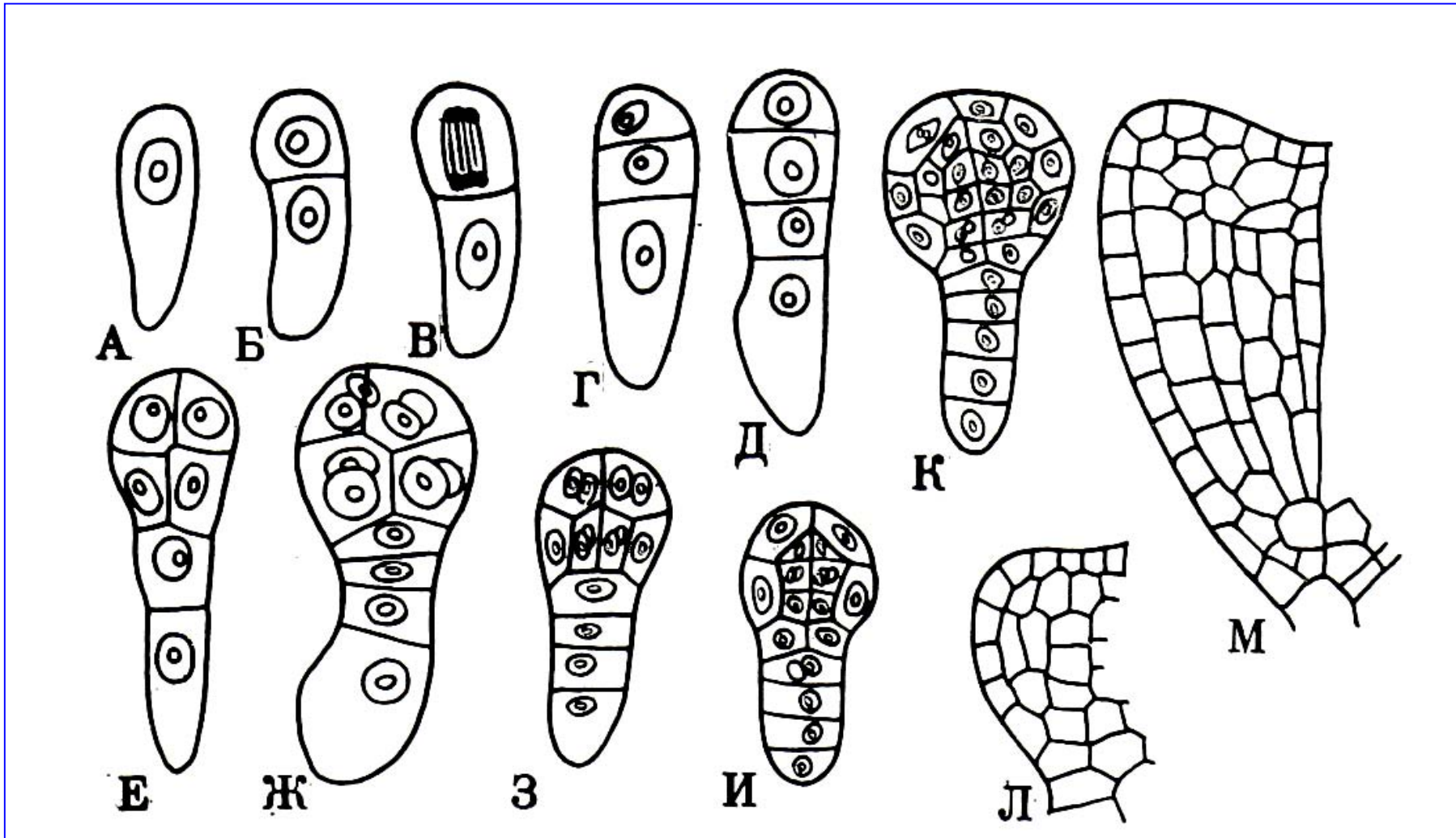
Poddubnaja-Arnoldi 1976

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*

Solanad

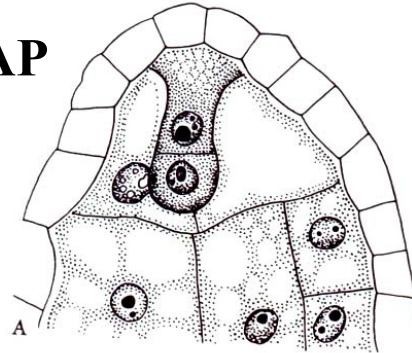
Poddubnaja-Arnoldi 1976



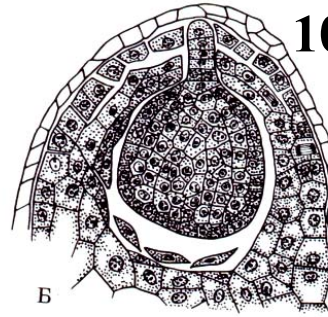
Vývoj embrya a endospermu - *Nicotiana*

N. ruta ×
N. tabacum

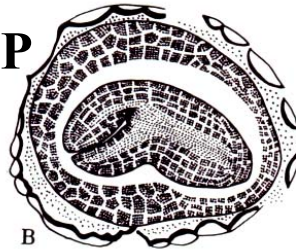
5 DAP



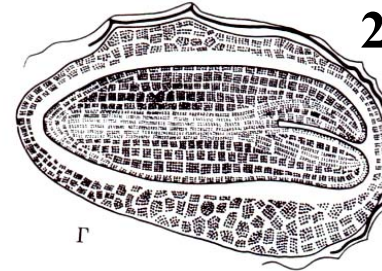
10 DAP



15 DAP



20 DAP

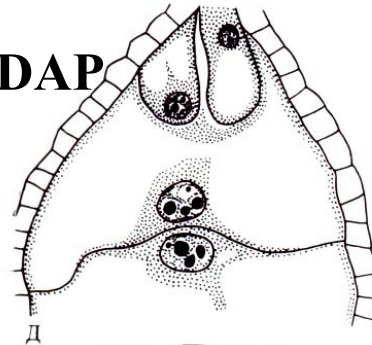


Solanad

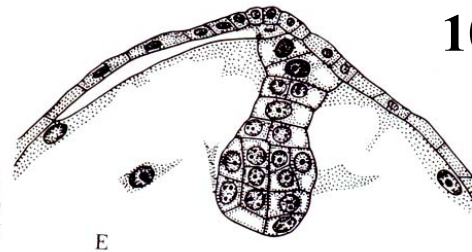
Poddubnaja-
Arnoldi 1976

N. tabacum ×
N. ruta

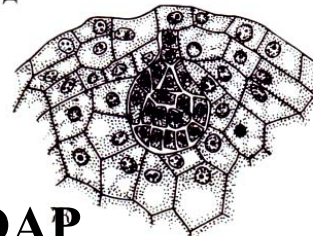
5 DAP



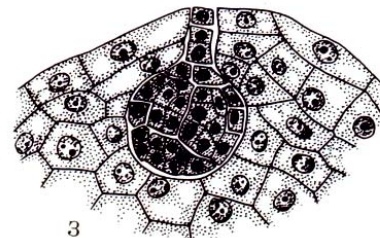
10 DAP



15 DAP



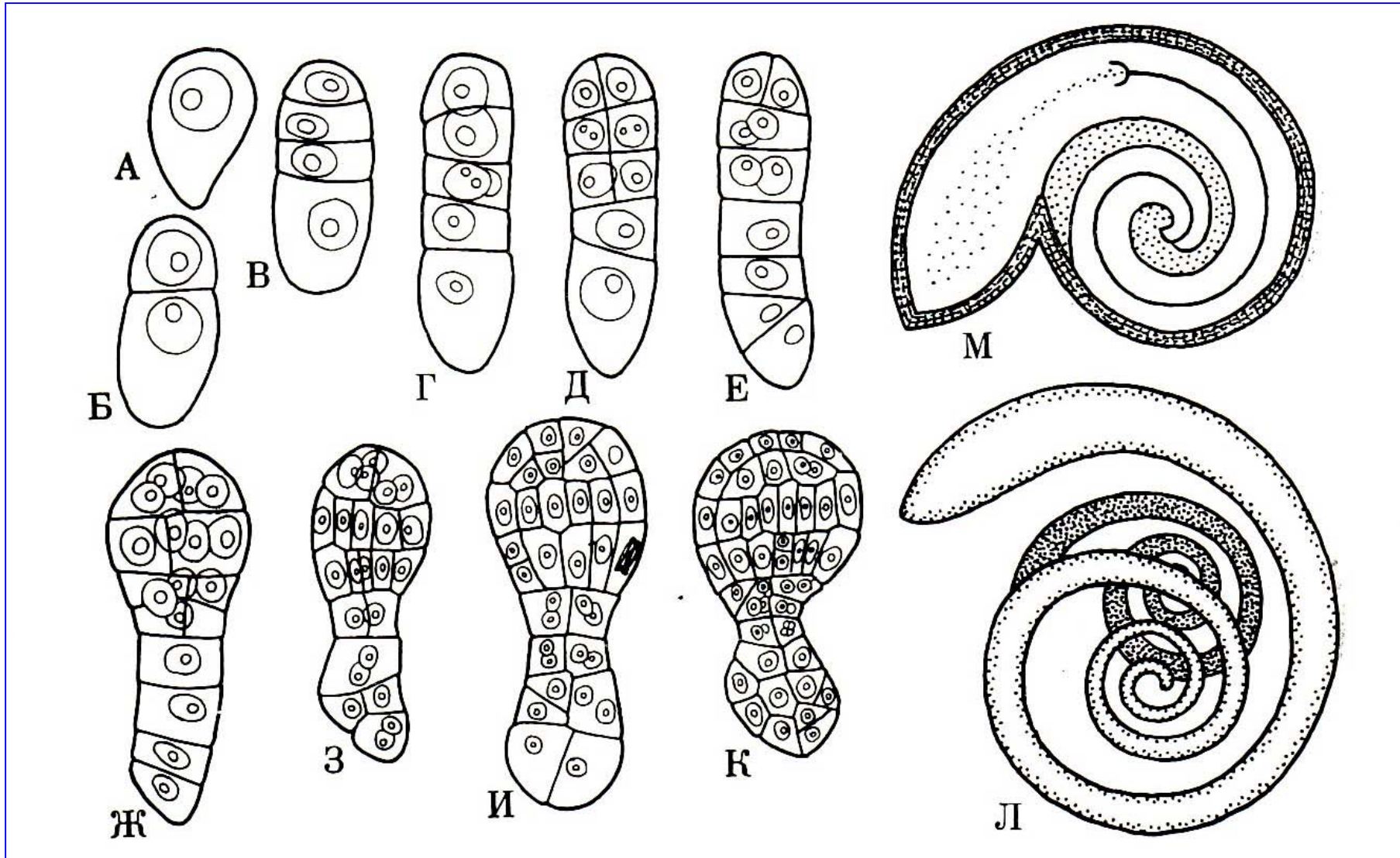
20 DAP



Zpomalení
vývoje
při křížení s
pylem *N. ruta*

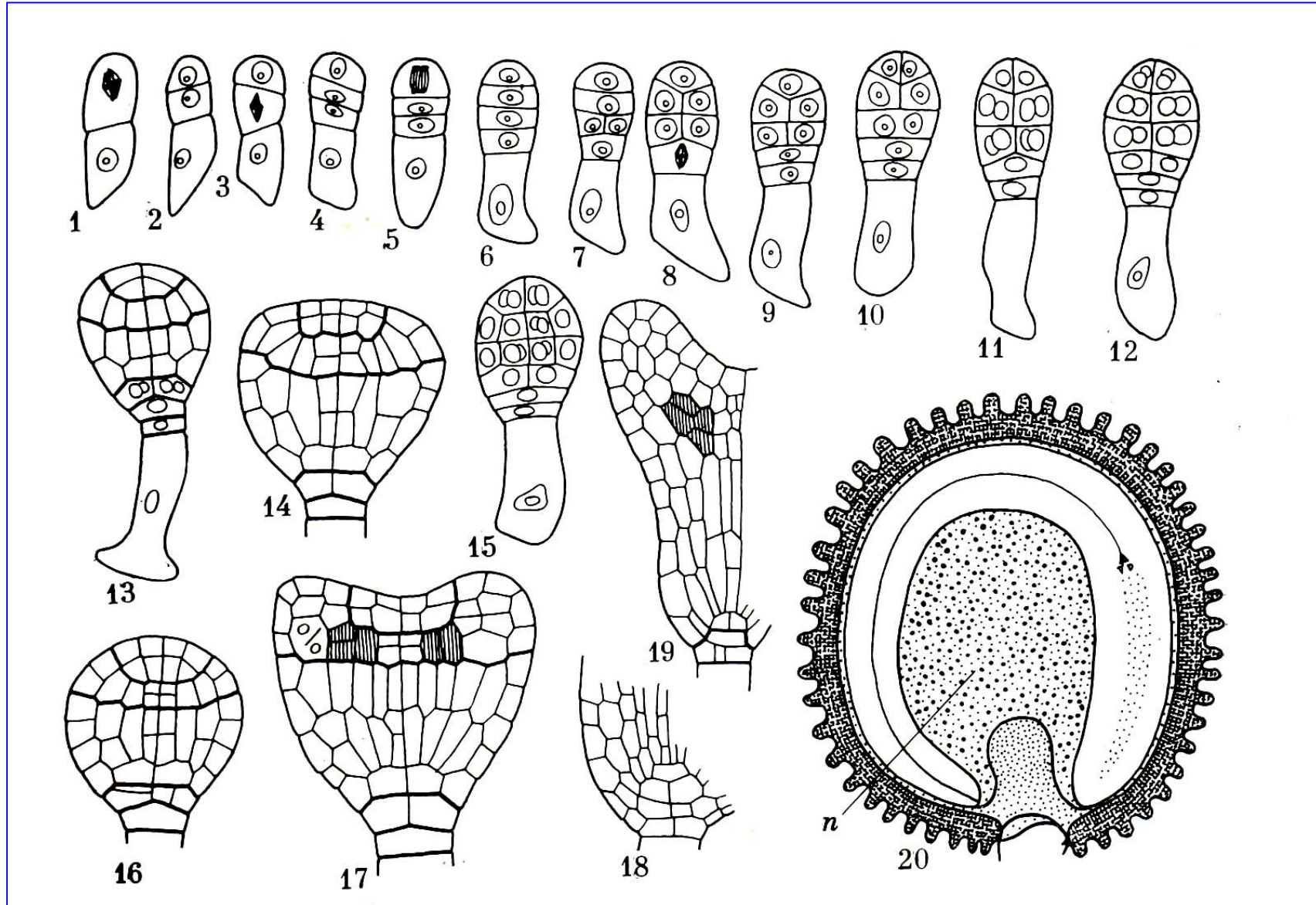
Chenopodiad

Poddubnaja-Arnoldi 1976

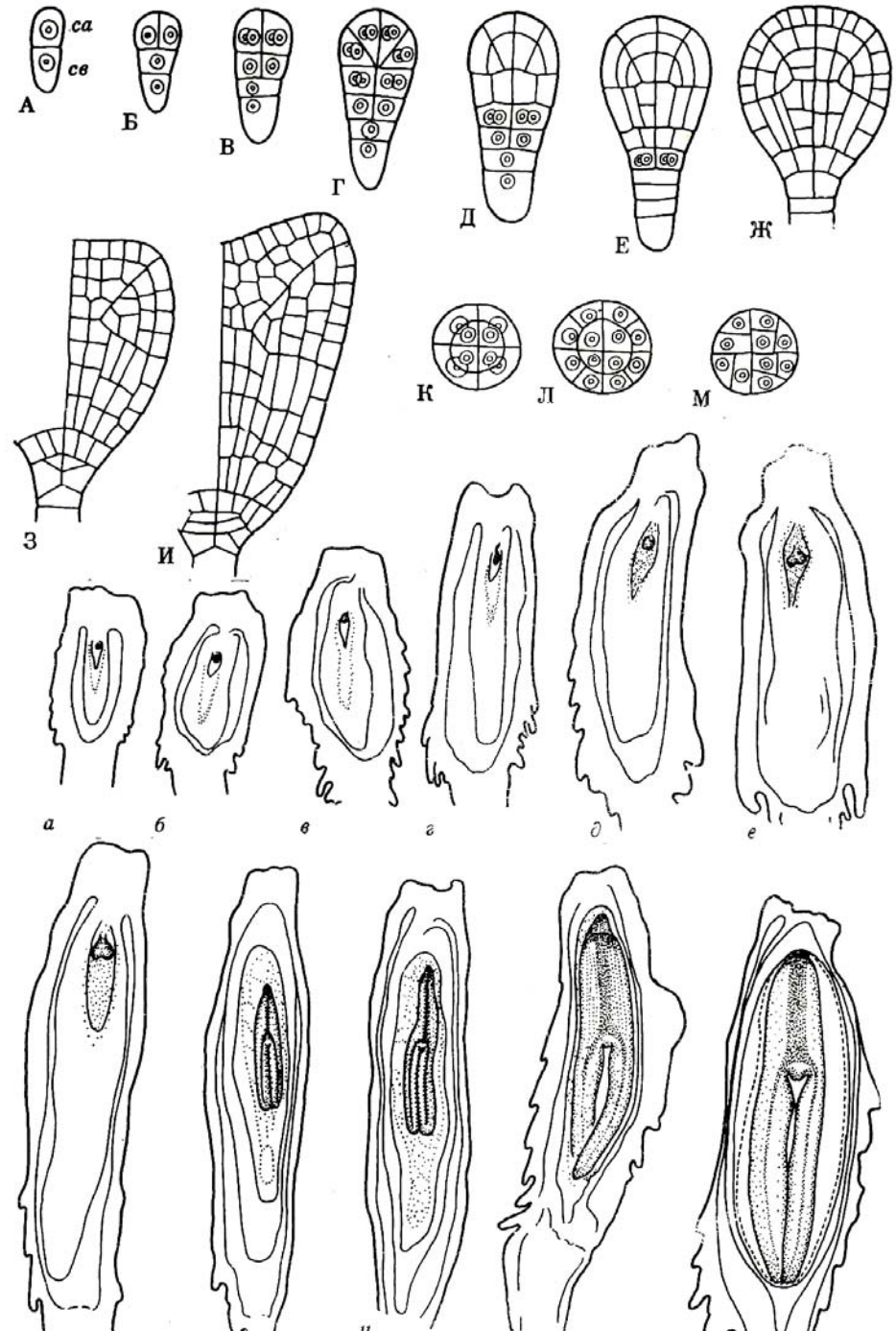


Caryophyllad (*Sagina*)

Podubnaja - Arnoldi 1976



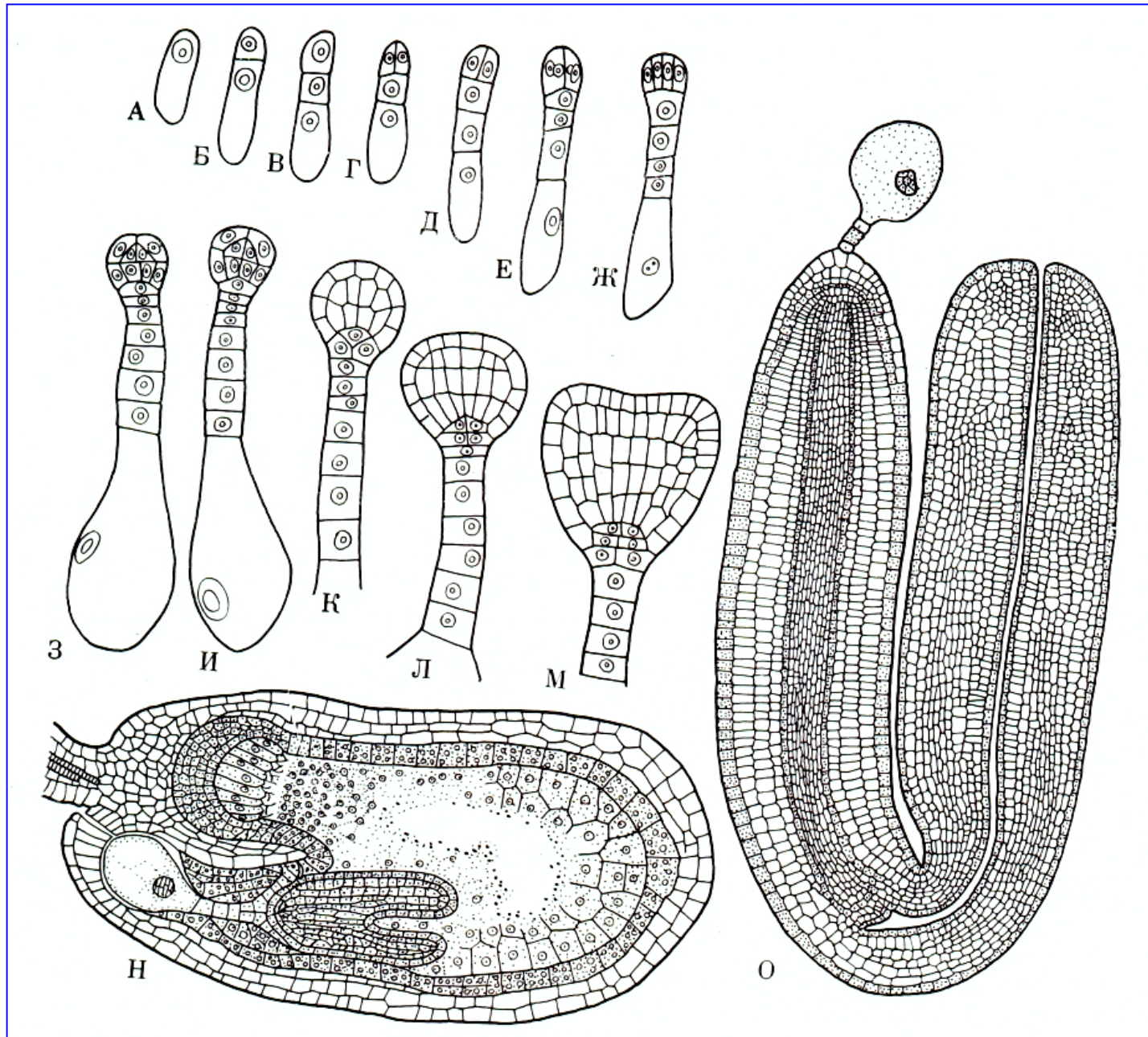
Asterad



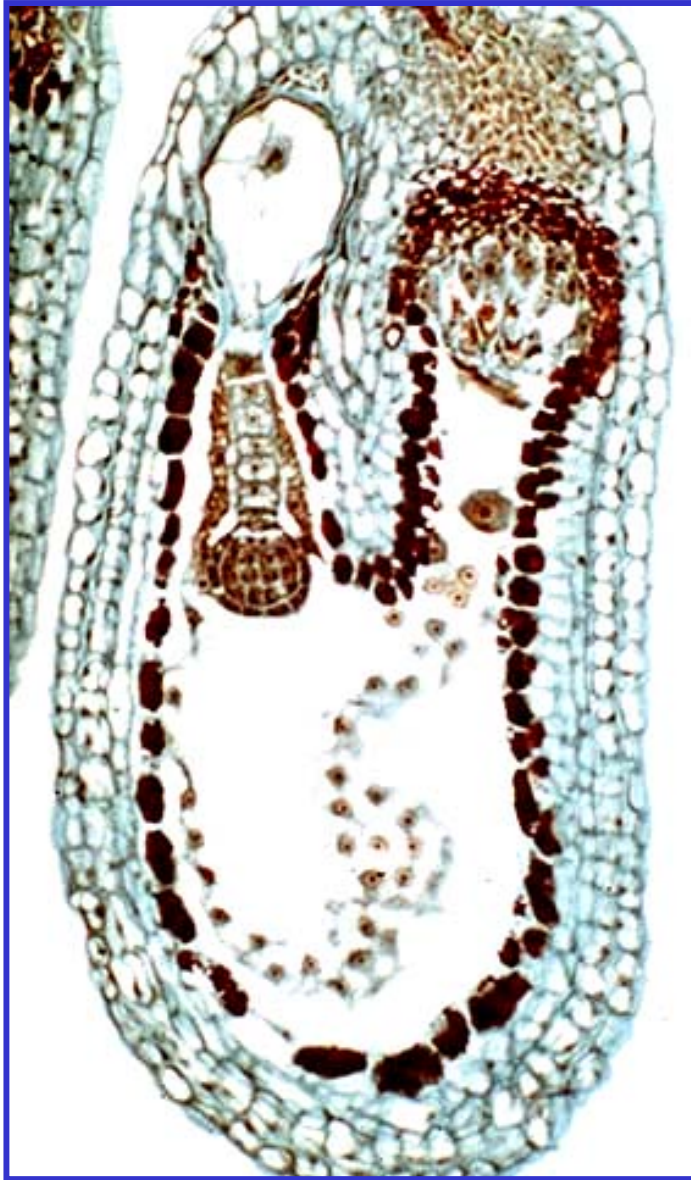
Poddubnaja-Arnoldi 1976

Onagrad - Capsella

Poddubnaja-Arnoldi 1976



Capsella bursa-pastoris



globulární embryo



torpédovité (hruškovité) embryo

Stadia vývoje embrya - *Capsella*

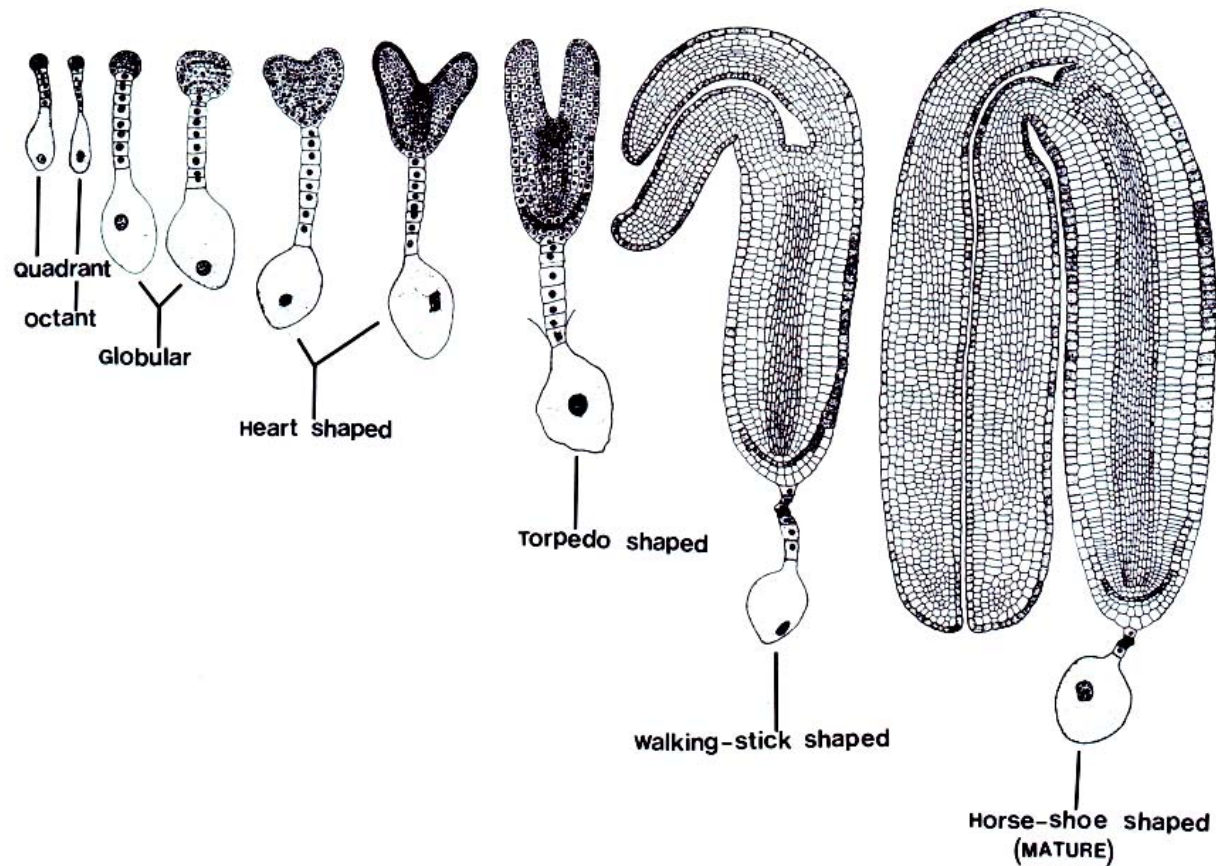


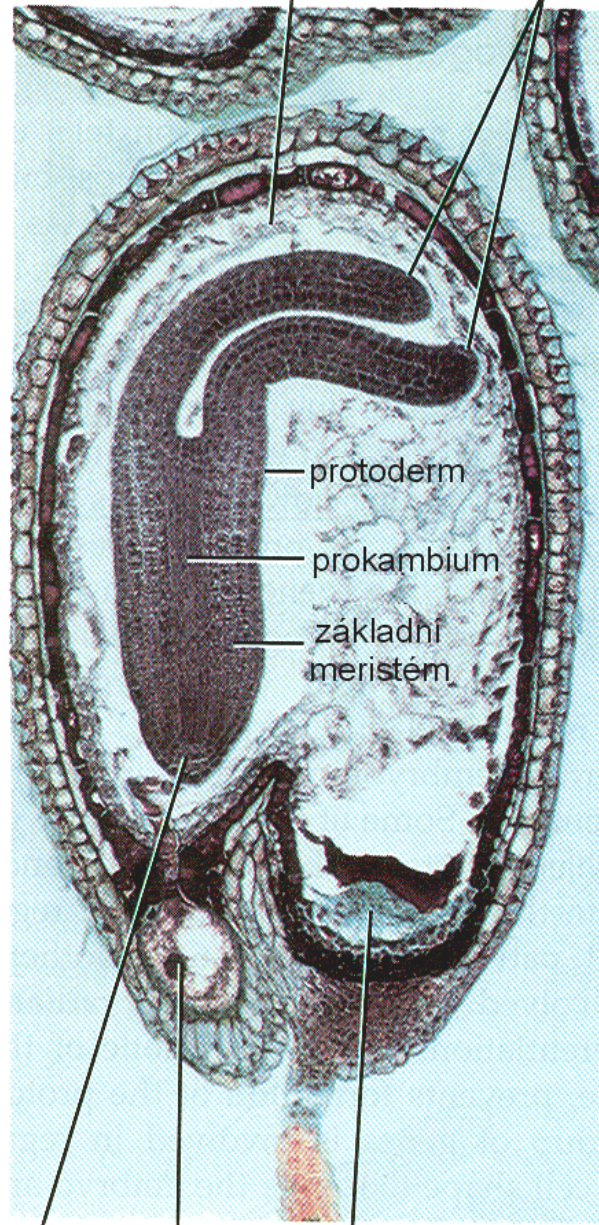
Fig. 3. Stages in the embryogenesis of *Capsella bursa-pastoris* in longitudinal sections. The lower end of the embryo is directed towards the micropyle (Schaffner [25]).

základ kořene dělohy endosperm



endosperm prokambium

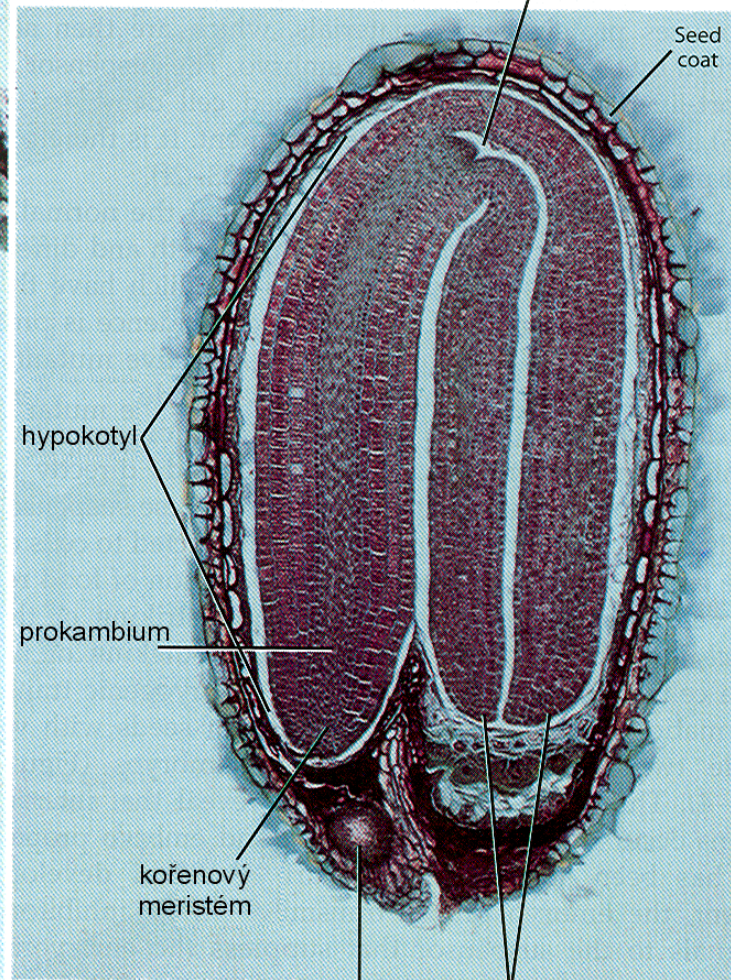
endosperm dělohy



kořenový meristém bazální buňka antipody 100 μm

stonkový meristém

Seed coat



hypokotyl

prokambium

kořenový meristém

bazální buňka

dělohy

100 μm

Raven et al.(2005):
Biology of Plants.

Stadia embryogeneze *Arabidopsis thaliana*

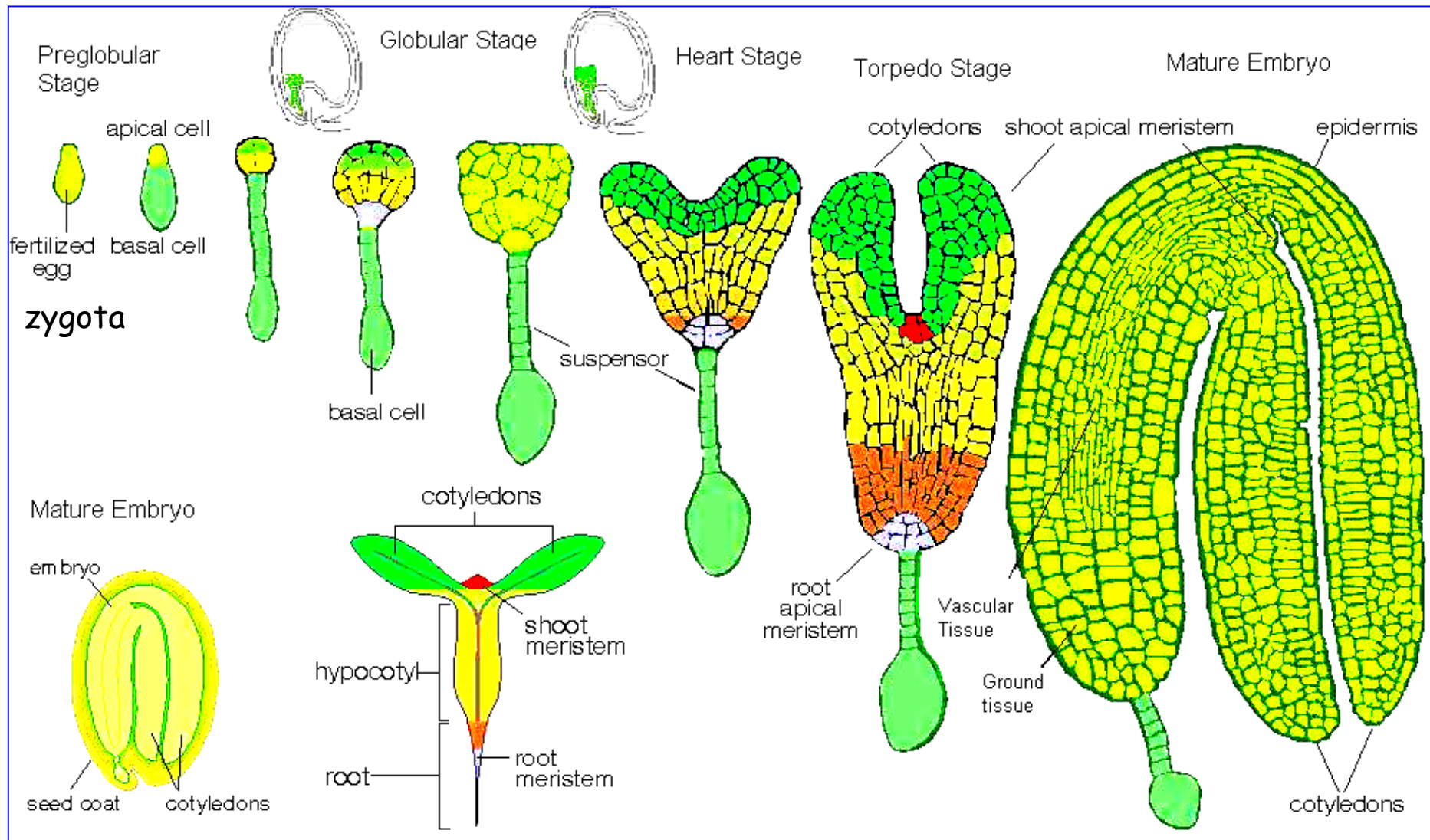
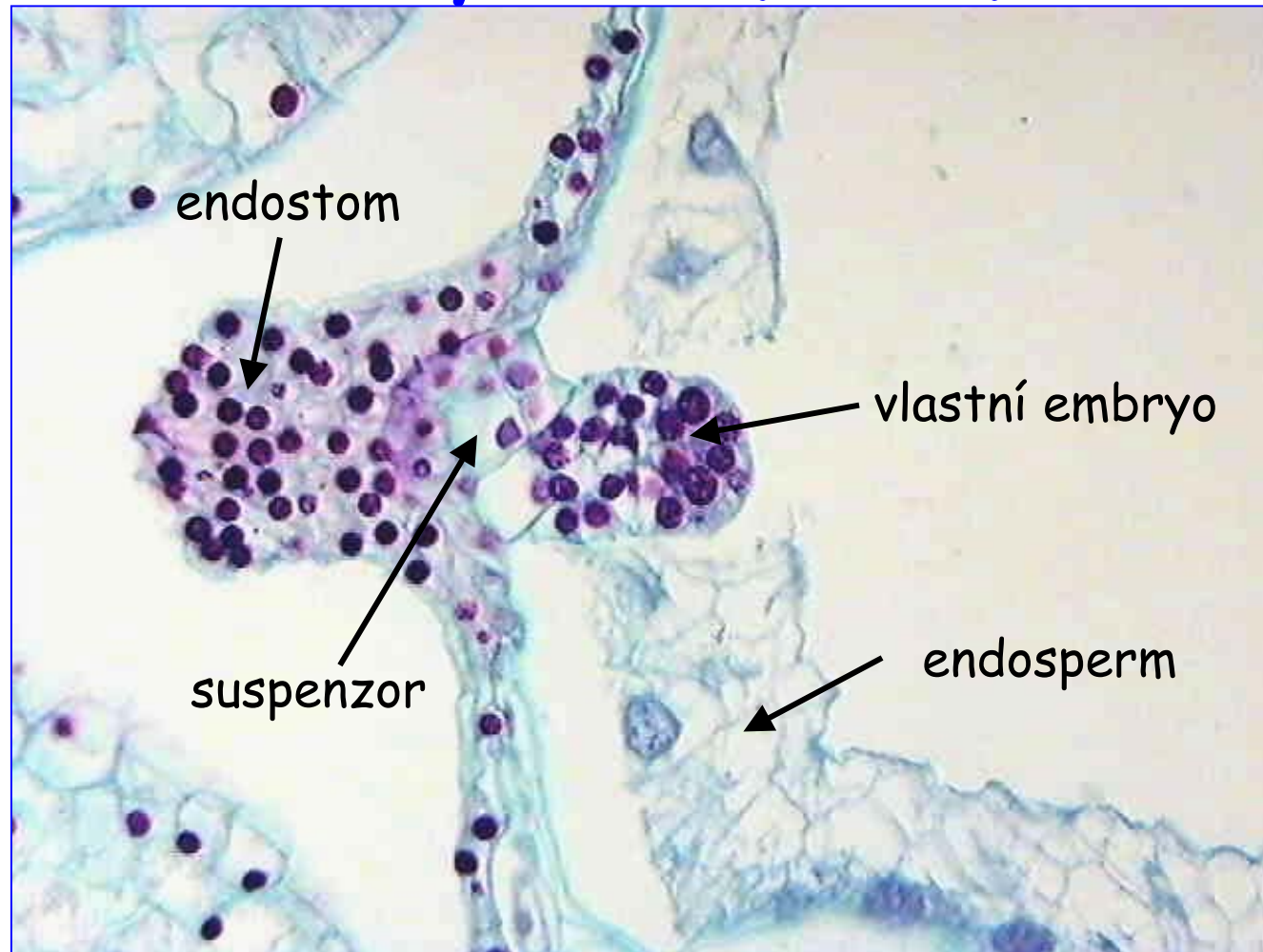


Image adapted from Wolpert, Lewis.

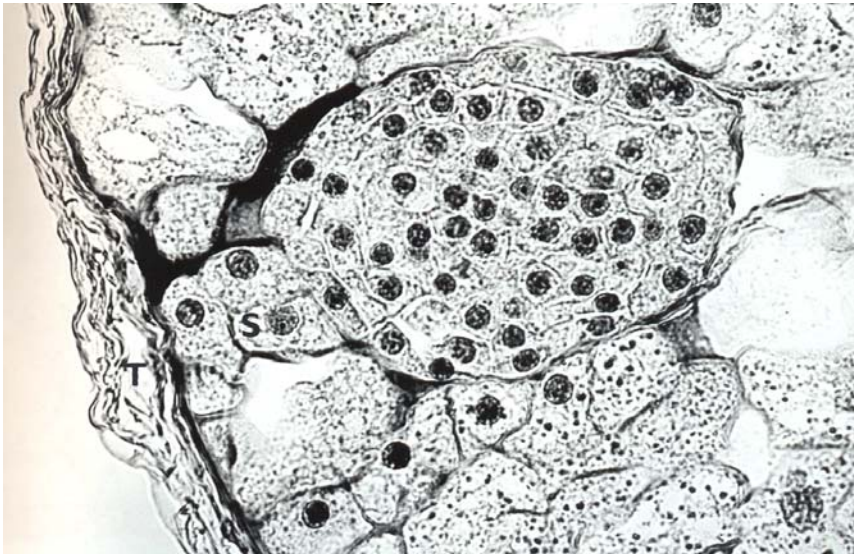
(1998) Principles of Development. Oxford University Press, NY

Embryo lilie (*Lilium*)

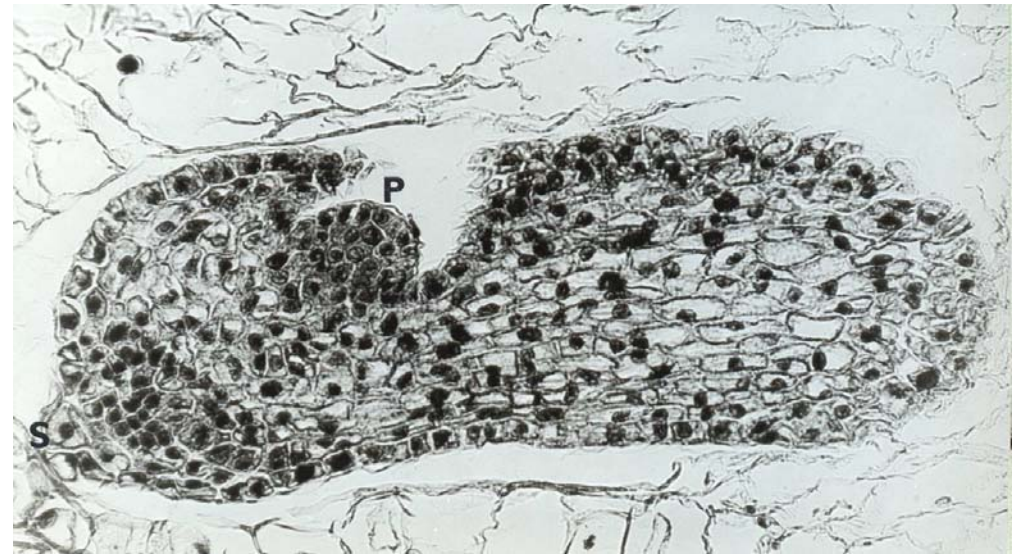


embryo v globulární fázi vývoje

Embrya jednoděložných rostlin



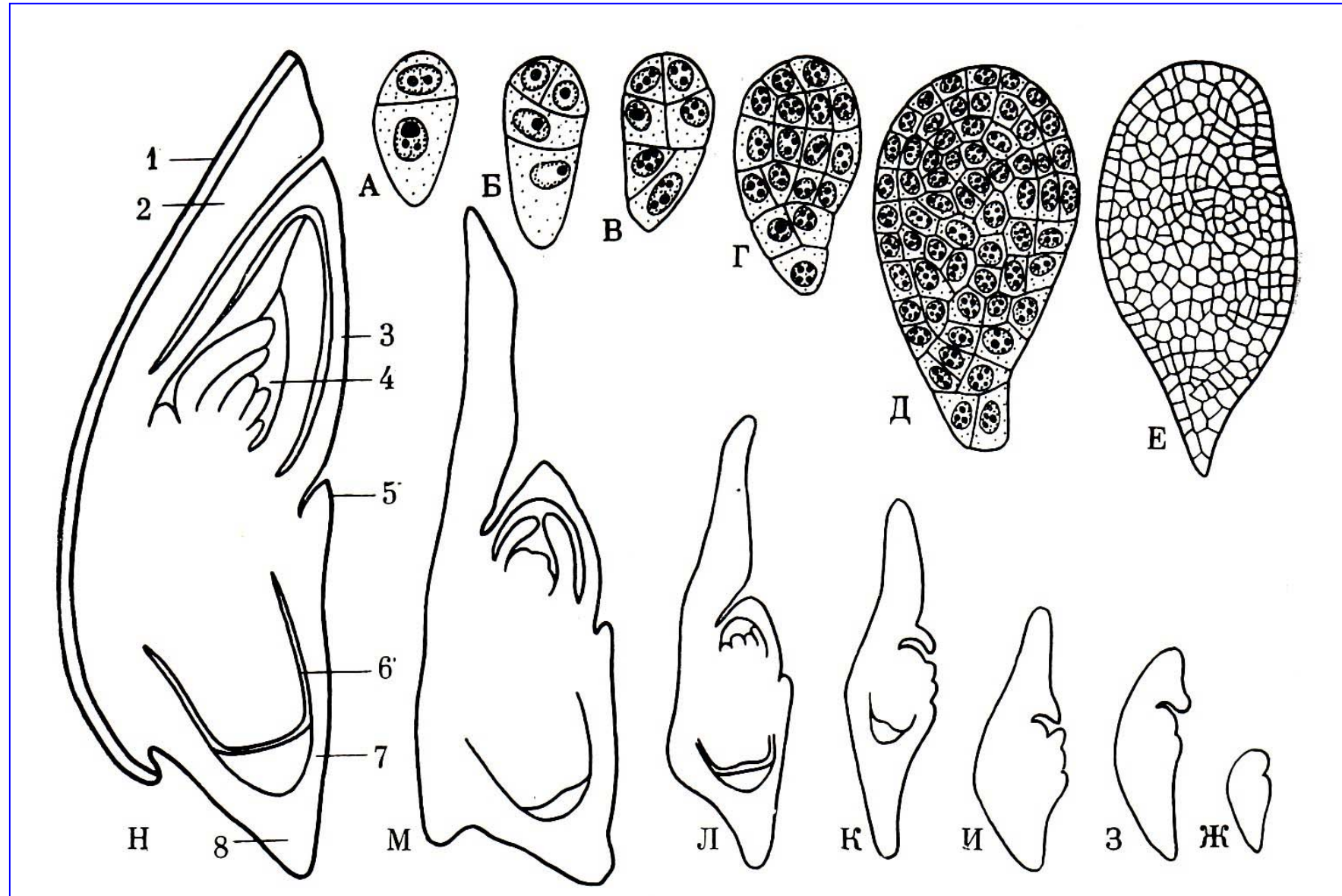
Galanthus nivalis



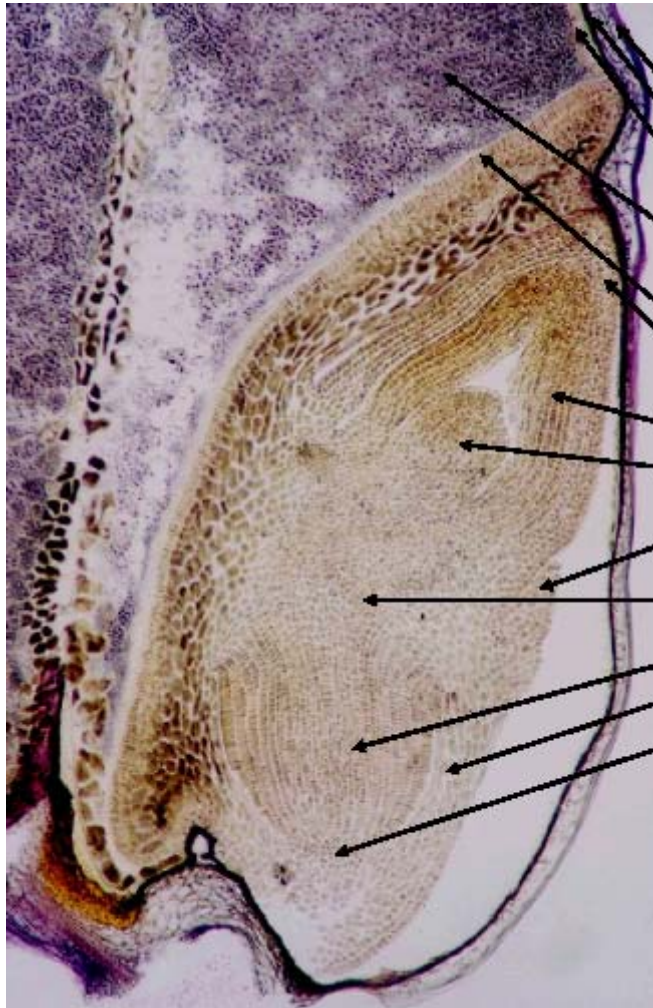
Narcissus pseudonarcissus

Zea

Poddubnaja - Arnoldi 1976



Podélný řez obilkou pšenice



perikarp } u obilek srůstá
testa }

aleuronová vrstva

endosperm

embryo:

štítek (scutellum)

koleoptile

list

plumula

epiblast (rudiment 2. dělohy)

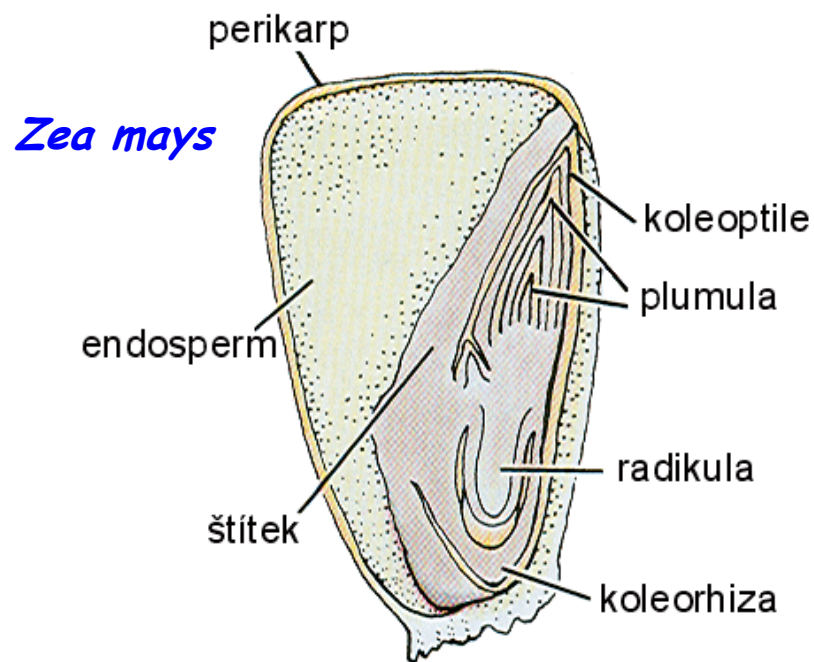
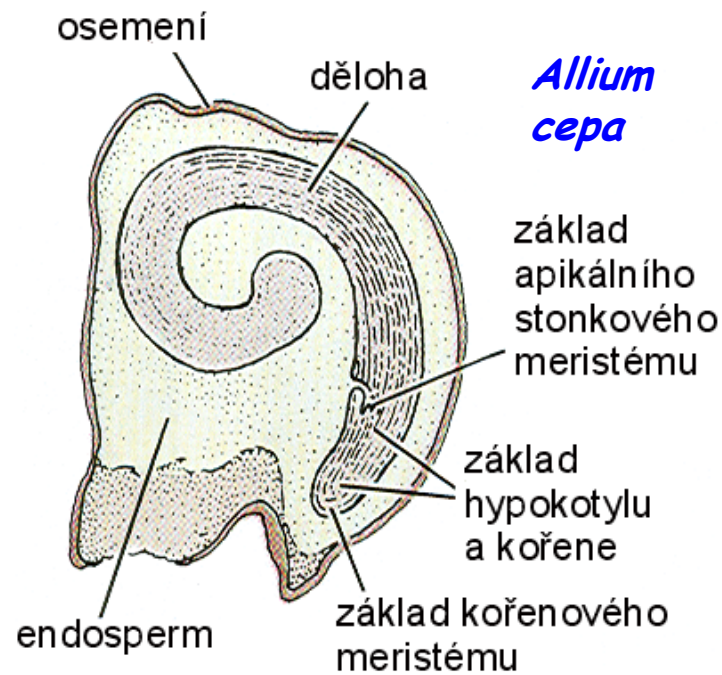
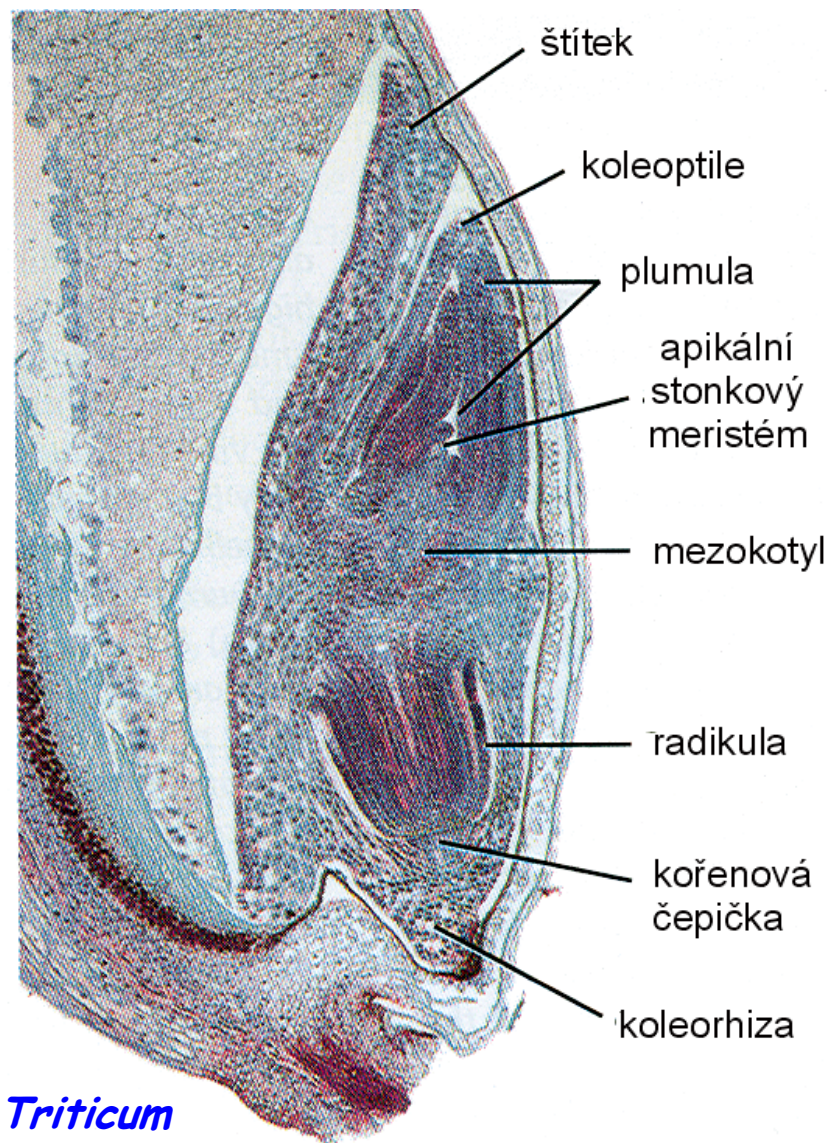
mezokotyl

radikula

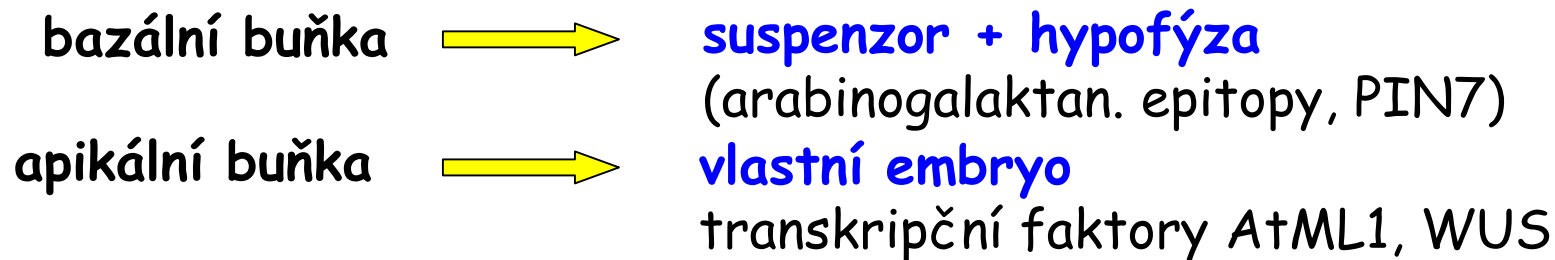
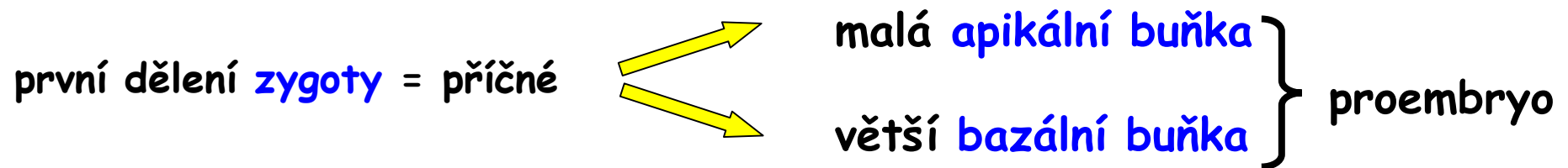
koleorhiza

kalyptra

Embrya jednoděložných rostlin



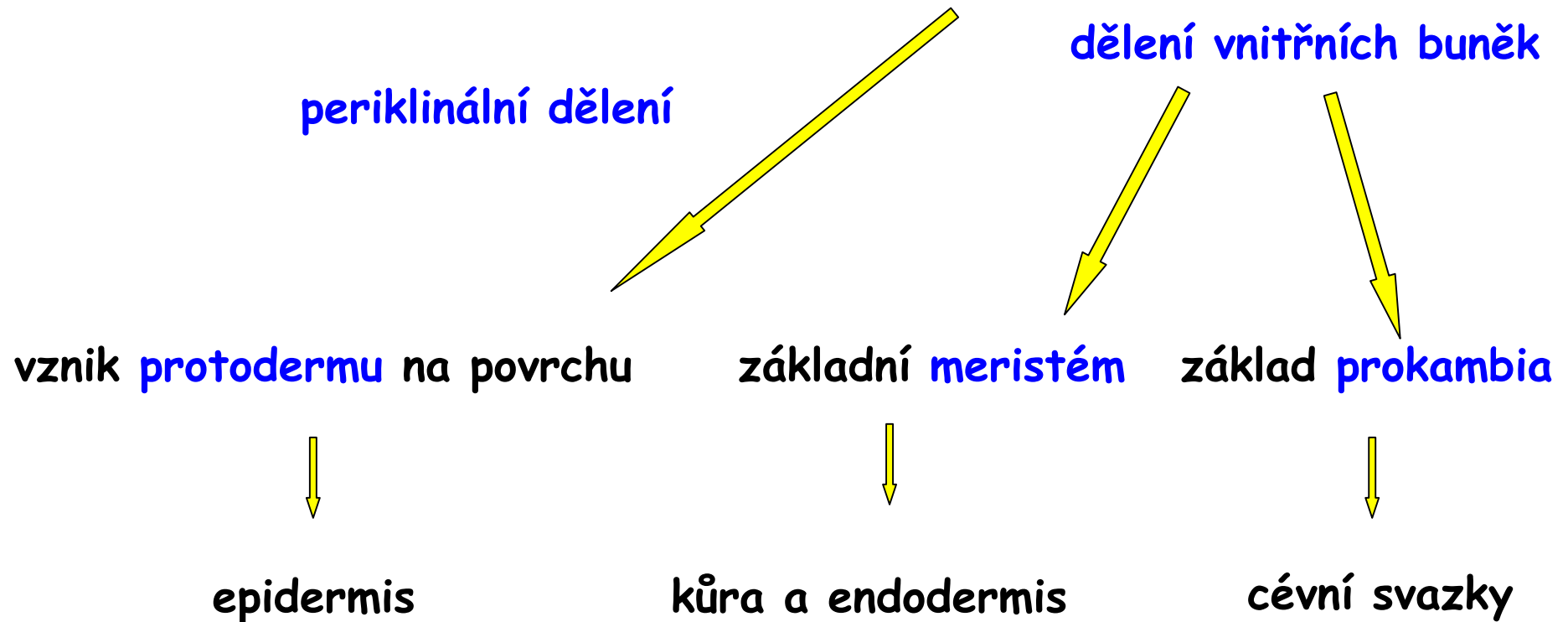
Embryogeneze u *Arabidopsis* (typ Onagrad)



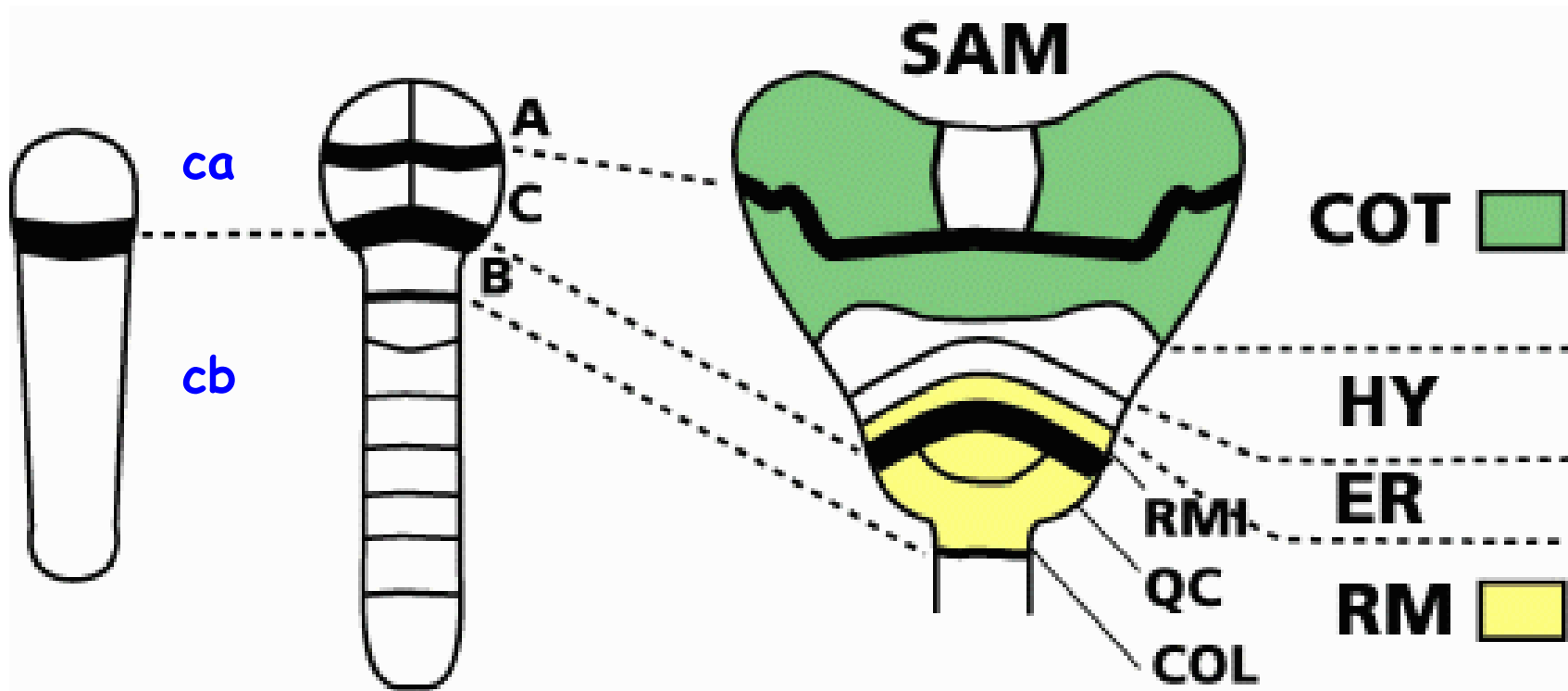
***PIN-FORMED 1 - 8* (PIN1-8)**
= regulátory transportu auxinu

Embryogeneze u *Arabidopsis*

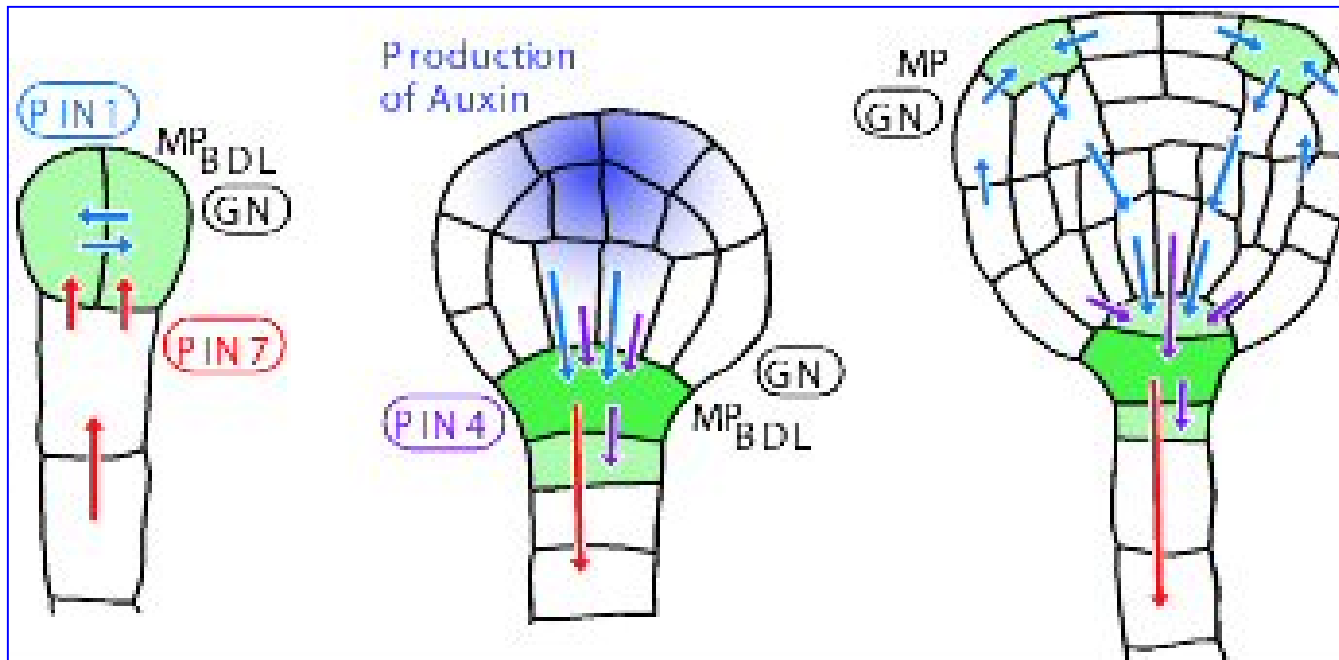
formace radiálních vzorů - začíná ve stadiu 8 buněk



Embryogeneze u *Arabidopsis*



Model pro roli distribuce auxinu při formování embrya (J. Friml)



specifikace apikálních buněk - hromadění auxinu

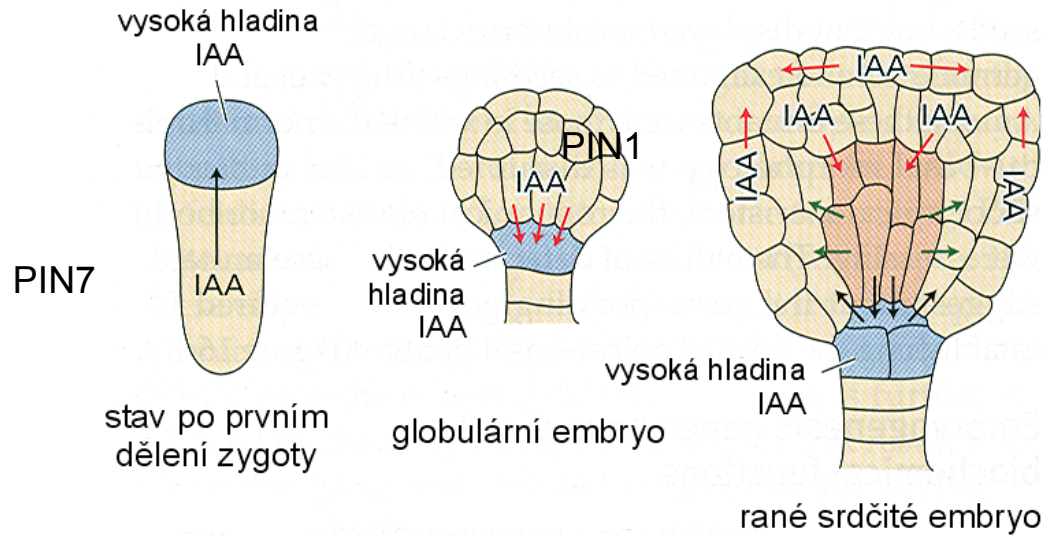
specifikace kořenového pólu - produkce a transport auxinu do hypofýzy a suspenzoru

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

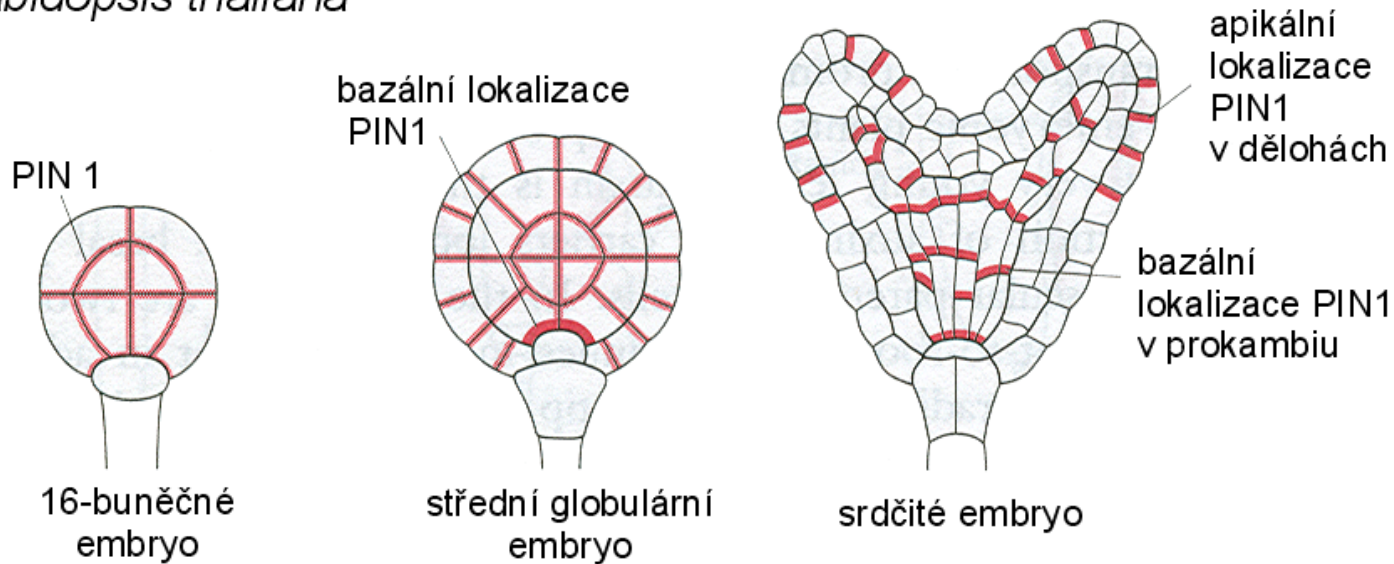
mp, bdl - mutanty v odpovědi na auxin
gn - mutant transportu auxinu

absence kořenového pólu

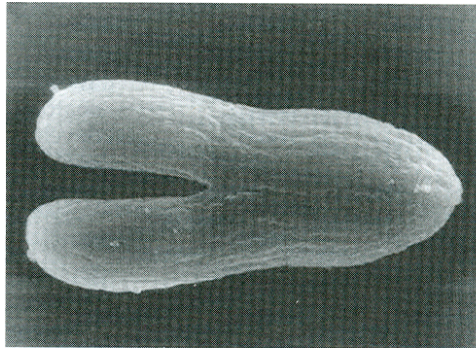
Polarita embrya - transport auxinu



lokalizace PIN1 v embryu *Arabidopsis thaliana*

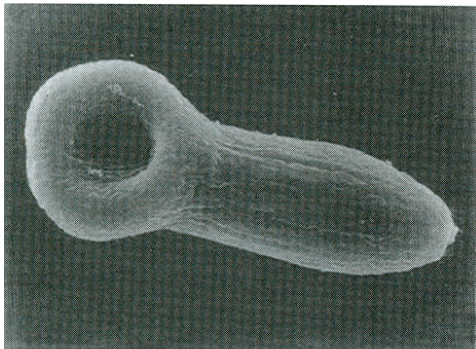


Projevy poruch transportu auxinu



normální jedinec
Brassica juncea

50 μm

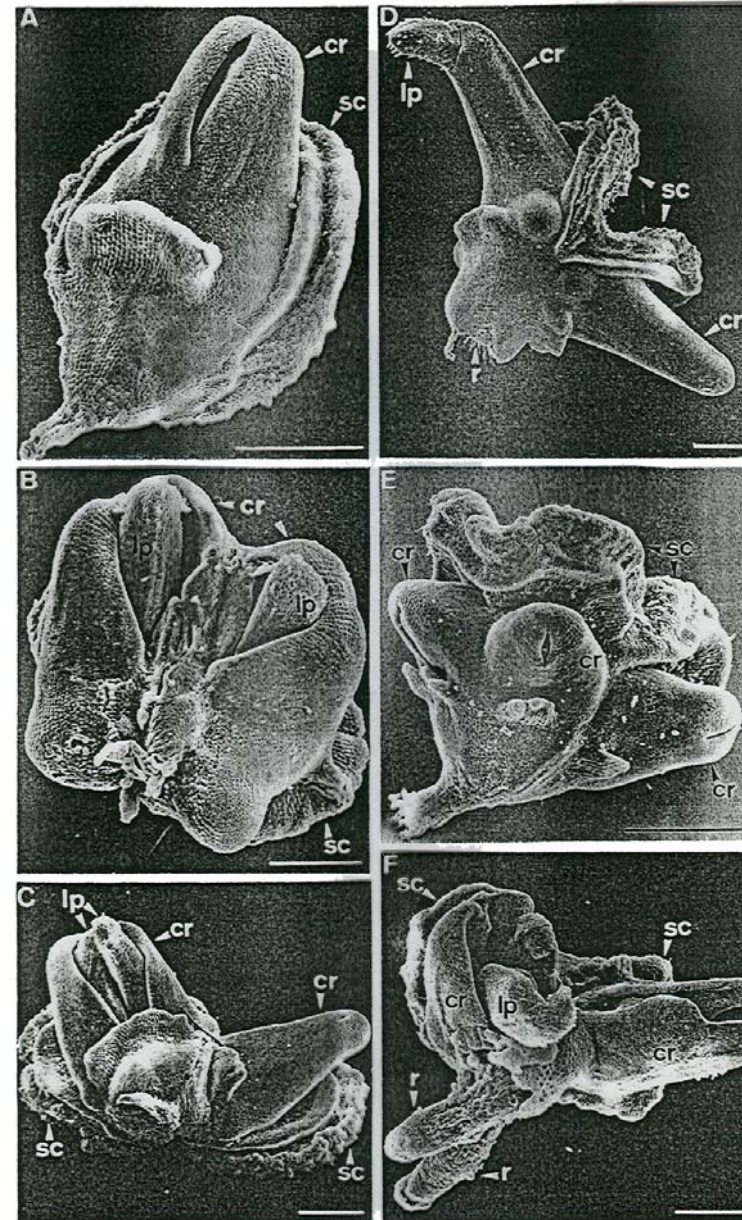


mutant *pin1*

50 μm

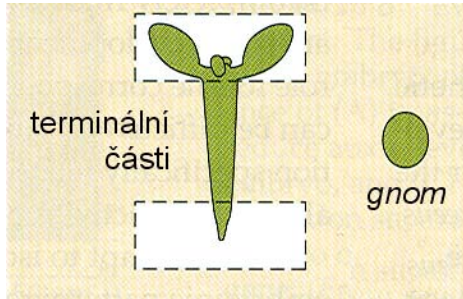


efekt kyseliny skořicové
– působí inhibiči transportu IAA



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 vanilinu.
cr - koleoptile, lp - primordium prvního listu, r - primární kořen, sc - skutelum.

Polární transport auxinu zajišťuje řada genů



gen *GNOM/EMB30*

kóduje **ARF GEF** (ADP-ribosylation factor **GDP exchange factor**)
ovlivňuje polární transport váčků nosoucích PIN do plazmatické membrány

mutant *gnom* (z něm. trpaslík)
mutace se projevuje již při prvním dělení zygoty = je symetrické

poruchy ukládání pektinů, adheze a komunikace buněk)

- c - dělohy
- ep - vlastní embryo
- er - embryonální kořen
- h - hypokotyl
- s - suspensor
- sc - osemení

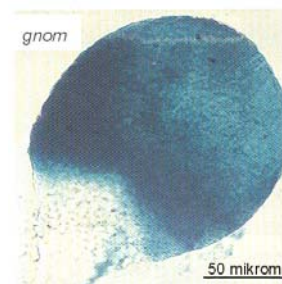
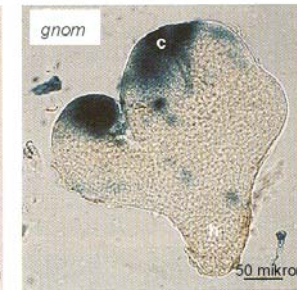
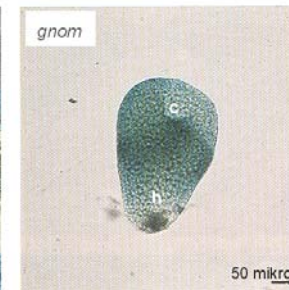
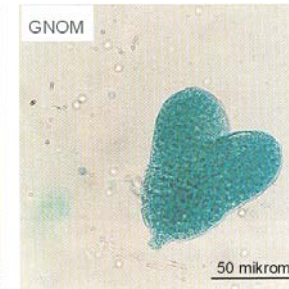
AtLPT1-GUS

Vroemen C.W. et al. 1996

stádium globulární

srdčité

dospělé



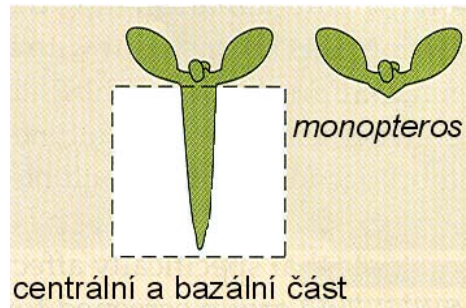
Polární transport auxinu zajišťuje řada genů

gen *MONOPTEROS*

gen

BODENLOS/IAA12

gen *IAA13*



mutant *monopteros* (rorýs)
MP je transkripční faktor **ARF** („auxin response factor“, váže se na AuxRE)
aktivuje transkripci genů řízených signálem auxinu

mutant má poškozenou také diferenciaci vodivých pletiv

BDL, IAA13 jsou Aux/IAA - inaktivují MP (ARF)

auxin navodí navázání ubikvitinu E3 ligázou SCF^{TIR1} a odbourávání BD

mutantní proteiny ligáza nerozezná a signál auxinu je blokován

(mutace gain-in-function)

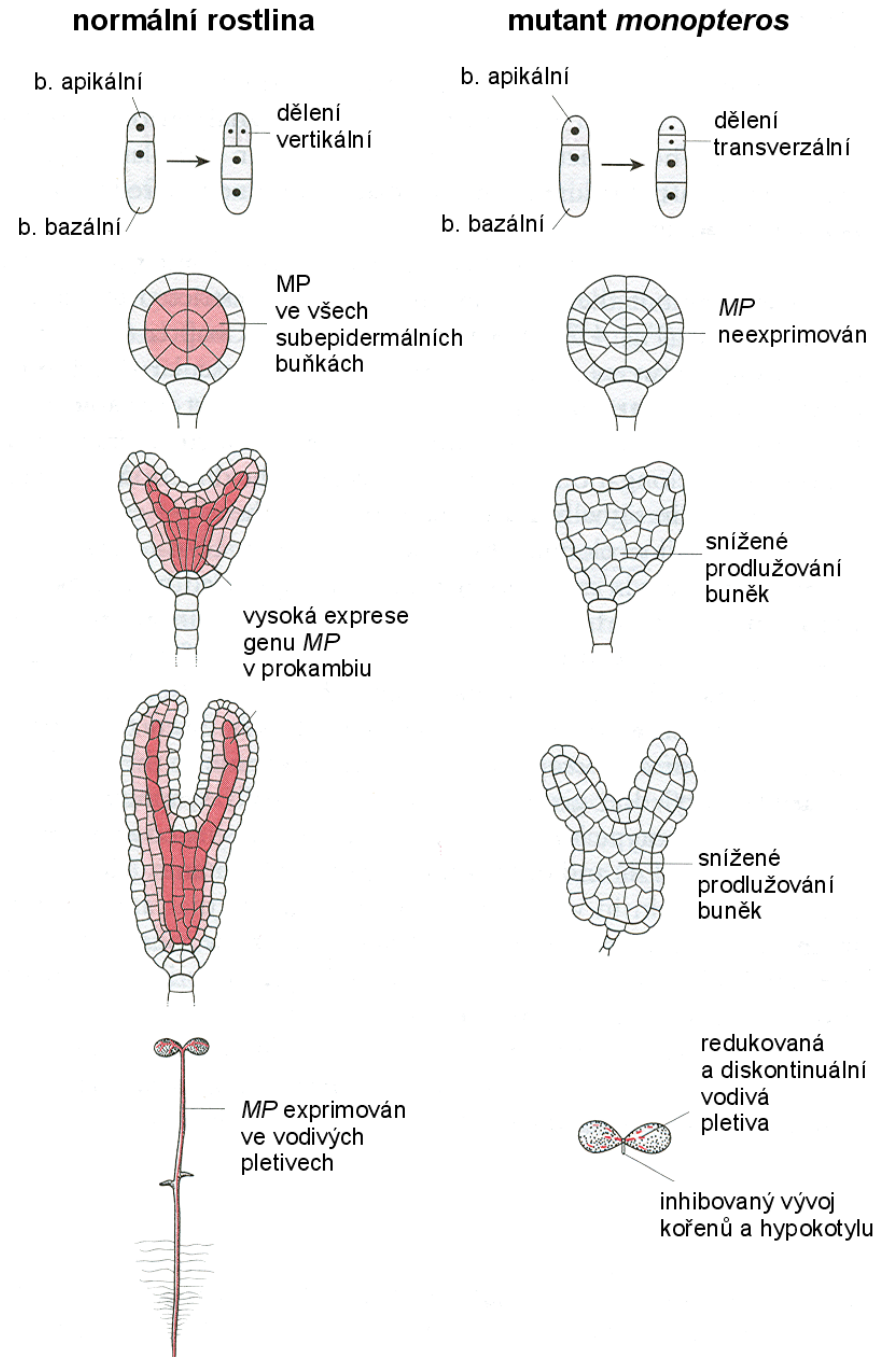


Szemenyei H. et al: *Science* 319 (2008)

Exprese genu *MONOPTEROS (MP)*

v embryích
a v klíčcích rostlinách

MP kóduje transkripční faktor **ARF**



Regulace vývoje apikálního stonkového meristému

geny *WUS* (*WUSCHEL*; něm. střapatý) stadium 16 buněk - horní vnitřní tetráda
transkripční faktor s homeodoménou (jeden ze skupiny *WOX* (*WUSCHELHOMEOBOX*))
reprimuje transkripci genů *RR* (*RESPONSE REGULATOR*), které negativně ovlivňují geny
indukovatelné cytokininy u *Arabidopsis* *ARR5*, *ARR6*, *ARR7*, *ARR15*

CUC1, *CUC2*, *CUC3* (*CUPSHAPED COTYLEDONS*)

exprimují se od konce globulárního stádia

transkripční faktory skupiny *NAC* (60 aminokyselin)

→ exprese dalších genů, např. *STM*

jsou reprimovány signálem auxinu

STM (*SHOOTMERISTEMLESS*) - skupina genů *KNOX*

transkripční faktor s homeodoménou

u mutantů *cuc* se neexprimuje

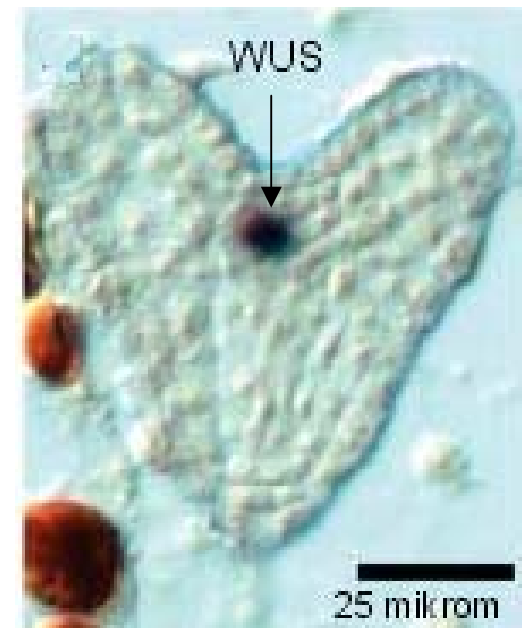
CLV1, *CLV2*, *CLV3* (*CLAVATA*)

CLV1 a *CLV2* - receptorová kináza,

CLV3 - extracelulární signální protein

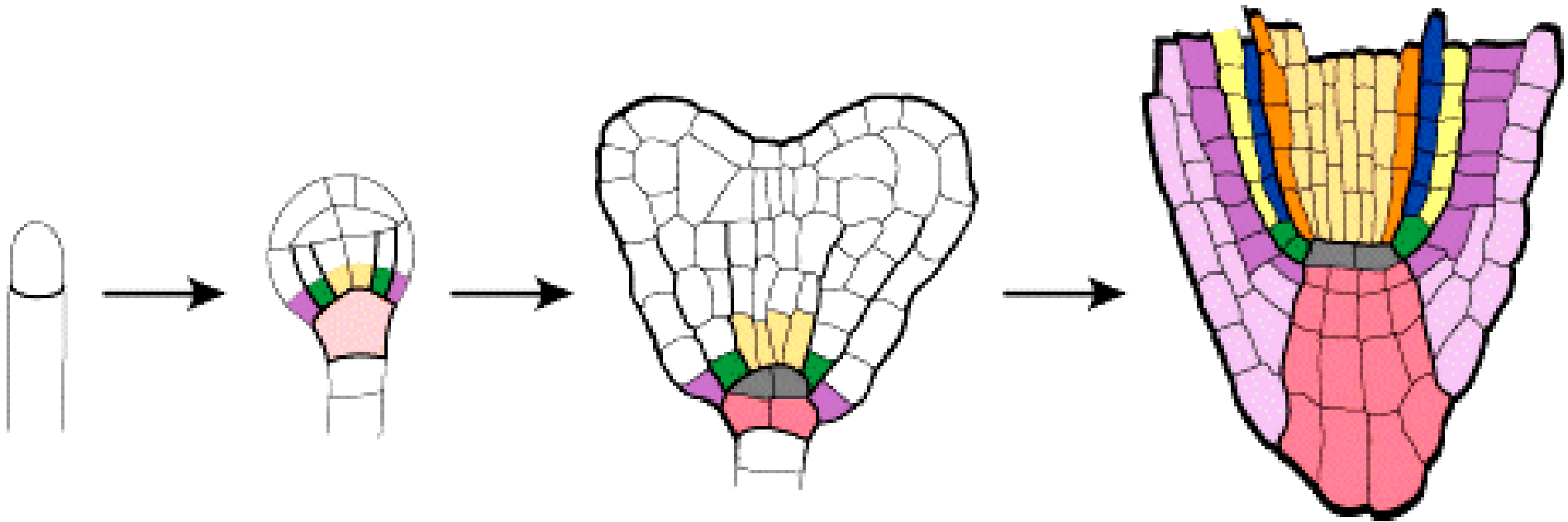
wus - *STM* se exprimuje ve správný čas na správném místě do
pozdní embryogeneze

stm - *CLV* se exprimuje do torpédovitého stádia
WUS se exprimuje do pozdní embryogeneze



Long *et al.* (2006) *Science*

Arabidopsis - vývoj radikuly



barevně je rozlišen původ buněk

Diferenciace kořene - nezbytný polární transport auxinu

geny *HBT* (*HOBBIT*)

exprimuje se v dolní tetrádě oktantu, kóduje složku ubikvitinové 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

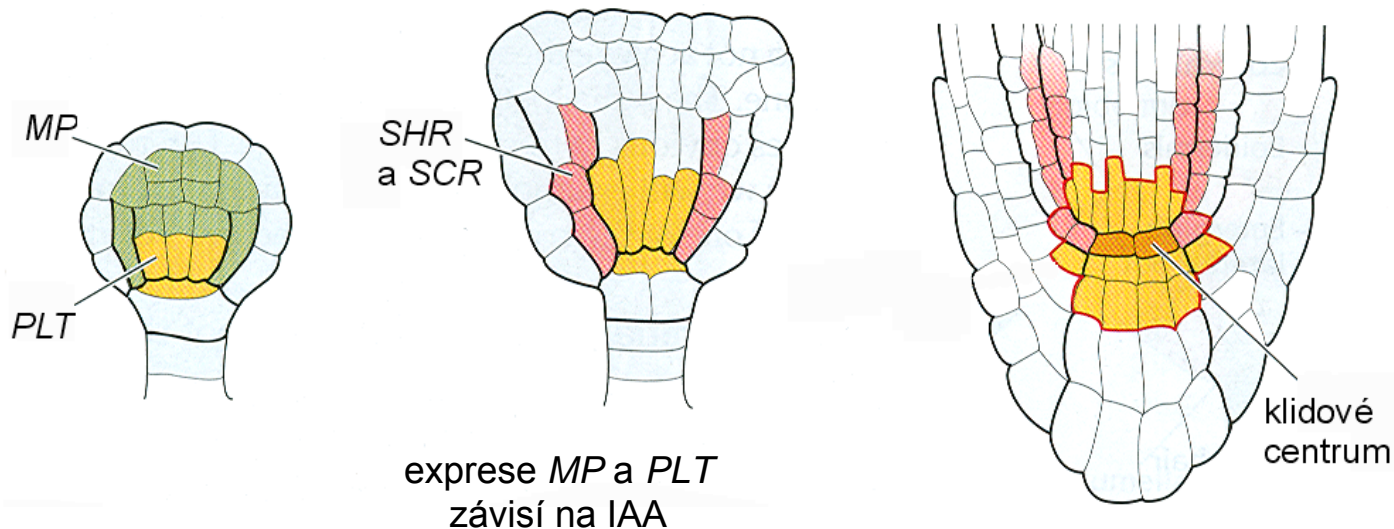
PLT1, *PLT2* (*PLETHORA*)

kódují transkripční faktory AP2/EREBP = ERF (etylén)

transkripční faktory

SHR (*SHORT ROOT*)

SCR (*SCARECROW*; strašák)



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

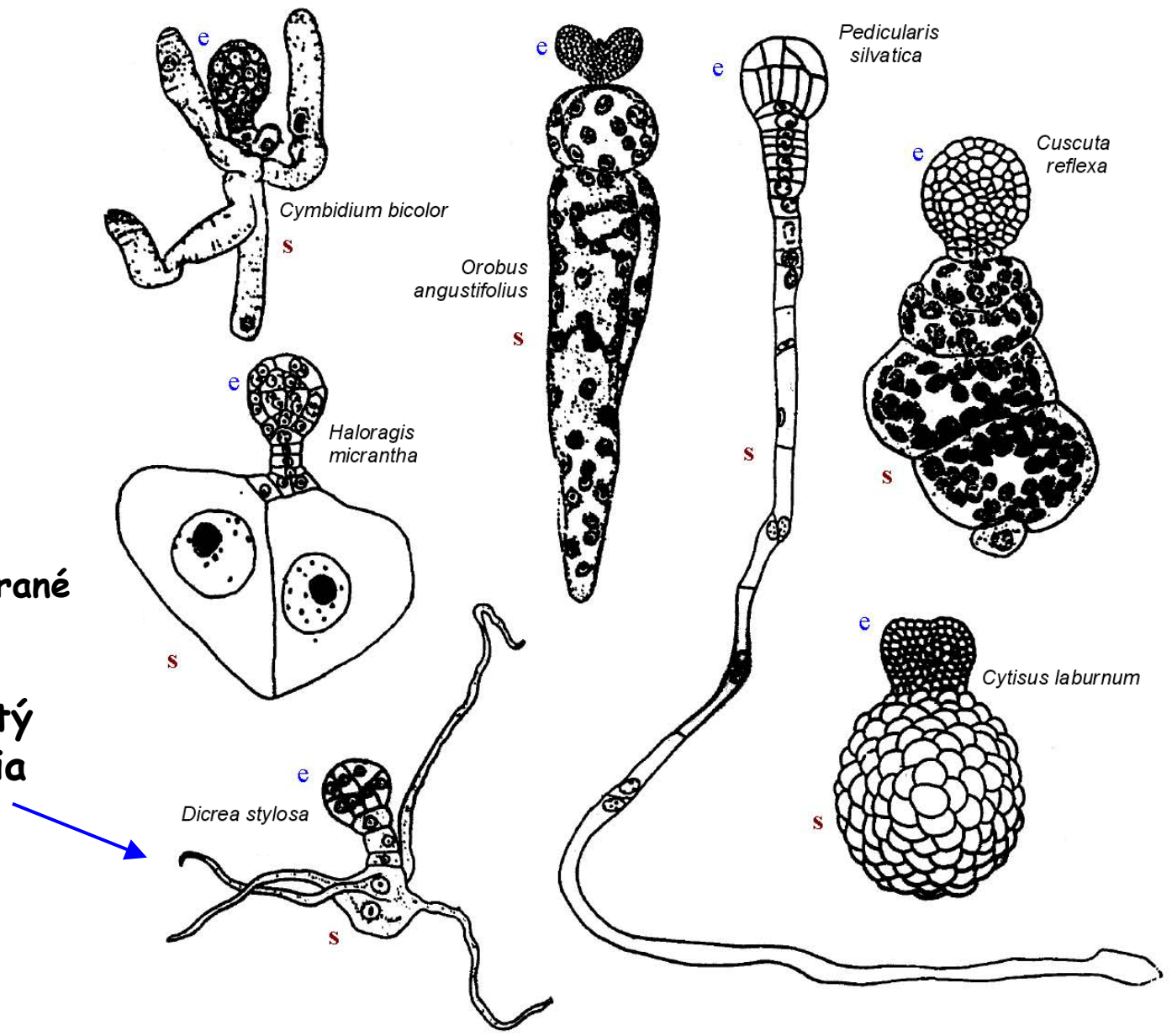
geny kódující **ARF10** a **ARF16**

= stimulovány **auxinem** a inhibovány miRNA

suspensor
(zavěšovací orgán)

dočasná funkce v rané embryogenezi

tvárově rozmanitý orgán - haustoria



Zrání embrya

1. ukládání zásobních látek
2. dehydratace a tvorba ochranných proteinů
(LEA = late embryo abundant)
3. zvýšená koncentrace inhibičních látek
(ABA = kyselina abscisová)

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

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

v semeni přetrvává v době zralosti embrya = bílečnatá semena

zbytek nucellu v době zralosti embrya = perisperm

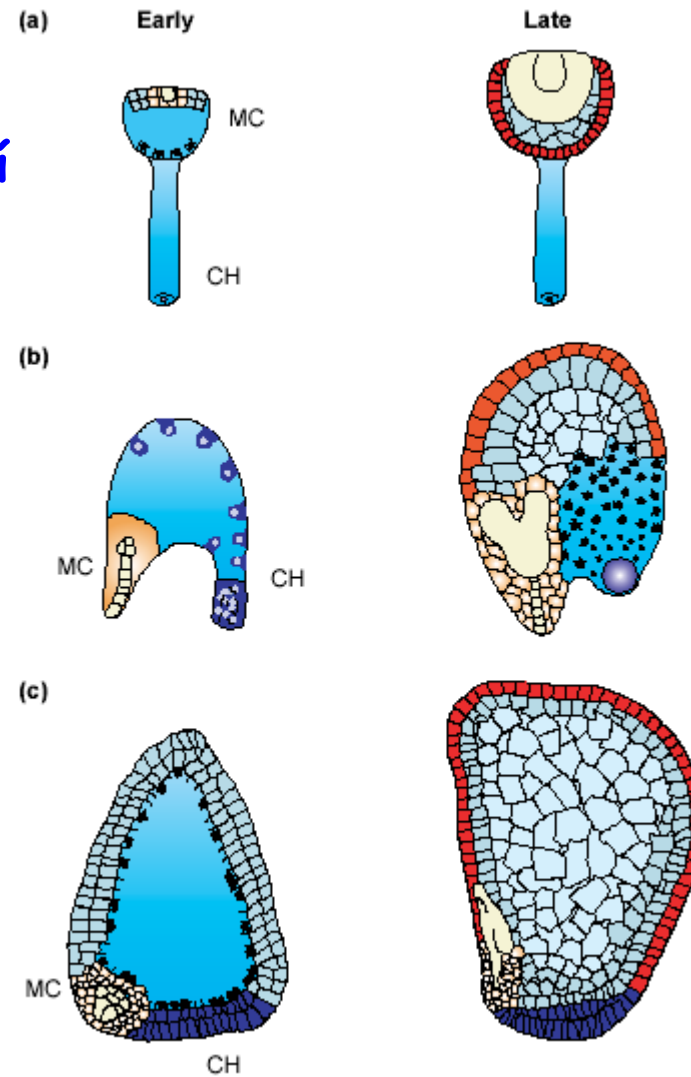
Typy endospermu

buněčný

helobiální

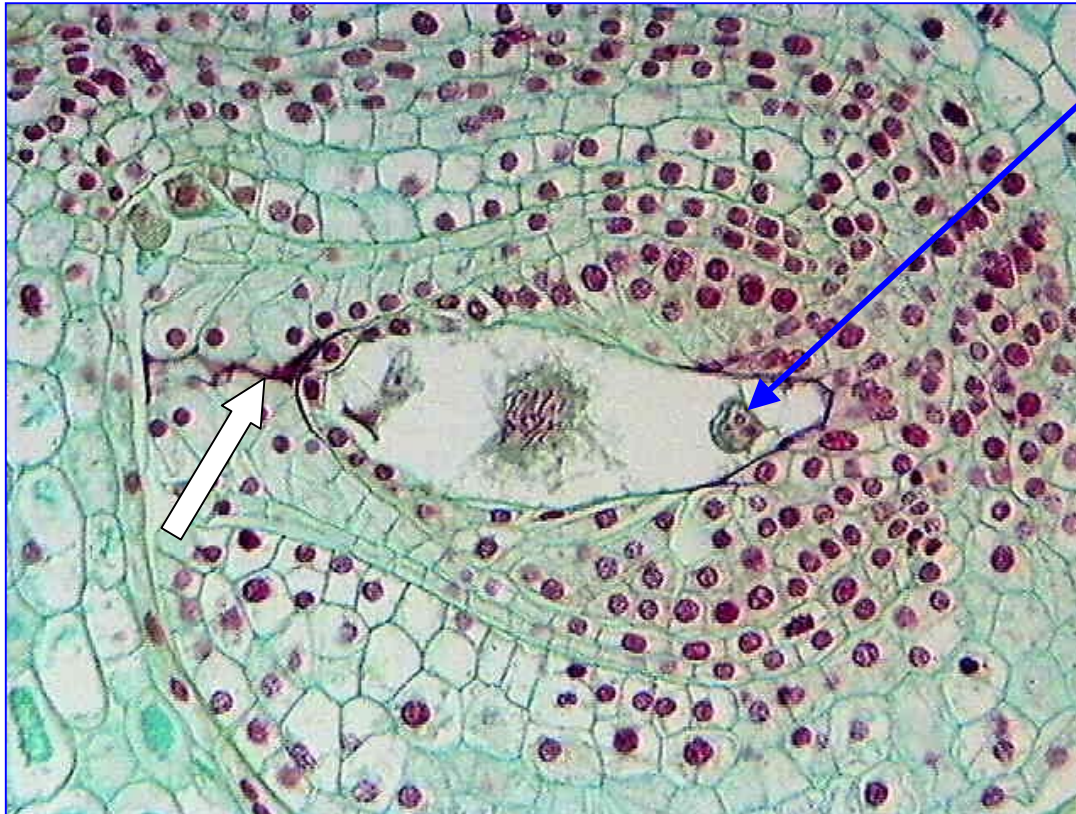
jaderný
převládá

jaderný u kukuřice

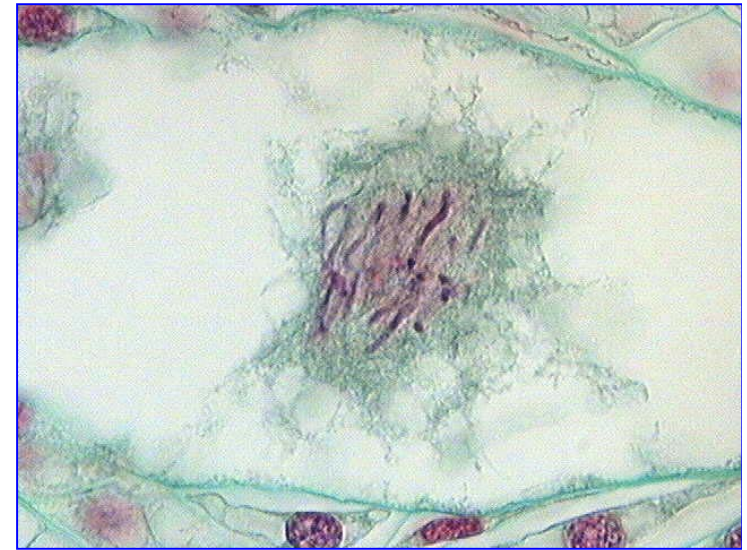


První dělení primárního endospermálního jádra u lilie

IASPRR



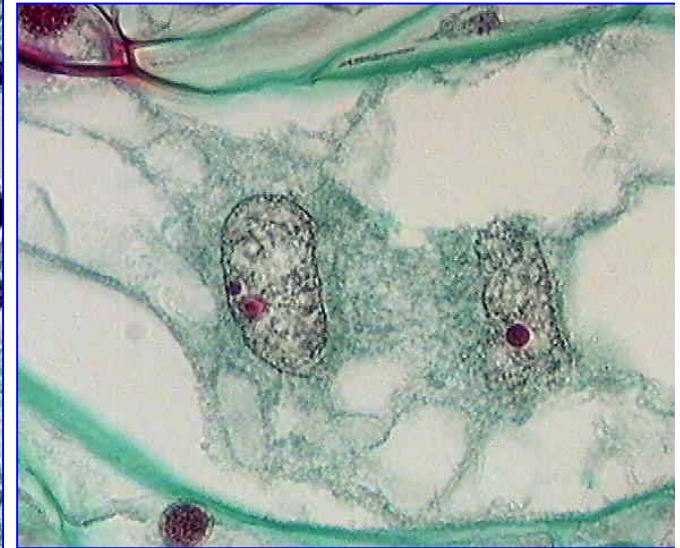
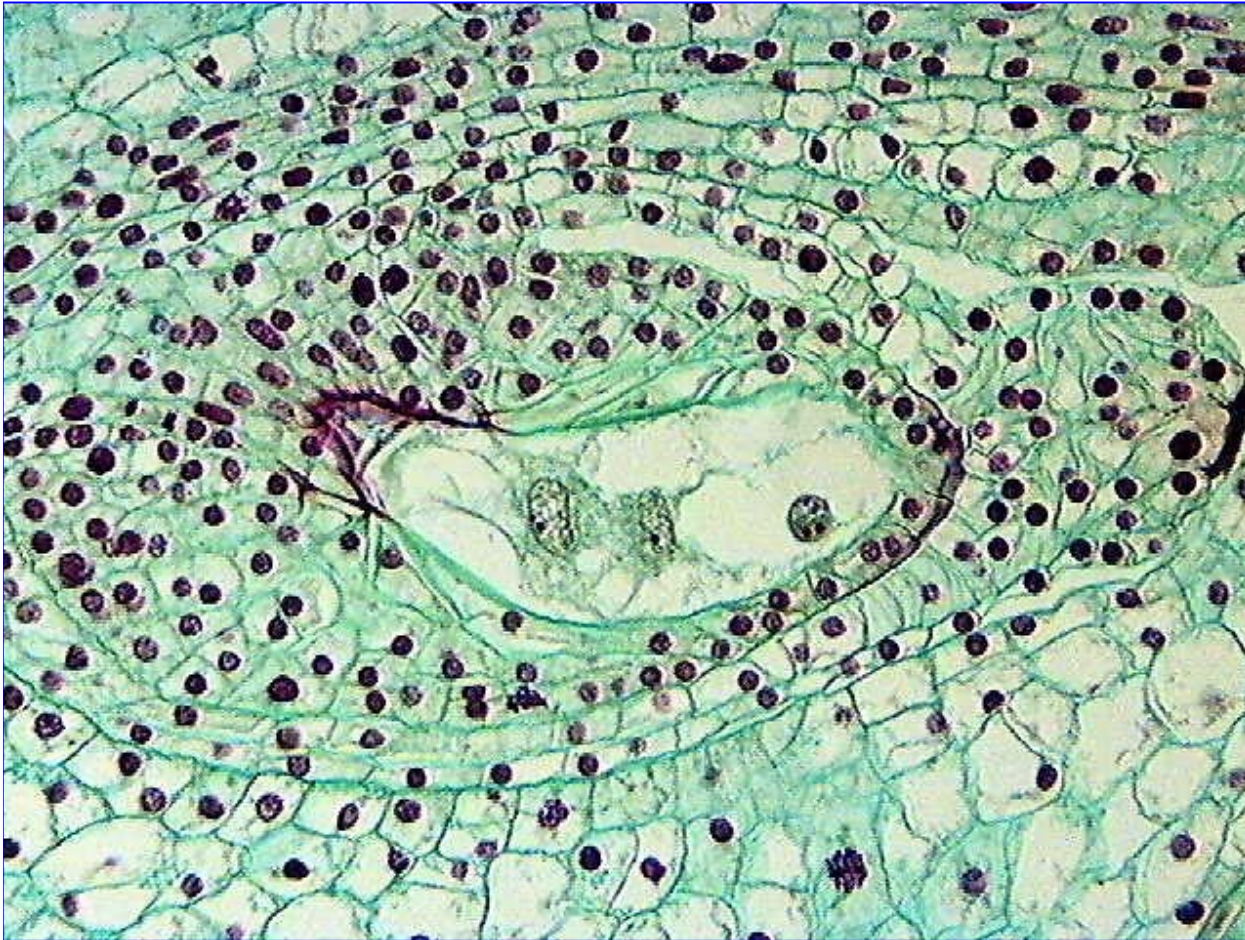
antipody



metafáze prvního dělení primárního endospermálního jádra, vznik volnojaderného endospermu
v mikropyle tmavě červeně zbarvená pylová láčka (bílá šipka).

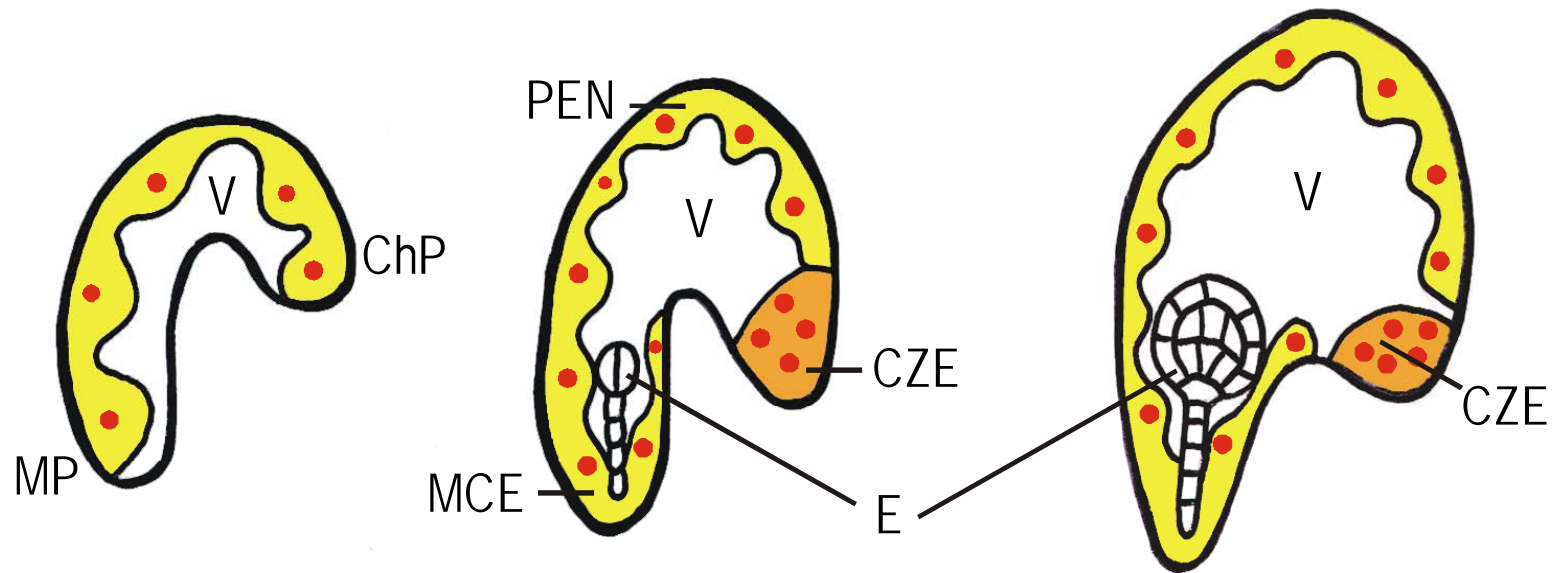
Dvoujaderný endosperm u lilie

IASPRR



dělení endospermu začíná před dělením zygoty (detail vpravo)

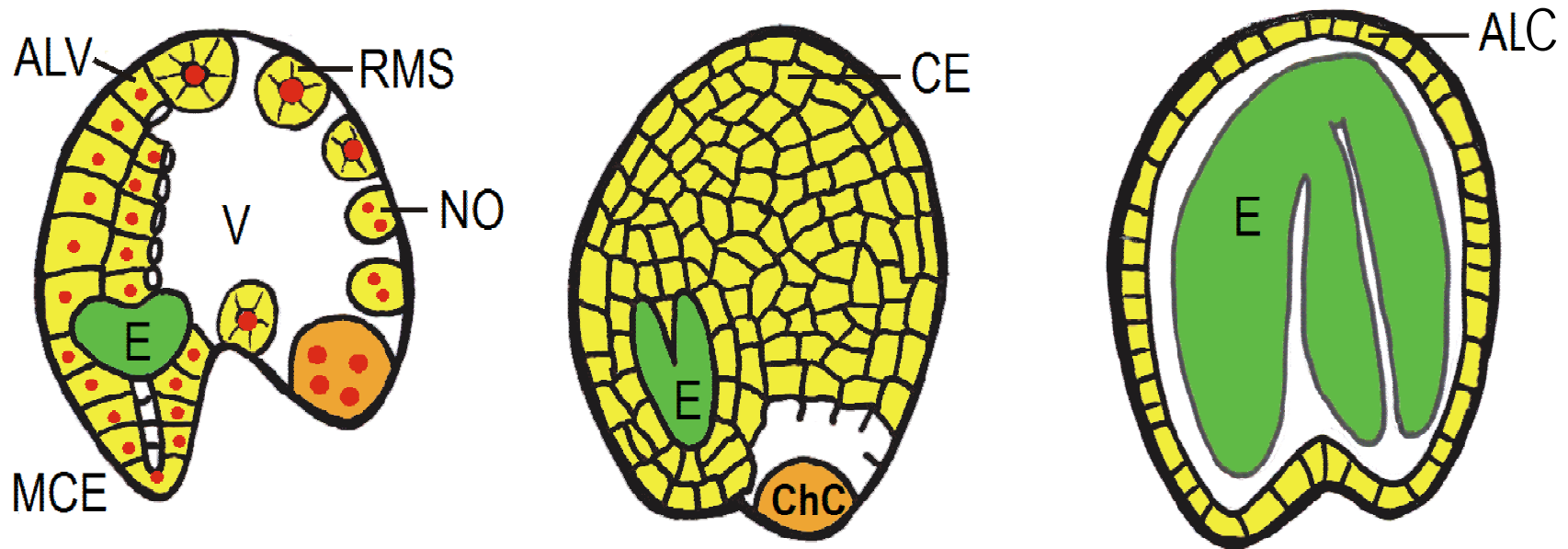
Raná stadia vývoje jaderného endospermu u *Arabidopsis* (coenocyt)



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“

Endosperm

ploidie - záleží na typu zárodečného vaku:
obecně 3N, u *Oenothera* 2N
u typů *Fritillaria*, *Penea*, *Peperomia* polyploidní (extrém 300N)

složení:

zásobní látky

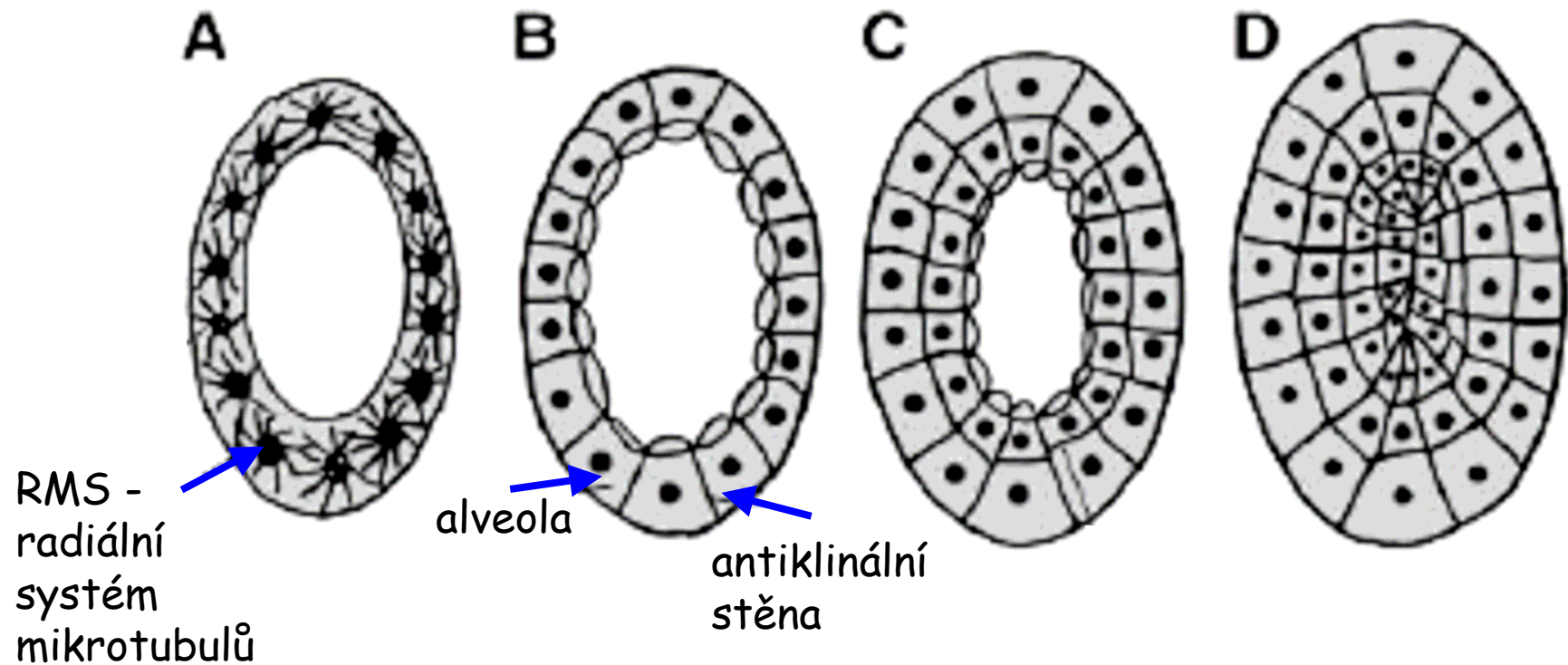
polysacharidy (škrob, galaktomananové hemicelulózy u datle, luštěnin)

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

lipidy (tuky a oleje - lipidová tělíska oleozomy)

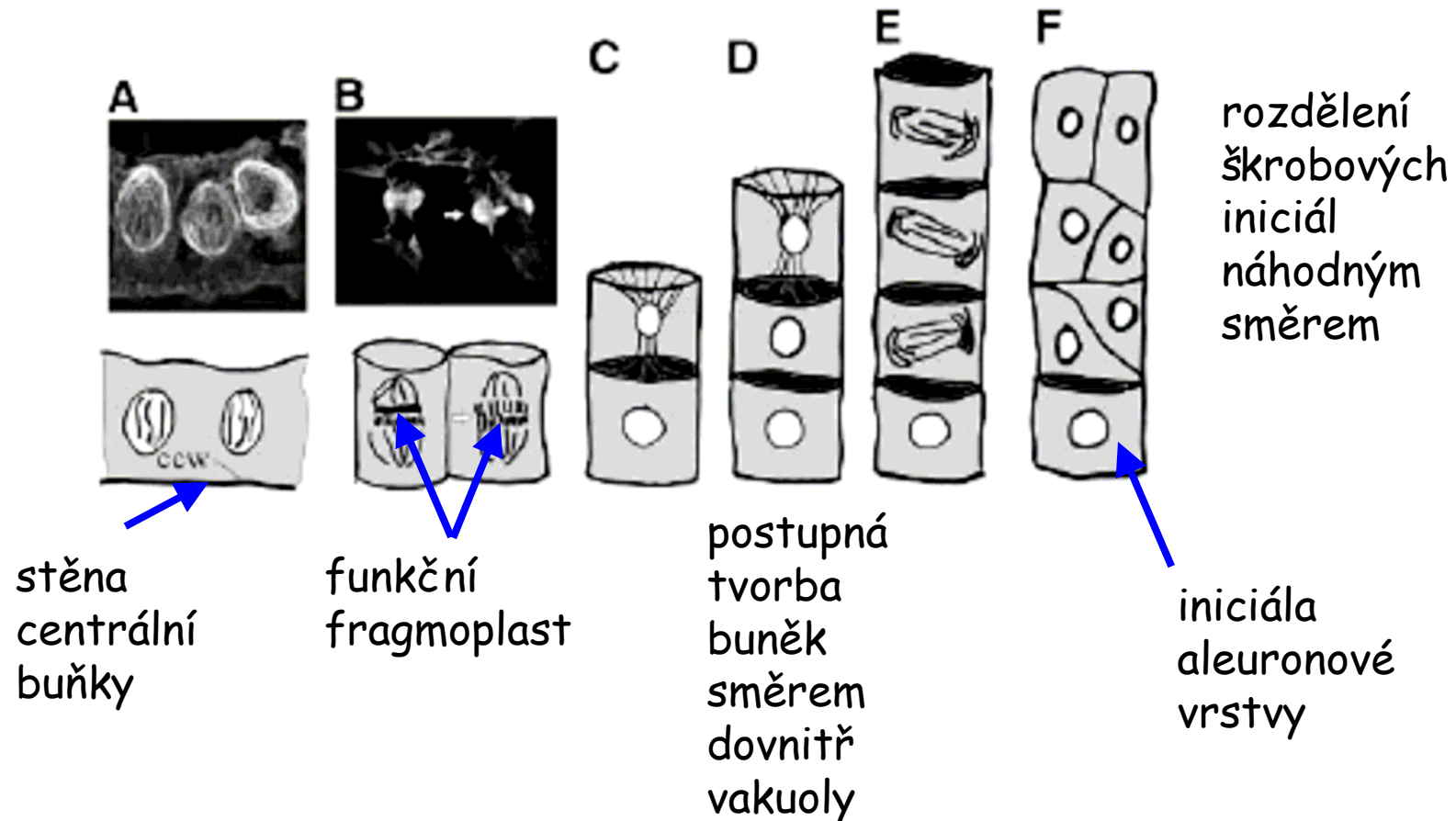
fytin - hexafosfátový ester *myo*-inozitolu, Ca a Mg sůl

Cellularizace endospermu u obilovin

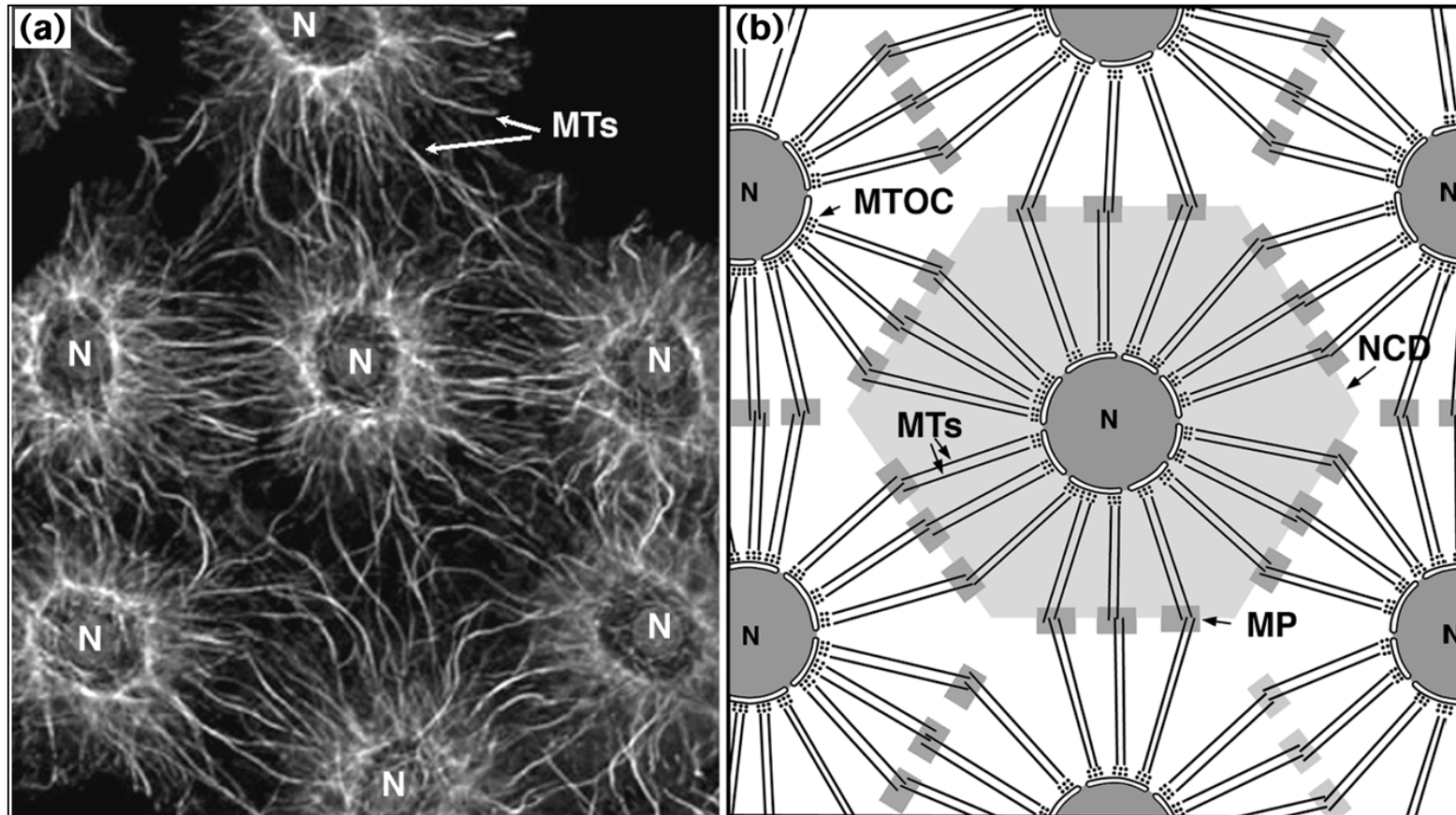


Cellularizace endospermu u obilovin

Olsen, *Plant Cell* 2004

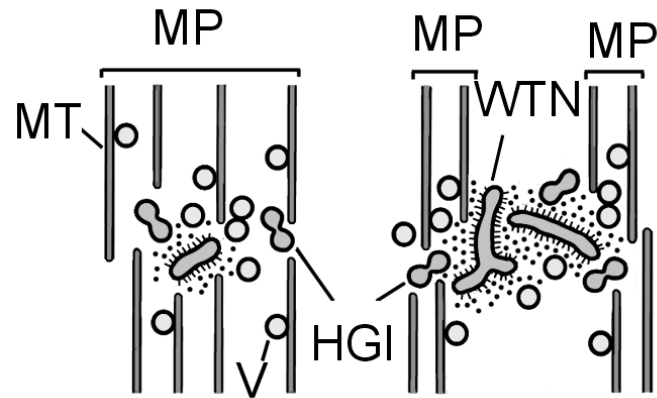


Celularizace jaderného endospermu

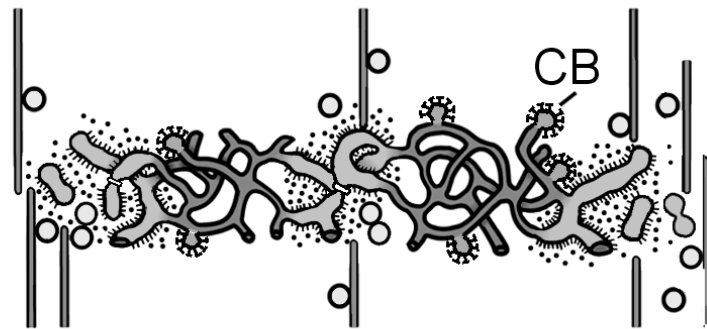
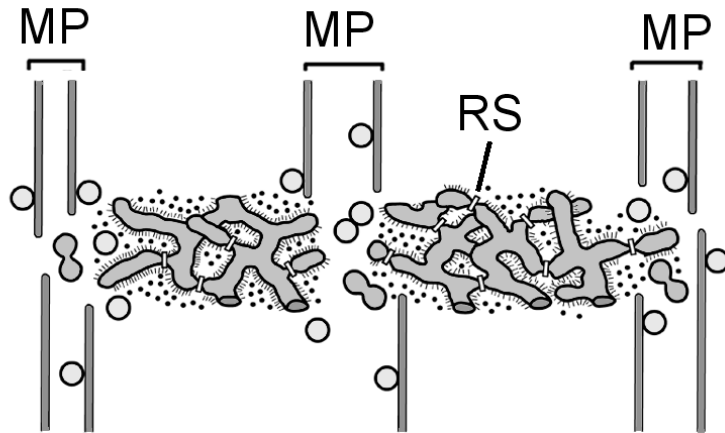


(*Coronopus didymous*, čel. *Brassicaceae*)

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



Celularizace jaderného endospermu



WTN TTN WTN TTN WTN

MP - minifragmoplast

MT - mikrotubulus

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

RS - ring-like structure

WTN - síť širokých tubulů

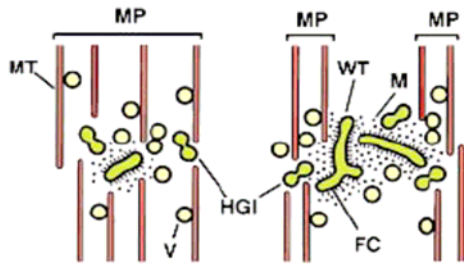
TTN - síť tenkých tubulů

CB - klatrinové vezikuly tvořící se na
membráně

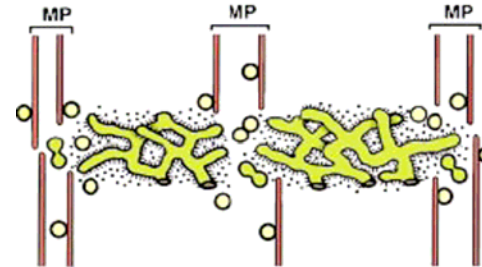
(angl. *clathrin-coated budding vesicle*)

Stadia celularizace jaderného endospermu *Arabidopsis*

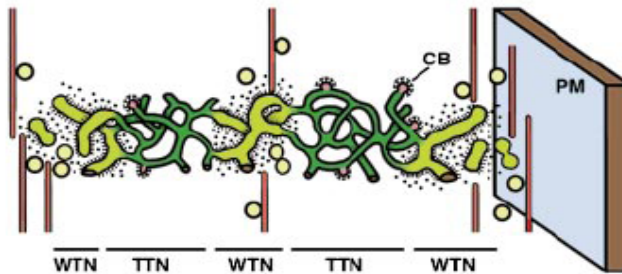
A - stadium váčků



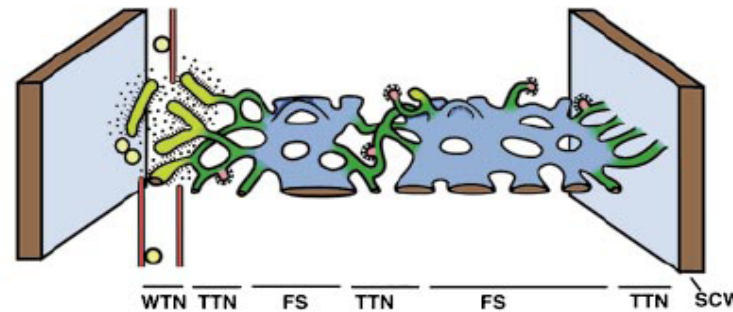
B - stadium sítě širokých tubulů



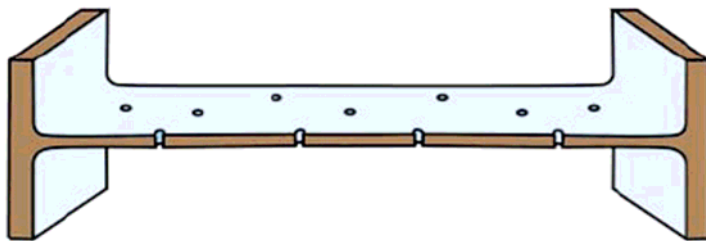
C - stadium sítě tenkých tubulů



D - stadium okének (FS)



E - antiklinální stěna



- MP - minifragmoplast
- MT - mikrotubulus
- GHI - fúze váčků typu přesýpacích hodin
(angl. *hourglass intermediates*)
- RS - ring-like structure
- WTN - síť širokých tubulů
- TTN - síť tenkých tubulů
- SCW - postranní buněčná stěna
- PM - plazmatická membrána

Geny důležité pro vznik endospermu

DME (DEMETER)

MEA (MEDEA)

FIS (FERTILISATION INDEPENDENT SEED)

FIE (FERTILISATION INDEPENDENT ENDOSPERM)

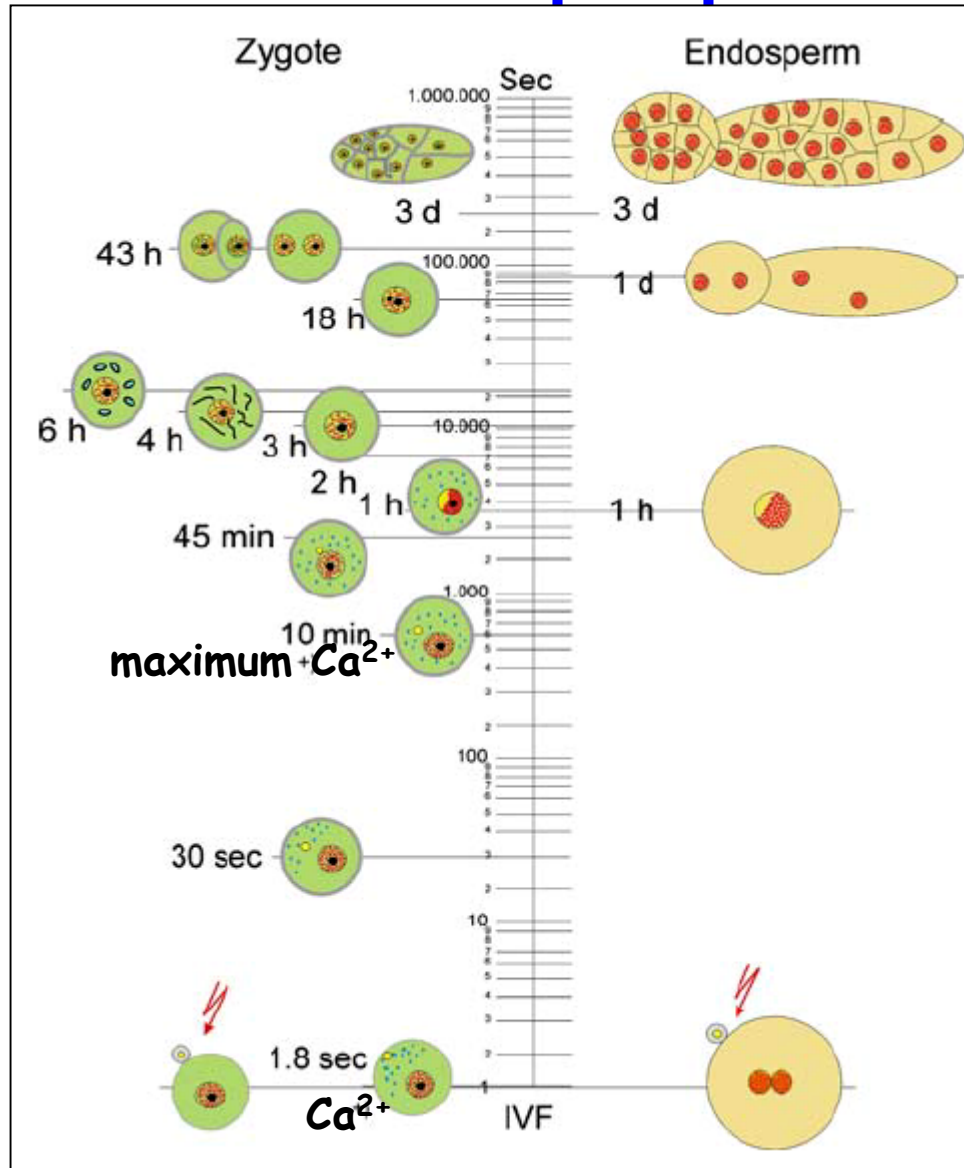
DME je exprimován pouze v centrální buňce zárodečného vaku
demetyluje = aktivuje *FIS1/MEA* a *FIS2*

♀ *mutanti fis1/meal, fis2, fis3/fie* bez oplození tvoří diploidní endosperm
a semena bez embryí, v tvarově pozměněných plodech

po oplození mutanta zdravou rostlinou - bujný endosperm, semena nedokončí
vývoj, plody předčasně opadávají

♂ *mutanti fis1/meal, fis2, fis3/fie* - nemají výrazný projev

Raná embryogeneze a vývoj endospermu u kukuřice po oplození *in vitro*



fúze iniciovaná
el. pulsem