

# Samčí gametofyt

mikrosporogeneze  
mikrogametogeneze



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

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

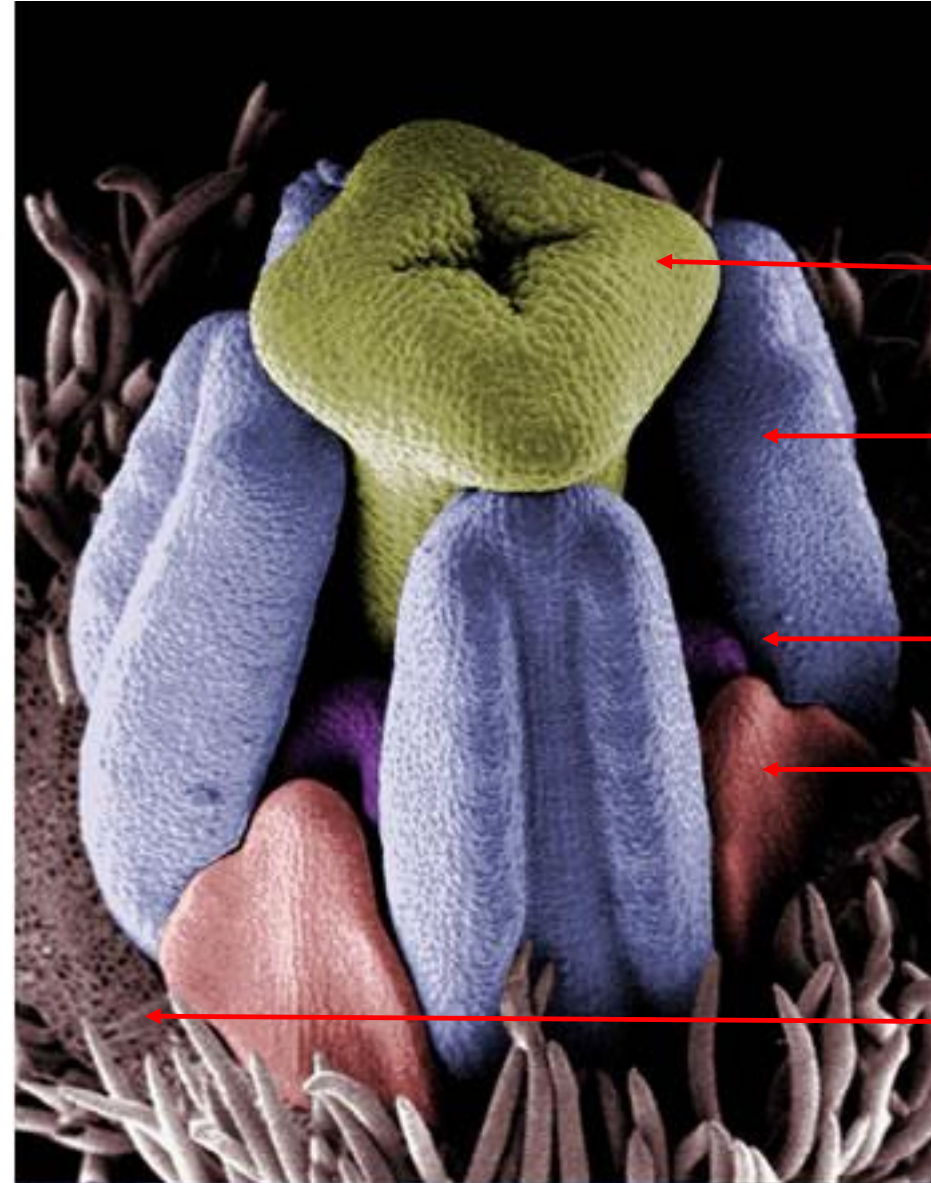
# SEM - rané stadium vývoje květu *Clarkia xanthiana*

Am. J. Bot.

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



Foto:  
C. J. Runions  
Cornell University



blizna s čnělkou

větší prašníky

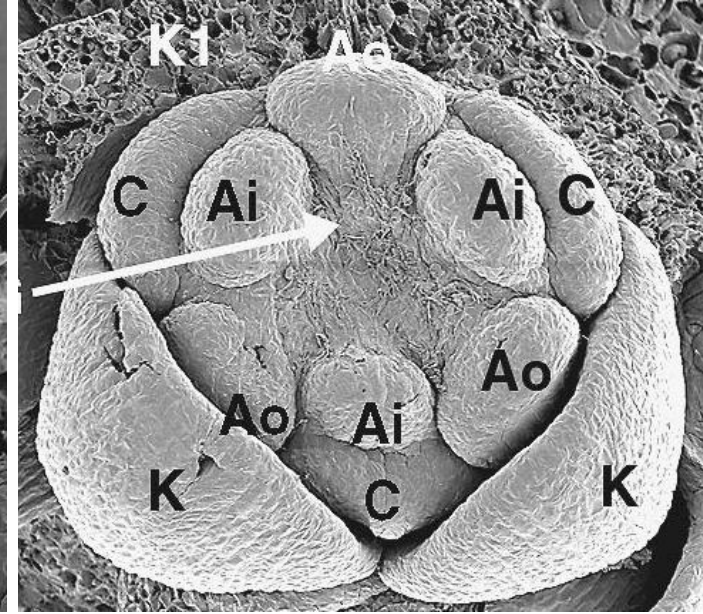
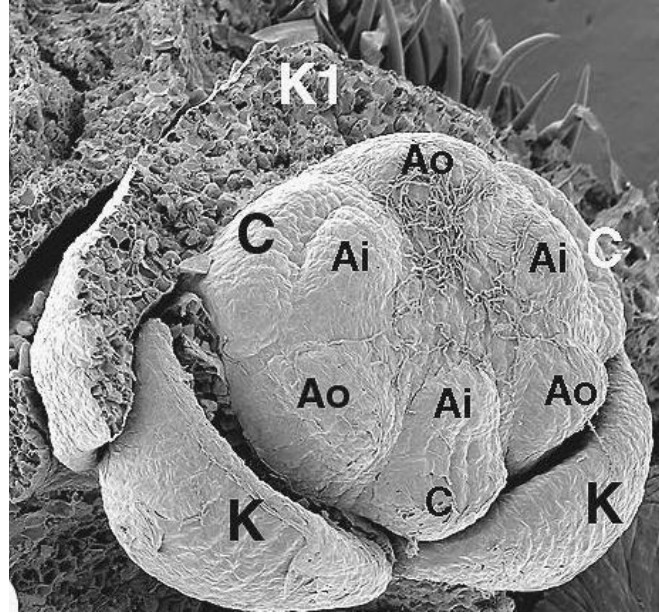
menší prašníky

petaly

sepaly (odřízlé)  
s trichomy

Samčí rozmnožovací orgán  
= tyčinka

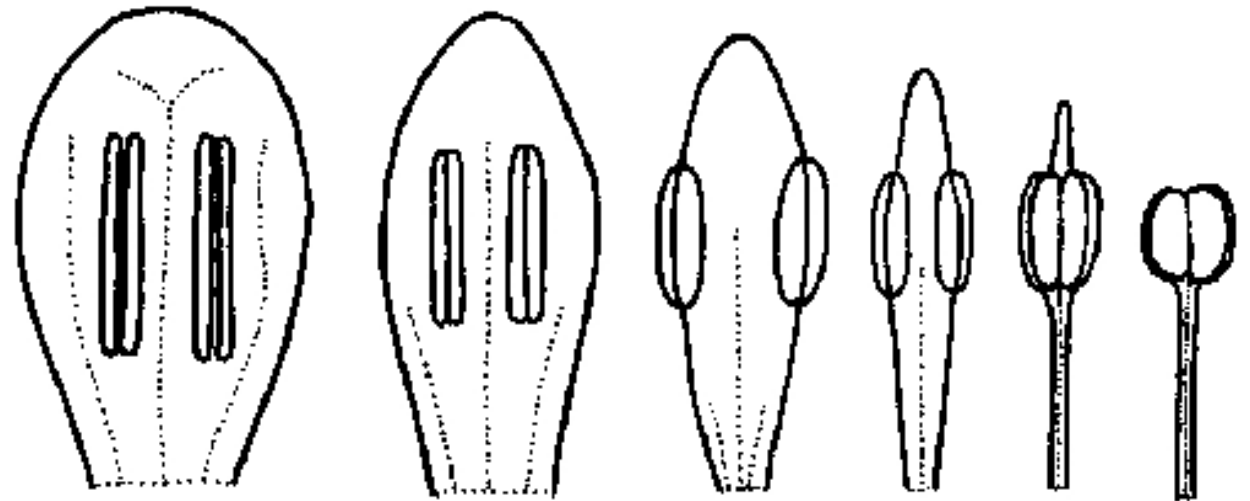
soubor tyčinek  
= androeceum



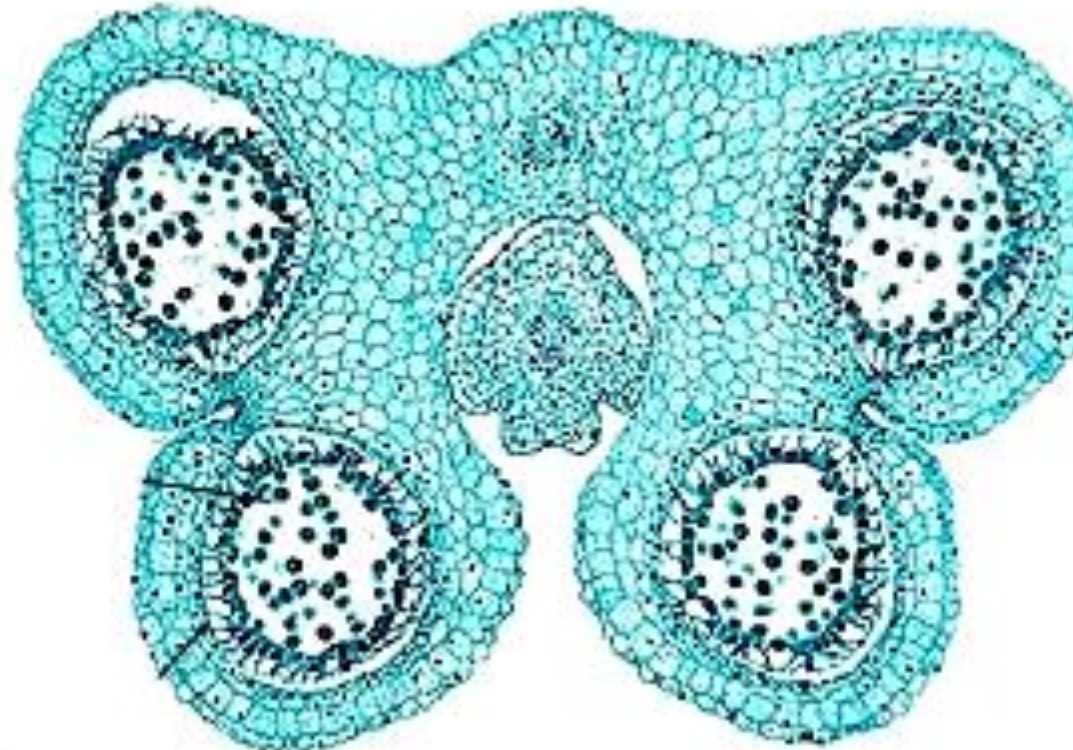
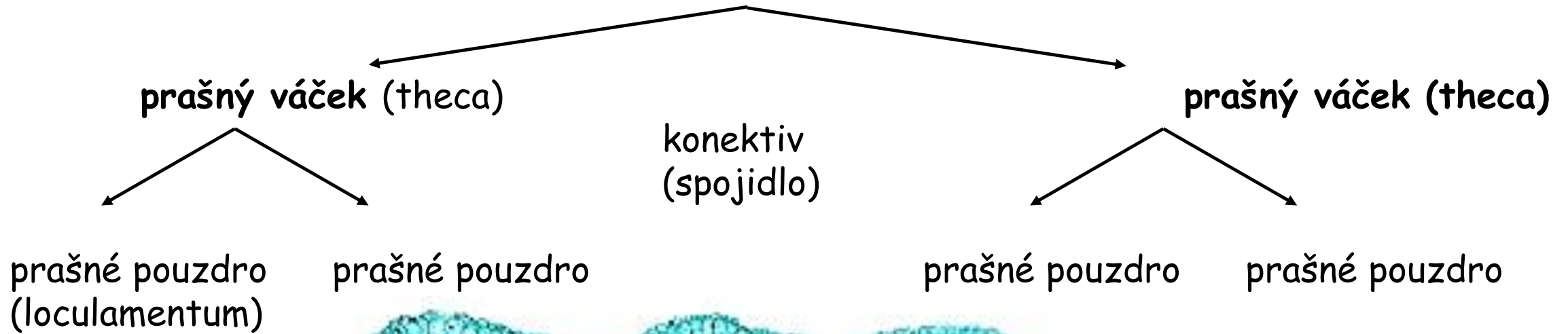
tyčinka se zakládá jako meristematičtý hrbolek laterálně  
na vrcholu květního základu

Am.J.Bot. 2000

- z apexu → prašník (anthera)
- z baze → nitka (filamentum)



# Stavba prašníku



**lilie**

## otevírání prašných váčků:

- podélnou skulinou
  - chlopněmi
  - otvorem na vrcholu
- 
- směrem ven z květu - **extrorzně**
  - dovnitř květu - **introrzně**
  - do stran - **latrorzně**

# Řez prašníkem lilie - metafáze I. meiotického dělení



# Stavba stěny prašníku

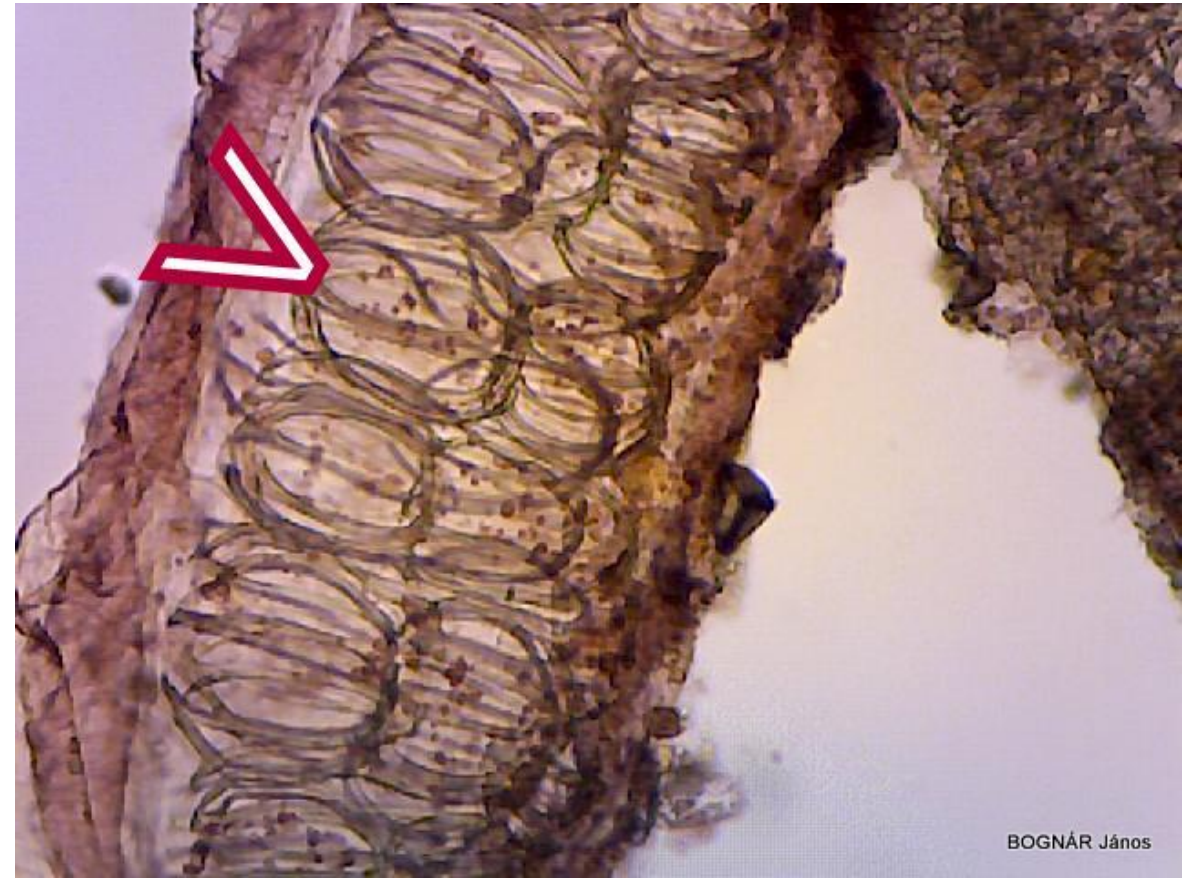
- **exothecium** = pokožková vrstva s kutikulou  
stomium, hypostomium
- **endothecium** = subepidermální, vláknitá vrstva
- **střední vrstva** = mezofyl, parenchymatické  
pletivo
- **tapetum** = výstelka prašného pouzdra
  - žlaznaté (sekretorické) - častější, vývojově starší
  - ameboidní = periplazmodium (úplné rozpuštění buněčných stěn, uvolnění protoplastů tapeta do prostoru vývoje mikrospor)



# Endothecium

vrstva tvořená radiálně protaženými, v době zralosti prašníku odumřelými buňkami s vláknitě ztloustlými buněčnými stěnami

při vysýchání dochází k napětí a k praskání prašných pouzder, tzv. **dehiscenci**



<http://www.plantarium.hu/tag/leces-sejtfalvastagodas/>

# Funkce tapeta

- poskytování nutričních, regulačních a stavebních látek pro vyvíjející se pyl
- produkce enzymu kalázy ( $\beta$ -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 stěny pylových zrn - exině)



# Vývoj buněk tapeta

## dvojitý původ:

- vnější tapetum (L2)
- vnitřní tapetum (L3)

## fáze vývoje: (synchronizovaný s vývojem mikrospor)

- předmitotická fáze - buňky jednojaderné, meristemické
- mitotická fáze - mitóza bez cytokineze + endomitóza = 2 polyploidní jádra, zvětšuje se i objem buněk
- postmitotická fáze - vesikulární útvary = vysoká syntetická a sekreční aktivita
- programovaná buněčná smrt buněk tapeta (v období stádia tetrad)

# Mikrosporogeneze

vývoj mikrospor ze sporogenních buněk (u rýže)

subepidermální buňky  
meristem. hrbolku



primární  
archespor



sporogenní  
buňky



mikrosporocyty  
pylové mateřské  
buňky (PMC)

meióza

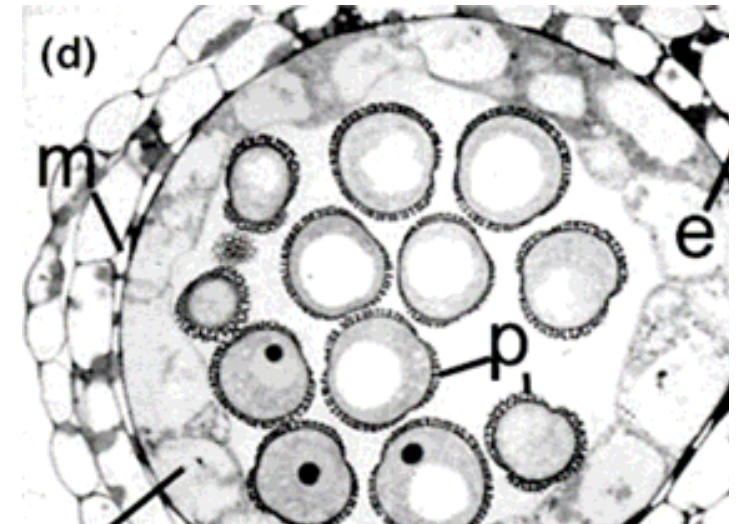
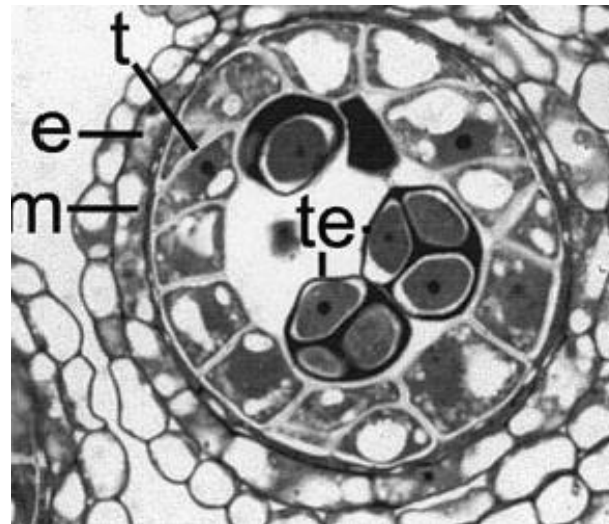
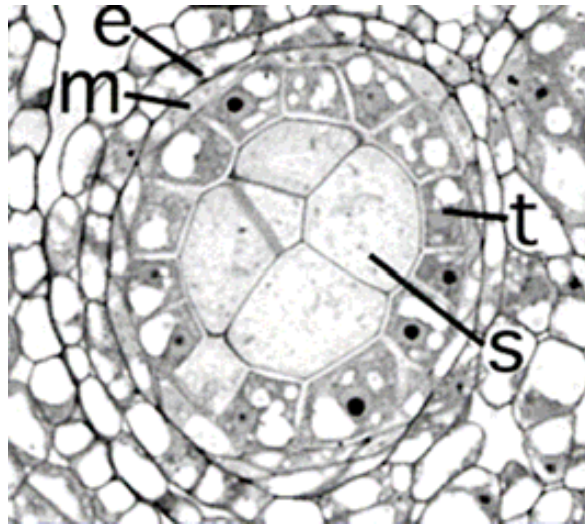
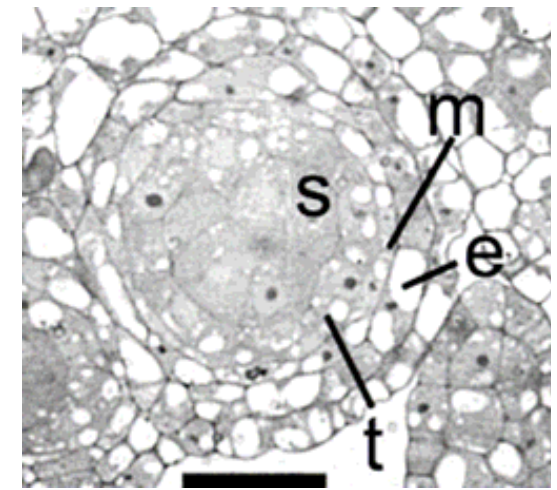


tetrády  
mikrospor

kaláza



mikrospory



# Mei

## MEIOSIS I

### I. hetero segregac

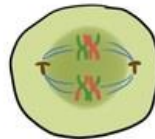
- profáz
- metaf
- anafáz
- telofáz



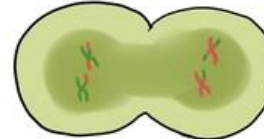
Interphase



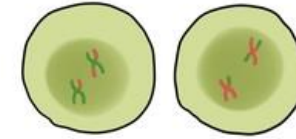
prophase



metaphase



Anaphase



Telophase

I.

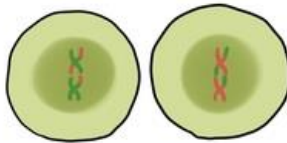
DNA

ení = ekvační

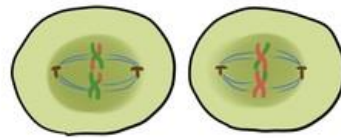
lel

itózou

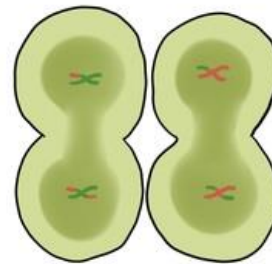
## MEIOSIS II



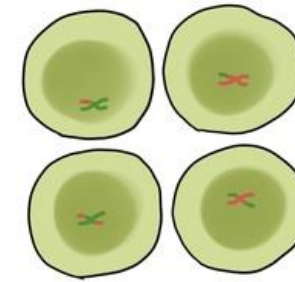
prophase I



metaphase 1



Anaphase II



Telophase II

# Typy tvorby tetrád

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

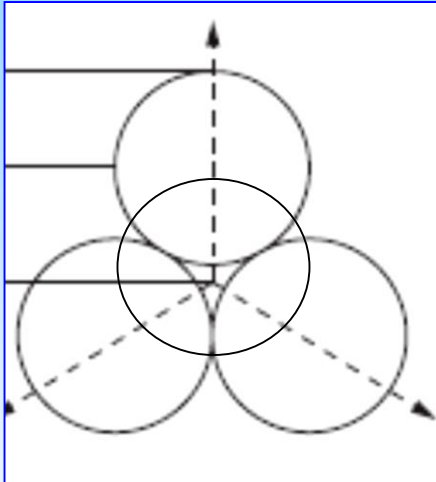


**simultánní typ** - po I. meiotickém dělení přehrádka nevzniká, teprve po skončení II. meiotického dělení začíná centripetálně (od periferie dovnitř) tvorba brázd a následně přepážek (typický u **dvouděložných rostlin**)

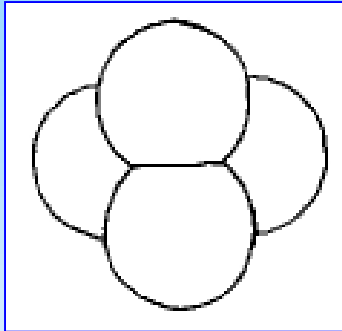


# Typy tetrád podle uspořádání mikrospor

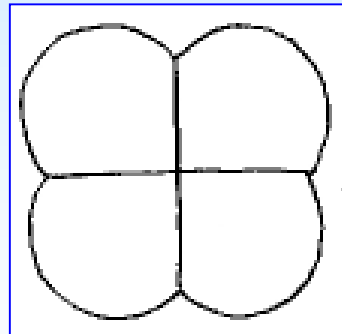
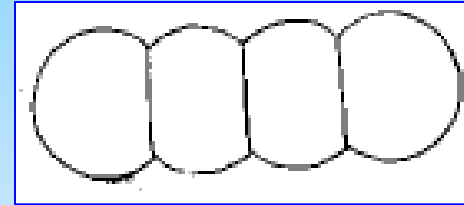
tetraedrická



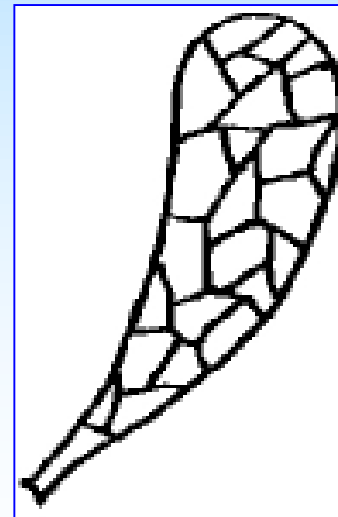
příčná



lineární



izobilaterální

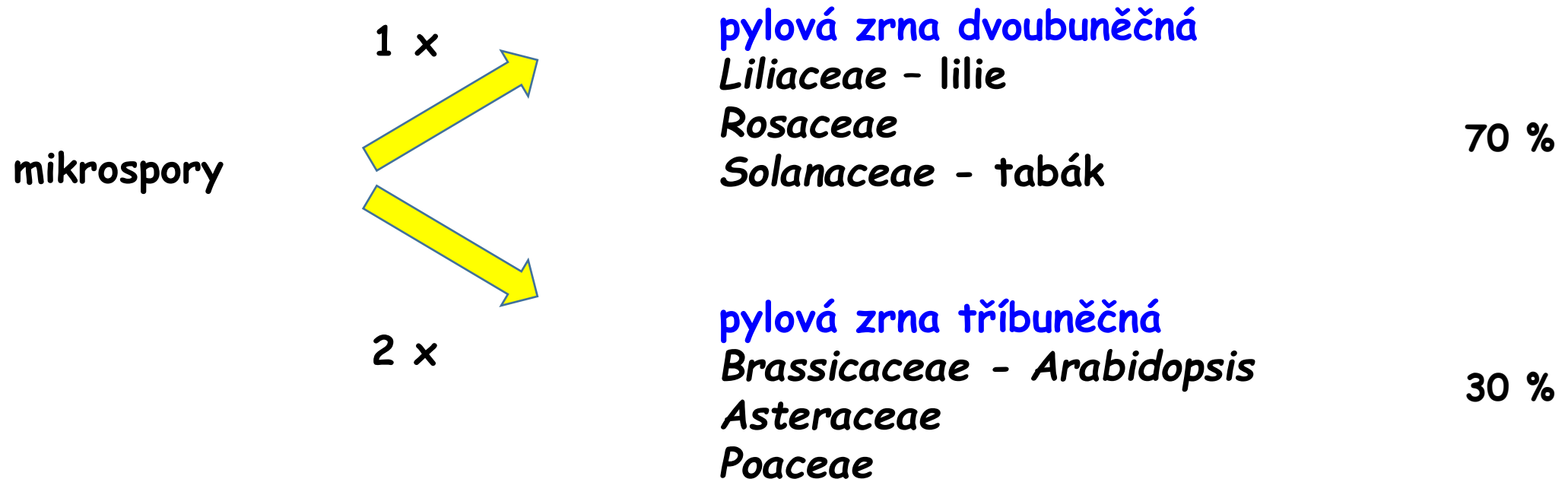


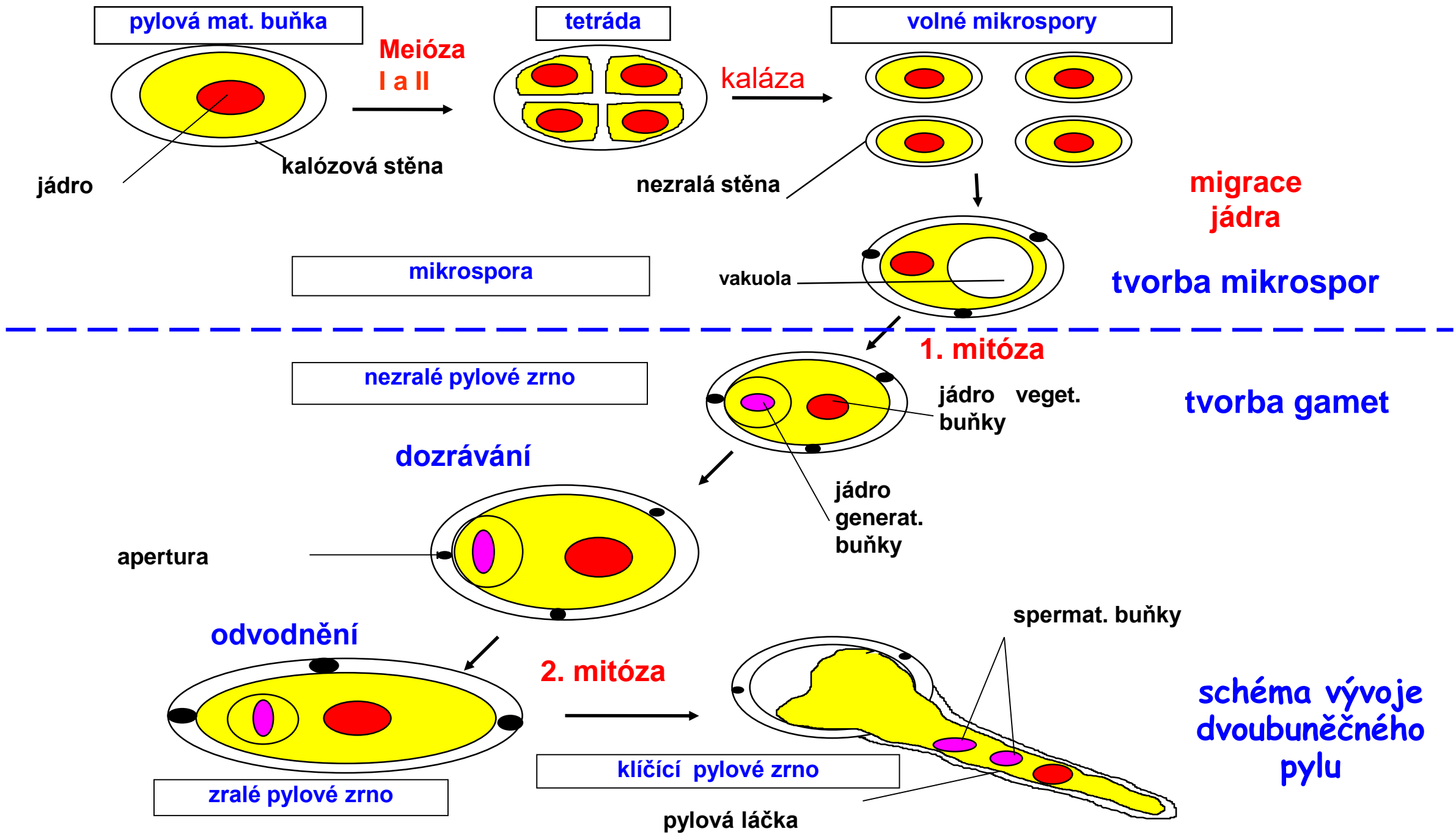
polinárium

(*Asclepiadaceae*,  
*Orchidaceae*)

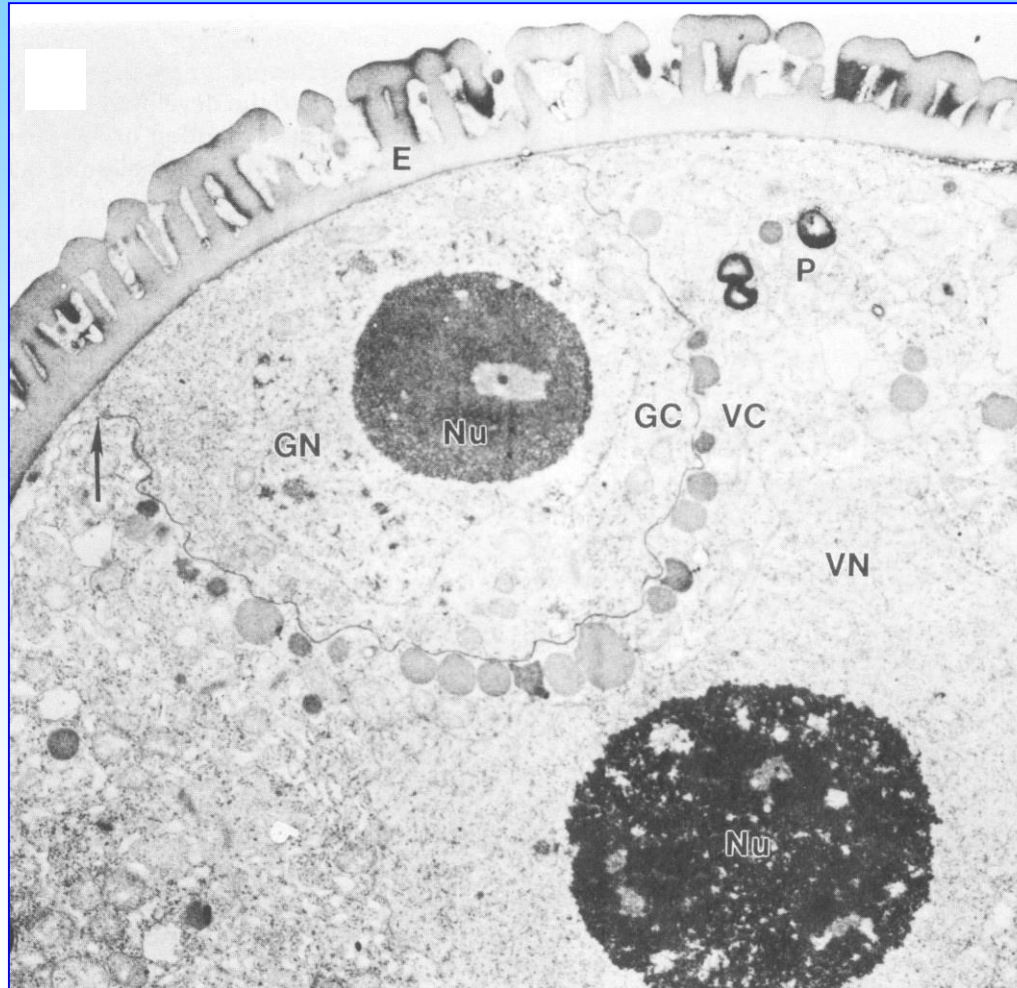
# Mikrogametogeneze = vývoj samčích gamet

mitóza v pylovém zrně





# TEM pylového zrna pryšce (*Euphorbia*)



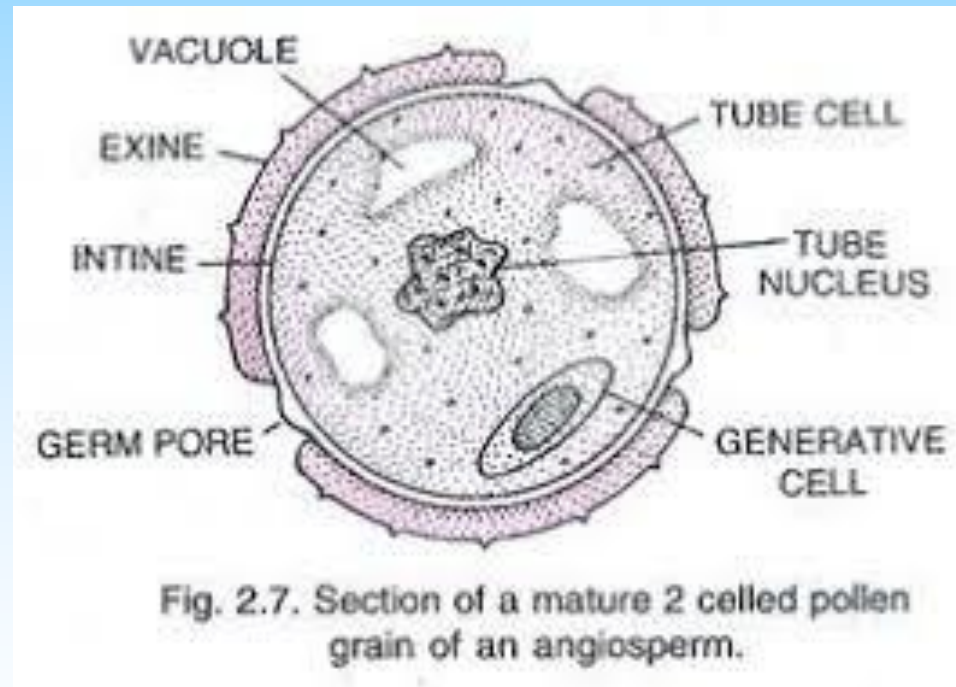
(Cresti *et al.* 1992)

dvoubuněčný pyl:  
u 70% studovaných  
kvetoucích rostlin

dělení generativní  
buňky na 2 buňky  
spermatické probíhá  
v pylové láčce



# Struktura pylového zrna

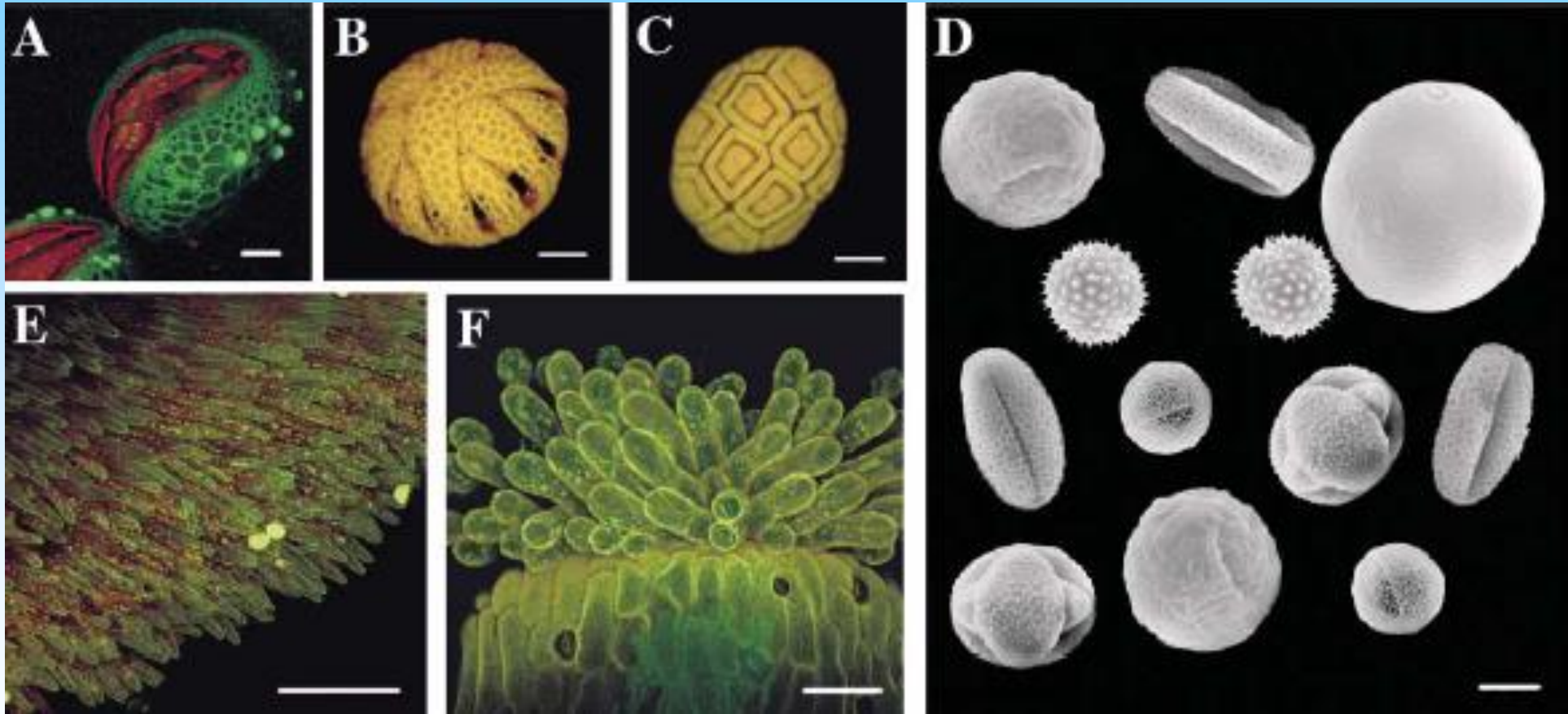


# Variabilita pylu

*Lilium*

*Passiflora*

*Accacia* - polyády (8,12,16 nebo 32)



*Torenia*

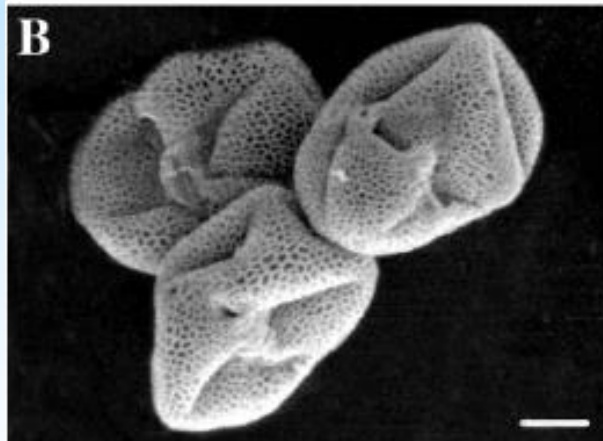
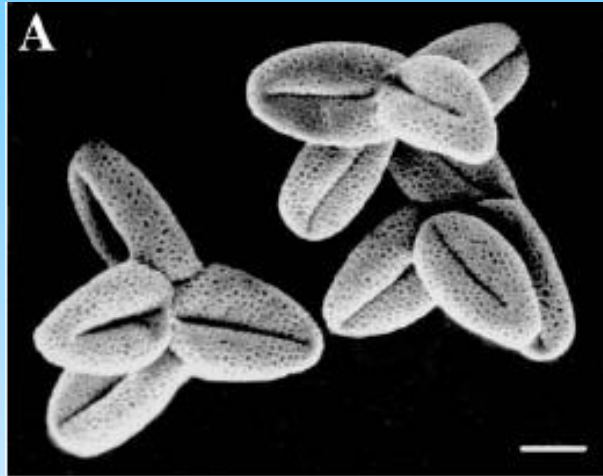
*Arabidopsis*

Edlund *et al.* 2004

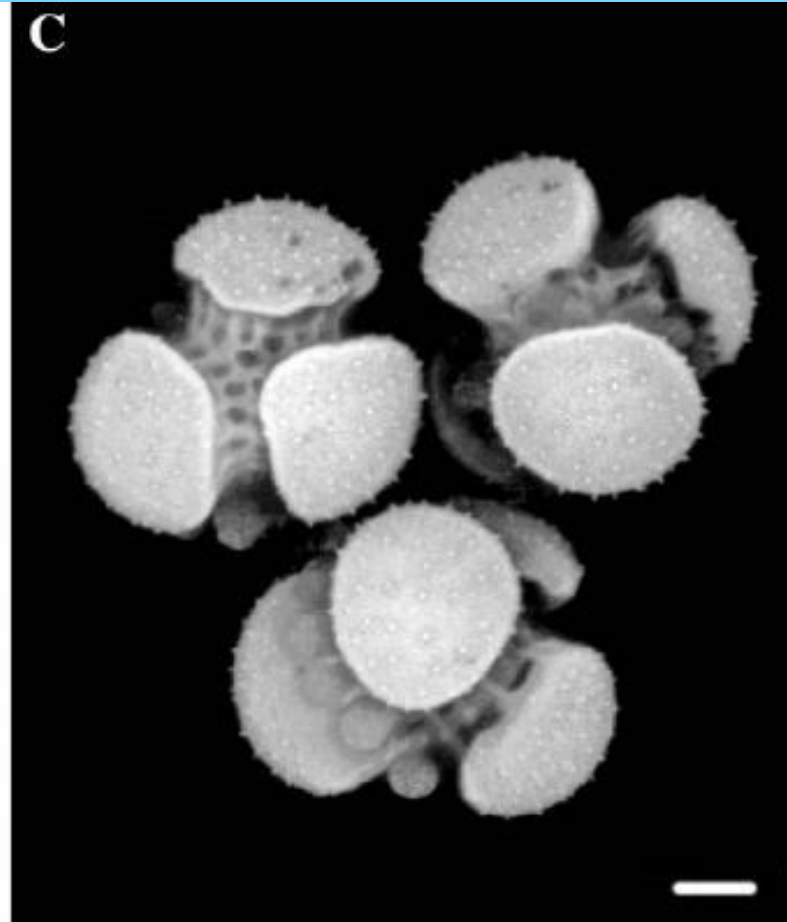
bliznové papily

# Tetrády pylu

*Arabidopsis* mutant *quartet*  
narušení degradace  
pektinových složek stěny:  
tetrády zralých  
životaschopných pylových  
zrn



*Arabidopsis* mutant  
*tes/stud*  
abnormální tvar apertur



přirozené tetrády pylu  
*Drosera binata*

Edlund *et al.* 2004

i *Ericaceae* nebo *Juncaceae*

# Velikost pylových zrn

vzdálenost pólů (polární rozměr) a ekvatoriální rozměr

velmi malá	menší než 10 $\mu\text{m}$	<i>Myosotis</i>
malá	10 - 25 $\mu\text{m}$	<i>Salix</i>
střední	25 - 50 $\mu\text{m}$	<i>Cyanus</i>
velká	50 - 100 $\mu\text{m}$	<i>Pinus</i>
velmi velká	100 - 200 $\mu\text{m}$	<i>Abies</i>
obrovská	nad 200 $\mu\text{m}$	<i>Cucurbita</i>

# Celkový tvar pylového zrna

podle poměru **poledníkové (m)** a **příčné osy (a)**

velmi protáhlá

$m:a = \text{větší než } 8:4$

protáhlá

$m:a = 8:4 \text{ až } 8:6$

slabě protáhlá

$m:a = 8:6 \text{ až } 8:7$

kulovitá

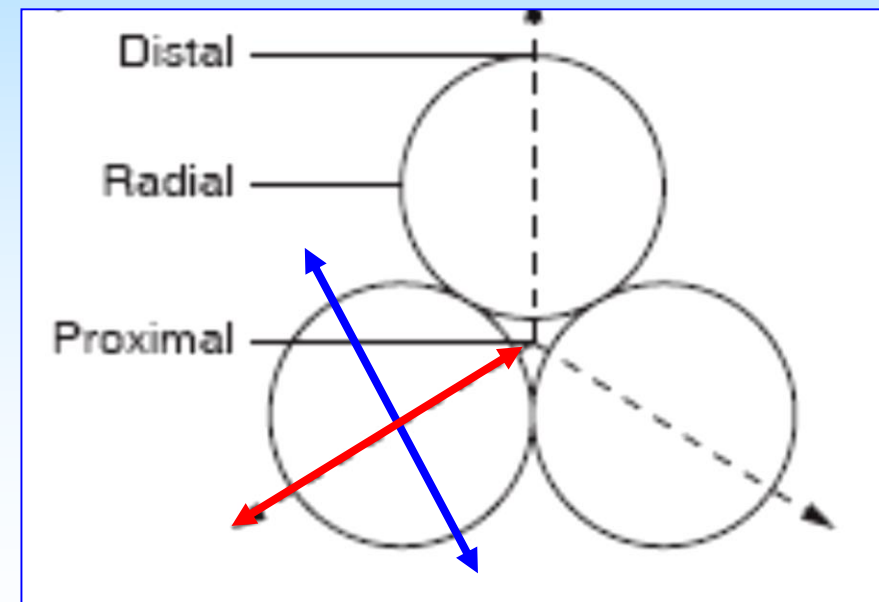
$m:a = 8:8$

slabě zploštělá

$m:a = 6:8 \text{ až } 7:8$

zploštělá

$m:a = 4:8 \text{ až } 6:8$



# Morfologická charakteristika pylových zrn podle apertur (Erdtman 1969)

## NPC systém

- N - počet (numerus)
- P - poloha (positio)
- C - tvar (character)

## typy apertury

- **porus** (okrouhlé až mírně oválná apertura)
- **kolpus** (oválná až úzce štěrbinovitá apertura)

viz skripta Lux et Erdelská (2001)

# Klasifikace pylových zrn NPC

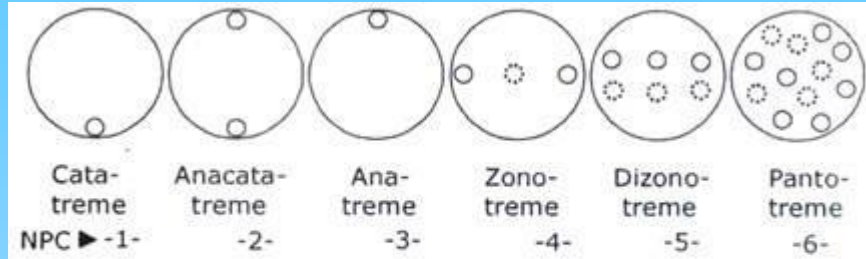


Figure 4.26

Schematic representation of position (P) of aperture(s) only in pollen and its number in NPC.

Number of apertures (N) ►	Ditreme 2 --	Tritreme 3 --	Tetratreme 4 --
Zonoporate NPC (-44) ►	 244 Di-zonoporate Ex. <i>Colchicum</i>	 344 Tri-zonoporate Ex. <i>Betula</i>	 444 Tetra-zonoporate Ex. <i>Alnus</i>
Zonocolpate NPC (-43) ►	 243 Di-zonocolpate Ex. <i>Tofieldia</i>	 343 Tri-zonocolpate Ex. <i>Acer</i>	 443 Tetra-zonocolpate Ex. <i>Hippuris</i>
Zonocolporate NPC (-45) ►	 245 Di-zonocolporate Ex. <i>Justicia simplex</i>	 345 Tri-zonocolporate Ex. <i>Lippia alba</i>	 445 Tetra-zonocolporate Ex. <i>Rumex</i>

Figure 4.28

Diagrammatic representation of NPC of some pollen in polar view.

Number of apertures (N) ►	Pentatreme 5 --	Hexatreme 6 --	Polytreme 7 --
Zonoporate NPC (-44) ►	 544 Penta-zonoporate Ex. <i>Alnus</i>	 644 Hexa-zonoporate Ex. <i>Ulmus</i>	 744 Poly-zonoporate
Zonocolpate NPC (-43) ►	 543 Penta-Zonocolpate	 643 Hexa-Zonocolpate	 743 Poly-Zonocolpate
Ex. Labiatae, Rubiaceae			
Zonocolporate NPC (-45) ►	 545 Penta-zonocolporate Ex. <i>Viola</i>	 645 Hexa-zonocolporate Ex. <i>Sanguisorba officinalis</i>	 745 Poly-zonocolporate Ex. <i>Utricularia</i>

Figure 4.29

Diagrammatic representation of NPC of some pollen in polar view.

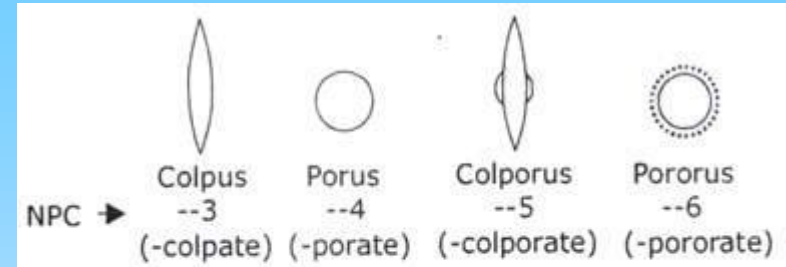


Figure 4.27

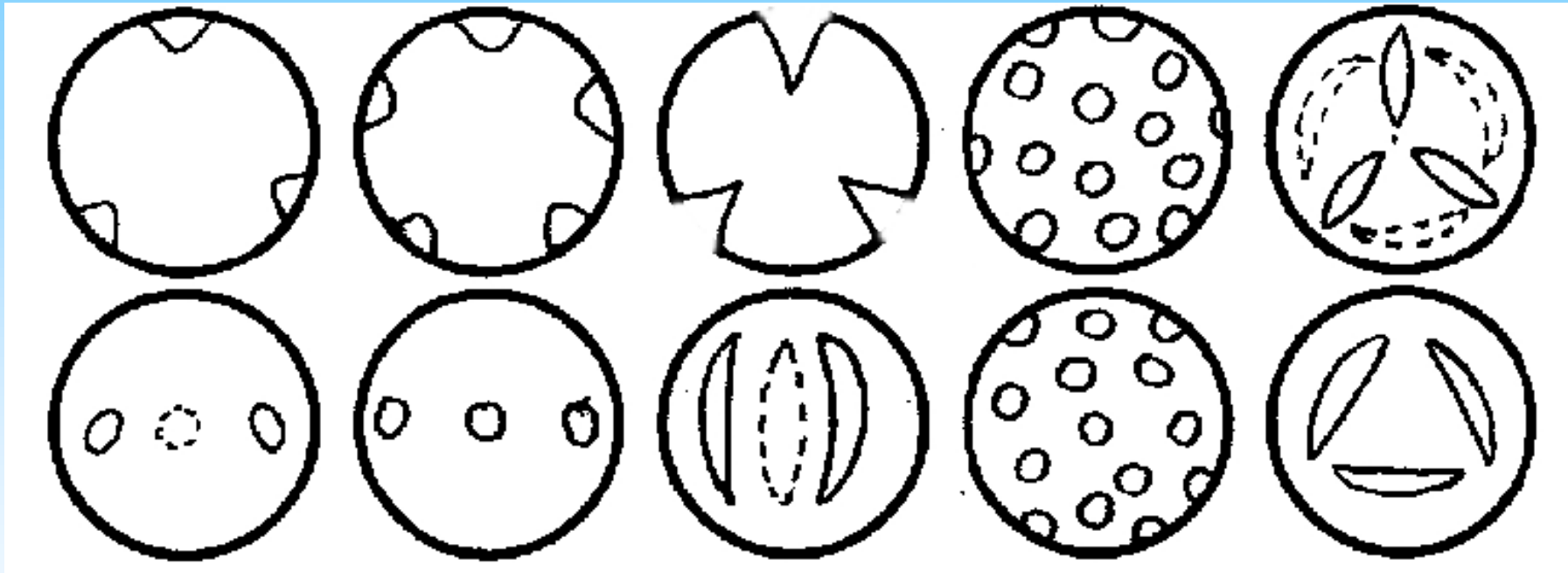
Schematic representation of character (C) of some apertures present in a pollen grain and its number in NPC. Dotted line indicates different plane of focus.

Number of apertures (N) ►	Pentatreme 5 --	Hexatreme 6 --	Polytreme 7 --
Pantoporate NPC (-64) ►	 564 Penta-pantoporate Ex. <i>Plantago</i>	 664 Hexa-pantoporate Ex. <i>Plantago</i>	 764 Poly-pantoporate Ex. <i>Chenopodium</i>
Pantocolpate NPC (-63) ►	 563 Penta-pantocolpate	 663 Hexa-pantocolpate	 763 Poly-pantocolpate Ex. <i>Polygonum amphibium</i>
Pantocolporate NPC (-65) ►	 565 Penta-pantocolporate	 665 Hexa-pantocolporate Ex. <i>Polygonum oxyspermum</i>	 765 Poly-pantocolporate

Figure 4.30

Diagrammatic representation of NPC of some pollen in equatorial view. Dotted lines indicate different plane of focus.

# Příklady různých typů pylových zrn

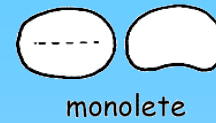


- 1 - trizonoporátní (bříza)
- 2 - pentazonoporátní (olše)
- 3 - trizonokolpátní (javor, tabák)
- 4 - polyantoporátní (merlík, tykev)
- 5 - hexapantokolpátní (kuřinka)

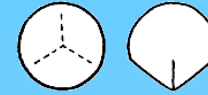


# Charakteristika pylových zrn podle apertur

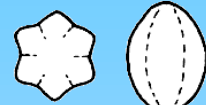
[http://www.botany.unibe.ch/paleo/pollen\\_e/apertures.htm](http://www.botany.unibe.ch/paleo/pollen_e/apertures.htm)



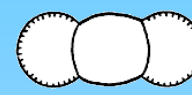
monolete



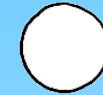
trilete



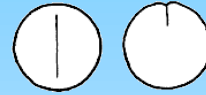
poliplicate



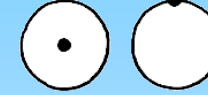
vesiculate, saccate



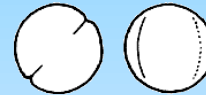
inaperturate



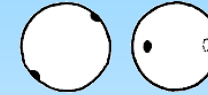
monocolpate



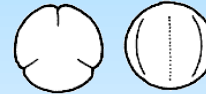
monoporate



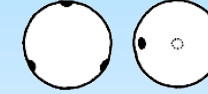
dicolpate



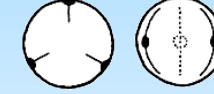
diporate



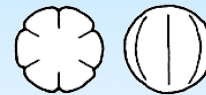
tricolpate



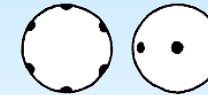
triporate



tricolporate



zonocolpate



zonoporate



zonocolporate



pantocolpate



pantoporate



pantocolporate



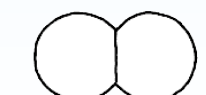
heterocolpate



fenestrate



syncolpate



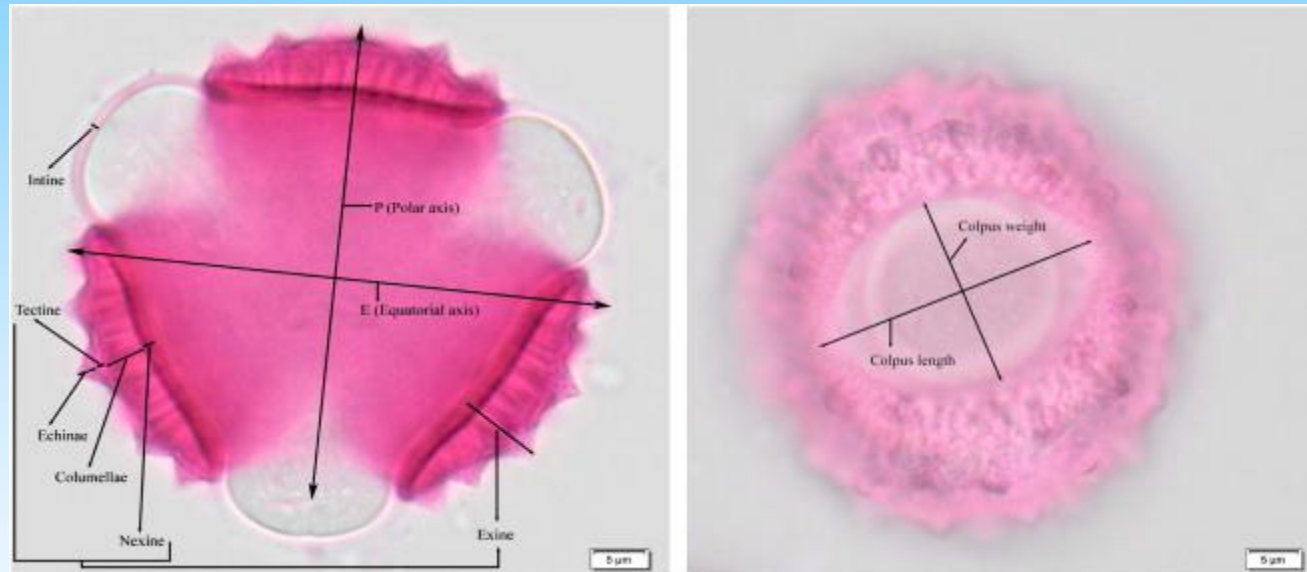
dyad



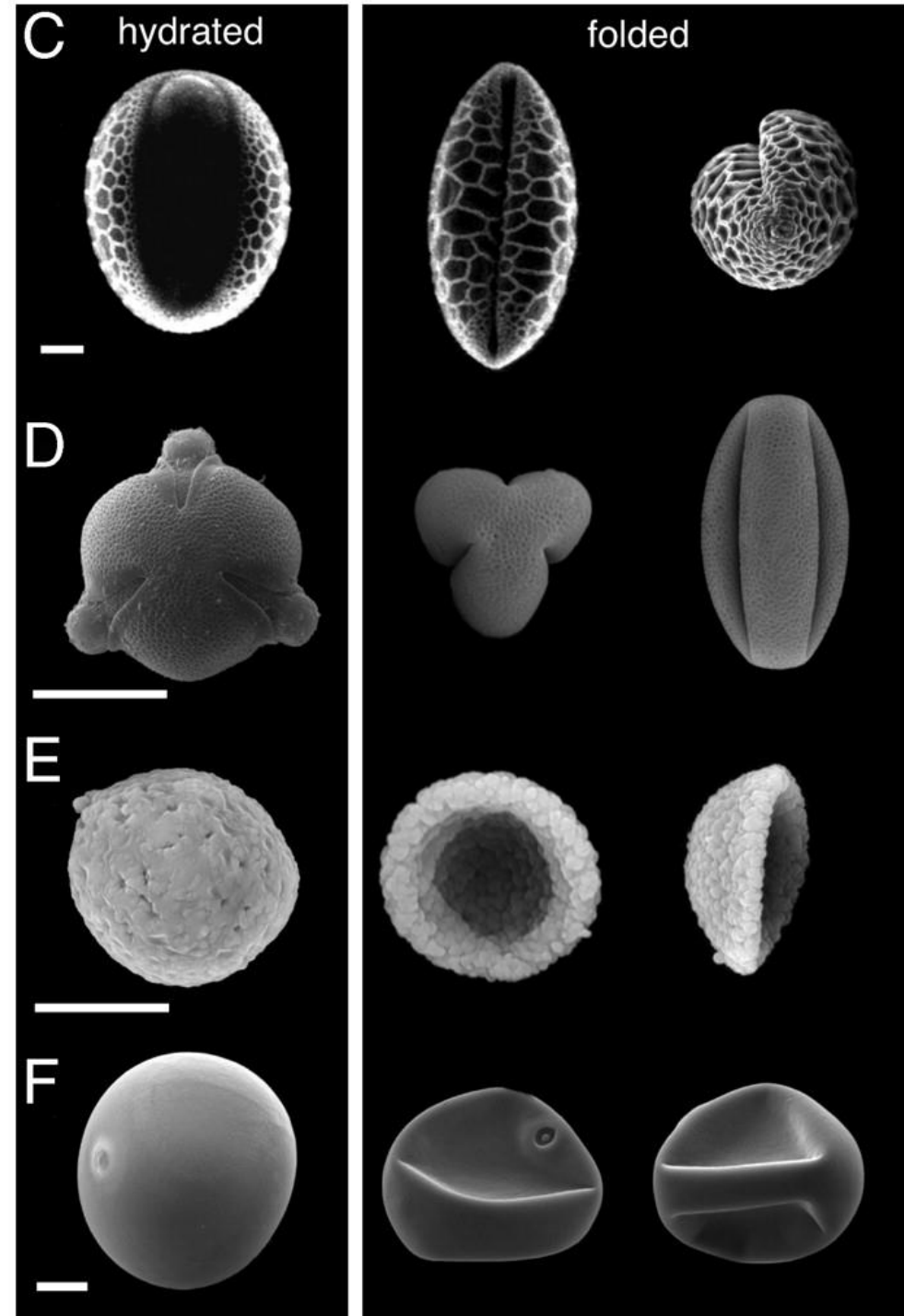
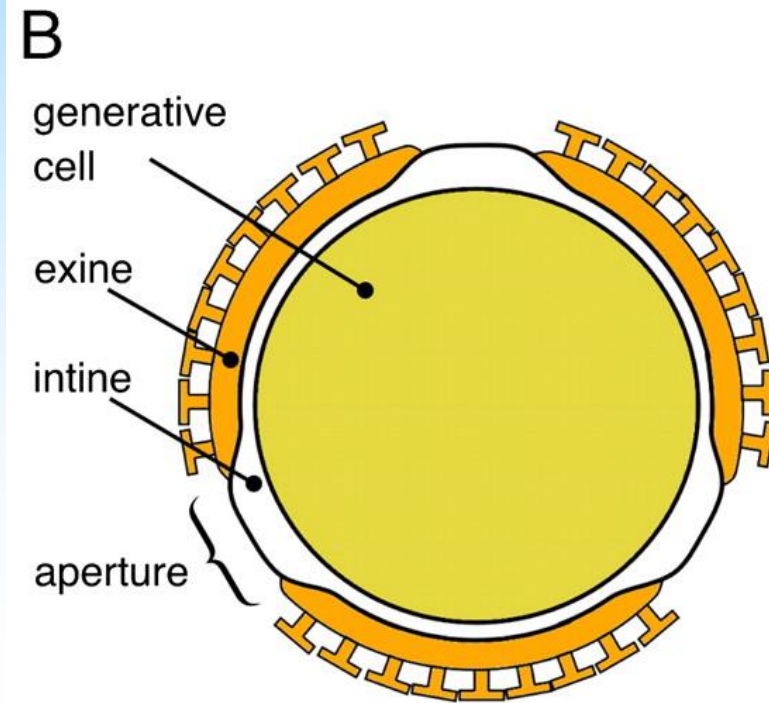
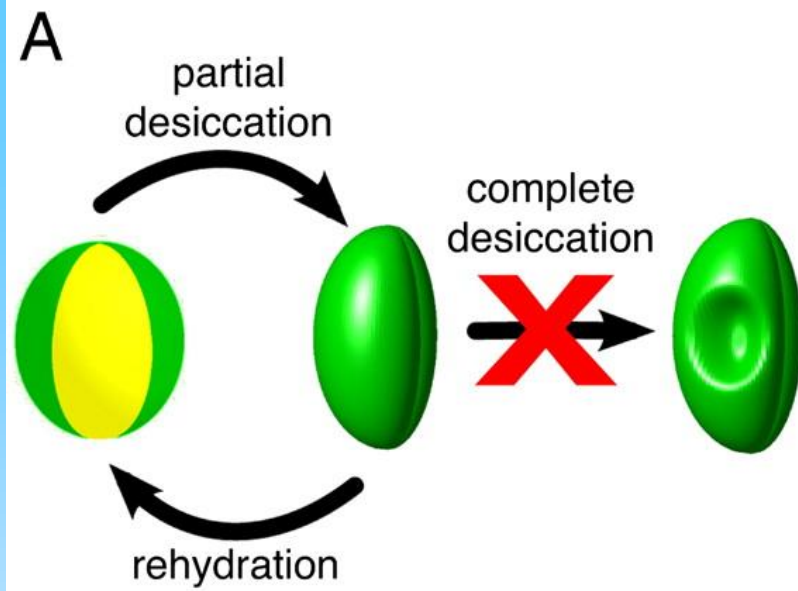
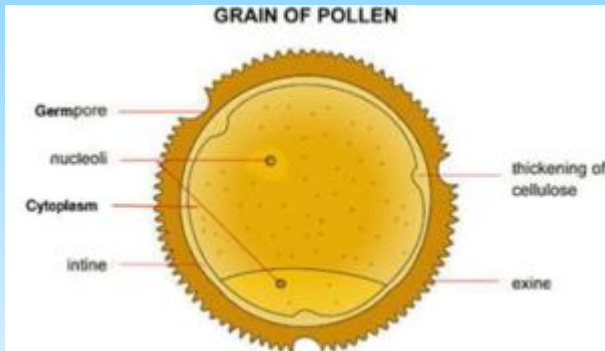
tetrad



# Měření pylových zrn



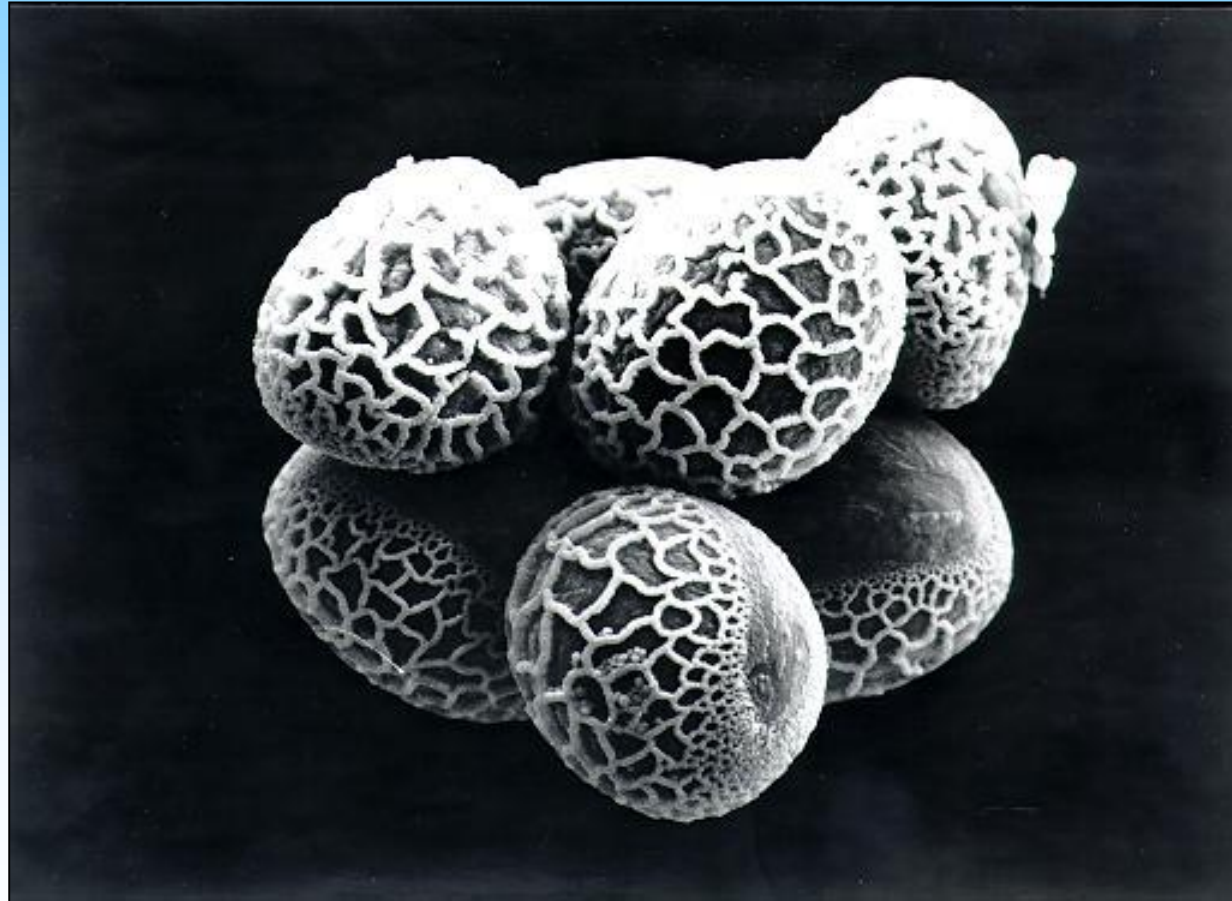
Kaya et al. (2013) An expert classification system of pollen of *Onopordum* using a rough set approach



# Sporoderma - stěna pylového zrna

- **vnitřní vrstva = intina** - pektocelulózová (spojení intiny s okolním prostředím = apertury (póry) v exině, kanálky)
- **vnější vrstva = exina** - sporopolenin
  - endexina (nexina) = hladká lamelární vrstva
  - ektexina (sexina) = strukturovaná základní vrstva
    - bakuly
    - tektum
- **pylový tmel** - lipidy, proteiny, flavonoidy, aromatické látky

# Hydratovaná pylová zrna lilie



retikulátní exina

Foto: G. Obermeyer

# Stavba exiny pylového zrna pelyňku (*Artemisia*)

sporopolenin

ektexina

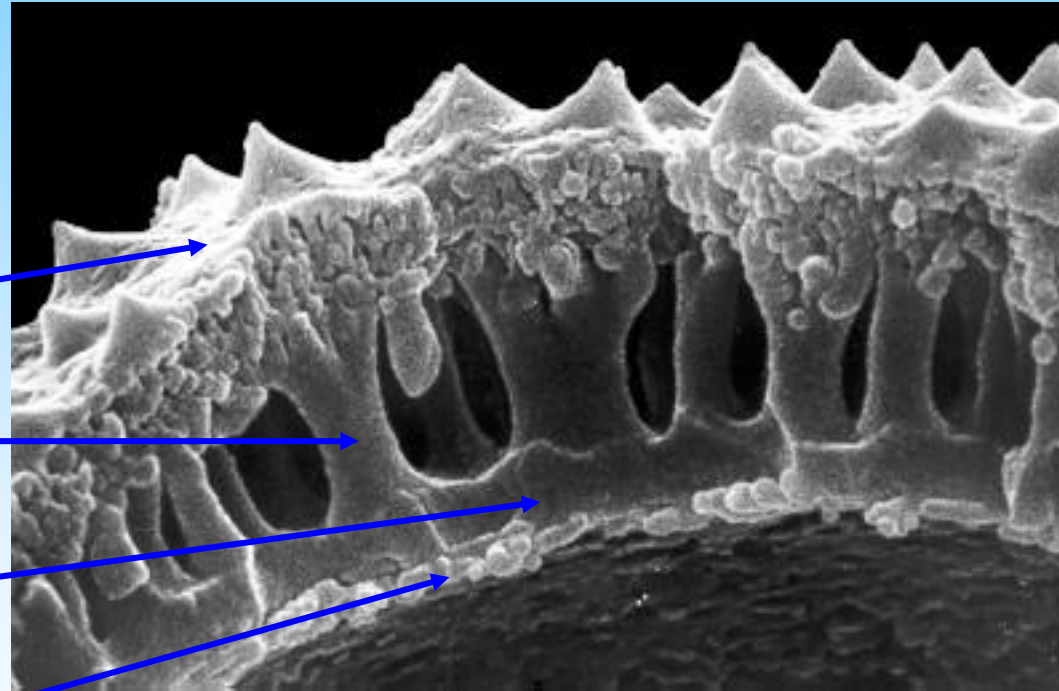
tektum

bakuly

základní vrstva

endexina

lamelární vrstva



The taxa, or type, of pollen can be determined by pollen morphology, or structure. Large data bases of images and diagrams are being built so pollen can be identified by referring to them. Pores, (holes), culpi, (furrows), and the numbers of them are clues to pollen taxa.

The exine ( Figure 2 - 1 ) is made of sporopollenin. Sporopollenin is a substance composed of oxidative copolymers of carotoid and carotenoid esters. It is an extremely durable substance and can be found in anaerobic sediments dating back hundreds of millions of years. A pore is shown in the diagram but these may be elongated to a furrow and are called colpi.

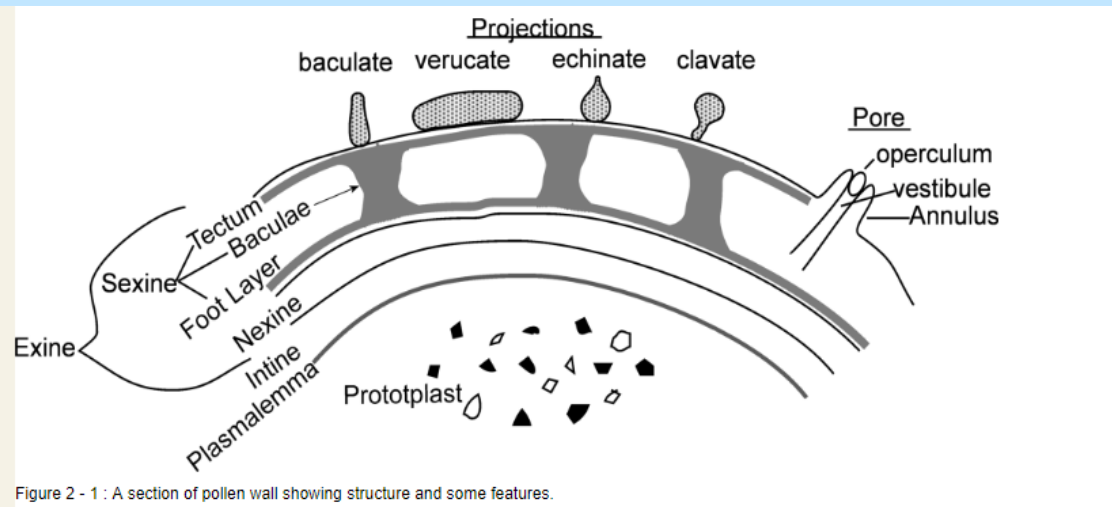
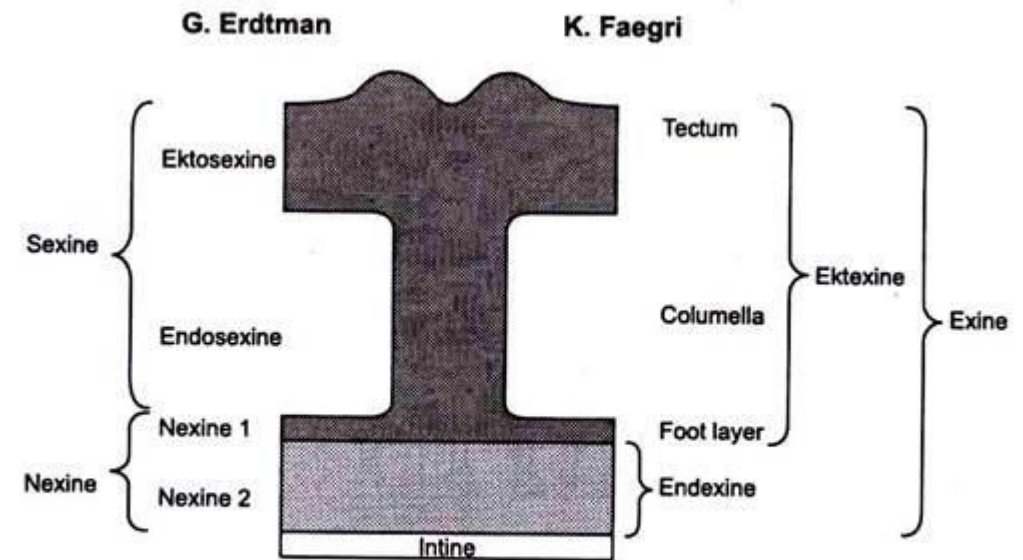


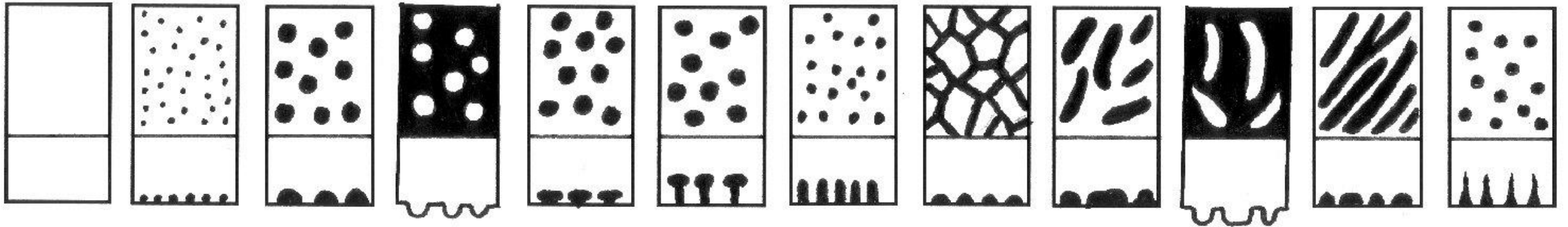
Figure 2 - 1 : A section of pollen wall showing structure and some features.



Structure of Pollen Wall

Fig. 4.14 : Sporoderm stratification

# Příklady typů skulptur (ornamentace) exiny:

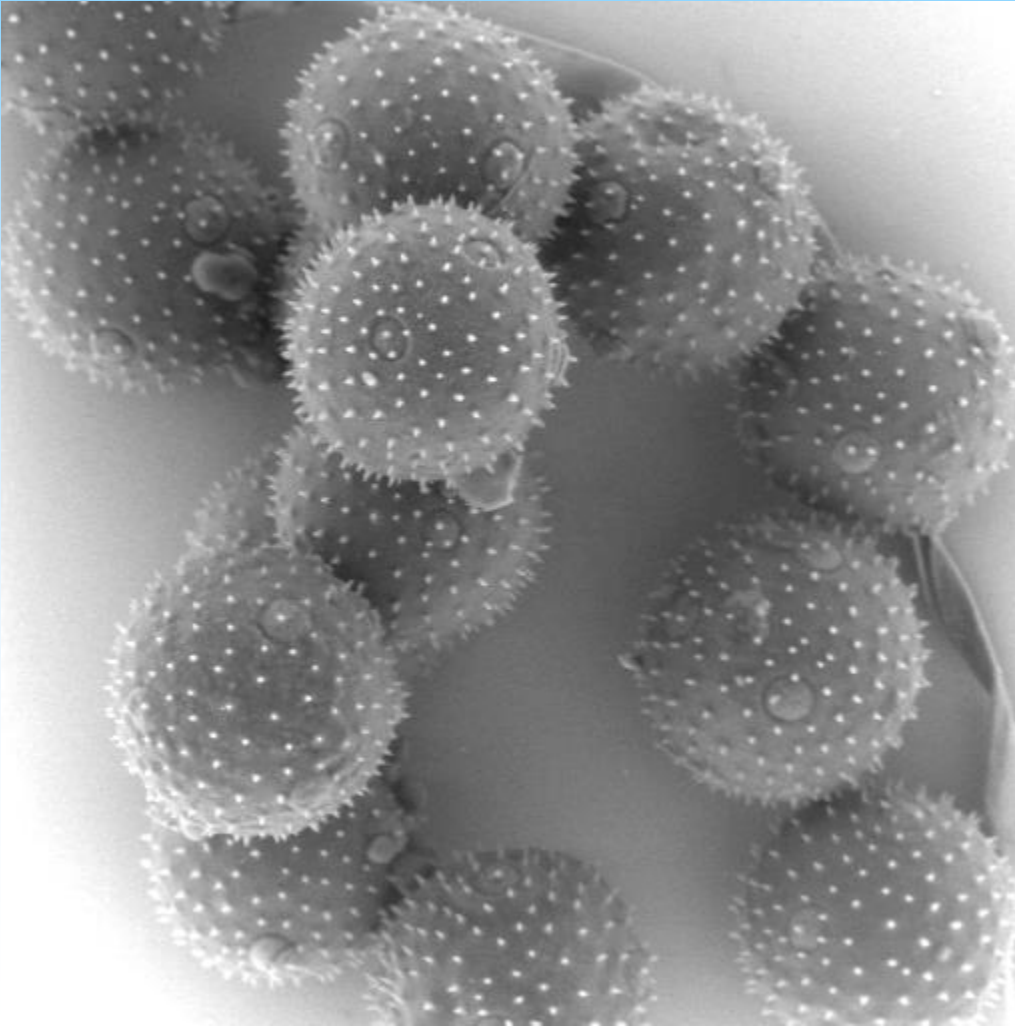


psilátní granulátní verukátní foveolátní gemátní klavátní bakulátní retikulátní rugulátní fosulátní striátní echinátní



*Cucurbita pepo* L.  
AQUASEM

echinátní exina



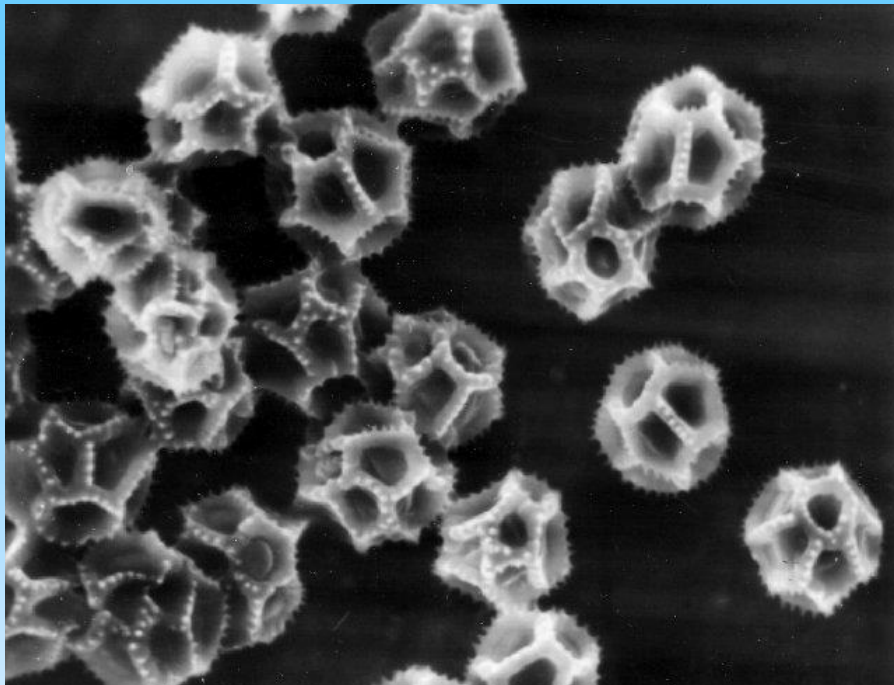
mnoho apertur -  
polysyfonické klíčení  
pylu

# *Nicotiana tabacum* L.

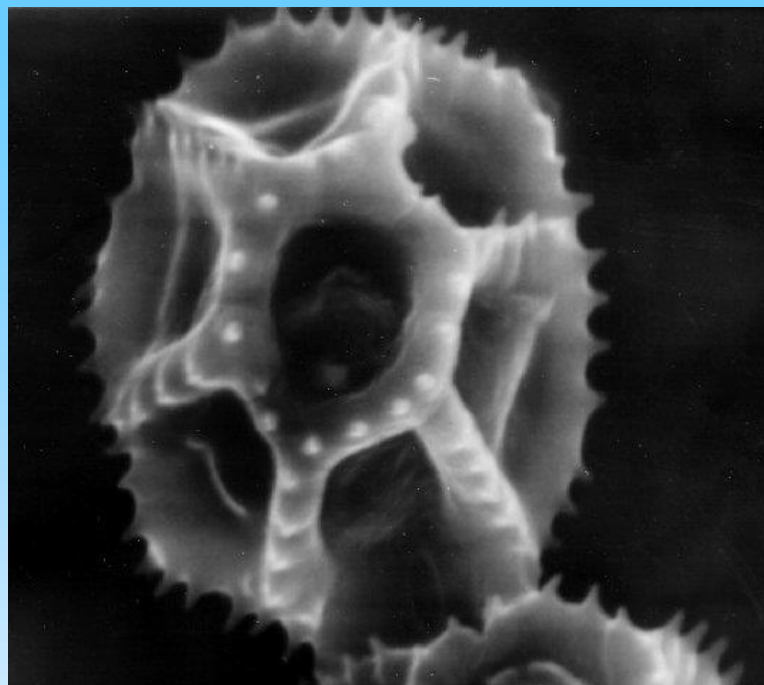


desikovaný pyl  
3 (-4) apertury

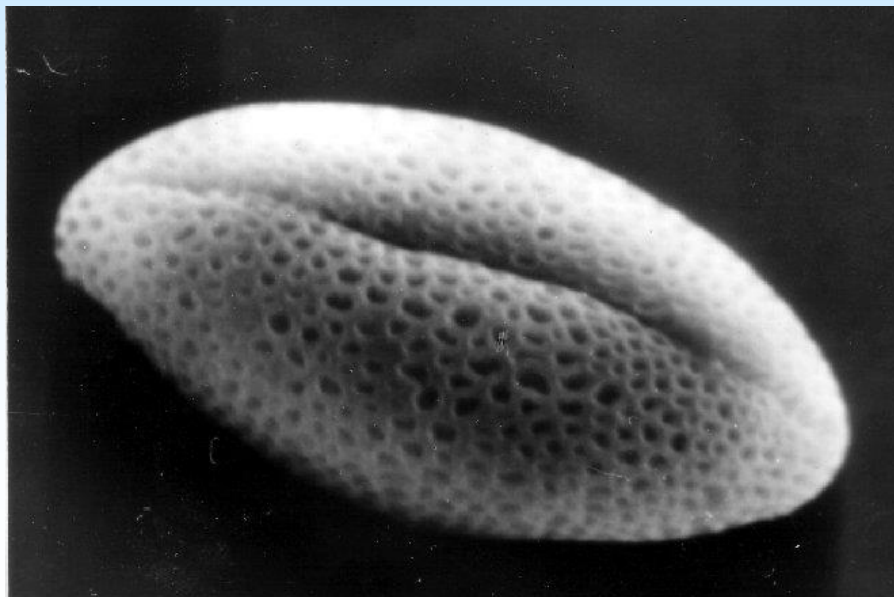
SEM, vysušeno metódou  
„critical point dry“, pozlaceno



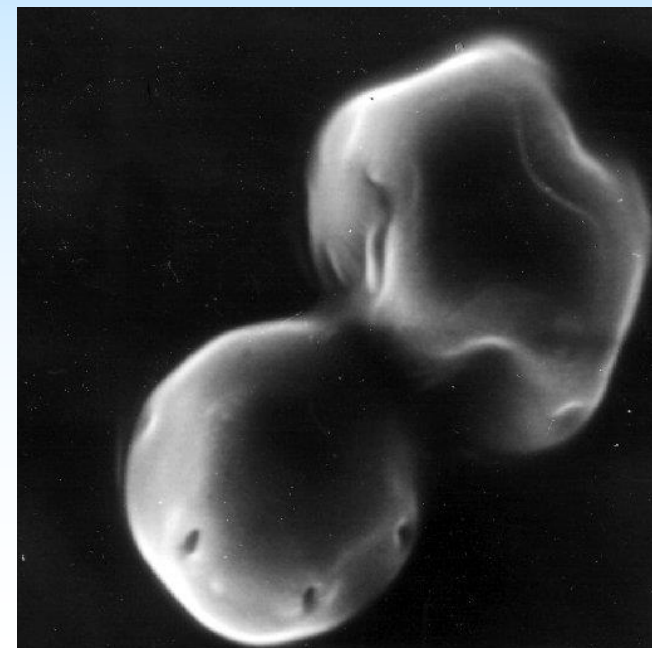
**fenestrátní pylová zrna**  
locika kompasová  
(*Lactuca serriola*).

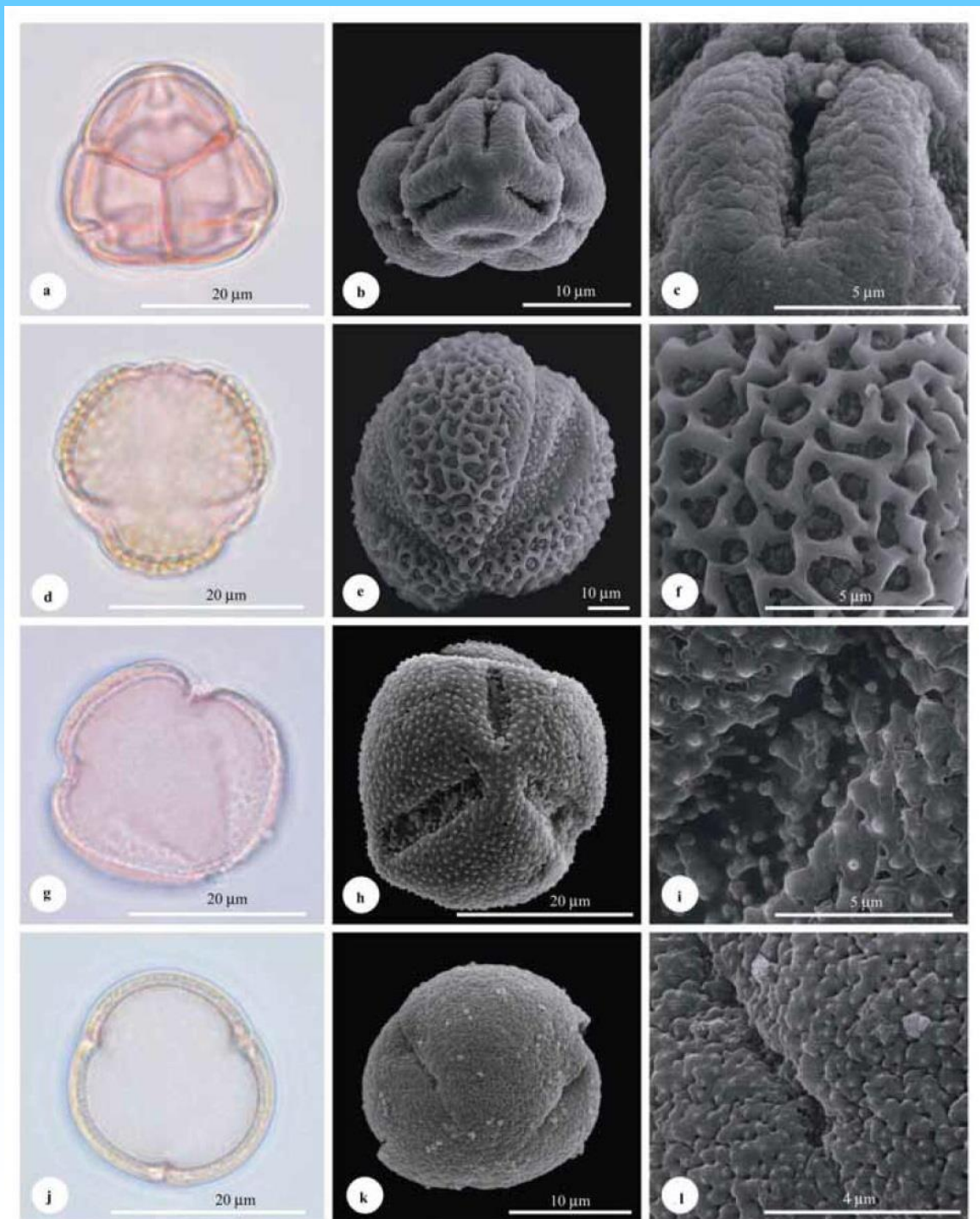
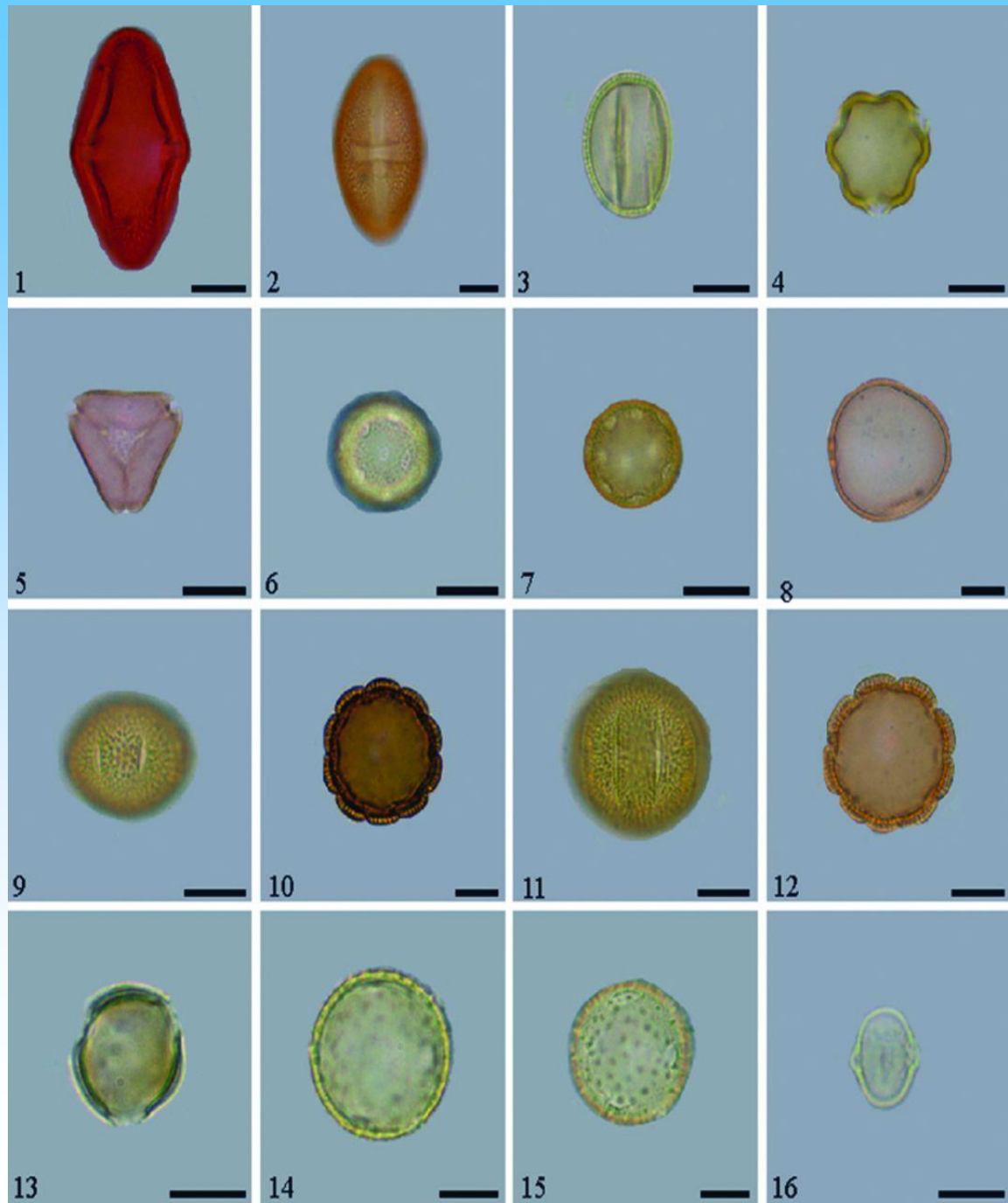


**pentazonokolpátní pylové zrno**  
olše zelené (*Alnus viridis*)



**kolpátní pylové zrno**  
s povrchem retikulátním  
brukev řepka olejka  
(*Brassica oleracea*)



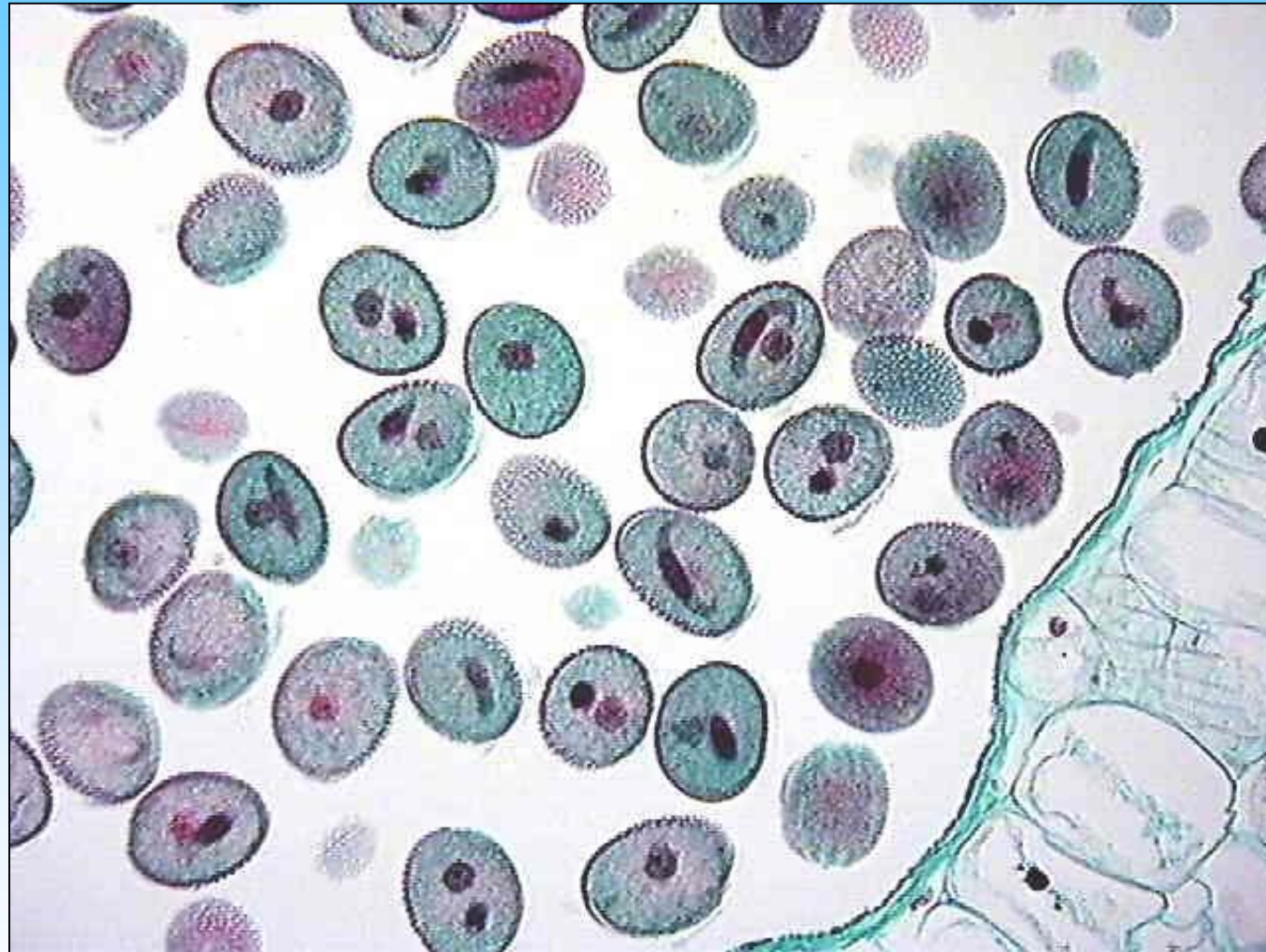


# Mikrogametogeneze u *Lilium*

IASPRR

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

# Dvoubuněčný pyl



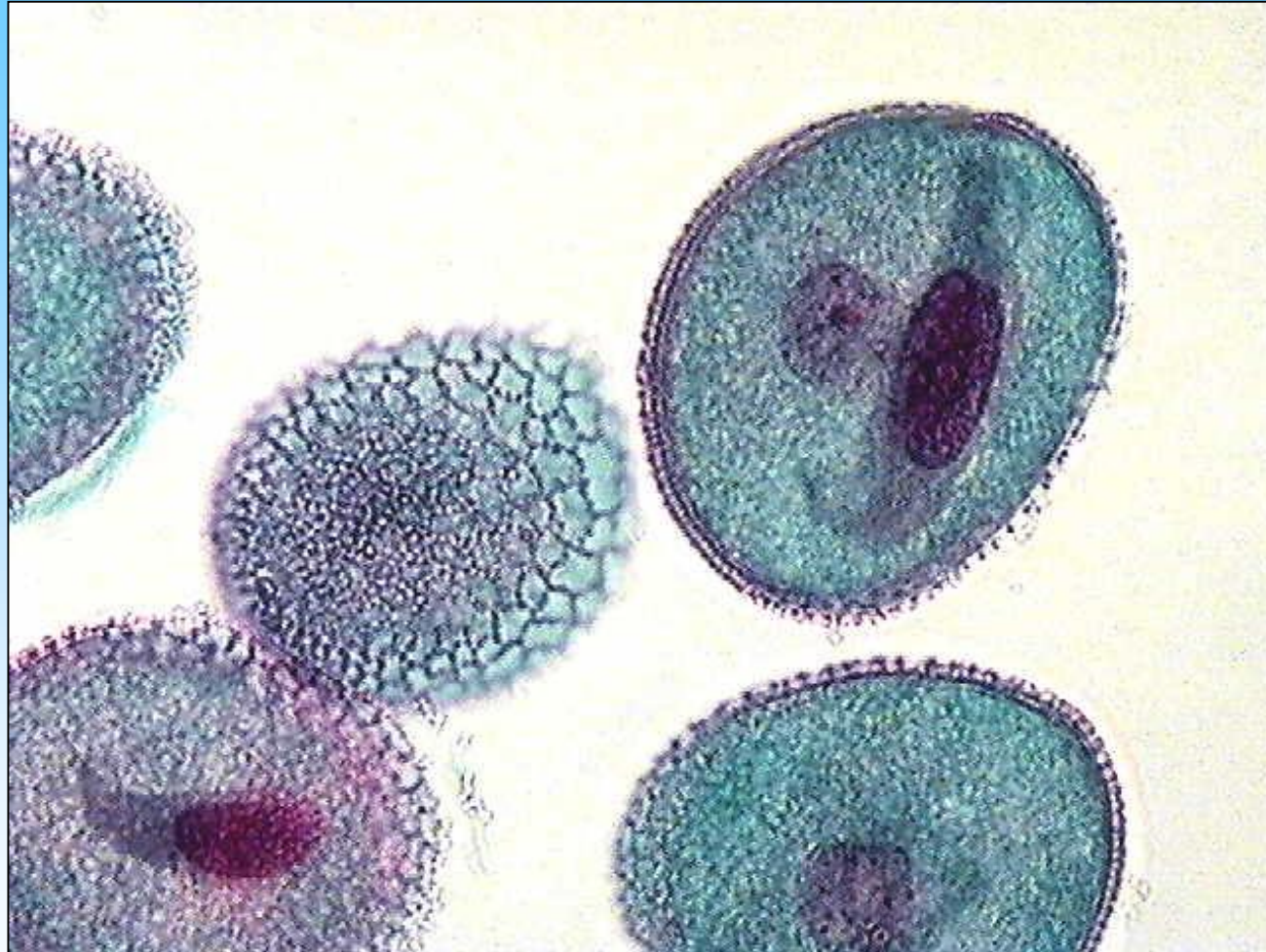
Generativní buňky se tvoří zpočátku v kontaktu s **intinou** (vnitřní vrstva stěny pylu), později se vnoří do cytoplasmy = "a cell within a cell".

# Dvoubuněčný pyl



detail generativní buňky v buňce vegetativní

# Dvoubuněčný pyl

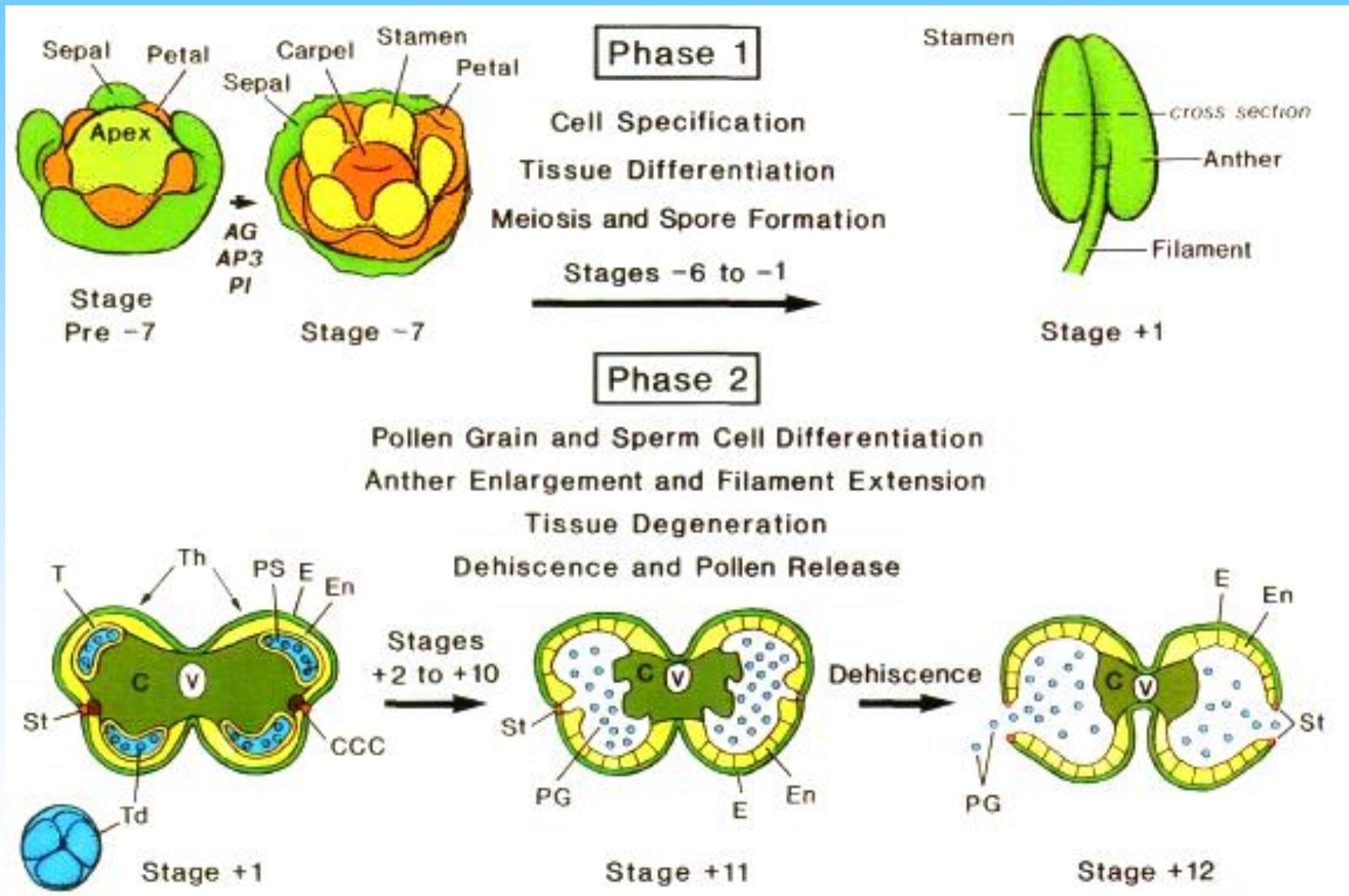


Tvar generativní buňky často vřetenovitý, buňka je v kontaktu s vegetativním jádrem = "**male germ unit.**"  
Cytoplazma generativní buňky je hustá = méně vakuol a organel.

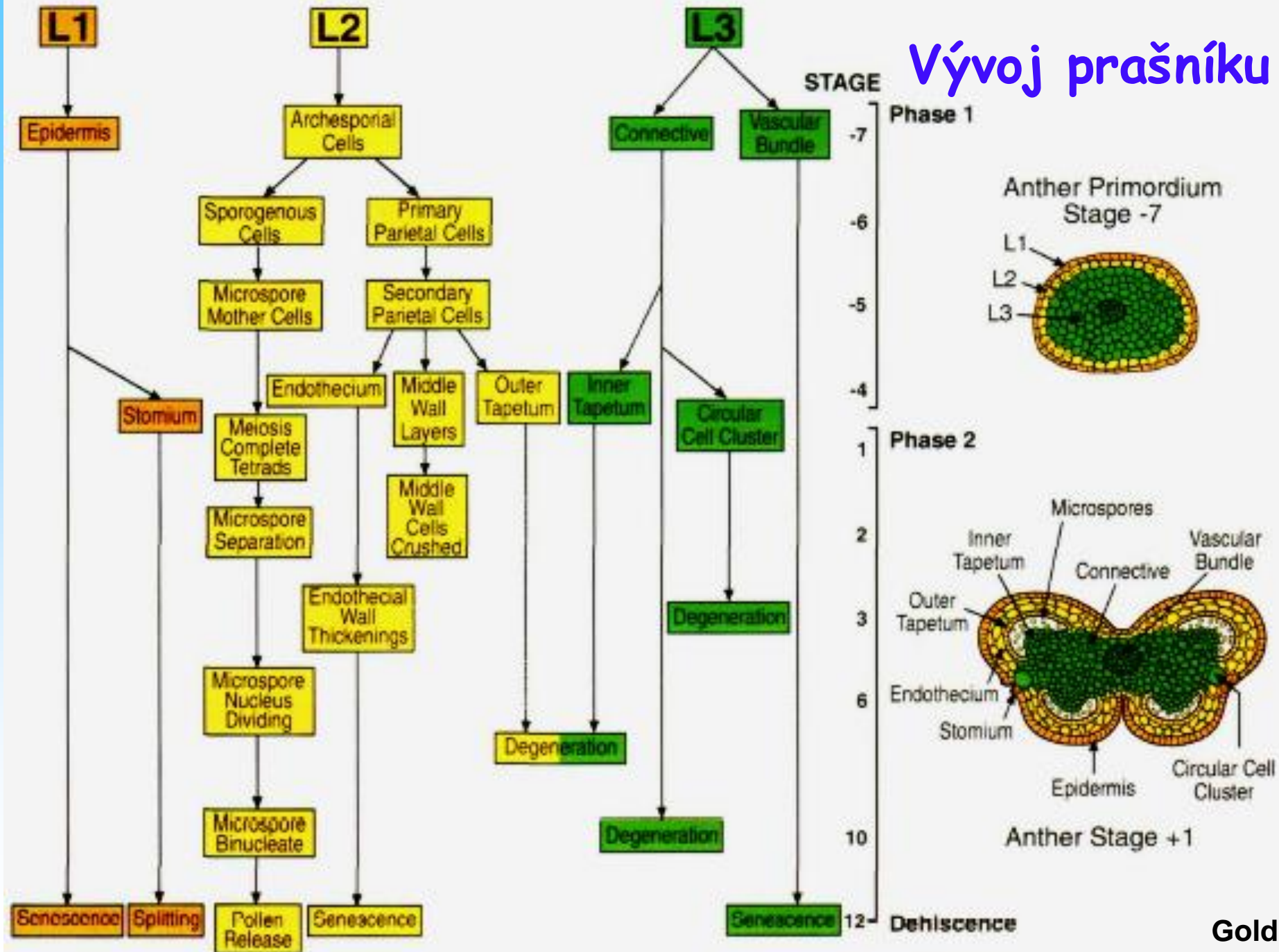


# Mikrosporogeneze a mikrogametogeneze u tabáku

# Schéma vývoje prašníků a pylu tabáku



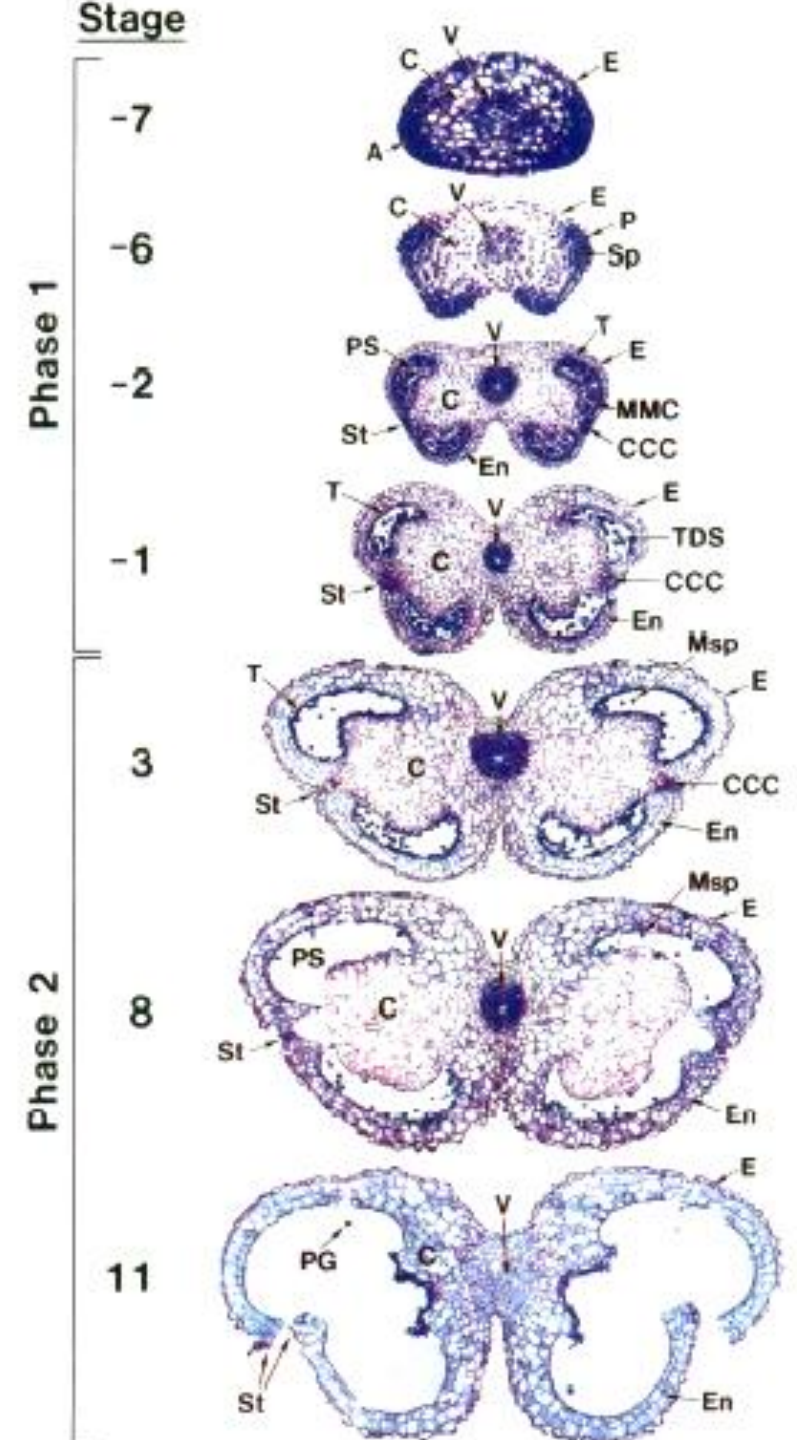
# Vývoj prašníku



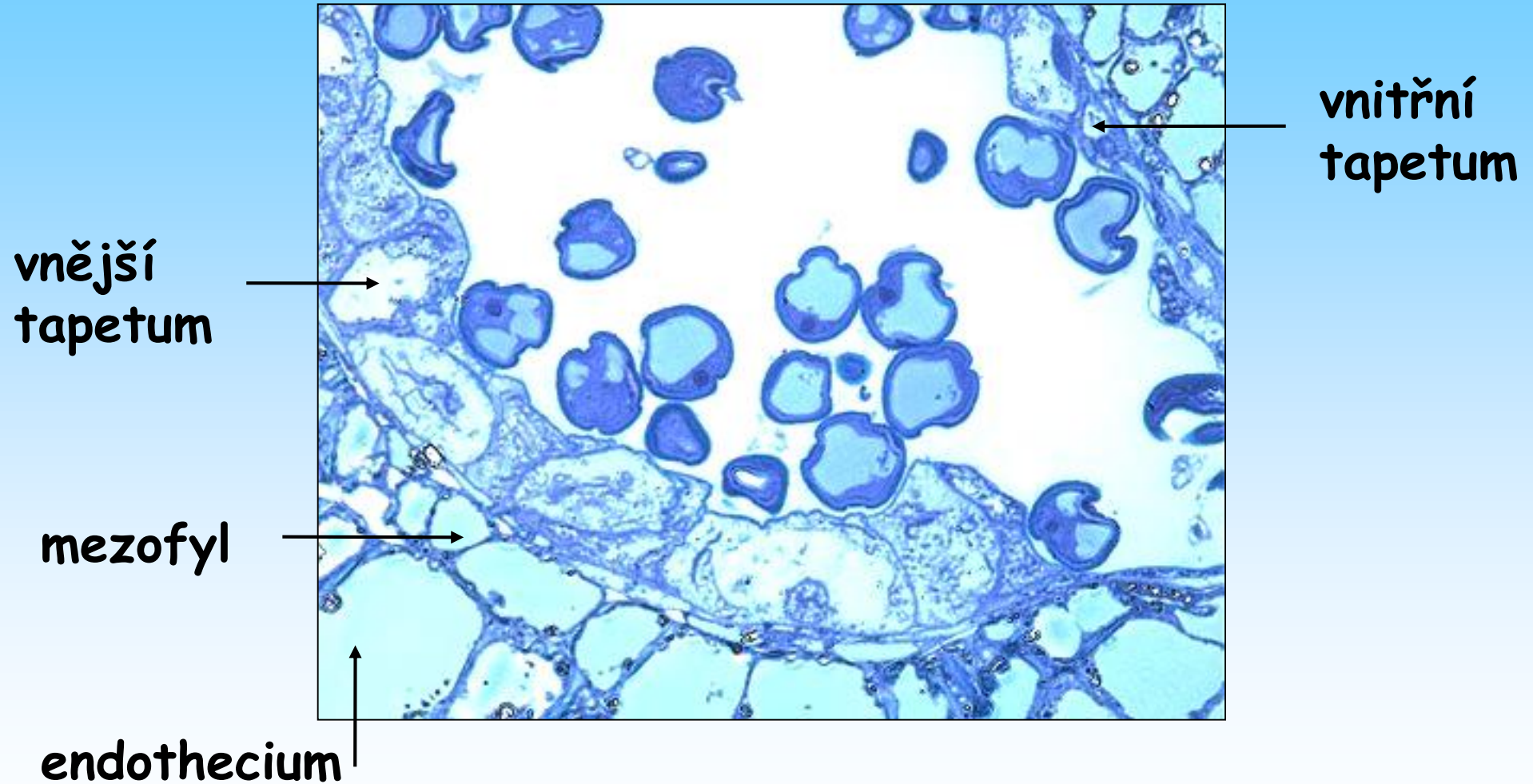
# Stadia vývoje prašníku tabáku

-7	primordia tyčinek	začátek diferenciace
-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

Koltunov et al.1990

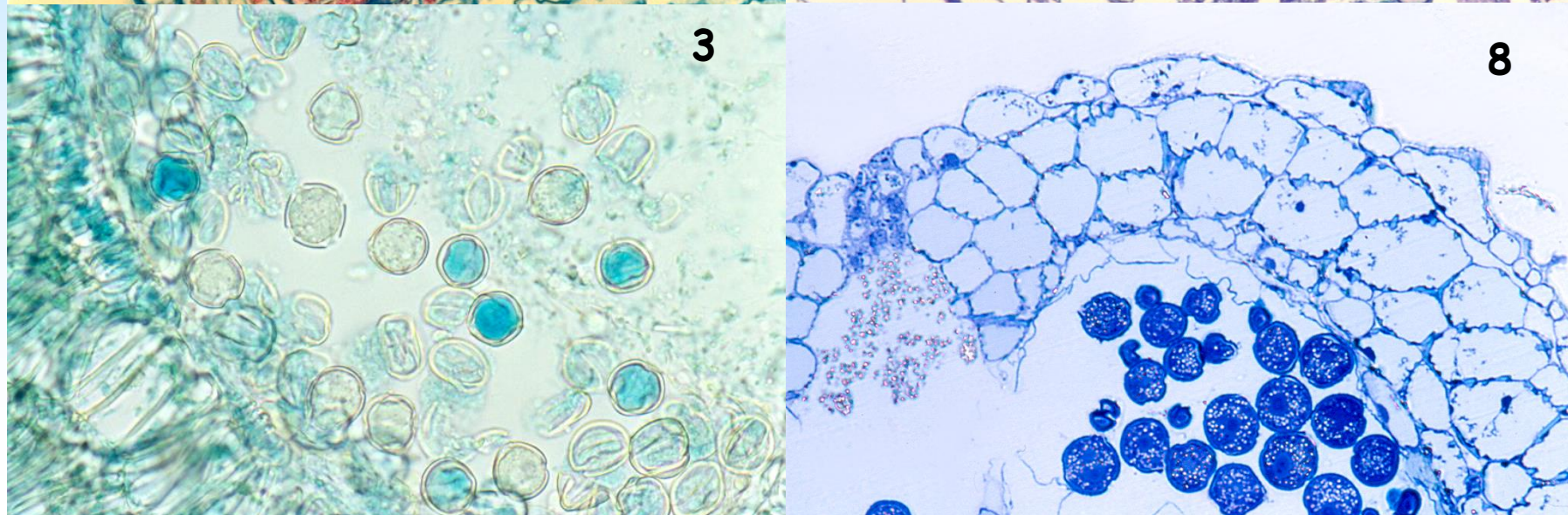
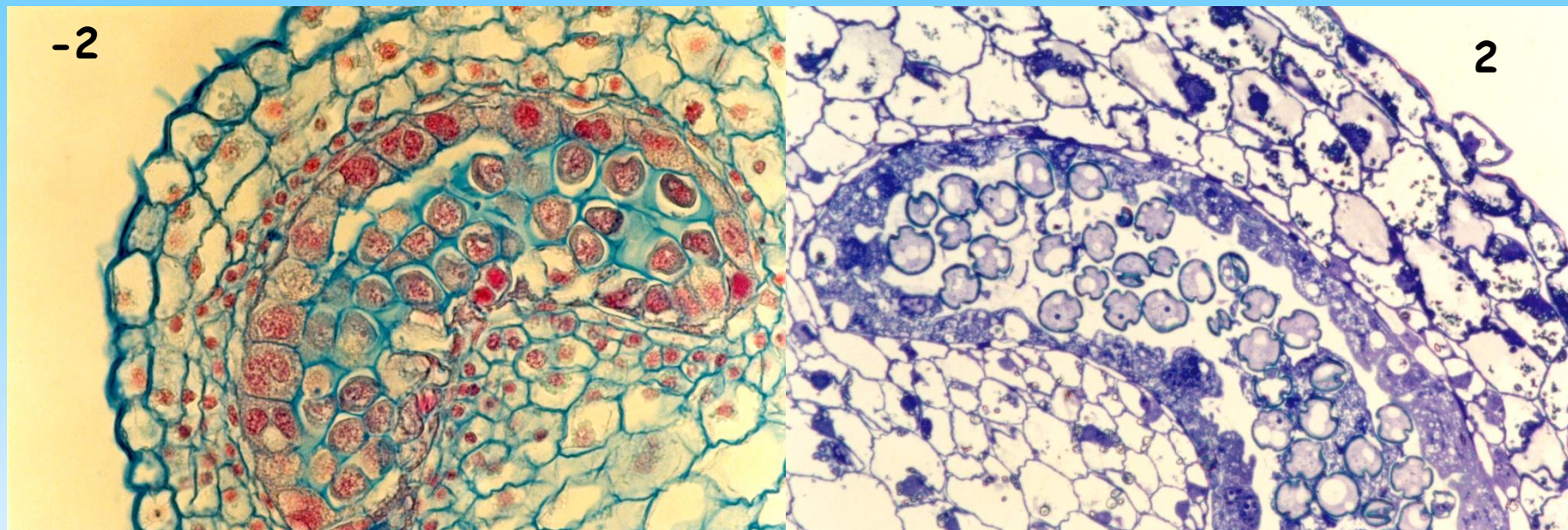


# *Nicotiana tabacum* L. SR1

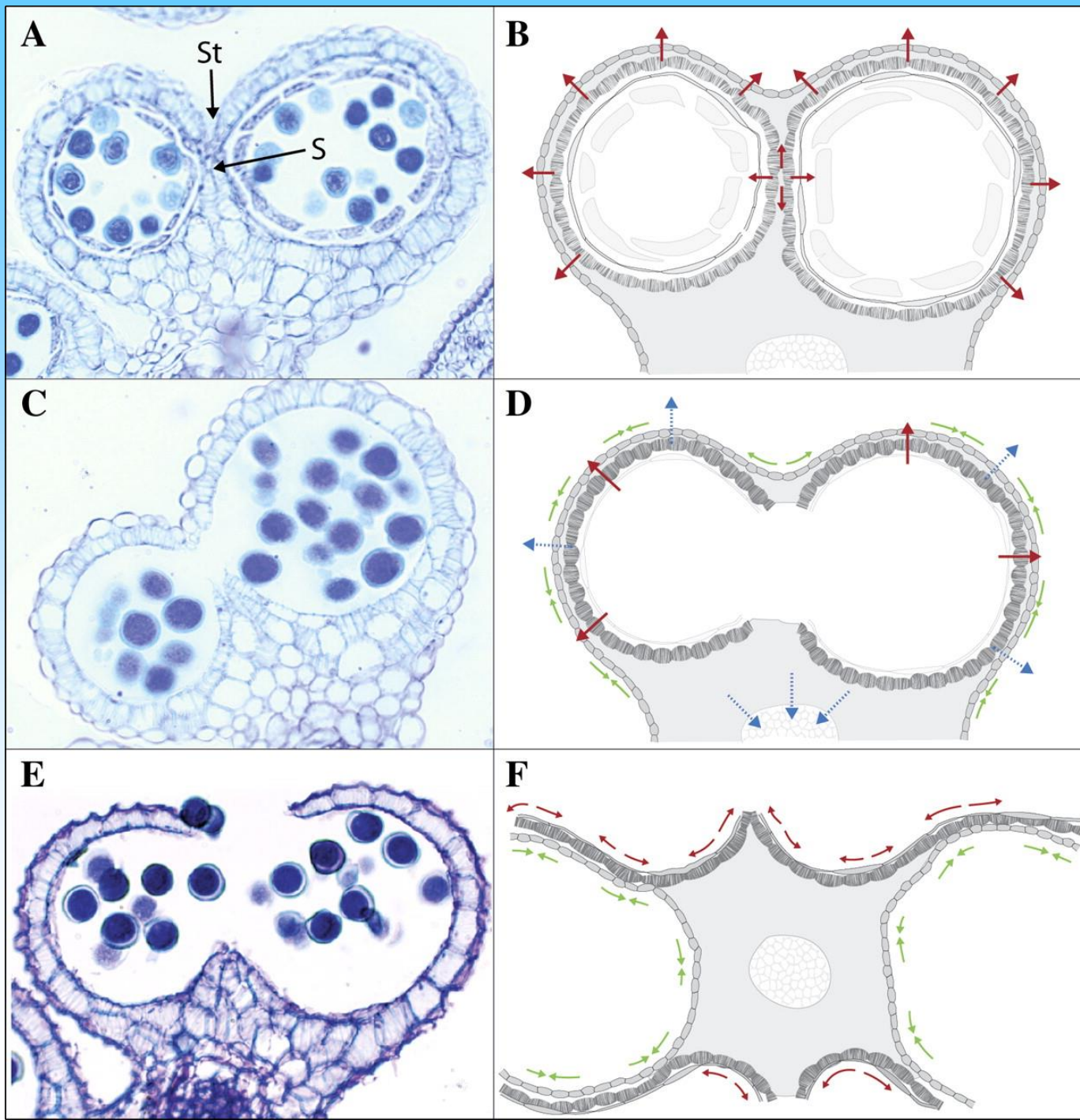


vakuolizované mikrospory  
stadium 2

# Vývoj prašníku tabáku



# Dehiscence prašníku



# Klíčení pylových zrn

- Kumari et al. (2009) In Vitro Pollen Germination, Pollen Tube Growth and Pollen Viability in *Trichosanthes dioica* Roxb. (Cucurbitaceae) *The Int. J. of Plant Repro. Bio.* 1, 147-151.