

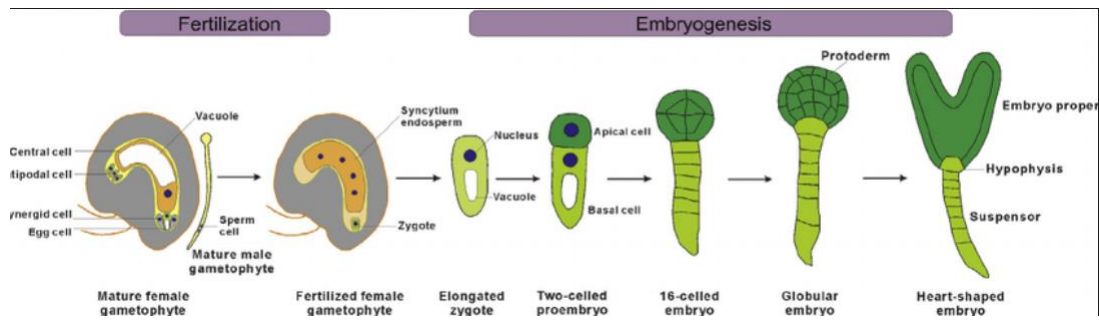
Vývoj embrya a endospermu

Post-Fertilization Development & Embryology



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

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



Embryogeneze - vývoj embrya

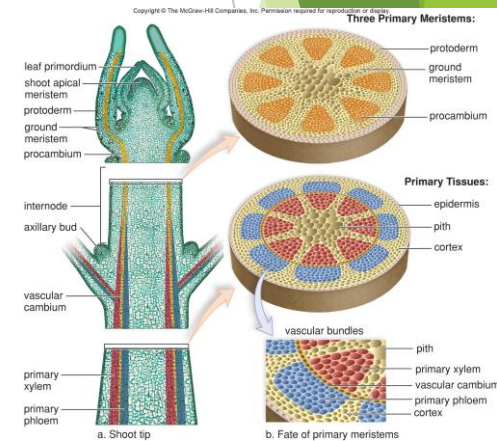
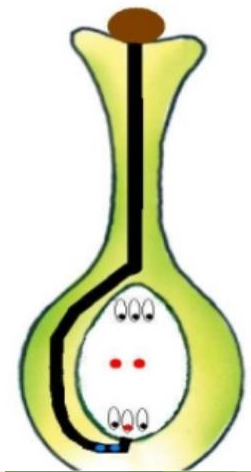
= proces přeměny jednobuněčné **zygoty**, která vzniká v zárodečném vaku vajíčka fúzí **vaječné buňky** s **buňkou spermatickou** v **embryo** (zárodek) obsahující základy orgánů budoucí rostliny

pozoruhodná je jednota utváření klíčnicí rostliny různých taxonů vyšších rostlin :

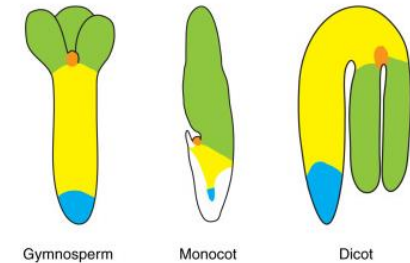
apikálně-bazální osa = meristémy

radiální symetrie = koncentricky uspořádaná pletiva

další vývoj = postembryonální aktivita meristémů



Vývoj embrya v čase

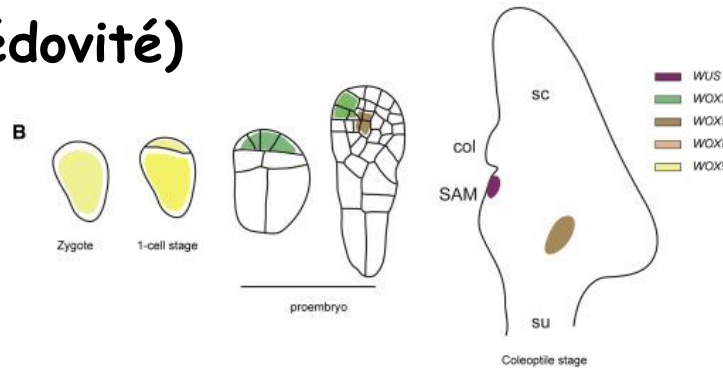
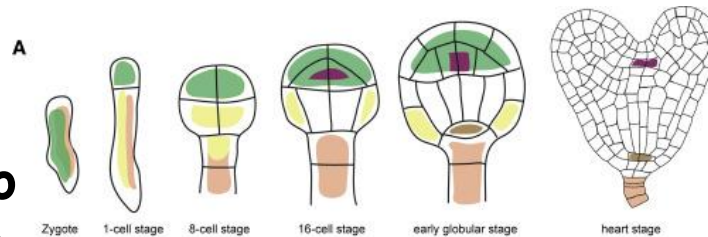


■ Cotyledon
 ■ Hypocotyl
 ■ Shoot meristem
 ■ Root meristem

Current Biology

je charakterizován sledem typických morfologických stadií
 u dvouděložných rostlin u jednoděložných rostlin

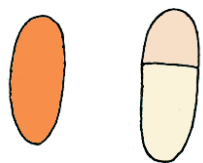
zygota
 lineární embryo
 globulární embryo
 srdcovité embryo
 hruškovité (torpédovité)
 zralé embryo



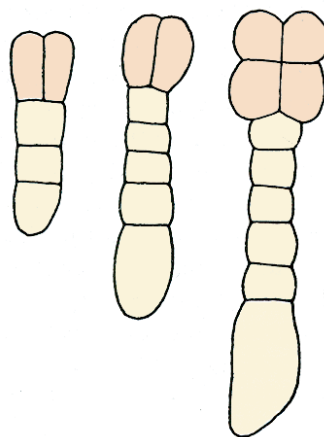
zygota
 lineární embryo
 mnohobuněčné embryo
 „válcovitý útvar“
 zralé embryo
 (laterálně založený SAM
 a rudiment 2. dělohy)

Radoeva et al. 2019

Embryogeneze dvouděložných krytosemenných rostlin - schéma



zygota
první
dělení zygoty



vznik suspensoru
a proembrya

lineární embryo

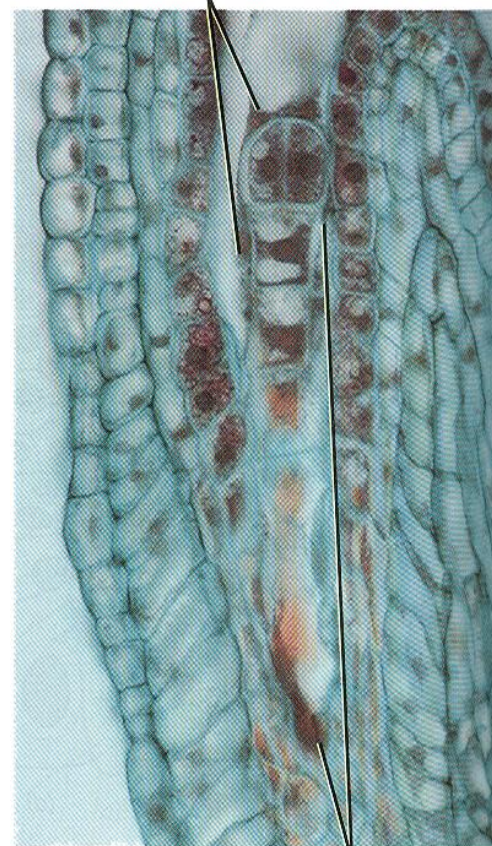
zárodečný vak



apikální a bazální buňka

0.5 mm

endosperm

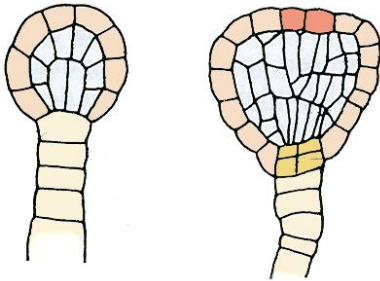


suspensor

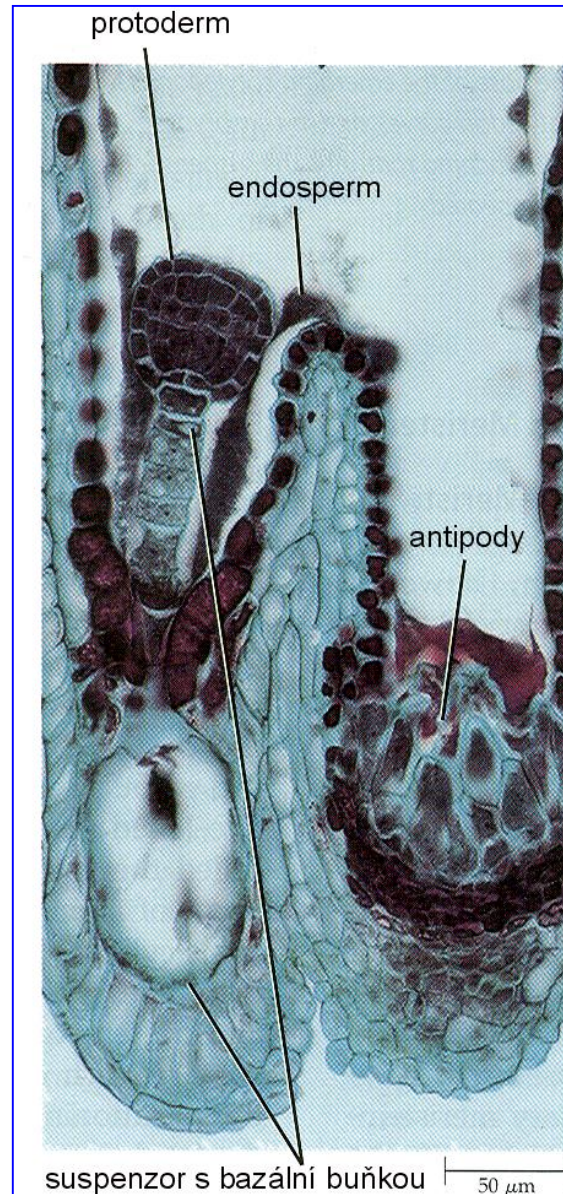
Raven P.H., Everet R.F., Eichhorn S.E.: Biology of Plants.
- W. H. Freeman and Comp. Publ., 2005

Embryogeneze dvouděložných krytosemenných rostlin - schéma

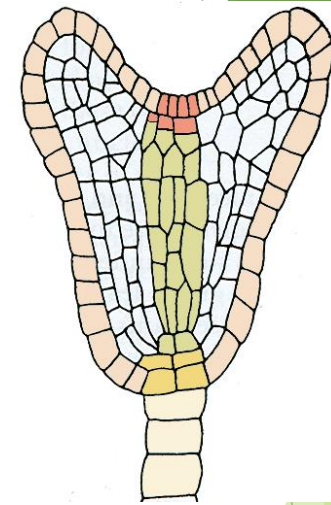
globulární embryo



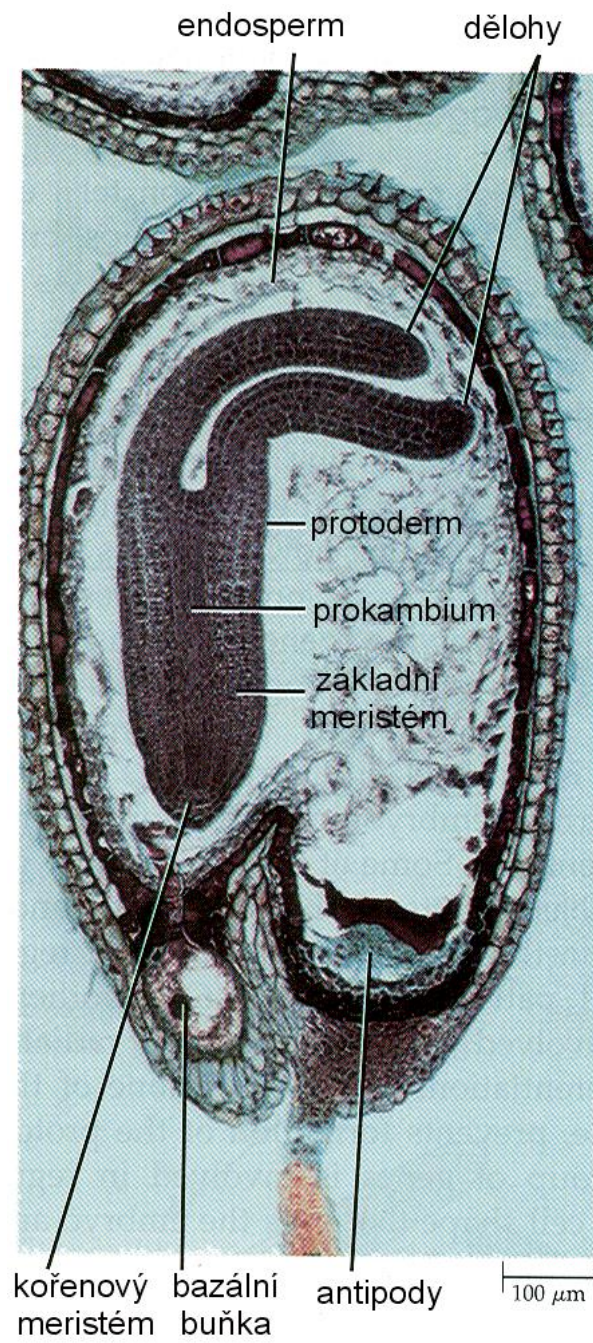
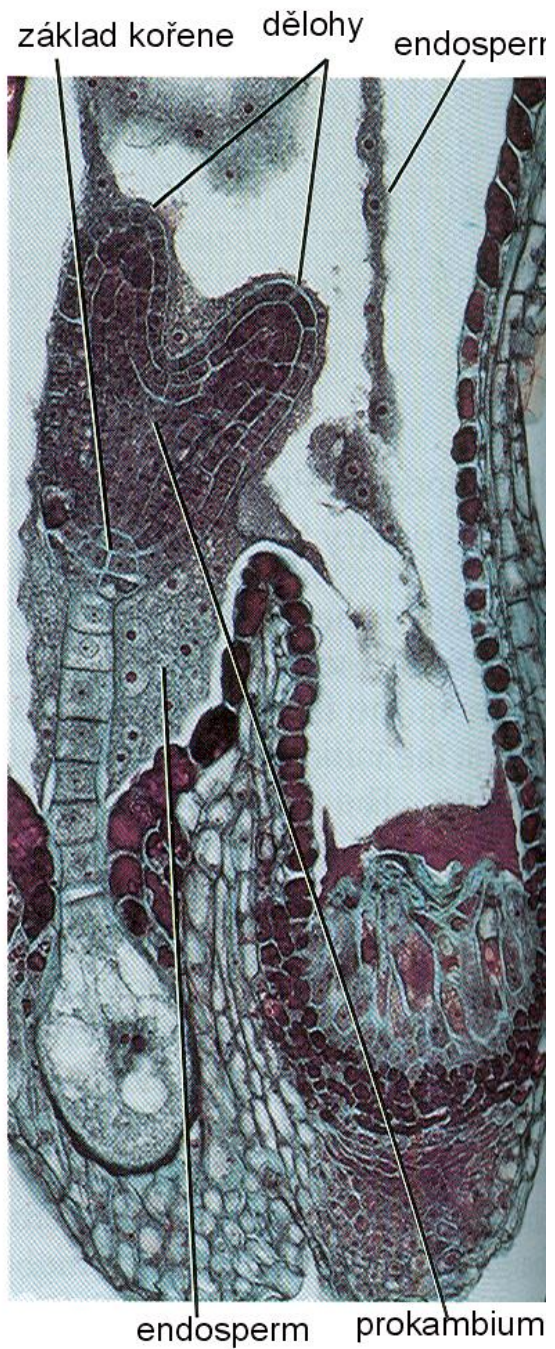
diferenciace
protodermu epifýzy
centrálního hypofýzy
meristému



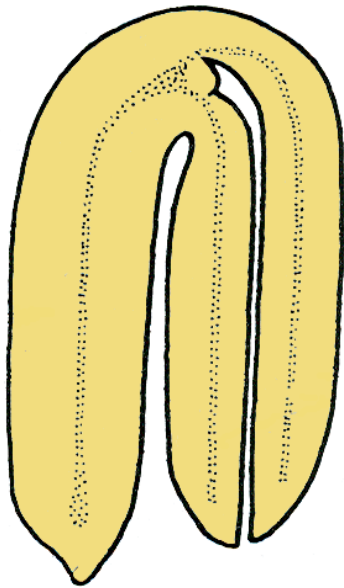
srdčité - torpédovité embryo



diferenciace
prokambia
a základního meristému

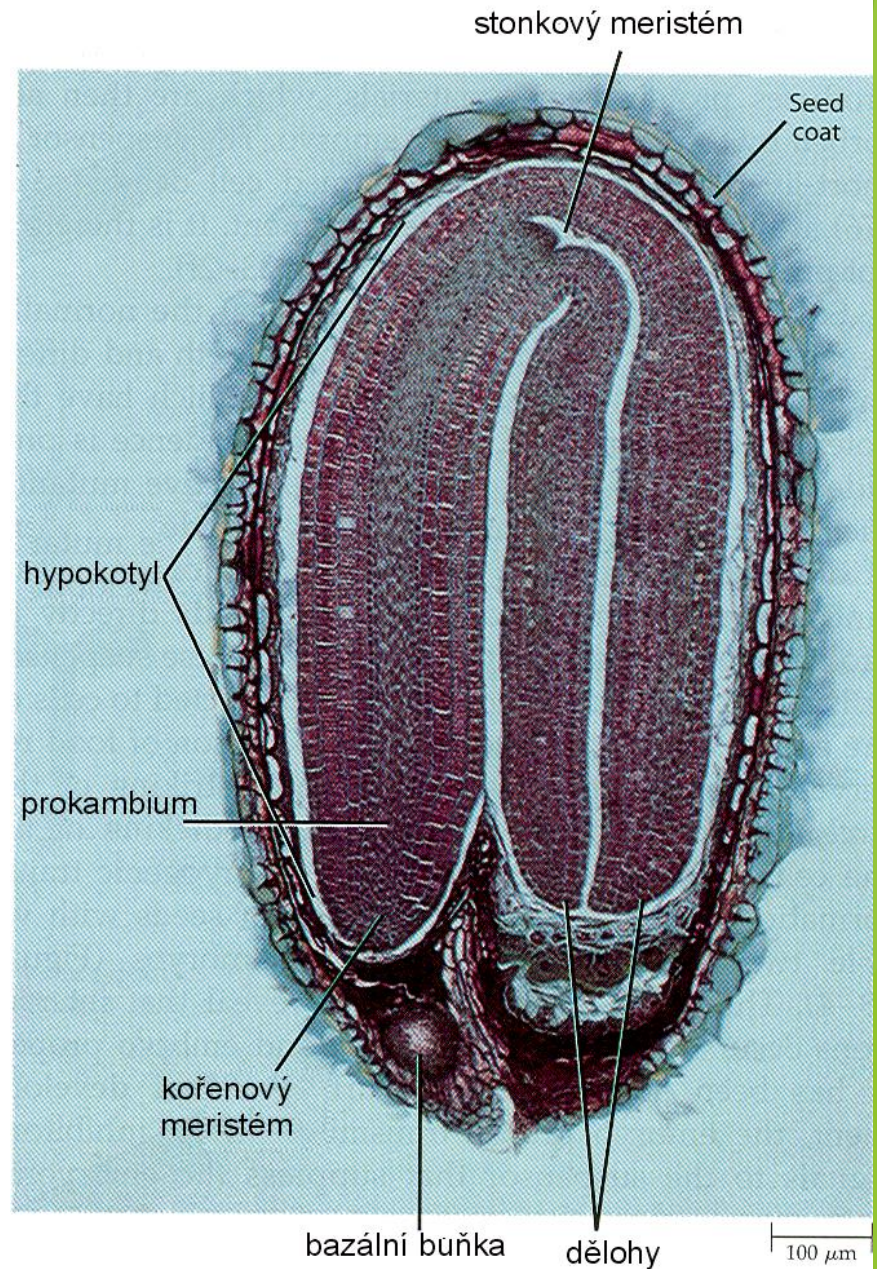


Embryogeneze dvouděložných krytosemenných rostlin - schéma



zralé embryo vstupující do dormance

Raven et al. 2005



Embryogenetické typy

první dělení
zygoty
= **příčné**

Solanad

Chenopodiad

Caryophyllad

Onagrad

Asterad

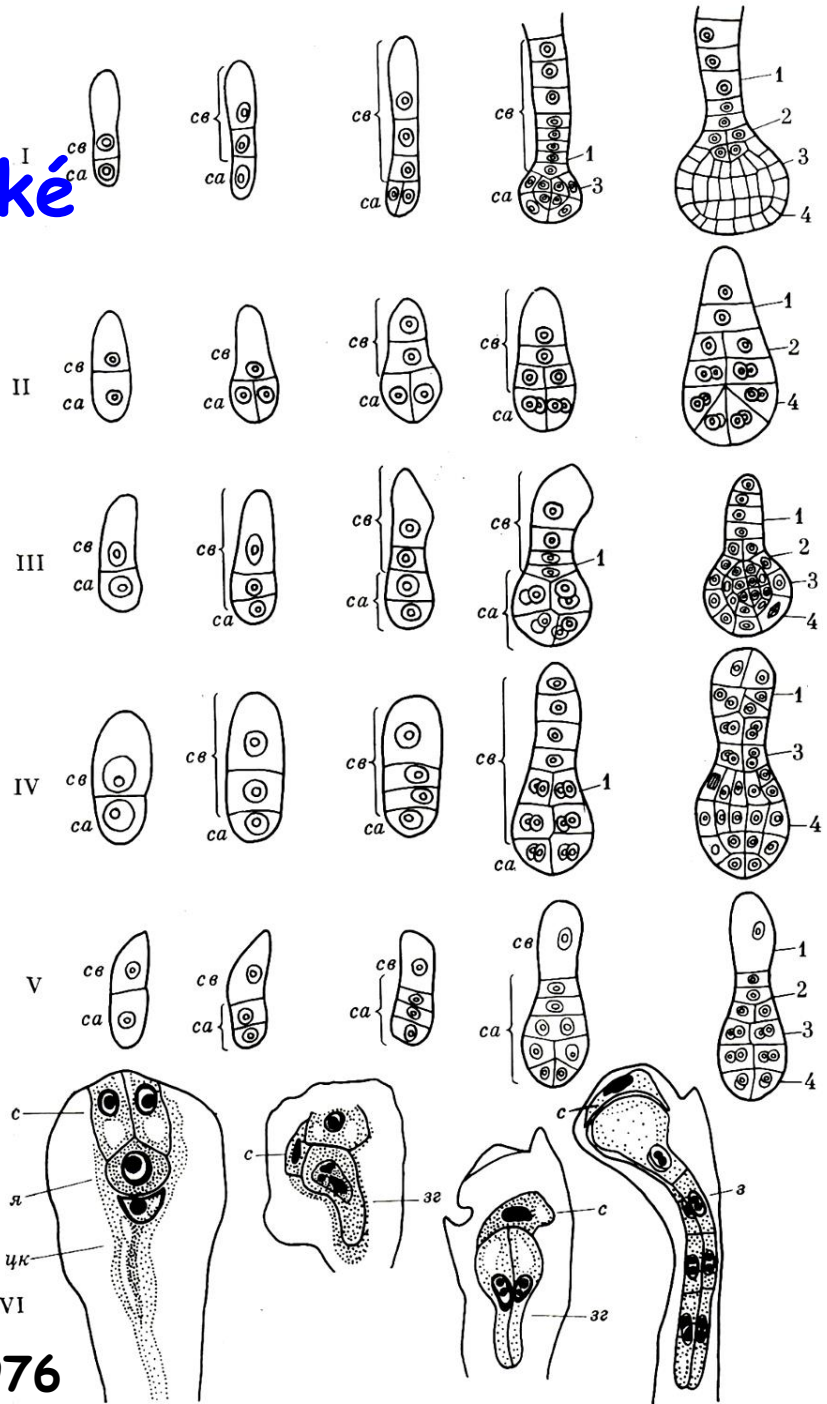
dělení
apikální buňky
= **příčné**

první dělení
zygoty
= **podélné**

Piperad

dělení
apikální buňky
= **podélné**

Embryogenetické typy



Onagrad

Asterad

Solanad

Chenopodiad

Caryophyllad

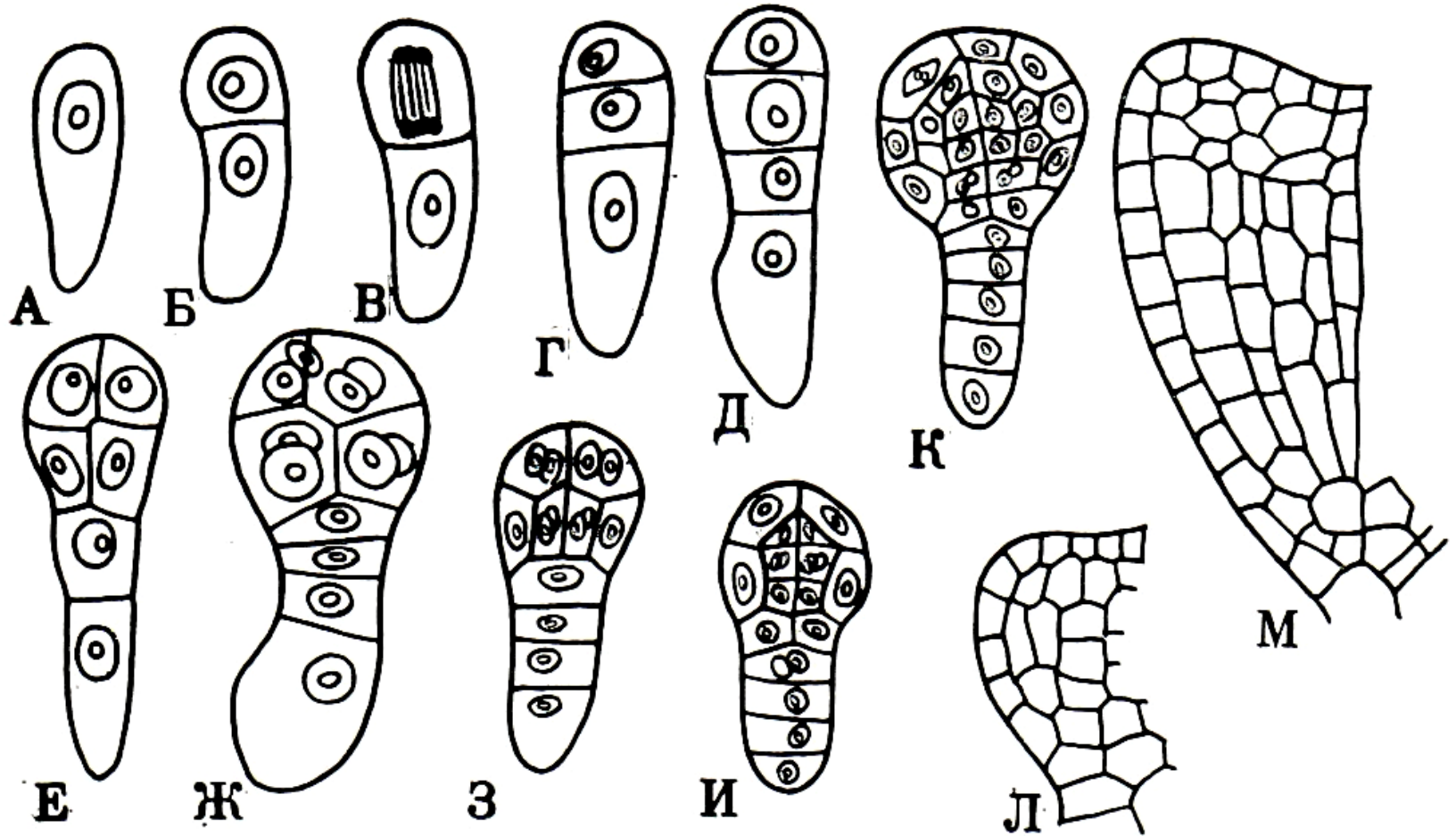
Piperad

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*

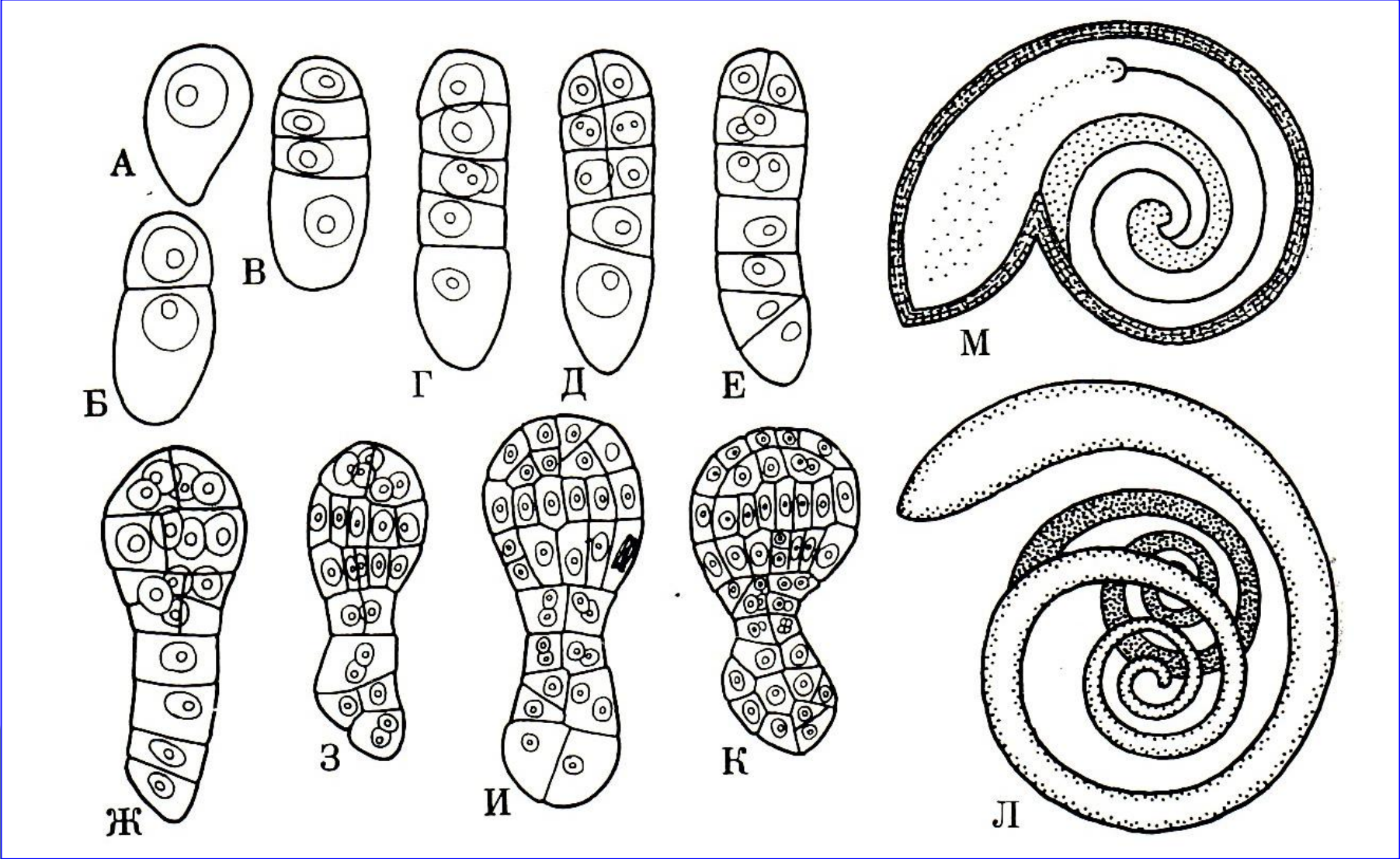
Solanad

Poddubnaja-Arnoldi 1976



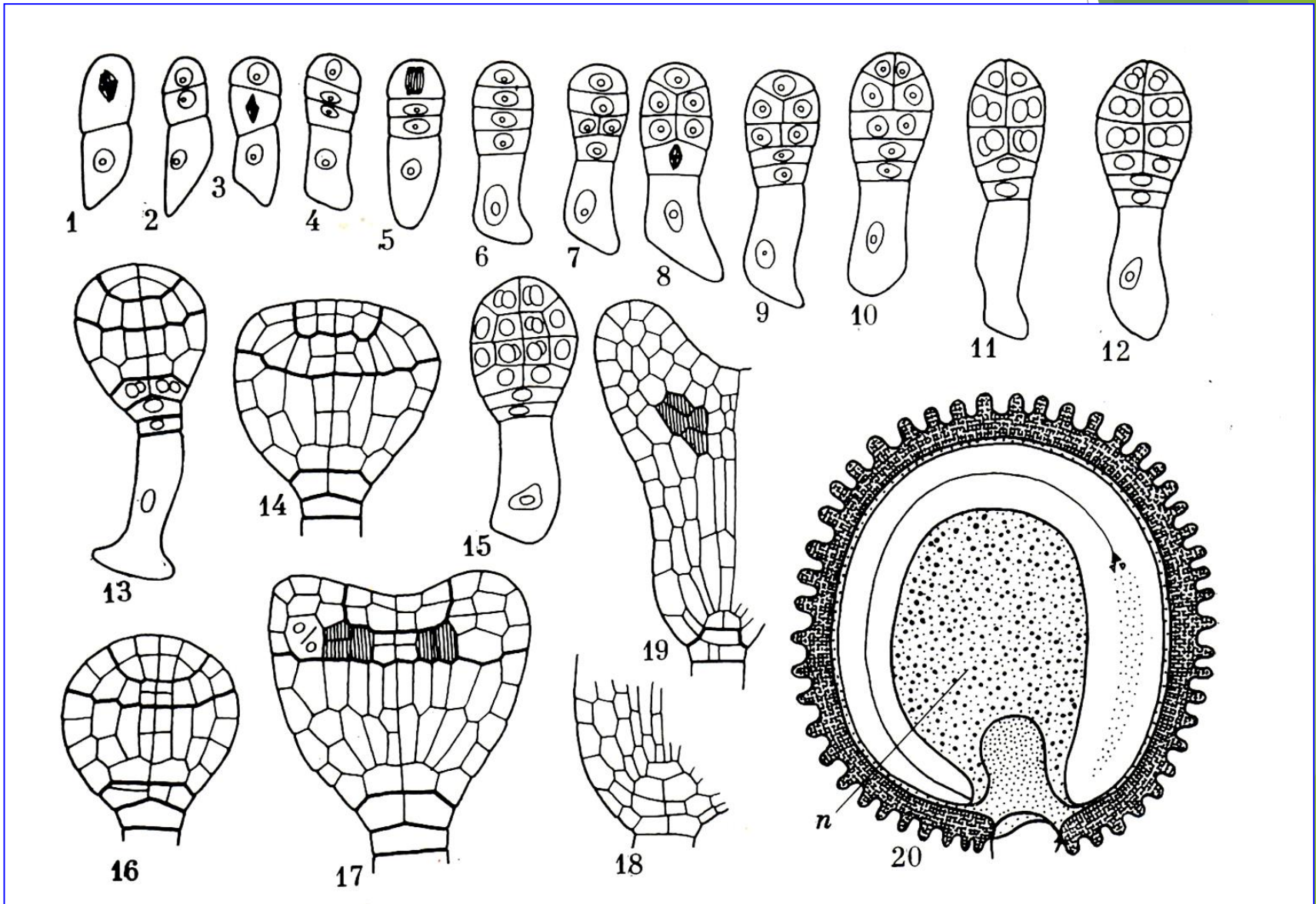
Chenopodiad

Podubnaja-Arnoldi 1976

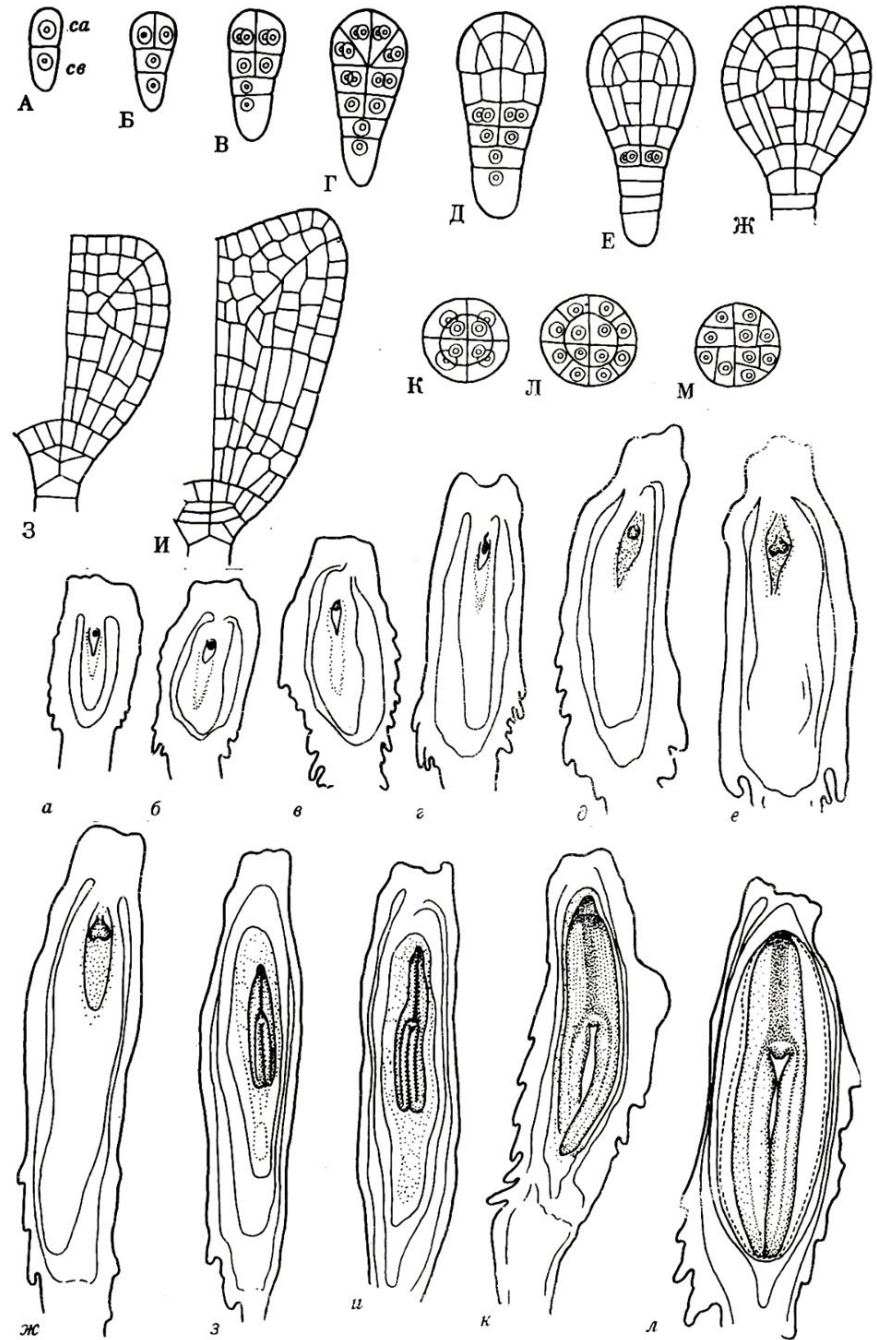


Caryophyllad (*Sagina*)

Poddubnaja-Arnoldi 1976



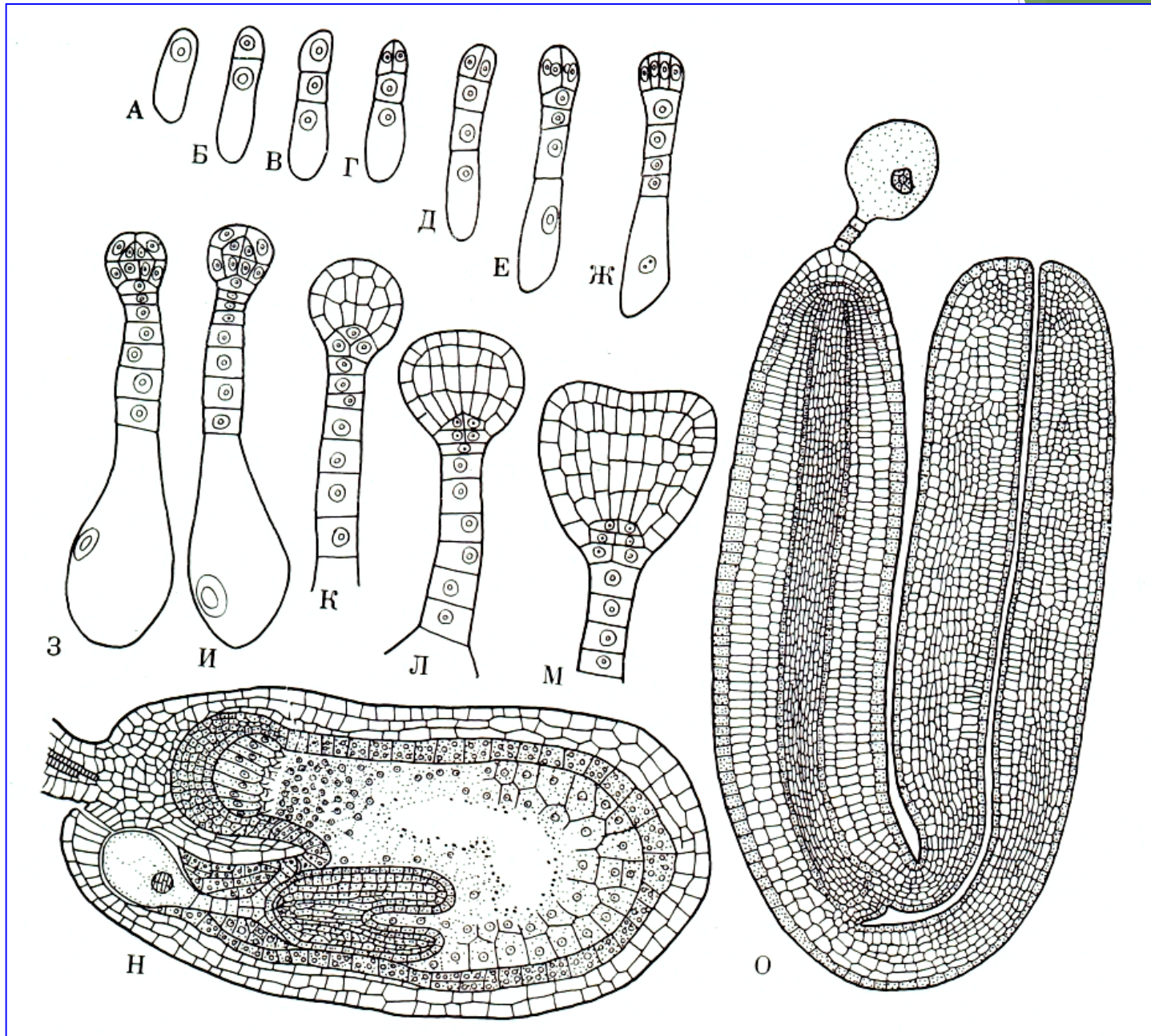
Asterad



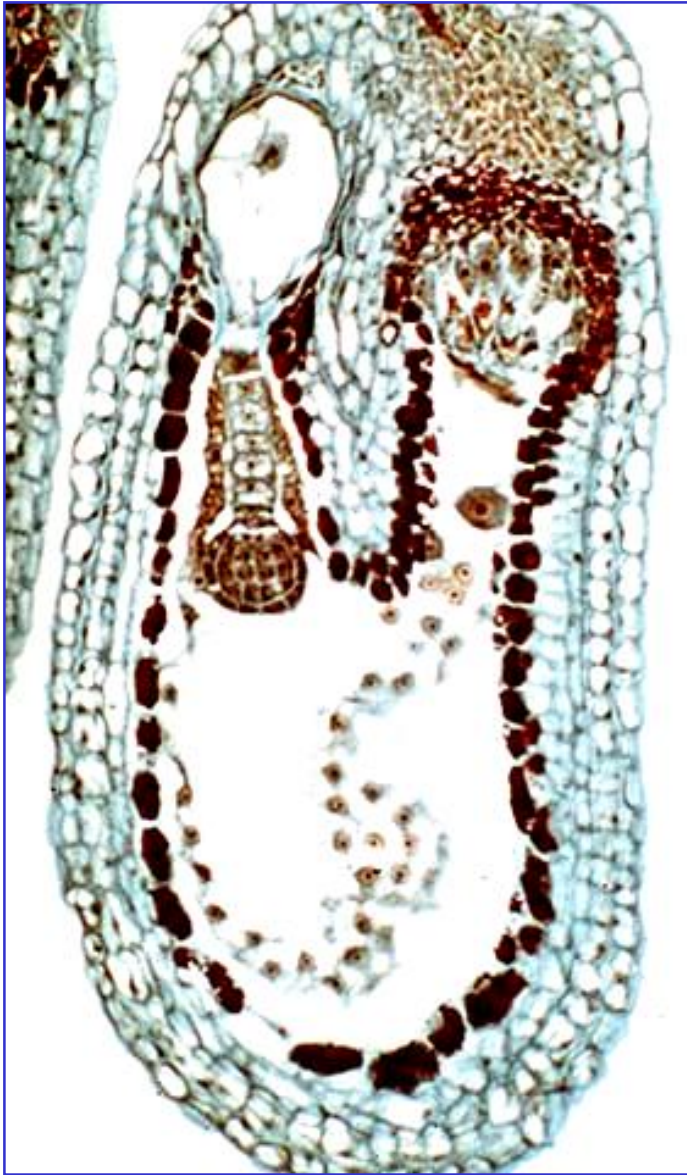
Podubnaja-Arnoldi 1976

Onagrad - Capsella

Poddubnaja-Arnoldi 1976



Capsella bursa-pastoris

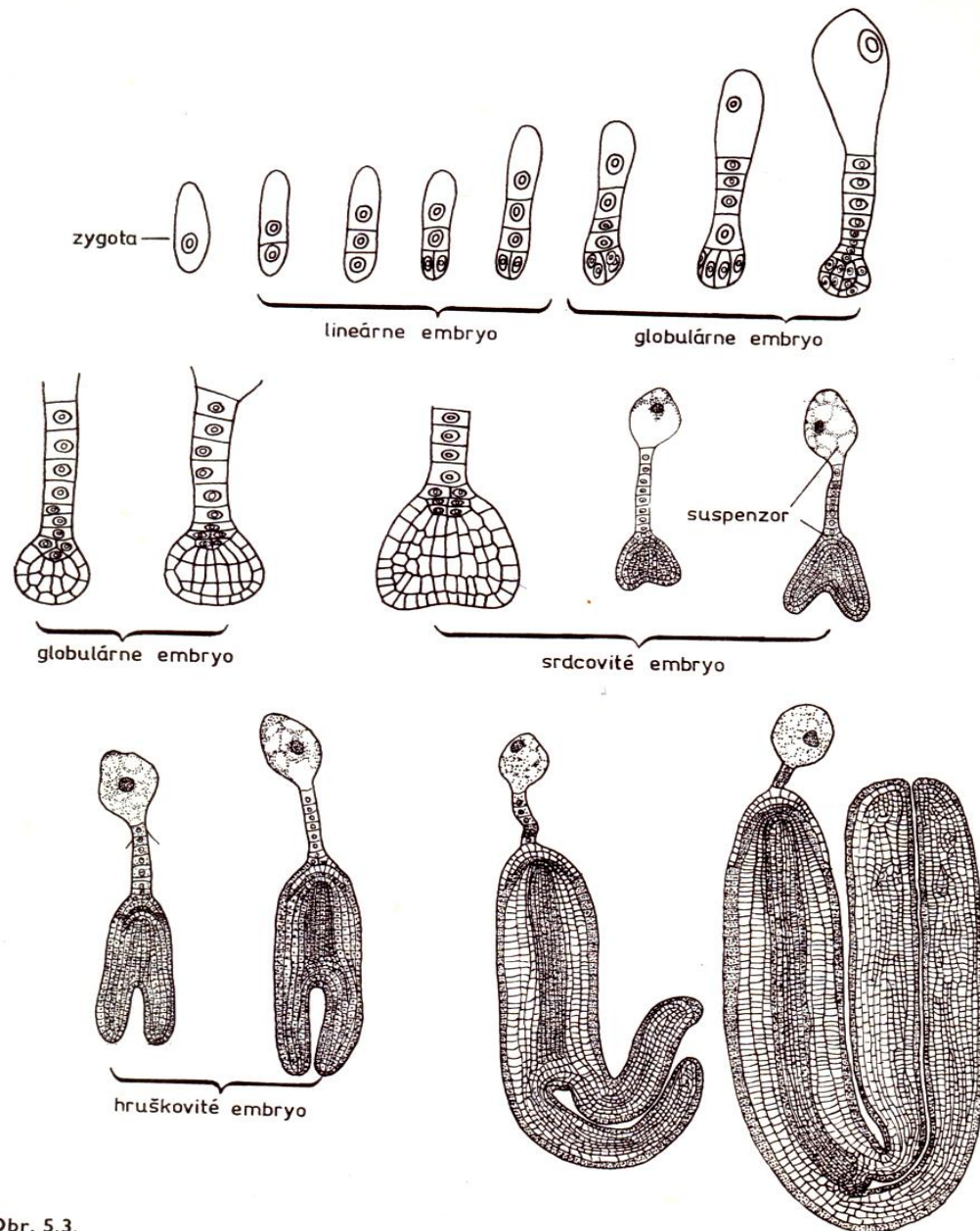


globulární embryo



torpédovité (hruškovité) embryo

Stadia vývoje embrya *Capsella*



Obr. 5.3.
Schéma vývinu embrya druhu *Capsella bursa-pastoris* (podľa Poddubnej-
Arnoľdovej, 1964)

Erdelská 1981

zrelé embryo
(tvar "U")

Stadia vývoje embrya - *Capsella*

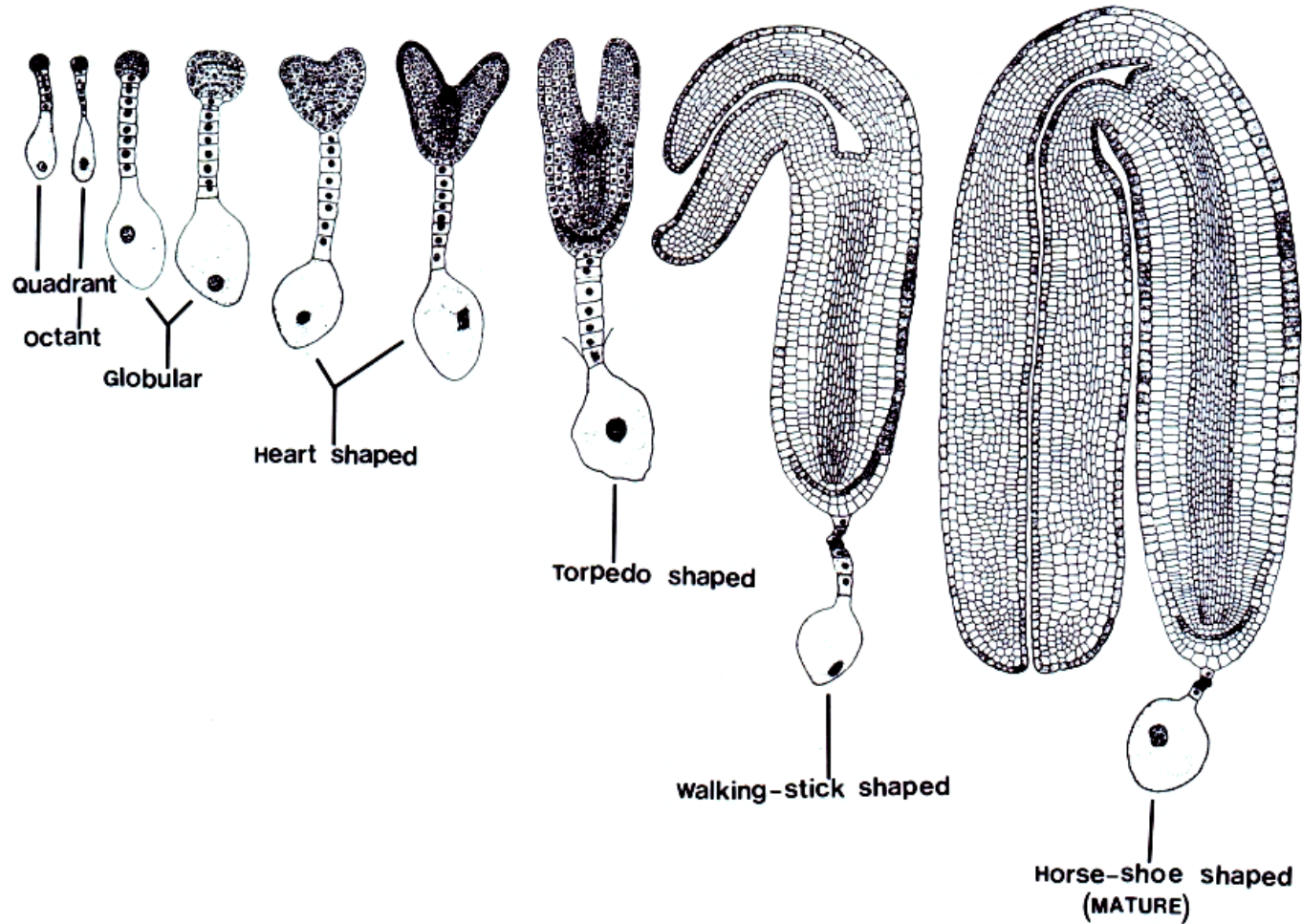


Fig. 3. Stages in the embryogenesis of *Capsella bursa-pastoris* in longitudinal sections. The lower end of the embryo is directed towards the micropyle (Schaffner [25]).

Stadia embryogeneze *Arabidopsis thaliana*

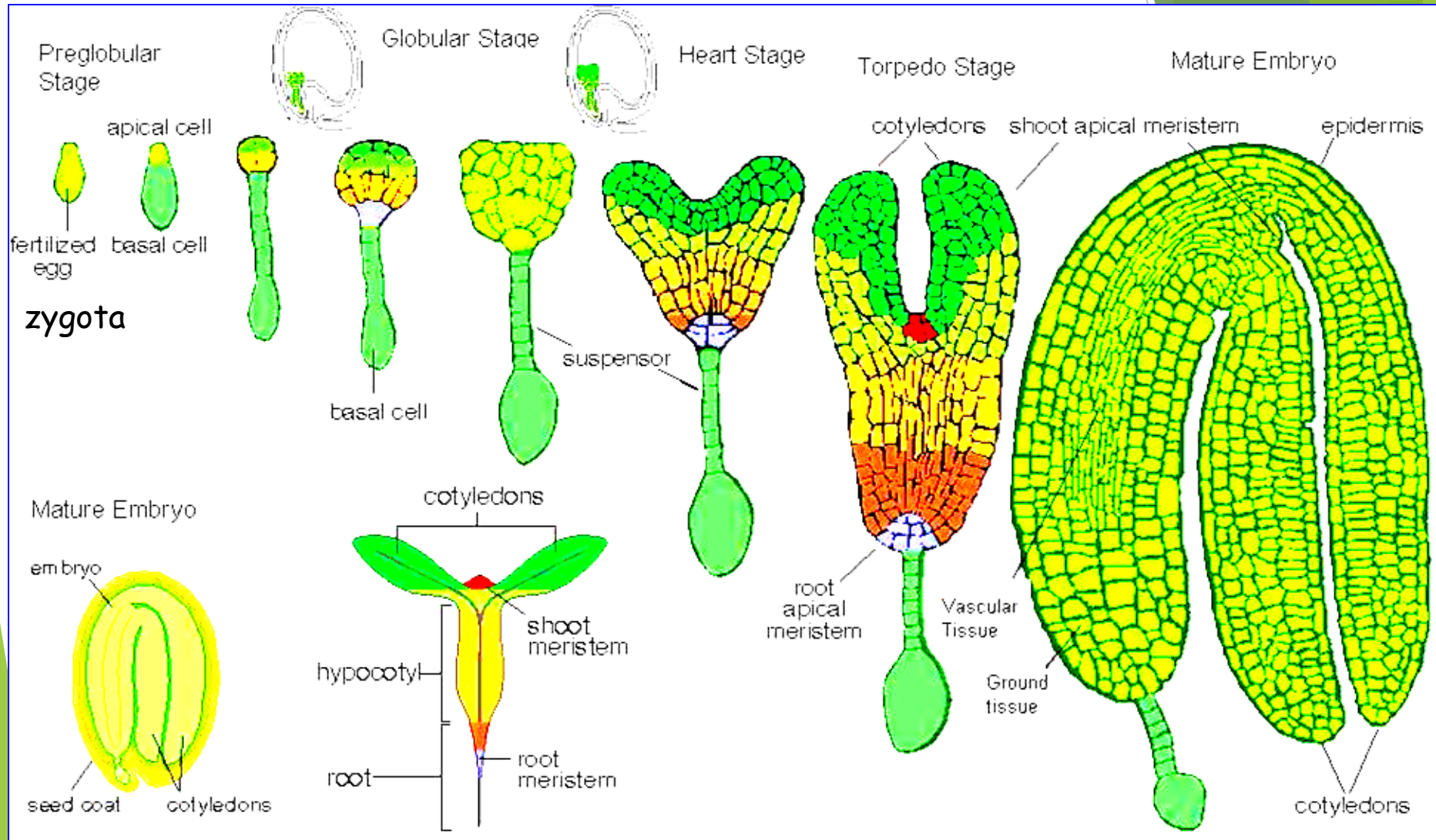
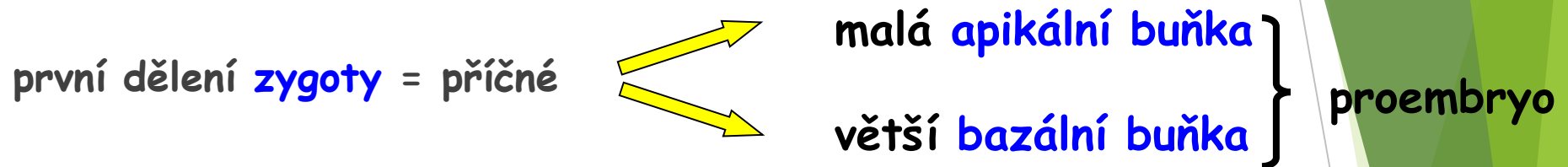


Image adapted from Wolpert, Lewis.
 (1998) Principles of Development. Oxford University Press, NY

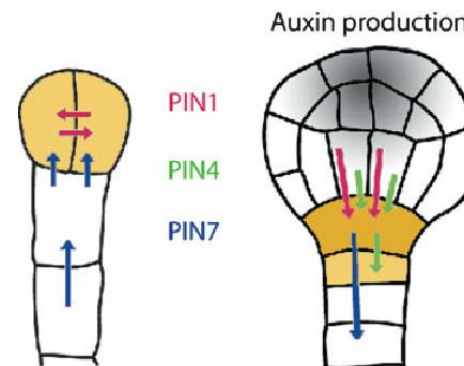
Embryogeneze u *Arabidopsis* (typ Onagrad)



bazální buňka → **suspensor + hypofýza**

apikální buňka → **vlastní embryo**

PIN-FORMED 1 - 8 (PIN1 - 8)
= integrální membránové proteiny
transportu auxinu



Embryogeneze u *Arabidopsis*

formace radiálních vzorů - začíná ve stadiu 8 buněk

periklinální dělení

dělení vnitřních buněk

vznik protodermu na povrchu

základní meristém

základ prokambia



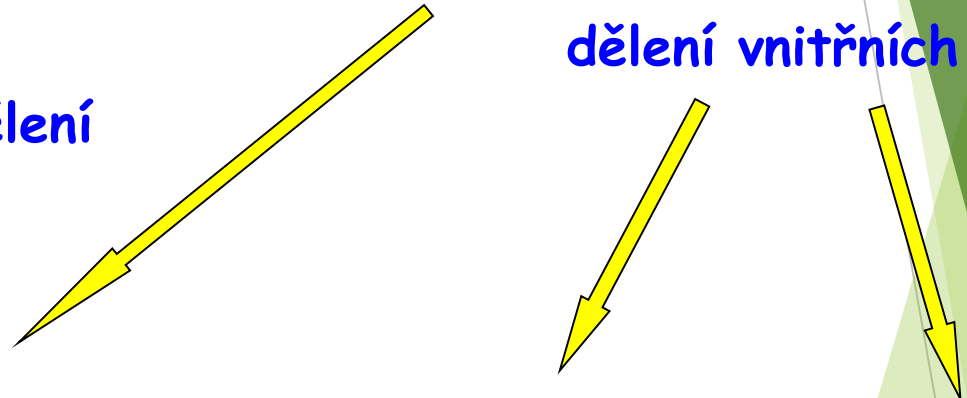
epidermis



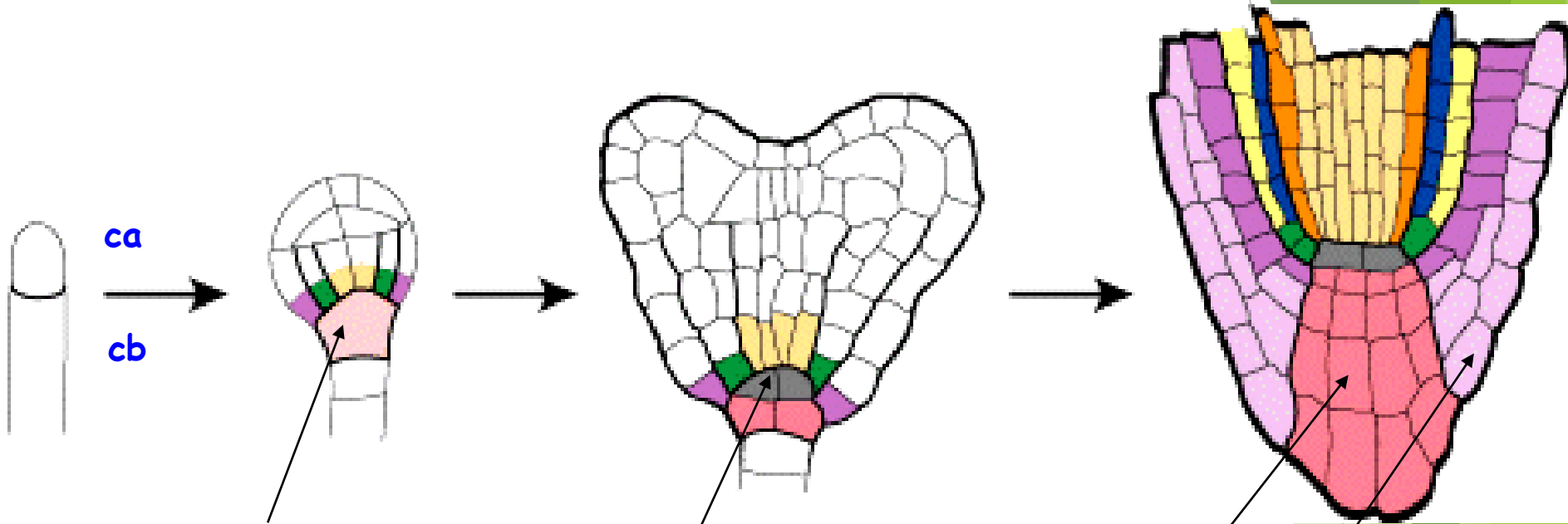
kůra a endodermis



cévní svazky



Arabidopsis - vývoj radikuly



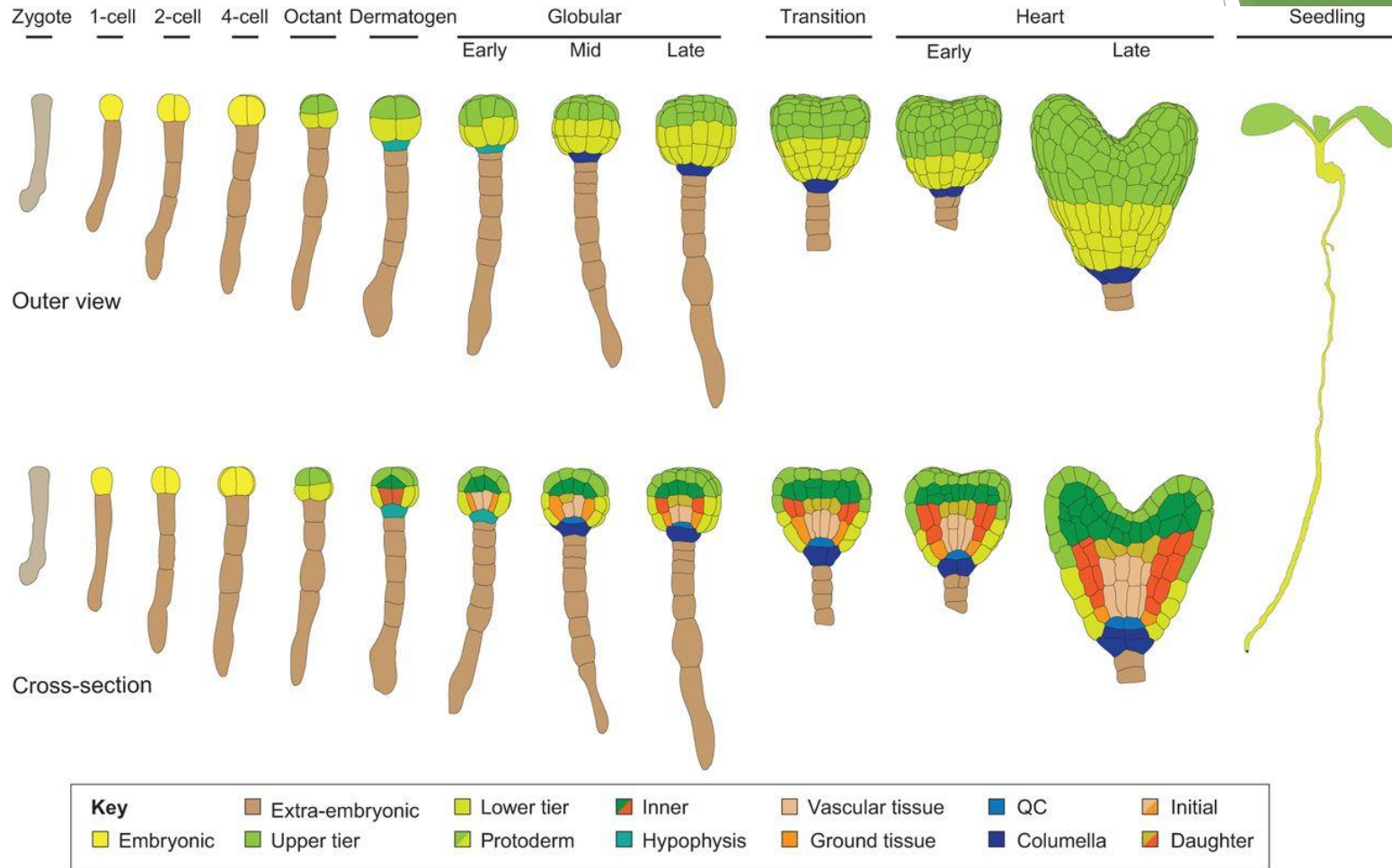
u *Arabidopsis* je **hypofýzou**
buňka přiléhající k suspenzoru
(derivát bazální buňky)

později se dělí na horní buňku

čočkovitou → kořenový meristém

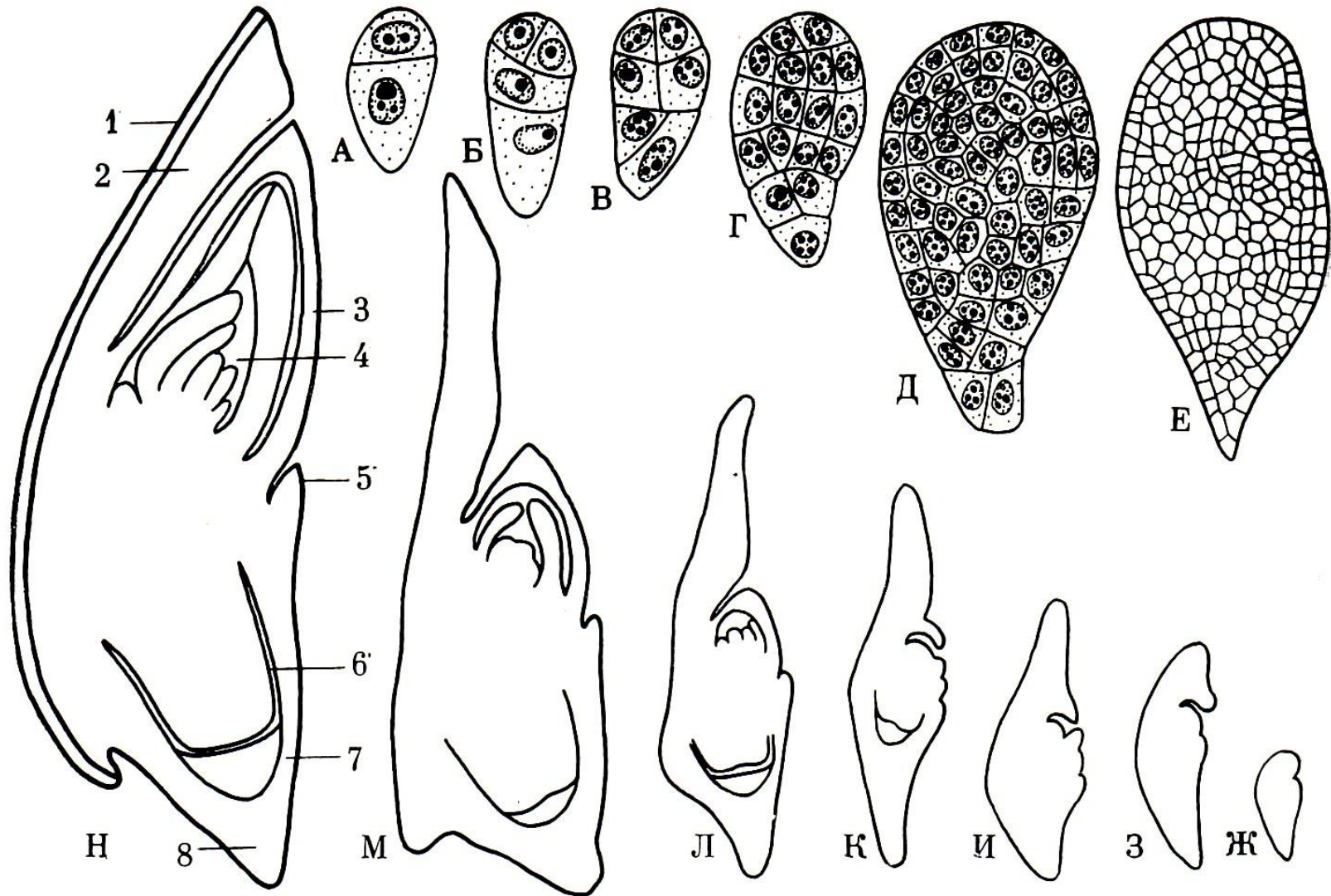
spodní buňka → kolumela
→ kořenová čepička

Embryogeneze a osud buněk u *Arabidopsis*



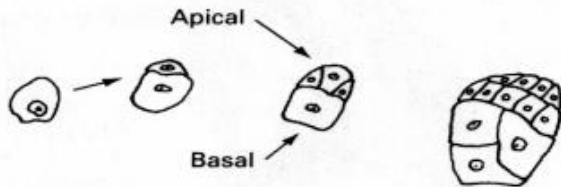
Doporučná literatura: <http://dev.biologists.org/content/142/3/420>

Embryogeneze u kukuřice



Embryo development in monocot seeds

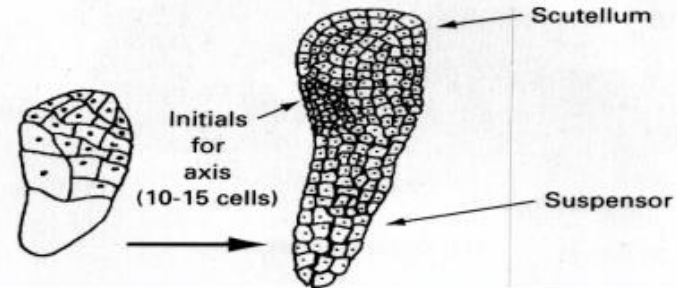
Proembryo Stage



(a)

1. Fertilization & unequal division

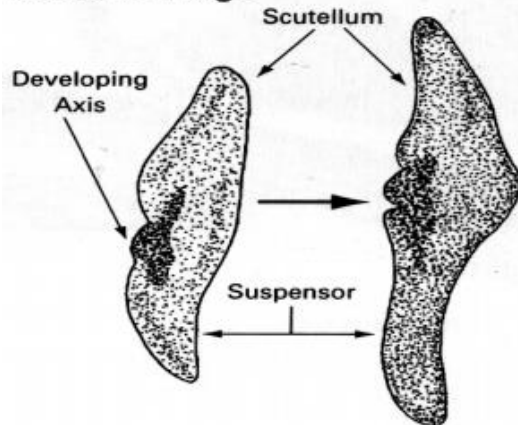
Globular Stage



(b)

2. Embryo undergoes cell division

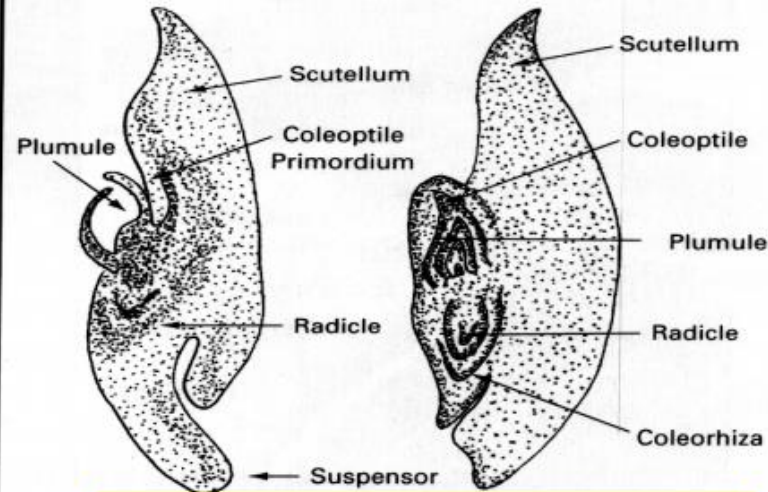
Scutellar Stage



(c)

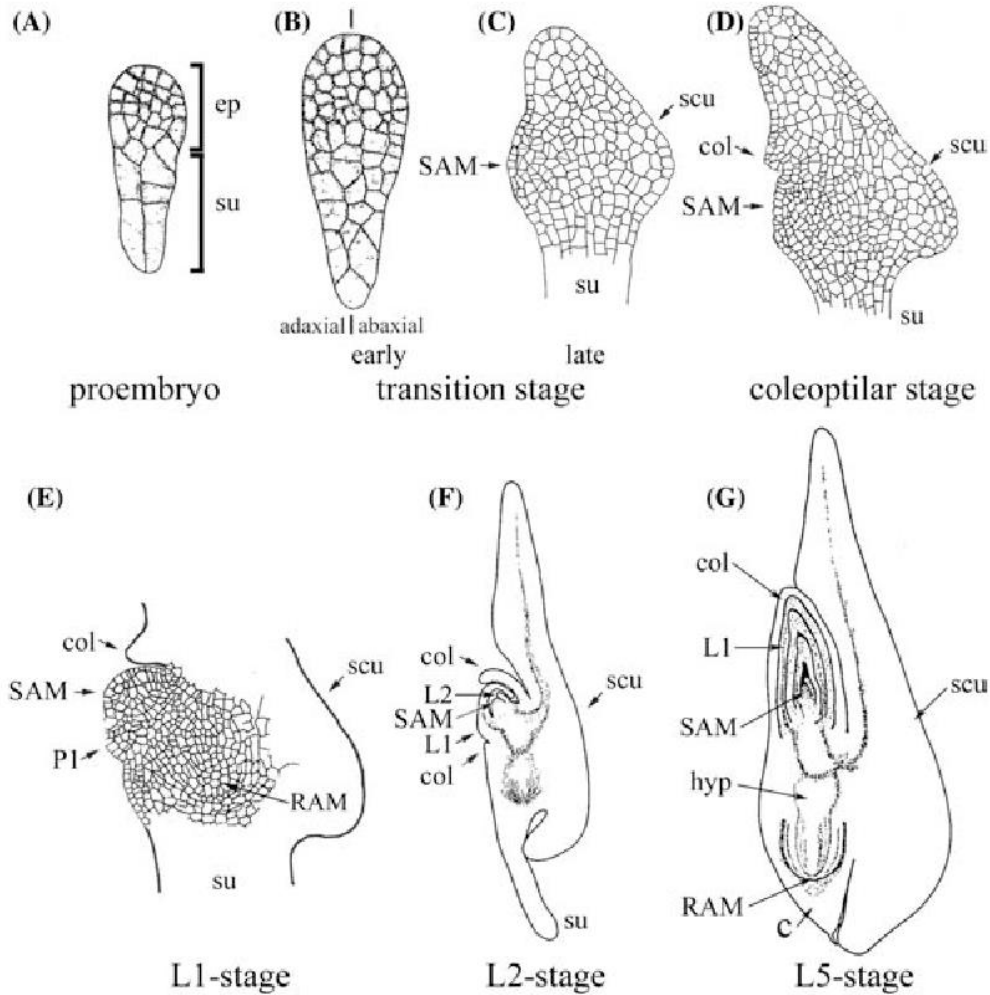
1. Fertilization & unequal division

Coleoptilar Stage



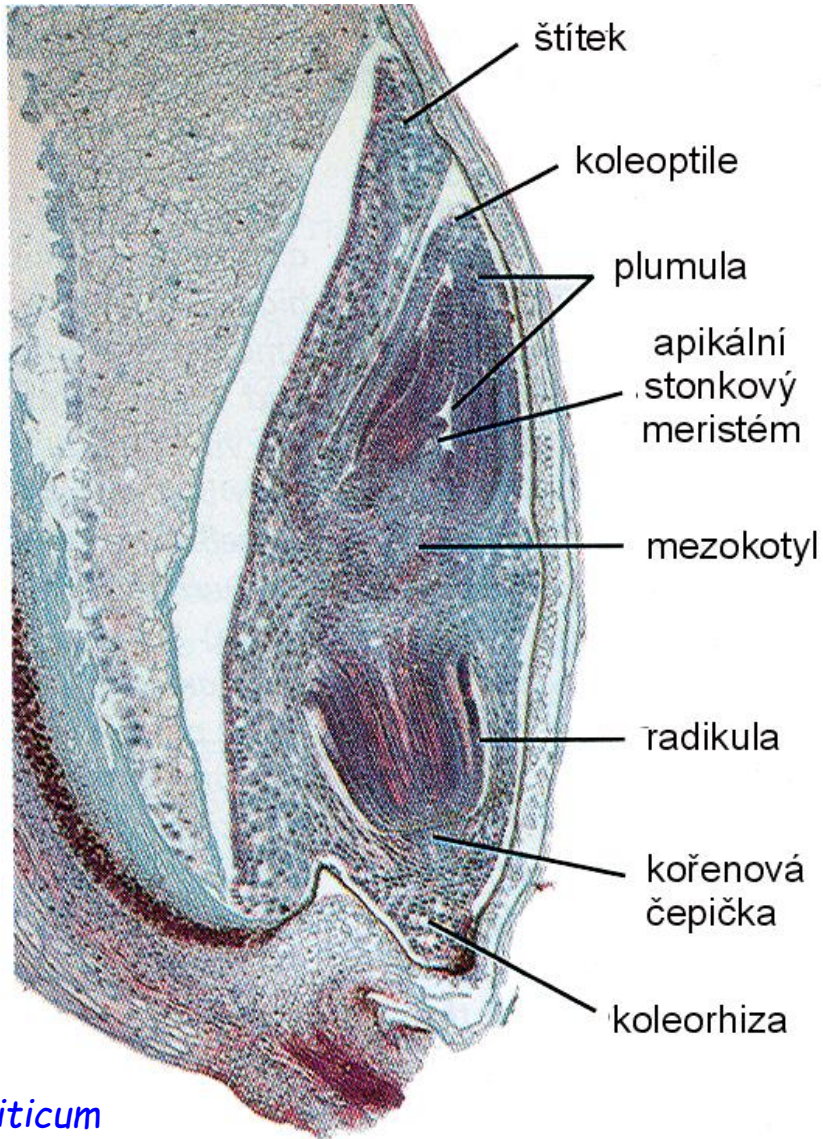
(d)

1. Fertilization & unequal division

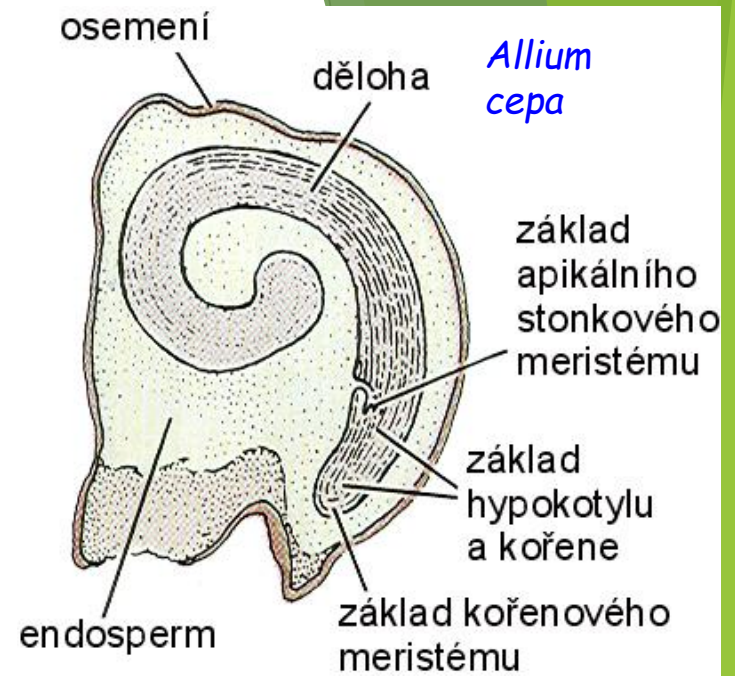


Randolph (1936); classification according to Abbe and Stein (1954)

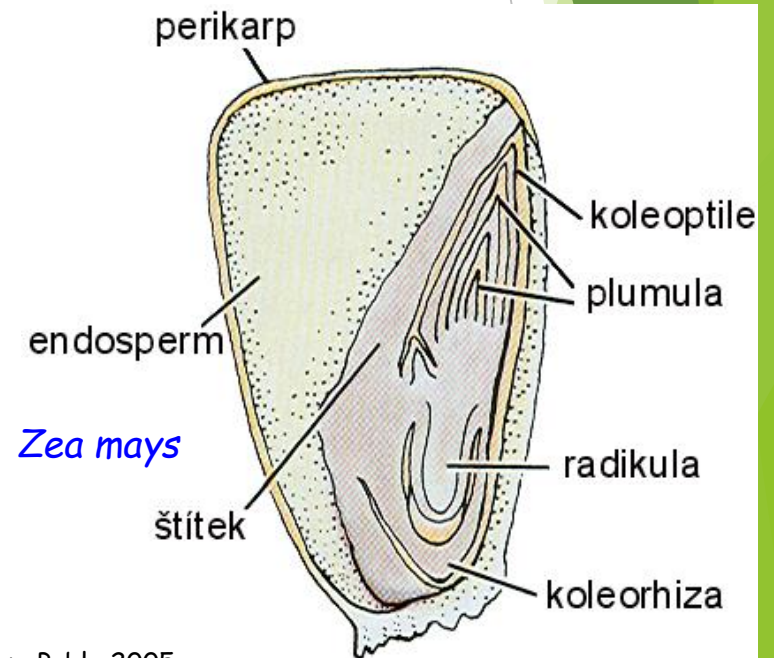
Embrya rostlin jednoděložných



Triticum



Allium cepa

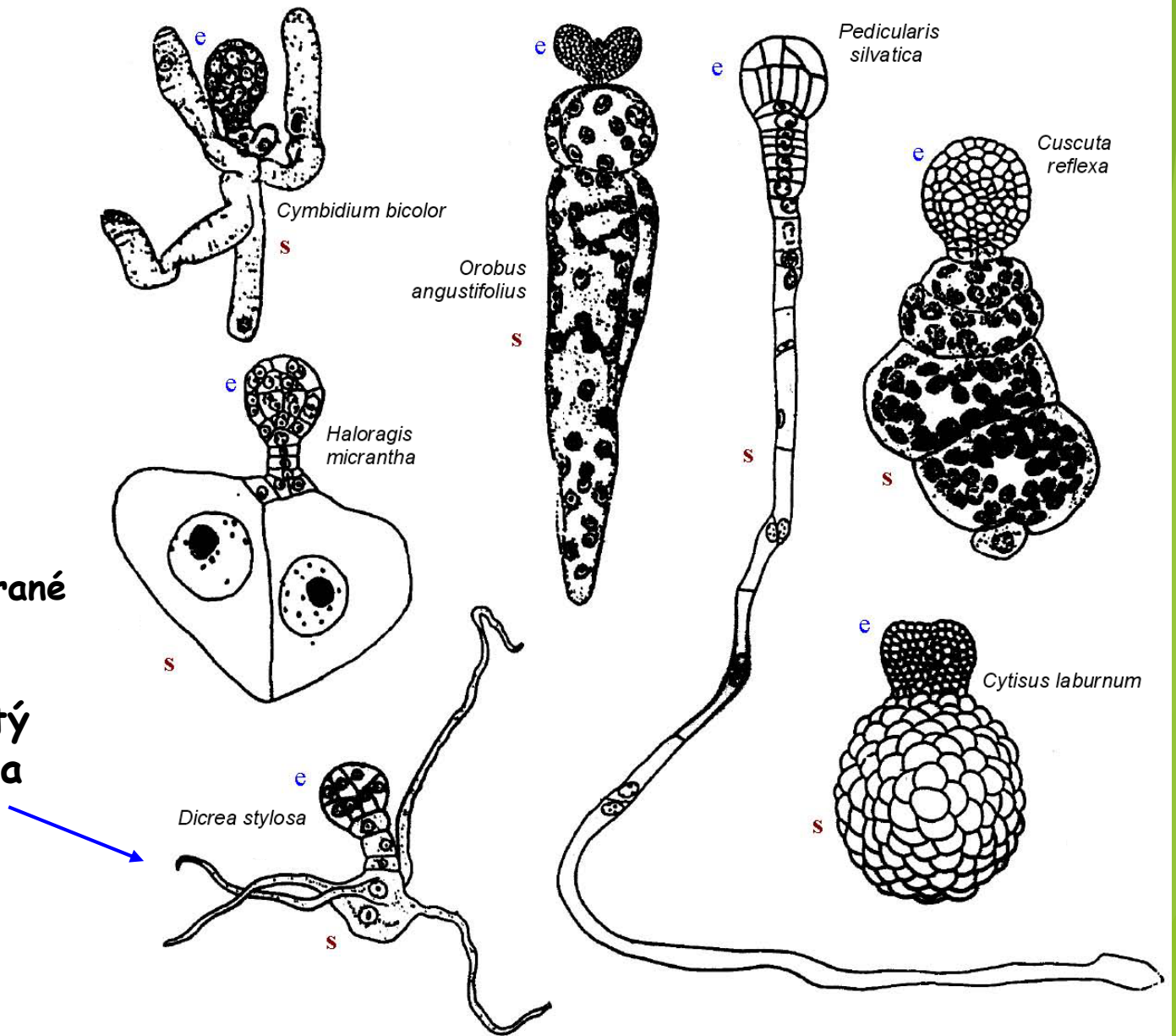


Zea mays

suspensor
(zavěšovací orgán)

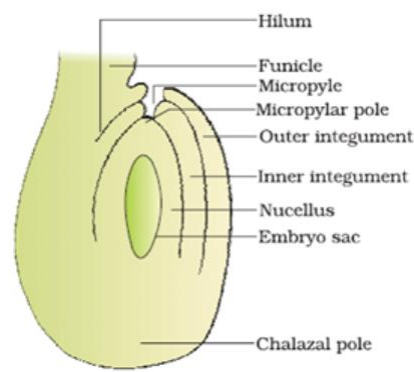
dočasná funkce v rané embryogenezi

tvarově rozmanitý orgán - haustoria

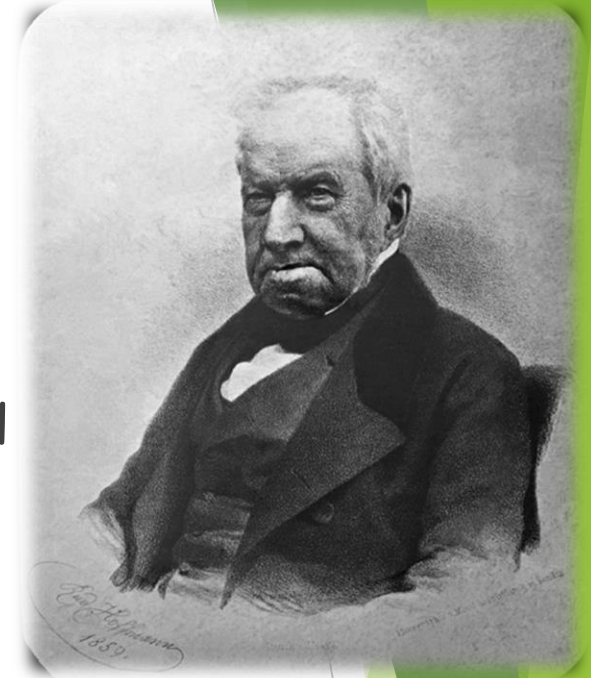


Robert Brown

(1773 -1858)
skotský botanik



Structure of Ovule



- ▶ 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

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

dočasný - v průběhu dozrávání embrya je „spotřebován“ a
zásobní látky jsou uloženy v dělohách embrya =
bezbílečnatá semena

v semeni **přetrvává** v době zralosti embrya =
bílečnatá semena

zbytek nucellu v době zralosti embrya = **perisperm**

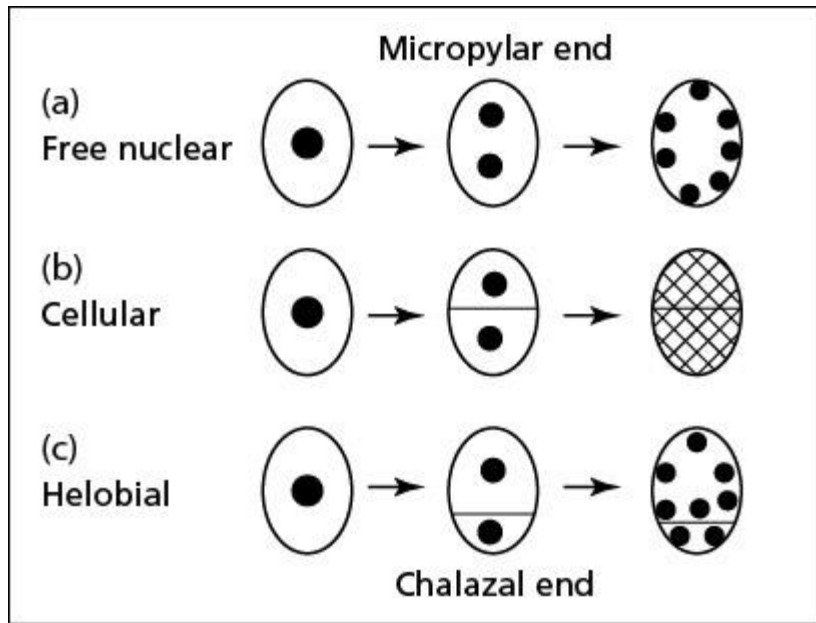
Endosperm rostlin krytosemenných

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*)

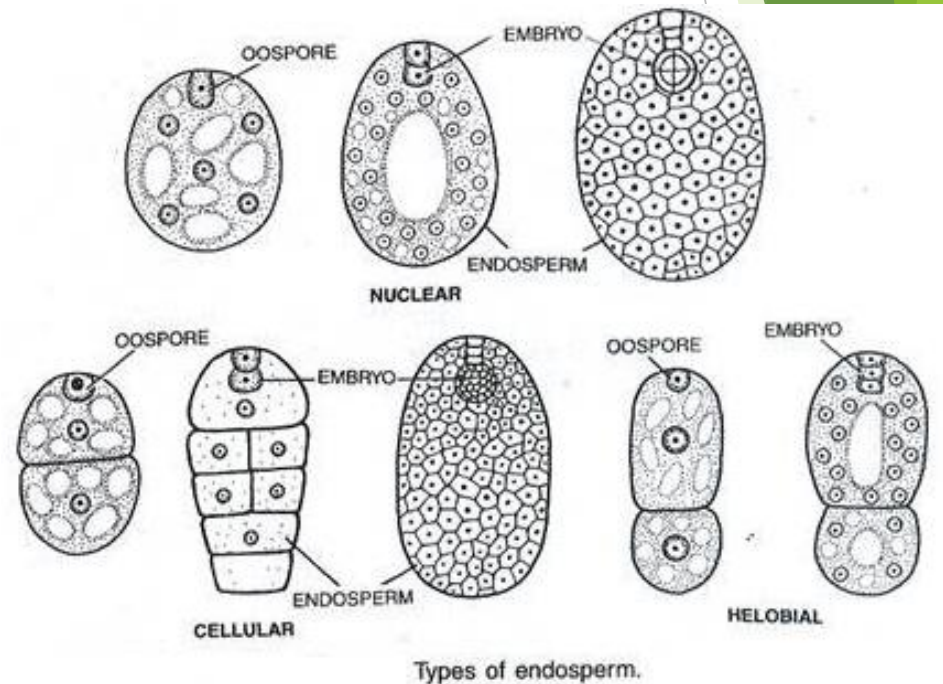
endosperm může i chybět (*Orchidaceae*, *Trapaceae*)

Typy endospermu

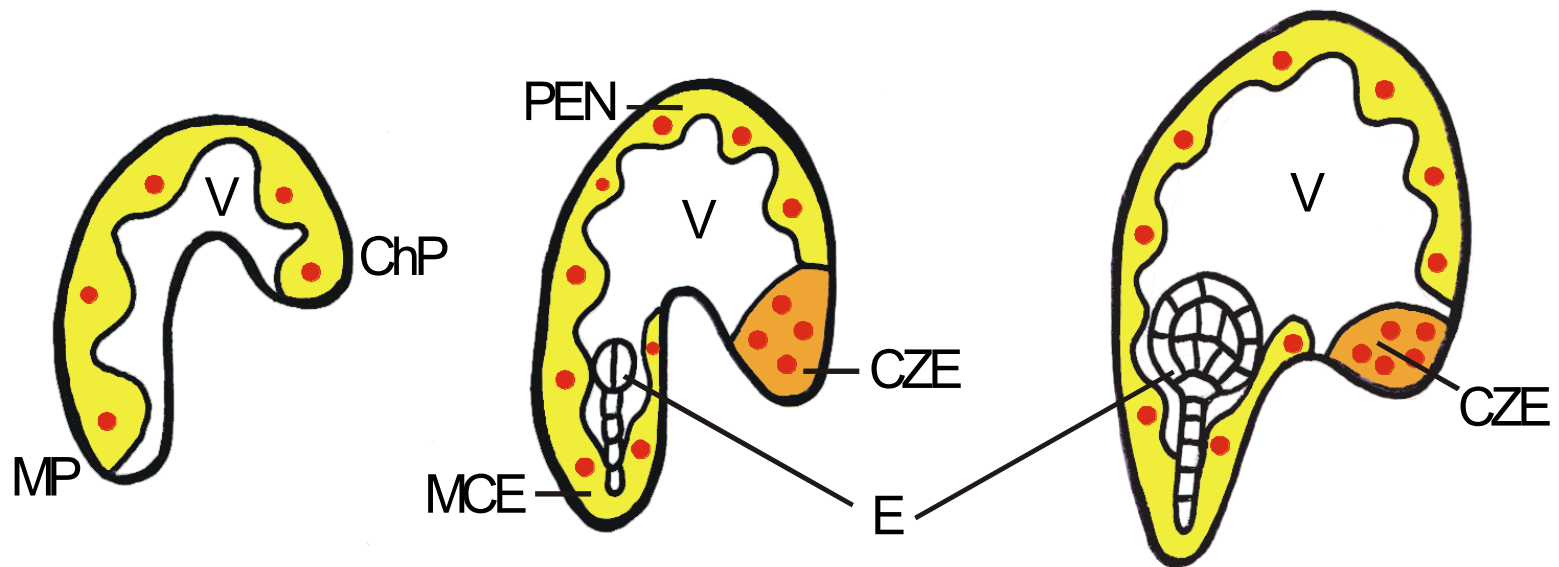


Floyd and Friedman, 2000

<http://www.yourarticlelibrary.com/biology/various-types-of-endosperm-of-flowering-plants/11785/>



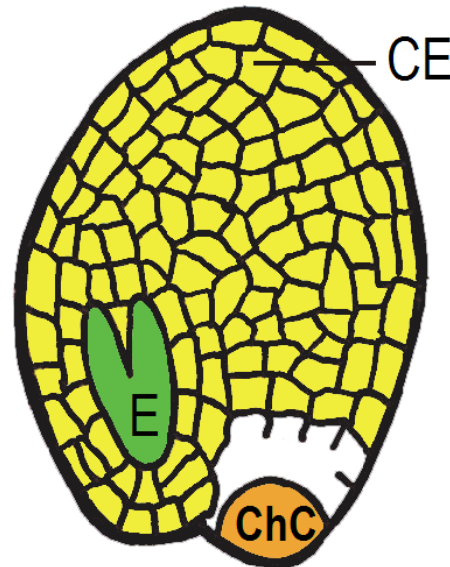
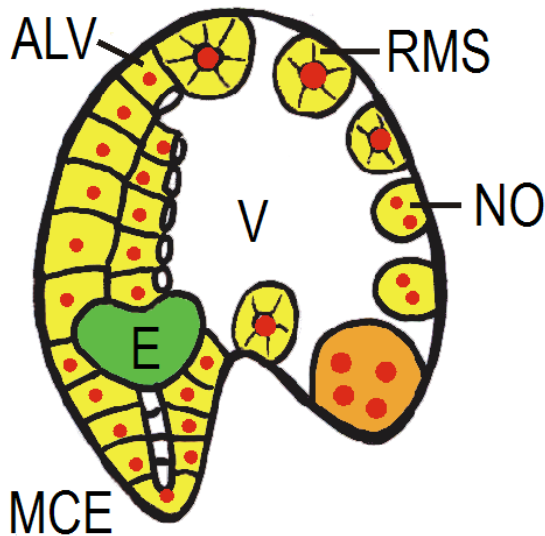
Raná stadia vývoje jaderného endospermu u *Arabidopsis* (coenocyt)



MP - mikropylární pól
V - vakuola
ChP - chalazální pól
E - embryo

MCE - mikropylární endosperm
PEN - periferální endosperm
CZE - chalazální endosperm

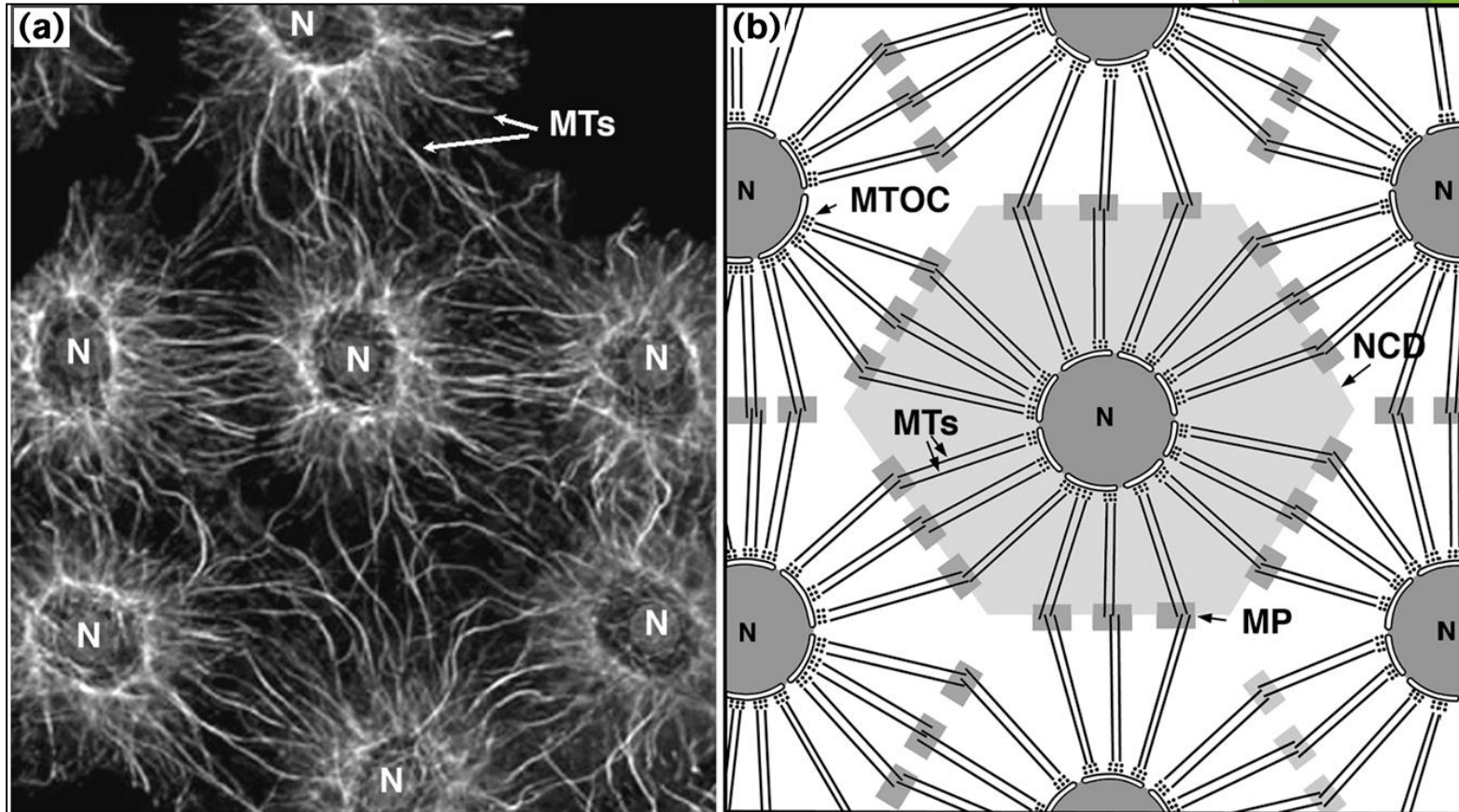
Celularizace endospermu u *Arabidopsis*



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“

Cellularizace jaderného endospermu

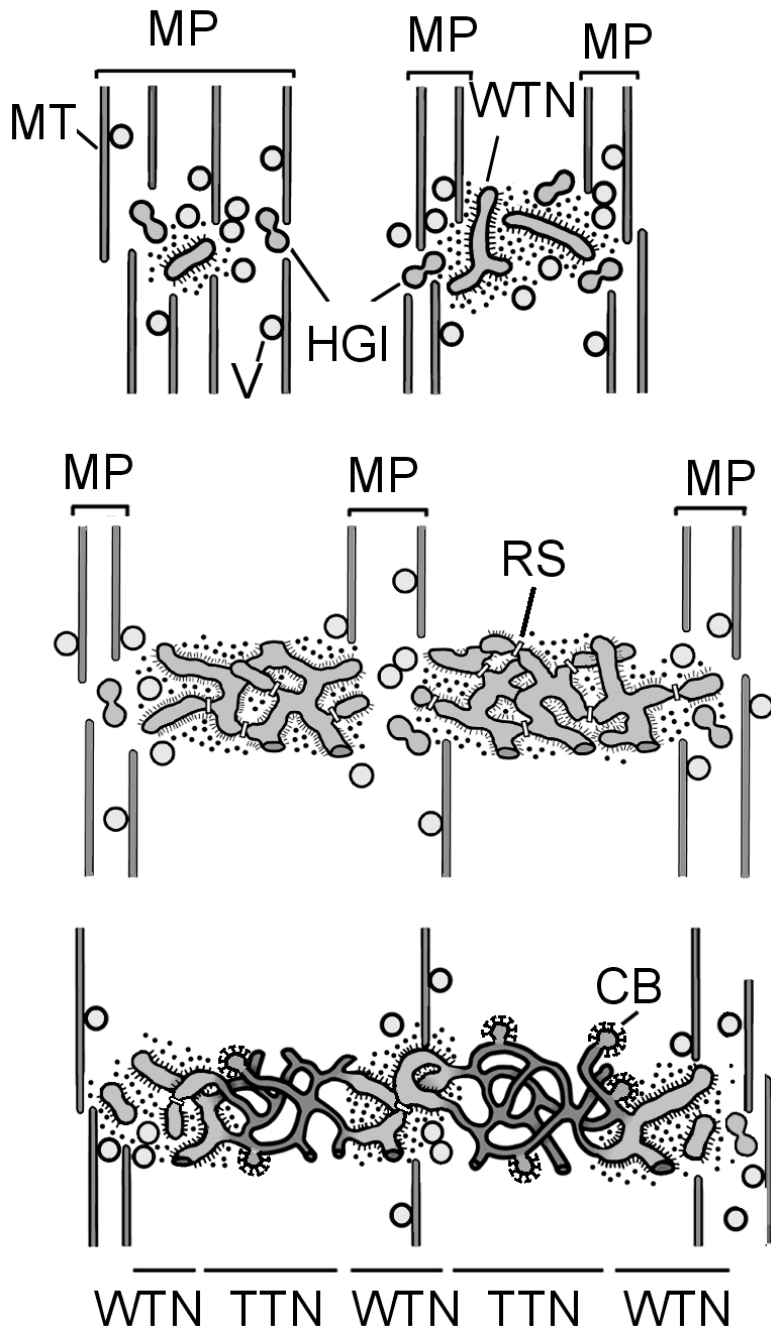


(*Coronopus didymus*, čel. *Brassicaceae*)

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 - sít' širokých tubulů

TTN - sít' tenkých tubulů

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

Endosperm

ploidie - záleží na typu zárodečného vaku:

obecně 3N, u *Oenothera* 2N

u typů *Fritillaria*, *Peneae*, *Pepromia* 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

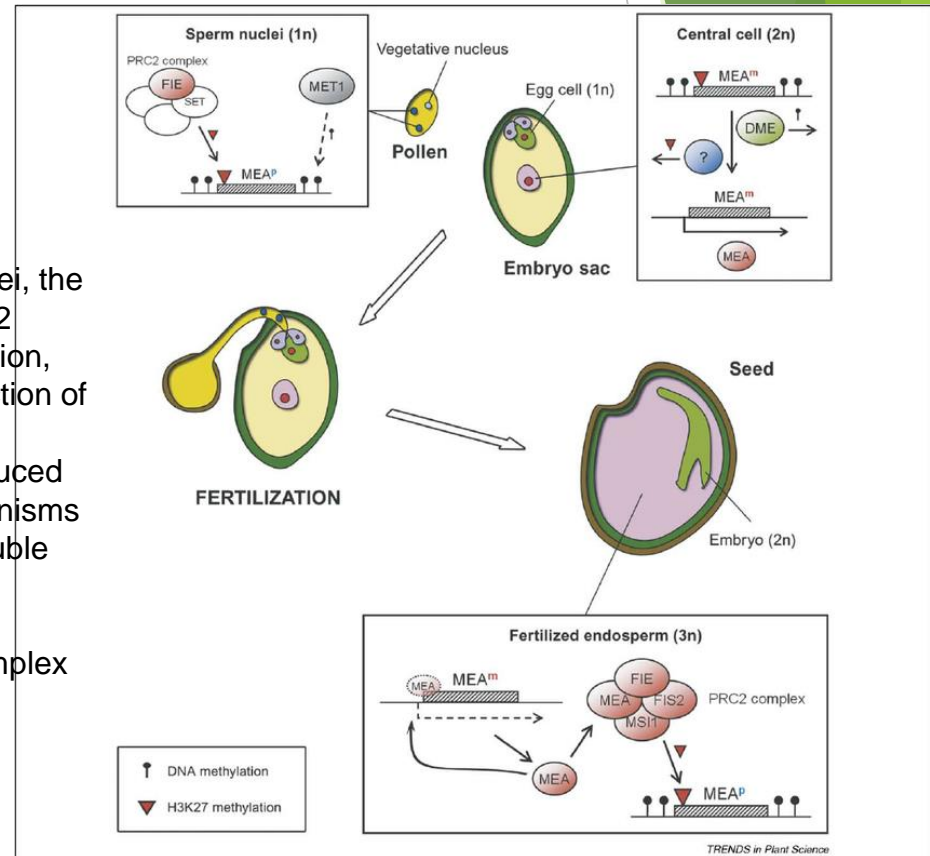
Geny důležité pro vznik endospermu

DME (DEMETER)
MEA (MEDEA)
FIS (FERTILISATION INDEPENDENT SEED)
FIE (FERTILISATION INDEPENDENT ENDOSPERM)

FIS: FIS1/MEA (metyltransferáza H3-K27me)
FIS2 (TF Zn-prsty)
FIS3/FIE (protein WD-40 - interakce s proteiny)

DME je exprimován pouze v centrální buňce zárodečného vaku

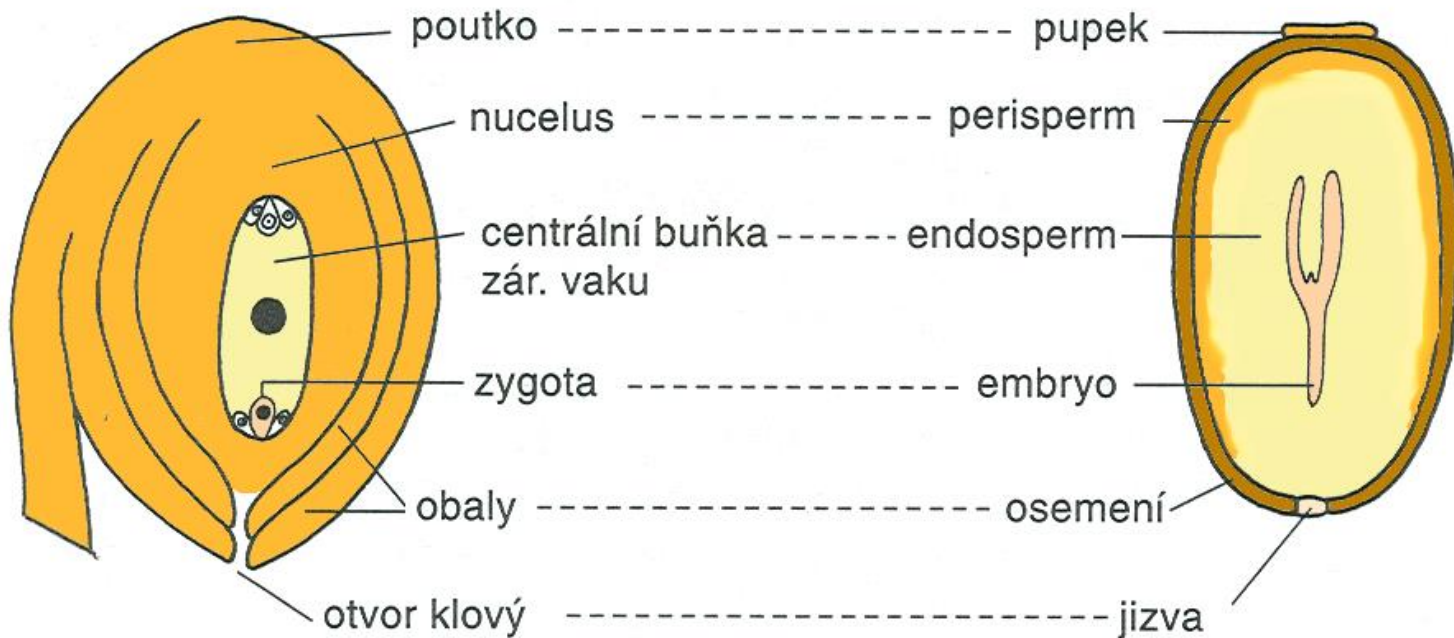
MEA regulation before and after fertilization. In sperm nuclei, the paternal copy of MEA is retained in a silent state by a PRC2 complex containing FIE and a SET domain protein. In addition, DNA methylation is maintained by MET1, although the function of DNA methylation in paternal MEA silencing is not fully understood. In the maternal central cell, MEA activity is induced by DNA demethylation via DME and other unknown mechanisms that remove histone 3 methylation at lysine residue 27. Double fertilization generates the diploid embryo and the triploid endosperm, and the maternally expressed MEA protein maintains the paternal allele in a silent state in a PRC2 complex containing FIE, FIS2 and MSI1. In addition, maternal MEA expression seems to be auto-regulated by MEA itself and decreases at later stages of seed development.



Zrání embrya

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

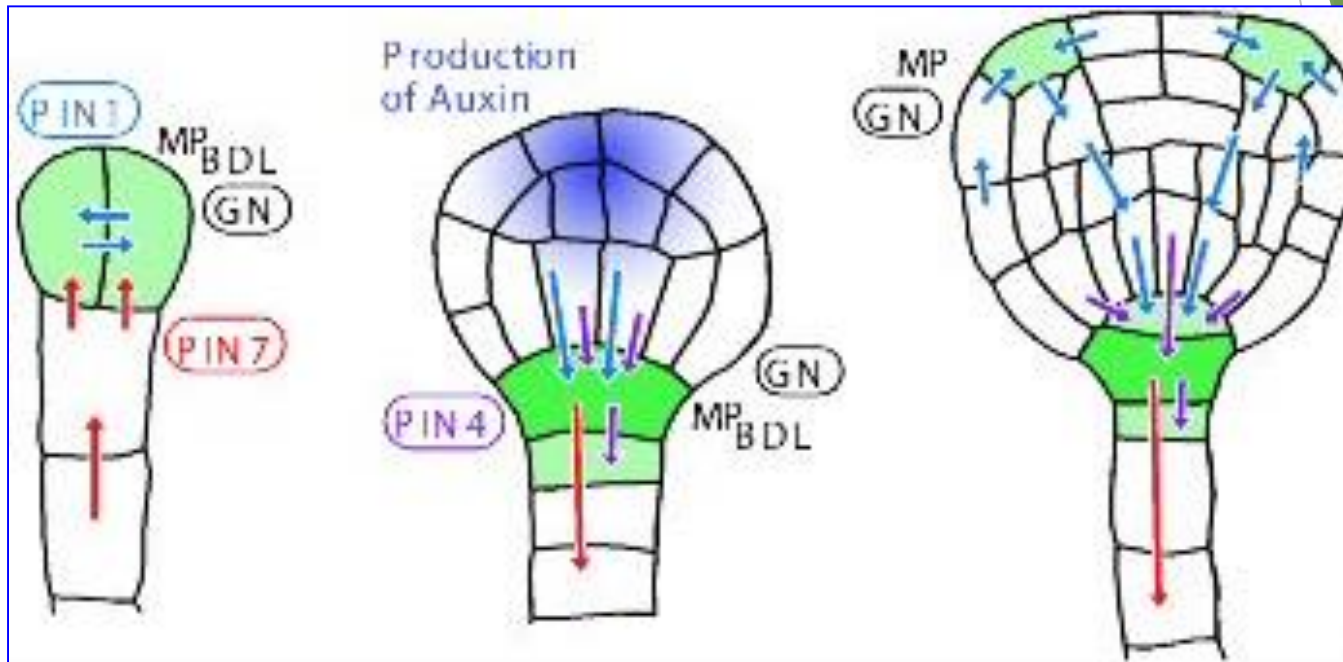
přeměna vajíčka a integumentů v semeno



přeměna pestíku (nebo jeho části) v plod

Auxin a vývoj embrya

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



specifikace apikálních buněk - hromadění auxinu

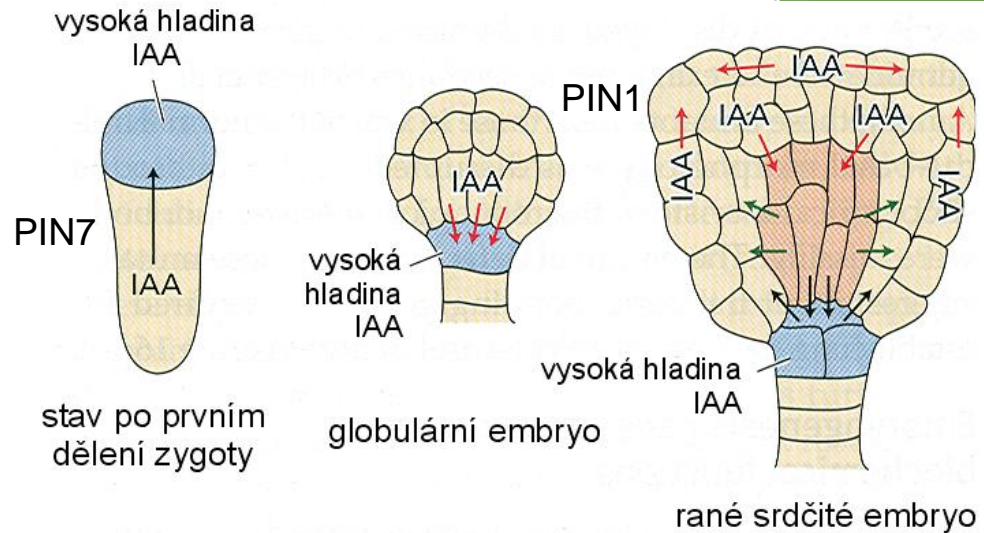
specifikace kořenového pólu - produkce a transport auxinu do hypofýzy a suspensoru

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

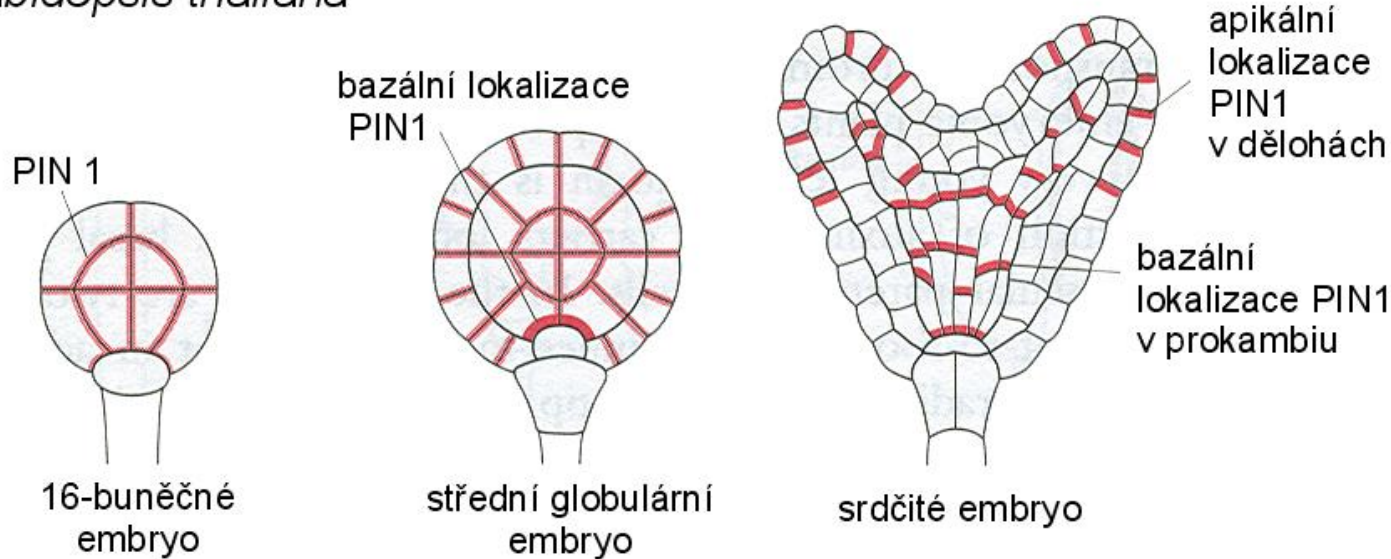
mp, bdl = mutanty v odpovědi na auxin
gn = mutant transportu auxinu

absence kořenového pólu

Polarita embrya - transport auxinu

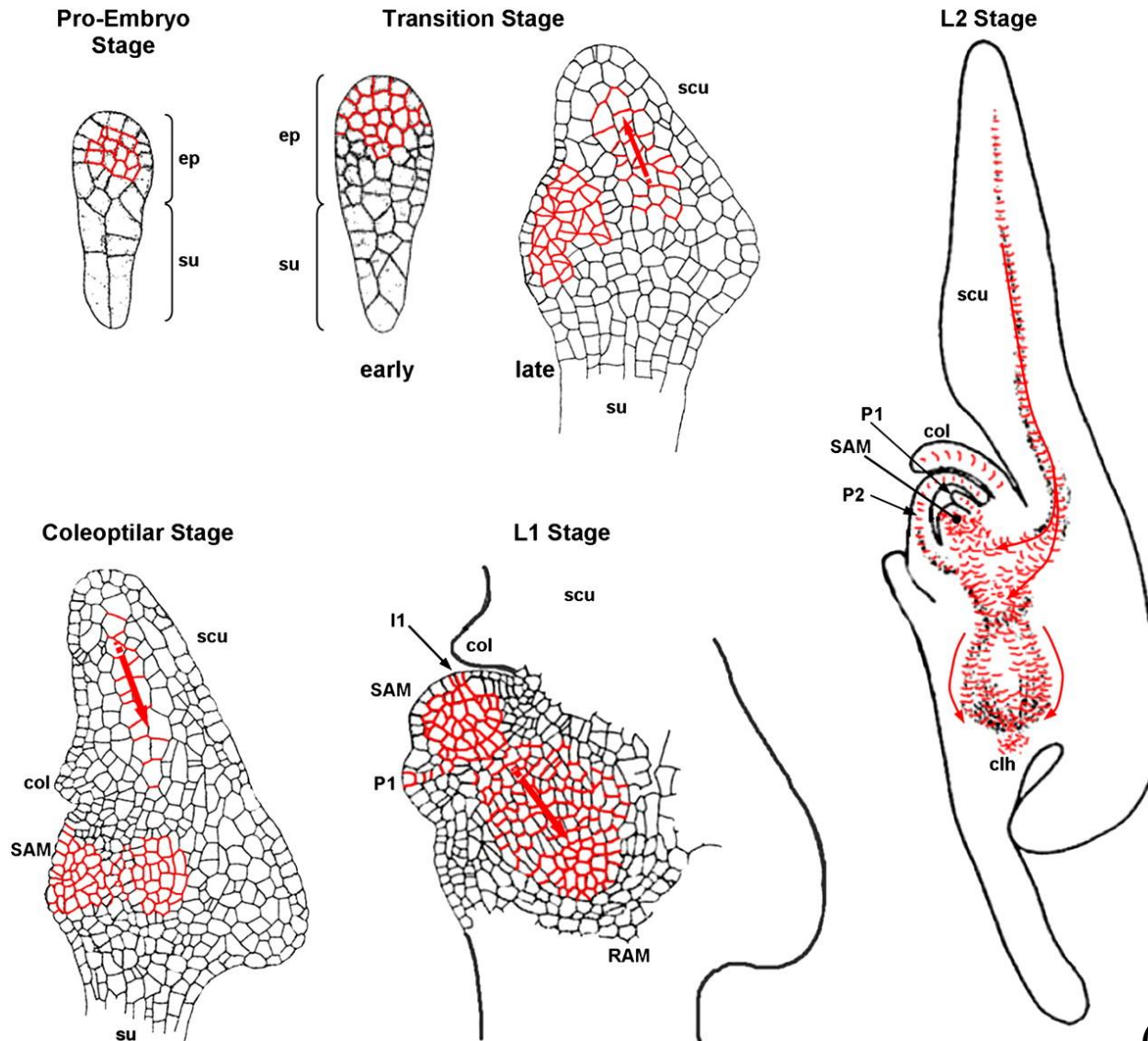


lokalizace PIN1 v embryu *Arabidopsis thaliana*



Transport auxinu - *Zea mays*

The localization of ZmPIN1 proteins in embryo plasma membrane is reported in red, and arrows indicate the polar auxin fluxes



Polární transport auxinu zajišťuje řada genů

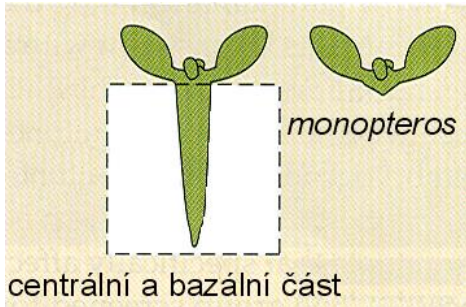
gen **MONOPTEROS**
gen **BODENLOS/IAA12**

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 - inaktivuje MP (ARF)
bdl mutant je necitlivý k auxinu

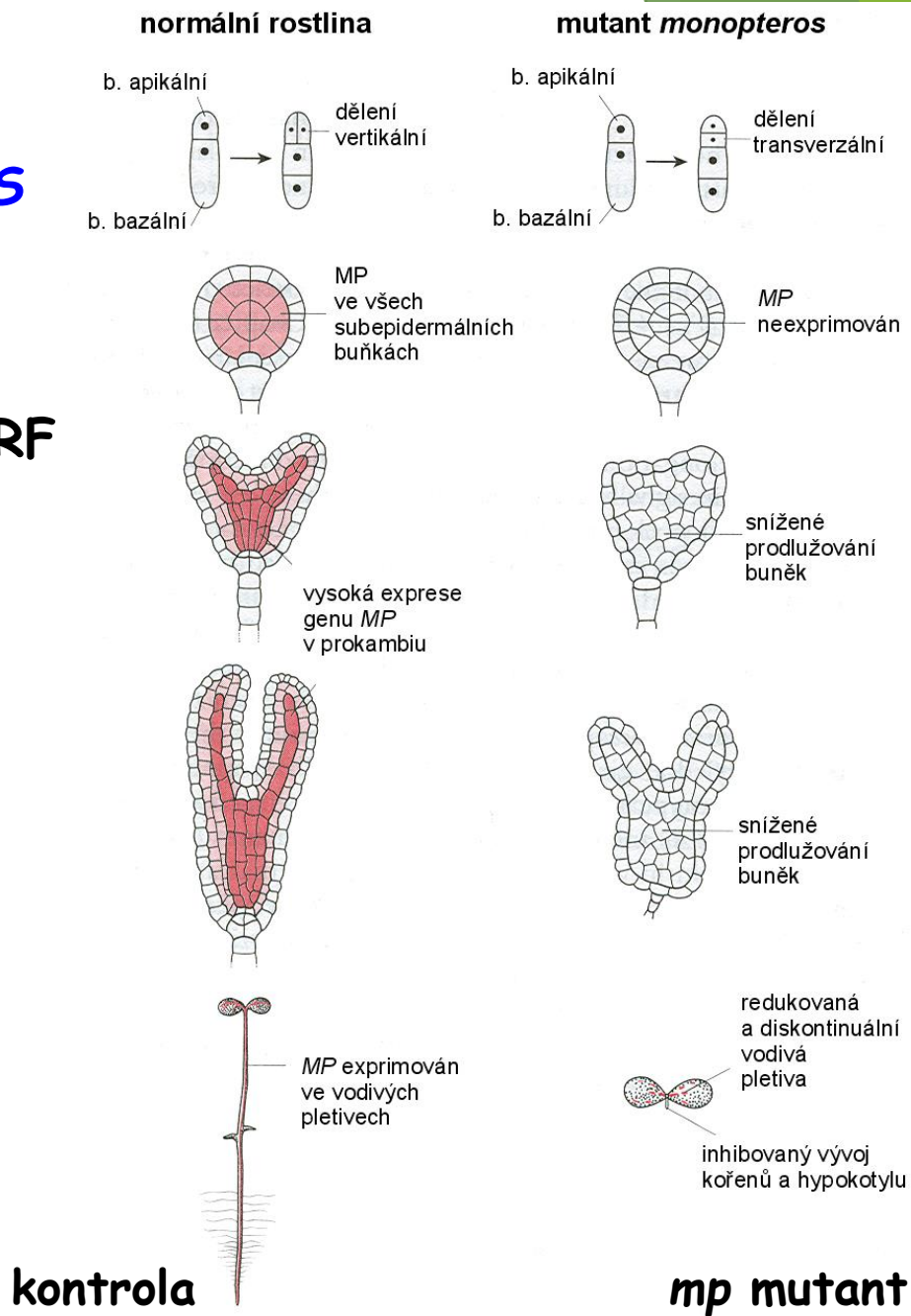


Herud et al. (2016): The MP-BDL module acts like an auxin-triggered genetic switch because MP activates its own expression as well as the expression of its inhibitor BDL



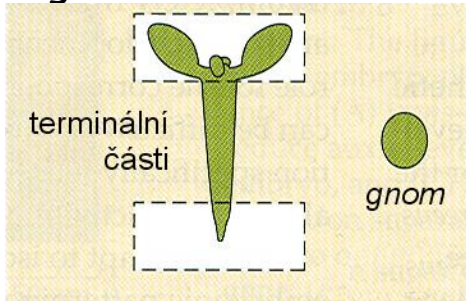
Exprese genu *MONOPTEROS* v embryích a v klíčcích rostlinách

kóduje transkripční faktor **ARF**



Polární transport auxinu zajišťuje řada genů

gen *GNOM/EMB30*



mutant *gnom* (z něm. trpaslík)
kóduje **ARF GEF**

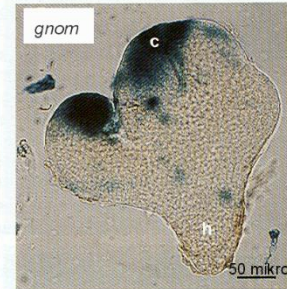
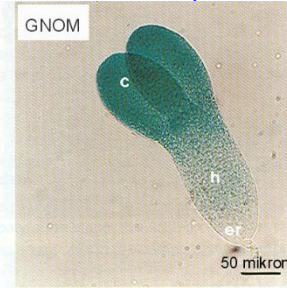
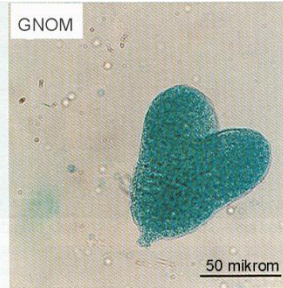
(**ADP-rybosilation factor GDP exchange factor**)

(ovlivňuje polární transport váčků nesoucích PIN do plazmatické membrány
mutace se projevuje již při prvním dělení zygoty - je **symetrické**
poruchy ukládání pektinů, adheze a komunikace buněk)

stádium globulární

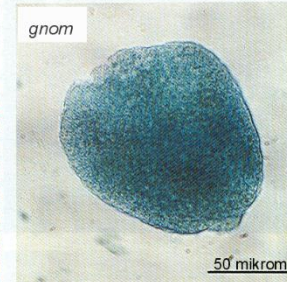
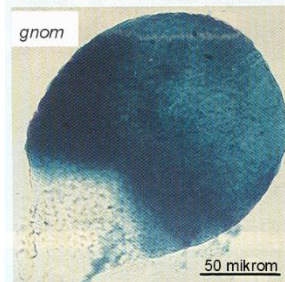
srdčité

dospělé



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

AtLPT1-GUS



Diferenciace a vývoj apikálního stonkového meristému

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

CUC1, CUC2, CUC3 (CUPSHAPED COTYLEDONS)

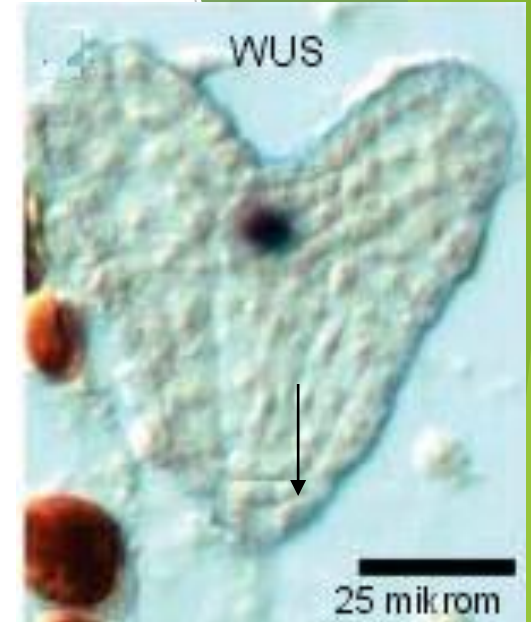
exprimují se od konce globulárního stádia
transkripční faktory skupiny NAC (60 aminokyselin)
 → exprese dalších genů, např. STM
 jsou reprimovány signálem auxinu

STM (SHOOTMERISTEMLESS) - skupina genů KNOX

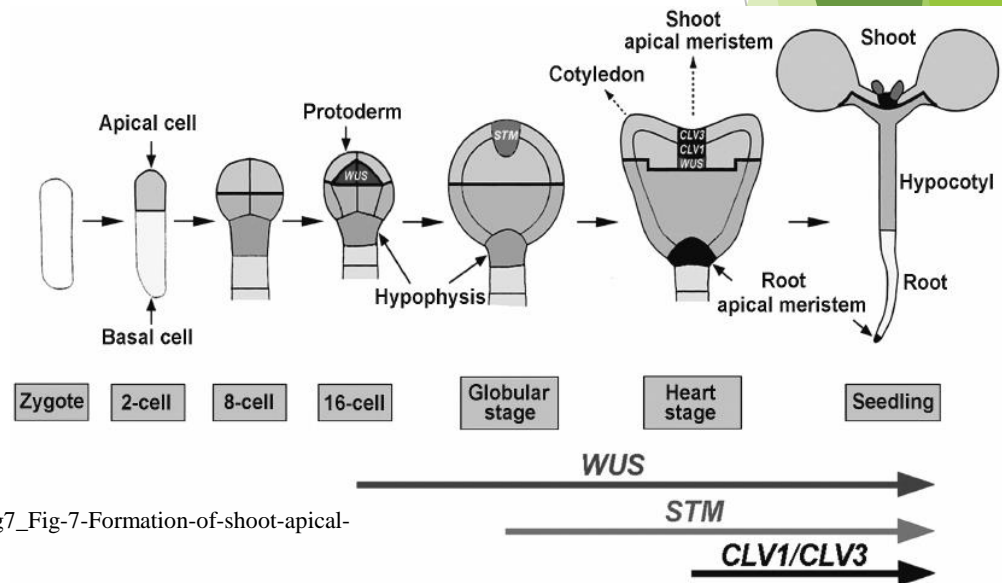
transkripční faktor s homeodoménu - u mutantů *cuc* se neexprimuje

CLV1, CLV2, CLV3 (CLAVATA)

CLV1 a CLV2 - **receptorová kináza**,
 CLV3 - **extracelulární signální protein**



Long J.A. et al: Science 312 (2006), 5779: 1520



https://www.researchgate.net/figure/270905237_fig7_Fig-7-Formation-of-shoot-apical-meristem-SAM-during-Arabidopsis-thaliana

Diferenciace kořene - nezbytný je polární transport auxinu

gen *HBT* (*HOBBIT*)

exprimuje se v dolní tetradě oktantu

kóduje složku ubikvitinové E3 ligázy typu APC

- u *hbt* mutantu *Arabidopsis* se nedělí hypofýza, je zvýšená hladina některých **Aux/IAA** proteinů

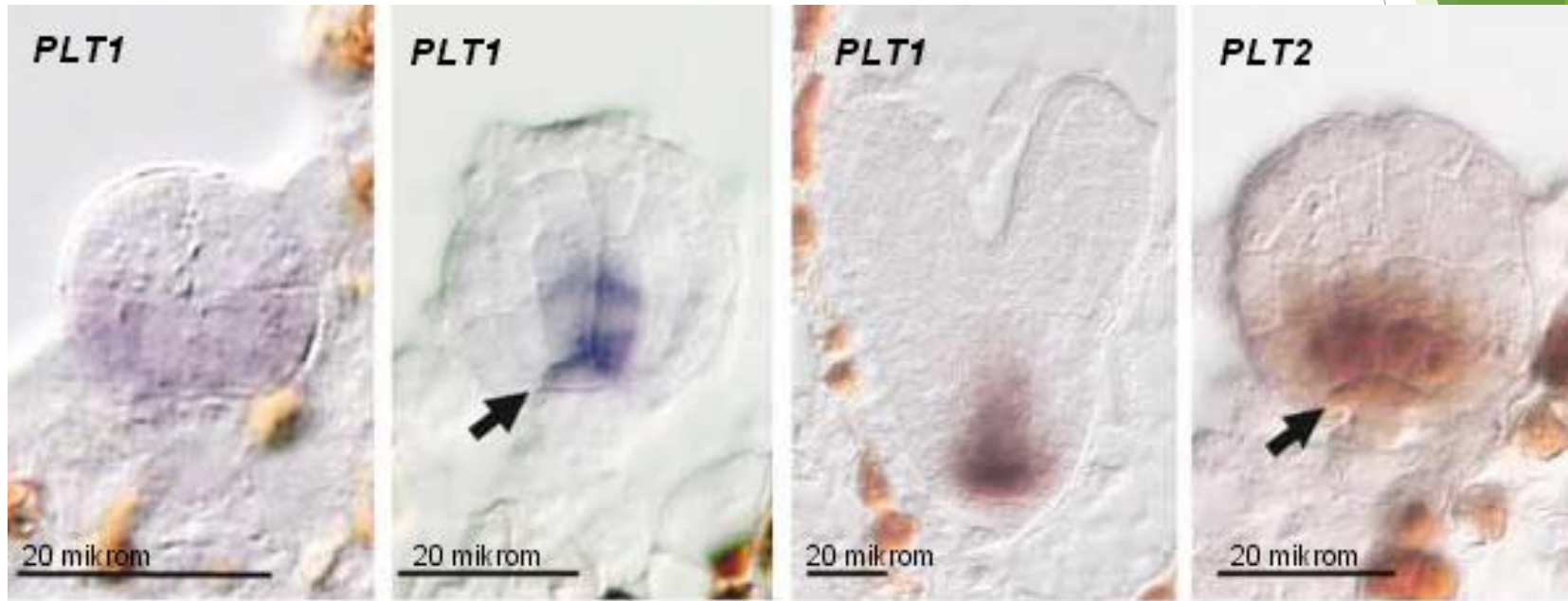
gen *MP* je epistatický k *HBT*

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

geny *PLT1*, *PLT2* (*PLETHORA*)

kódují transkripční faktory AP2/EREBP = ERF (etylén)

exprese v dolní tetradě oktantu, později v kořenovém pólu - interpretace signálu auxinu



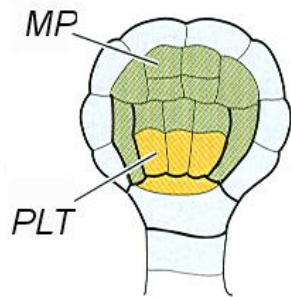
Diferenciace kořene - nezbytný je polární transport auxinu

SHR (*SHORT ROOT*)

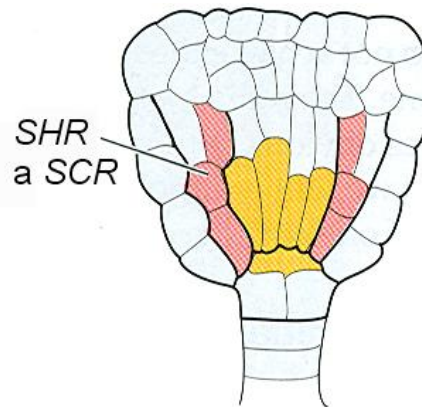
SCR (*SCARECROW*; strašák)

transkripční faktory

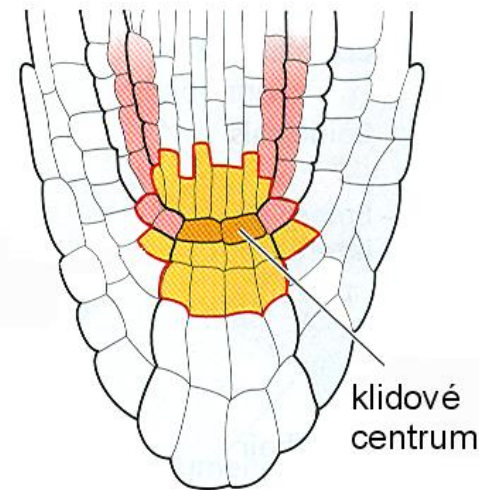
skupiny **GRAS** (skupina rostlinných proteinů důležitých v ontogenetic. vývoji rostlin)



exprese *MP* a *PLT*
závisí na IAA



PLT indukuje expresi
SHR a *SCR*



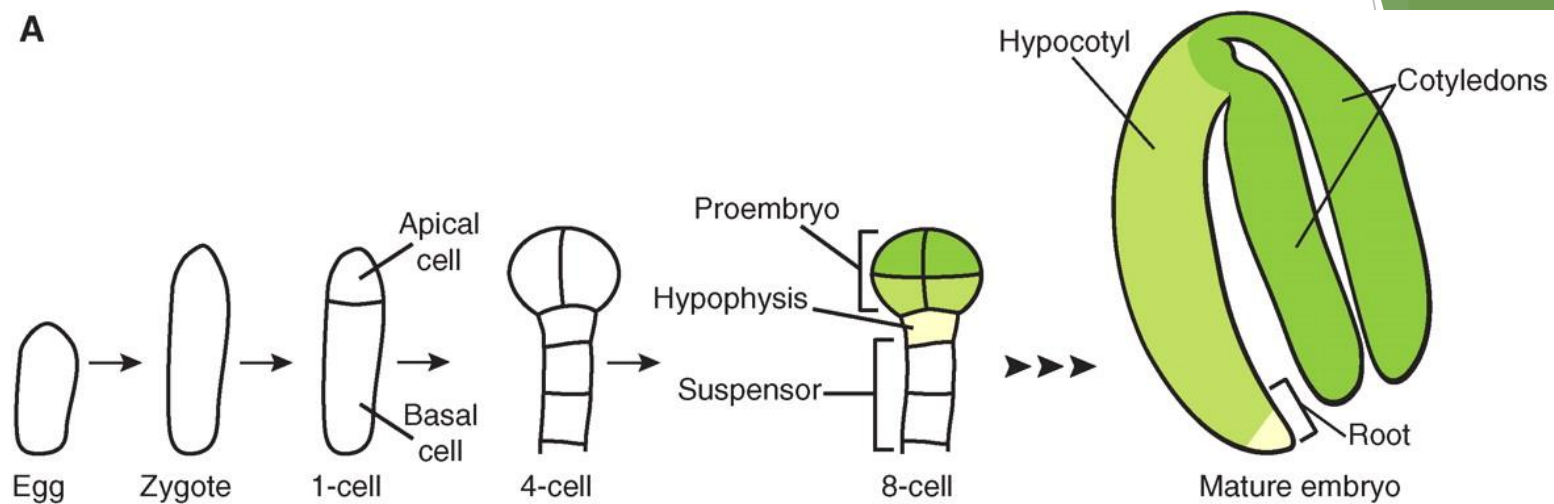
PLT, *SHR* a *SCR*
se exprimují v klidovém centru
a základu kolumely

diferenciace kořenové čepičky

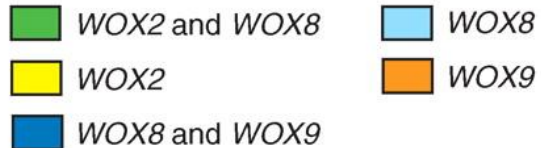
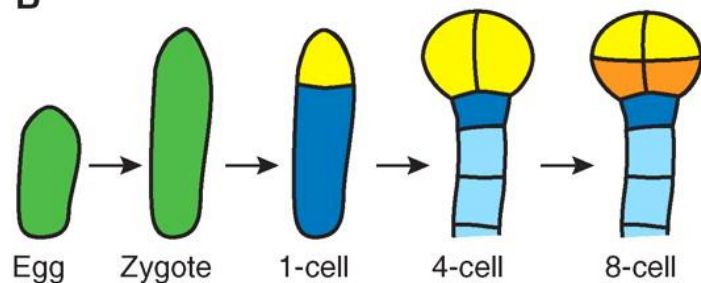
geny kódující **ARF10** a **ARF16**

- stimulovány **auxinem** a inhibovány **miRNA**

A



B



C

