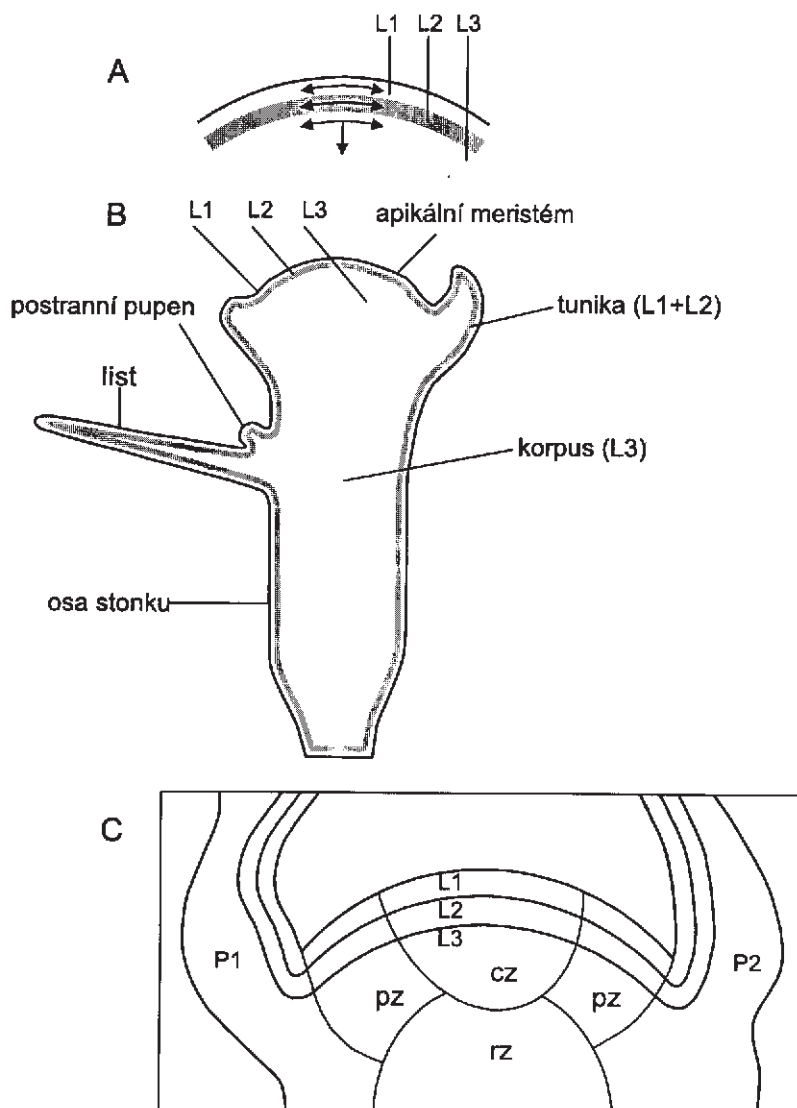


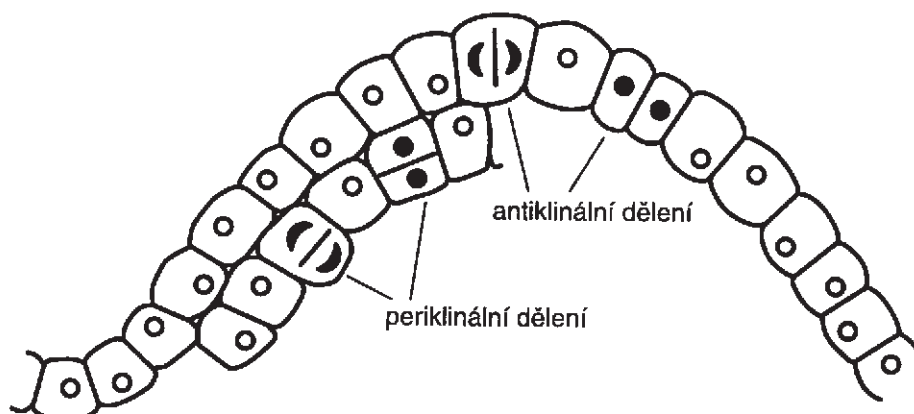
10.2.2.2 Vývoj vegetativních orgánů

Apikální meristem a vývoj stonku

Vývoj stonku začíná založením a diferenciací apikálního meristemu při embryogenezi. Apikální meristem krytosemenných je tvořen třemi vrstvami buněk, které lze rozlišit na základě jejich prostorové lokalice a způsobu, jakým se v nich buňky dělí (obr. 78). Vnější vrstva L1(layer) je charakterizována antiklinálním dělením buněk a je totožná s epidermis (obr. 79). Ve střední vrstvě L2 se buňky dělí antik-



Obr. 78. Vrstvy meristemu a vývojový osud buněčných populací. (A) V apikálním meristemu krytosemenných lze rozlišit tři buněčné vrstvy na základě jejich lokalizace a převažující orientace buněčných dělení. Vnější vrstva L1 tvořící epidermis se vyznačuje antiklinálním dělením paralelním s povrchem. Ve střední vrstvě L2 a zvláště ve vnitřní vrstvě L3 probíhá jak antiklinální, tak periklinální dělení. Toto uspořádání dovoluje na rostlinném organismu (B) rozlišit tzv. tuniku (L1 + L2 – periferní buněčné vrstvy) a korpus (L3 – centrální pletiva rostliny). Obrázek ukazuje, že velká část buněk dospělé rostliny pochází z buněčných dělení ve vrstvě L3. Vrstva L2 tvoří subepidermální pletiva včetně mezofylu v listech a kortexu stonků. (C) Detail apikálního meristemu s vyznačením jeho jednotlivých oblastí: centrální zóna (cz), periferní zóna (pz), P1 a P2 listová primordia. Centrální zóna je tvořena skupinou dělivých „zárodečných“ buněk, v periferní zóně se zakládají listová, případně květní primordia a žebrový meristem (rz) přispívá k růstu nadzemní části a k diferenciaci pletiv stonku.



Obr. 79. Schéma antiklinálního a periklinálního dělení buněk v apikálním meristemu.

linálně i periklinálně, ale antiklinální dělení převažuje. Tyto dvě buněčné vrstvy vytvářejí tuniku. Korpus je centrální komplex pletiv tvořených z vrstvy buněk L3, ve které dělení probíhá všemi směry. Většina buněk dospělé rostliny tak vzniká buněčných dělení vrstvy L3. Epidermis je tvořena výlučně vrstvou L1. Vrstva L2 obvykle vytváří subepidermální pletiva stonku a listu (mesofyl). Po přechodu do generativní fáze vznikají z této vrstvy nucellus a archespor – pletiva, která dávají vzniknout makro- a mikrosporám (viz Fáze generativní). Stavba stonku ve směru podélném má **modulární charakter** (viz vpředu). Postavení listů na stonku určuje **fylofaxe** (viz Vývoj listu).

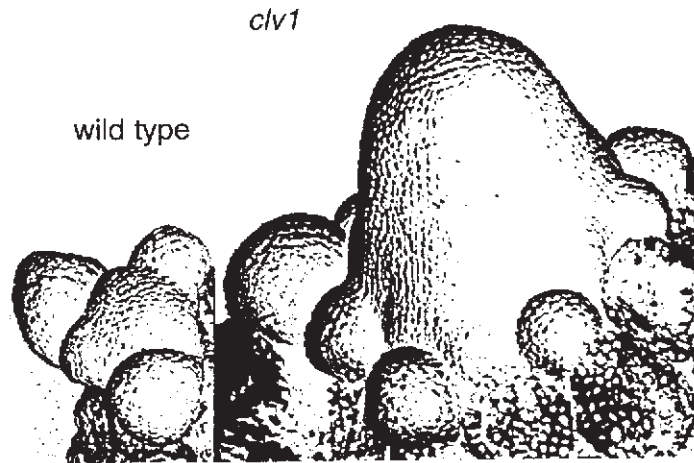
Apikální meristem jako sám sebe udržující rovnovážný systém

Apikální meristem plní své funkce v modulárním růstu rostlinného organismu díky následujícím základním vlastnostem:

1. Udržuje skupinu dělivých (zárodečných) buněk v centrální oblasti meristemu (cz – central zone, **obr. 78-C**).
2. Inicjuje pravidelnou diferenciaci buněk a tvorbu orgánů z potomstva buněk centrálního meristemu na jeho obvodu (pz – peripheral zone).
3. Udržuje dynamickou rovnováhu mezi těmito dvěma procesy.

Základy apikálního meristemu jsou položeny v rané (globulární) embryogenezi vytvořením skupiny buněk exprimujících gen **WUS** pod meristemem a gen **STM** v meristemu (viz Embryogeneze). Oba homeobox transkripční faktory pomáhají udržovat nediferencovaný (zárodečný) charakter buněk v centrální oblasti meristemu. Mutant *stm* nemá apikální meristem, na jeho místě jsou diferencované buňky. Důležitým aspektem regulační funkce STM je udržování nízké hladiny giberelinů v centru meristemu potlačováním jejich biosyntetických genů. Snížená aktivita giberelinů podporuje zárodečný charakter meristemů.

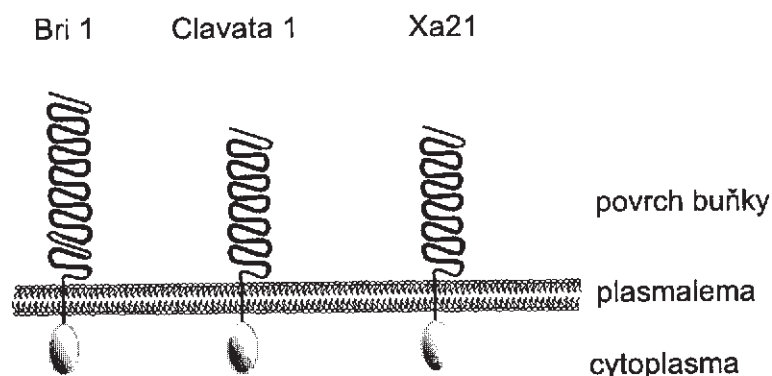
Později, v srdčitém stádiu embryogeneze je indukována exprese genů **CLV1, 2 a 3 (CLAVATA)**, které naopak stimulují přechod buněk meristemu do stadia diferenciaci a tvorby orgánů, tj. působí „proti“ STM a WUS a zajišťují tak rovnováhu zmíněnou v bodě 3. Mutanti CLV mají tedy mnohonásobně zvýšený počet nediferencovaných buněk v meristemu (**obr. 80**). Gen CLV1 kódující receptorovou Ser/Thr kinasu (**obr. 81**) je exprimován přímo v centru meristemu. CLV3 kódující difuzibilní peptid vážící se



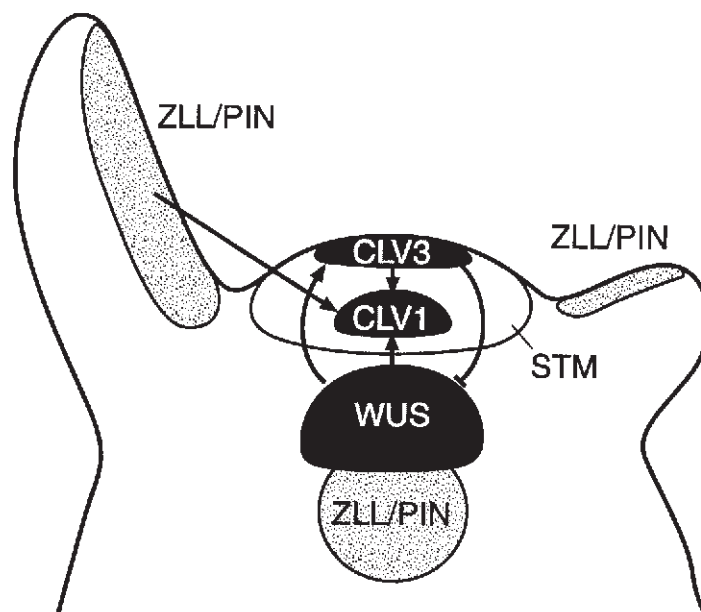
Obr. 80. Srovnání velikosti apikálního meristemu u WT *Arabidopsis* a mutanta *clv1*.

na extracelulární domenu CLV1 se exprimuje nad centrem meristemu pod epidermis (obr. 82). Peptid Clv3 odpovídá difuzibilním morfogenům z reakčně – difuzního modelu (viz výše). Optimální koncentrační spád Clv3 a jím aktivovaná signalizace Clv1 jsou parametry správné geometrie (včetně podílu zárodečných a diferencujících se buněk) apikálního meristemu. **Rovnováha nediferencovaných a diferencovaných buněk v meristemu je zajišťována negativní regulací genu WUS difundujícím peptidem kódovaným CLV3 (v interakci s CLV1 a 2), přičemž WUS pozitivně reguluje (je nutný pro) expresi všech genů CLV (viz Reakčně-difuzní model morfogeneze).**

Pro správné fungování apikálního meristemu během vegetativní (a generativní) vývojové fáze je vedle řady dalších bílkovinných faktorů v meristemu a jeho bezprostředním okolí nutná komunikace se zakládajícími listovými primordií. Důležitý je v tomto ohledu **gradient auxinu** (viz Apikální dominace), který vzniká činností specifických bílkovinných membránových přenašečů **Pin** odpovědných za polární transport auxinu. Důležitou úlohu zde mají také bílkovinné faktory odpovědné za správný vývoj listů. Takovým faktorem je také **specializovaný translační iniciační faktor Zwiller (ZLL)**, který působí krátce přímo v meristemu. Ten se, podobně jako příbuzný **Argonaut (AGO)**, podílí na vývojově regulovaném potlačení genové exprese některých TF prostřednictvím siRNA (viz. Regulace genové exprese).



Obr. 81. Struktura serin/threoninových receptorových kinas. Extracelulární doména interaguje v případě **Bri1** s brassinosteroidy (funguje jako receptor pro tuto třídu fytohormonů: viz Fytohormony – Brassinosteroidy, obr. 89), **Clv1** s peptidem Clv3 a **Xa21** s oligosacharidy z buněčných stěn fytopatogena *Xantomonas*. Po navázání ligandu je aktivována serin/threoninkinasová aktivita na cytoplasmatické doméně receptorové kinasy.



Obr. 82. Regulace centrální (zárodečné) a periferní (diferenciační) zony apikálního meristemu součinností aktivačních (WUS a STM) a inhibičních (CLV) bílkovinných faktorů. CLV3 kóduje nízkomolekulární peptid aktivující receptorovou kinasu Clv1 a zároveň inhibující aktivitu genu WUS, který je ovšem nutný k jeho vlastní expresi. Aktivita genu ZLL je nutná k „nastartování“ samoregulačního mechanismu apikálního meristemu před založením prvních pravých listů.

Vývoj listů

Listy se zakládají v apikálním meristemu v podobě listových primordií. V úžlabí těchto listových základů o něco později vznikají základy postranních pupenů. Poloha listových primordií na apikálním meristemu určuje budoucí postavení listů na stonku. Je to tzv. **fylotaxe**, která určuje i budoucí větvení stonku a průběh cévních svazků. Nejrozšířenější je fylotaxe spirálního typu. *Matematicky lze různé typy fylotaxe odvodit z tzv. Fibonacciovy řady (následný člen řady je součtem dvou předchozích členů) a modelovat pomocí reakčně difuzního modelu.*

Důležitým procesem spojeným s fylotaxí je tzv. **boční inhibice** (lateral inhibition) – založené listové primordium inhibuje zakládání dalších primordií ve svém okolí. Dominantním mechanismem této boční inhibice je akumulace IAA založeným listovým primordiím (velmi vydatným sinkem), takže v jeho okolí není dostatek IAA jako morfogenního signálu pro založení nového primordia.

Determinace listového primordia v sobě zahrnuje i budoucí symetrii listu (**obr. 82 a 83**). Adaxiální (blíže stonku – vrchní plocha listu) a abaxiální (dál od stonku – spodní plocha listu) diferenciace listu je odvozena od středo-periferního uspořádání apikálního meristemu – adaxiální strana primordia přímo sousedí s buňkami meristemu (**obr. 83**). Je známa řada bílkovin (transkripčních faktorů), které se podílejí na správném ustavení adaxiality/abaxiality listu. Narušení tohoto procesu má zpětně vliv na apikální meristem.

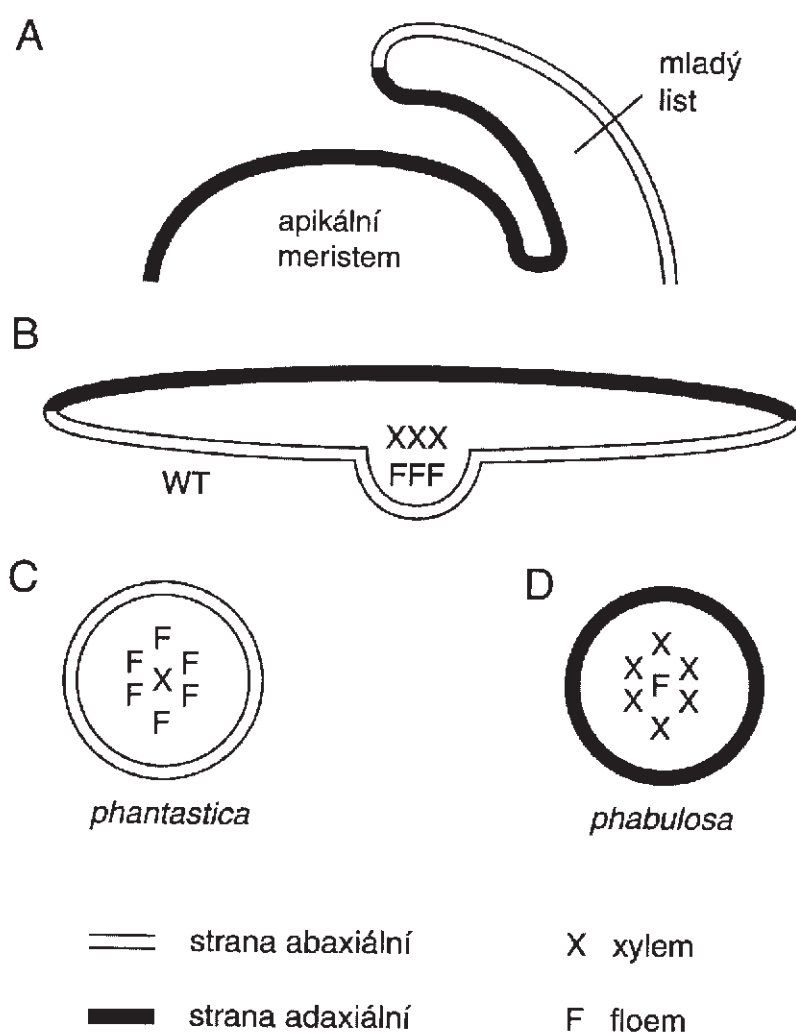
Vývoj kořenů

Stavba kořenového vrcholu se liší od stavby stonkového vrcholu, mimo jiné proto, že se na něm nezakládají postranní orgány (nepočítáme-li postranní kořeny). Ve vrcholu kořene je skupina nedělicích se buněk, zvaná **klidové centrum**, v jehož sousedství se buňky intenzivně dělí. **Klidové centrum udržuje zárodečný, dělivý (nediferencovaný) stav sousedních buněk meristemu:** Je-li jedna ze čtyř buněk tohoto centra u *Arabidopsis* zničena mikrochirurgickým laserem, buňky s ní sousedící se přestávají dělit a přecházejí do diferenciace. Lokalizace klidového centra je určována poziční informací, která zahrnu-

je domenu exprese TF Scr a oblast maximální koncentrace auxinu v blízkosti kořenové špičky. (Úloha transkripčního faktoru Scr – viz 10.1).

Dále od vrcholu kořene dělení buněk ustává, buňky se prodlužují, vakuolizují. Hranice mezi zónou dělení a zónou dloužení je u mnohých kořenů poměrně ostrá. Dceřinné buňky iniciál kořenového meristemu se již počínají diferencovat v budoucí cévní svazky, pericykl, endodermis, kortex a epidermis.

Postranní kořeny se zakládají v určité vzdálenosti od kořenové špičky. Většinou se zakládají v pericyklu a prorůstají kortexem a epidermis. **Kořenové vlásky** vznikají z buněk pokožky, tzv. trichoblastů, jejichž diferenciaci ovlivňuje u *Arabidopsis* ethylen (viz 11.3). Z fylogenetického hlediska se zdá, že výchozím (základním) stavem u většiny čeledí je tvorba kořenového vlášení z každé buňky rhizodermis. Potlačení tvorby vlášení u některých buněk rhizodermis, jako je tomu u *Arabidopsis*, je znak odvozený.



Obr. 83. Vývoj listu. **A** – schéma naznačující transformaci středo-periferního gradientu apikálního meristemu do adaxiální a abaxiální vývojové dráhy listu. **B** – Příčný průřez vyvinutým listem. Xylem je blíže adaxiální straně listu, floem abaxiální straně. **C** – U mutantu hledíku *phantastica* je potlačena vývojová dráha, mizí plochost listu, list je cylindrický a na povrchu krytý abaxiální epidermis. Tomu odpovídá i uspořádání vodivých pletiv. **D** – U mutantu *phabulosa* je v celém listovém primordiu ektopicky aktivována adaxiální vývojová dráha. Mutant má ve srovnání s *phantastica* uspořádání pletiv opačné.

Adventivní kořeny vznikají na nadzemních částech rostliny i na podzemních stoncích dělením buněk na vnějším okraji lýka, v dřevných paprscích (v mezisvazkovém parenchymu) nebo v kůře.

Vývoj hlíz

Hlízy vznikají morfogenetickým procesem, kterým se kořen nebo podzemní část stonku (oddenek) přeměňuje v zásobní orgán. Příkladem oddenkové hlízy je brambor. Tvorba hlíz u některých druhů rostlin je regulována fotoperiodicky, podobně jako fotoperiodicky regulované kvetení. Fotoperiodický signál je přijímán listy, odkud je přenášen do míst – většinou v podzemních orgánech – kde vyvolává morfogenní reakci. Na regulaci tuberizace se podílejí různé fytohormony včetně kyseliny jasmonové.

10.2.2.3 Vegetativní rozmnožování rostlin

Vegetativní rozmnožování je jednou z typických vlastností, kterou se rostliny liší od živočichů. Nejrozmanitějších forem dosahuje u vyšších, zvláště kvetoucích rostlin. **V přírodě** se rostliny vegetativně množí mj. šlahouny, rhizomy, odnožemi, hlízami a cibulkami **V praxi** jsou množeny také zakořeňováním osních a listových řízků, roubováním a očkování, nebo mikropropagací (viz kap. 12).

Vegetativní množení rostlin má **velký biologický význam**. Schopnost krytosemenných rostlin intenzivně se množit vegetativně byla významná v konkurenci s nahosemennými, které se rozmnožují jen semeny. V mnohých případech je vegetativní rozmnožování jediným způsobem reprodukce, zajišťujícím rozšiřování a uchování druhu.

Některé rostliny se specializovanými orgány vegetativního rozmnožování mají sníženou schopnost množit se semeny. Jejich rozmnožovací orgány mají i funkci zásobárny živin.

Mezi vývojem specializovaných orgánů vegetativního a pohlavního rozmnožování je určitá analogie. Orgány obou typů se v mnoha případech tvoří na podnět indukčního signálu přijímaného listy a předávaného v podobě chemických stimulů odpovídajícím částem rostliny.

10.2.3 Etapa generativní

Přechod rostlin do stavu generativního a vývoj květů

V apikálním meristemu dochází po určité době vegetativního vývoje k přepnutí vegetativního programu v program generativní. Toto přepnutí je často vyvoláno tepelnými a (nebo) světelnými signály prostředí. Vývoj meristemu začíná směřovat k tvorbě květů. Pro monokarpické rostliny (ty, které za život kvetou a plodí jen jednou) je tento nový morfogenetický program začátkem cesty, která končí tvorbou plodů a zánikem rostliny.

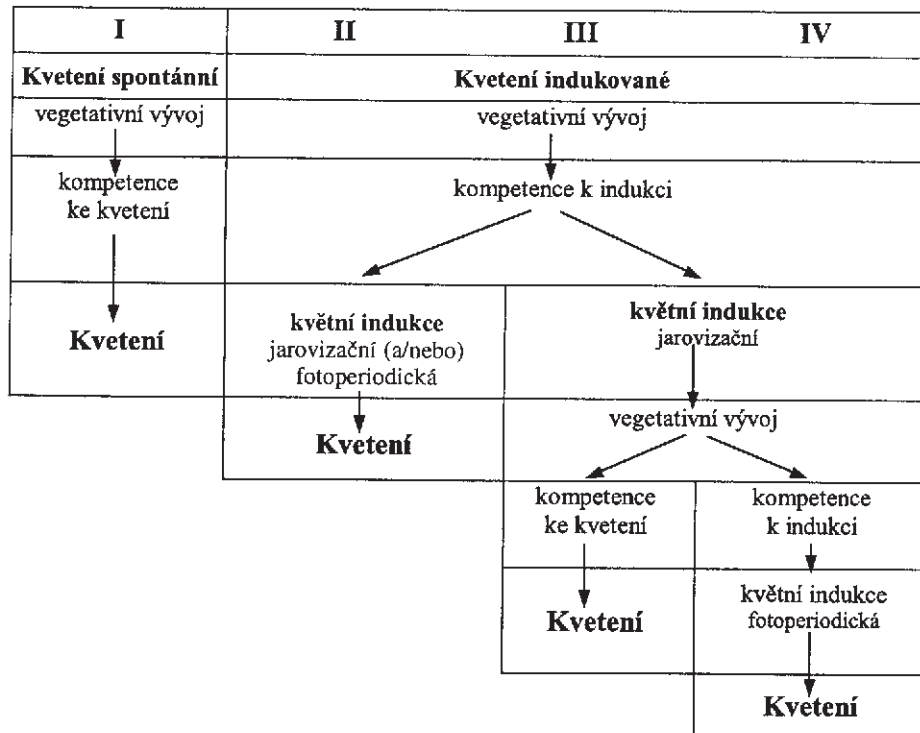
Proces přechodu rostlin ze stavu vegetativního do stavu generativního, zakončený tvorbou květů, probíhá buď spontánně, nebo je indukován faktory vnějšího prostředí. Můžeme jej rozčlenit do několika následujících etap (tab. 6):

1. **Dosažení zralosti (kompetence):**
 - a) ke kvetení,
 - b) ke květní indukci

Různé druhy rostlin dosahují těchto stavů různě rychle: během jednoho, dvou, nebo více let. Teprve pak může u nich nastat kvetení nebo květní indukce a poté kvetení.

2. **Květní indukce.** Vyvolána je jarovizací nebo fotoperiodickým signálem nebo kombinací obou. Spočívá v trvalé změně dosud málo známého molekulárního mechanismu ve vegetačním vrcholu. Přetrvávání této změny i přes mnoho generací buněk vegetačního vrcholu (a po dlouhou dobu, která může uběhnout např. od jarovizace ve stadiu klíčící rostliny až do vykvetení), má charakter paměti.

Tab. 6. Vývojové cesty (I–IV) a jejich etapy, vedoucí ze stavu vegetativního ke kvetení.



- 3. Realizace generativního programu.** Je to sled morfogenetických změn, které můžeme rozčlenit do dvou etap: A – **evokace**, tj. přechod vegetativního meristemu v meristem květu nebo květenství na úrovni molekulární, B – **květní morfogeneze**, tj. tvorba květních orgánů.
- 4. Funkční fáze.** Květní orgány dosahují plné diferenciace. Reproductivní orgány dozrávají a dochází k opylení a oplození.

10.2.3.1 Květní indukce

A – Jarovizace a její epigenetický vliv na genovou expresi

Jarovizace je dlouhodobé působení nízkých teplot (obvykle mezi 4 až 15 °C, jen výjimečně pod bodem mrazu) vyvolávající nebo umožňující u některých rostlin přechod ze stavu vegetativního do generativního (tab. 6). Projevuje se dvojným způsobem: (1) jako hlavní nebo i jediný indukční faktor kvetení, nebo (2) častěji jen tak, že podmiňuje či zvyšuje citlivost rostlin k fotoperiodickému signálu. V prvním případě se diferencují květní orgány již v průběhu působení nízkých teplot (např. u zelí). Na nízké teploty reagují u některých druhů (např. u ozimých obilovin a *Arabidopsis*) již klíčící semena. (To má velký význam pro zemědělskou praxi, neboť obilky ozimých obilovin je možné jarovizovat uměle a vysévat až zjara.) U jiných druhů mohou být jarovizovány pouze mladé rostliny po vytvoření určitého počtu listů nebo zásobních orgánů, např. hlíz a cibulí. Receptorem jarovizačního impulsu je apikální meristem i embryo na mateřské rostlině. Podmínkou pro přijetí tohoto impulsu je přítomnost dělicích se buněk.

Studiem jarovizačních mutantů *Arabidopsis* bylo zjištěno, že mechanismus jarovizace spočívá v epigenetických změnách stavu **methylace DNA a konformace chromatinu** (viz Struktura a funkce rostlinné buňky) působením nízkých teplot: **demethylace a uvolnění represorových bílkovin chromatinu** umožňuje expresi původně neaktivních genů. Genová exprese centrálního negativního regulátoru přechodu do generativní fáze, genu **FLC** (viz dále), je během jarovizace inhibována aktivací genu **VRN2** (vernalization), takže dochází k potlačení jeho inhibičního působení na přechod do kvetení. Lokus **VRN2** kóduje chromatinovou bílkovinu z rodiny Polycomb. (Tyto bílkoviny vytvářejí stabilní

komplexy vázané na DNA a tak potlačují genovou expresi.) Represe FLC stimuluje aktivaci genů určujících identitu generativního meristemu – mezi nimi především **LEAFY** (viz dále).

B – Fotoperiodická indukce kvetení

Druhým faktorem prostředí, podílejícím se na indukci kvetení, je světlo (viz Faktory → Světlo jako faktor signální). V mnoha případech není důležitá jeho intenzita, ale délka dne a noci, tedy fotoperioda. Z tohoto hlediska dělíme rostliny na fotoperiodicky citlivé a fotoperiodicky neutrální. Fotoperiodicky citlivé pak na krátkodenní a dlouhodenní. Tato klasifikace platí pro kvetení a nemusí nutně platit pro jiné procesy probíhající v těže rostlině. Např. brambor je z hlediska kvetení dlouhodenní, ale ve tvorbě hlíz krátkodenní.

Rostliny fotoperiodicky neutrální kvetou nezávisle na délce dne. Jejich kvetení závisí především na jejich stáří, výživě a teplotě.

Rostliny fotoperiodicky citlivé

– **krátkodenní**: Jejich kvetení je indukováno fotoperiodou kratší než je kritická délka dne.

– **dlouhodenní**: Jejich kvetení je indukováno fotoperiodou delší než je kritická délka dne.

Krátkodennost a dlouhodennost se tedy vztahují ke kritické délce dne, která je obvykle 10–14 hodin (viz Fotoperiodismus).

Příjem a transport fotoperiodického květního signálu

Receptorem fotoperiodického signálu kvetení jsou listy a v nich především fytochromový systém. Světelný signál, přijatý aktivní formou fytochromu, je předán časovacímu mechanismu (viz Biorytmy) a přeměněn v signál biochemický. Funkční biologické hodiny jsou nutnou podmínkou vnímání fotoperiodického signálu (viz Biorytmy). Biochemický signál je z listů transportován do apikálního meristemu, kde indukuje proces vedoucí ke kvetení. Nepřímým důkazem existence specifického florigenního (květního) stimulu je možnost vyvolat kvetení rostlin v neindukčních podmínkách naroubováním indukovaného listu nebo lodyžního roubu s listy. Květní hormon (florigen) byl předpovězen již v r. 1936, ale identifikovat se jej dosud nepodařilo.

Primární účinek fotoperiodického květního signálu ve vegetačním vrcholu

Působením florigenního (kvetení indukujícího) stimulu, transportovaného z listů, dochází v meristemu ke změně neznámého molekulárního mechanismu. Tato změna je spojena s novým diferenačním programem meristemických buněk, ale morfologicky se ještě neprojevuje.

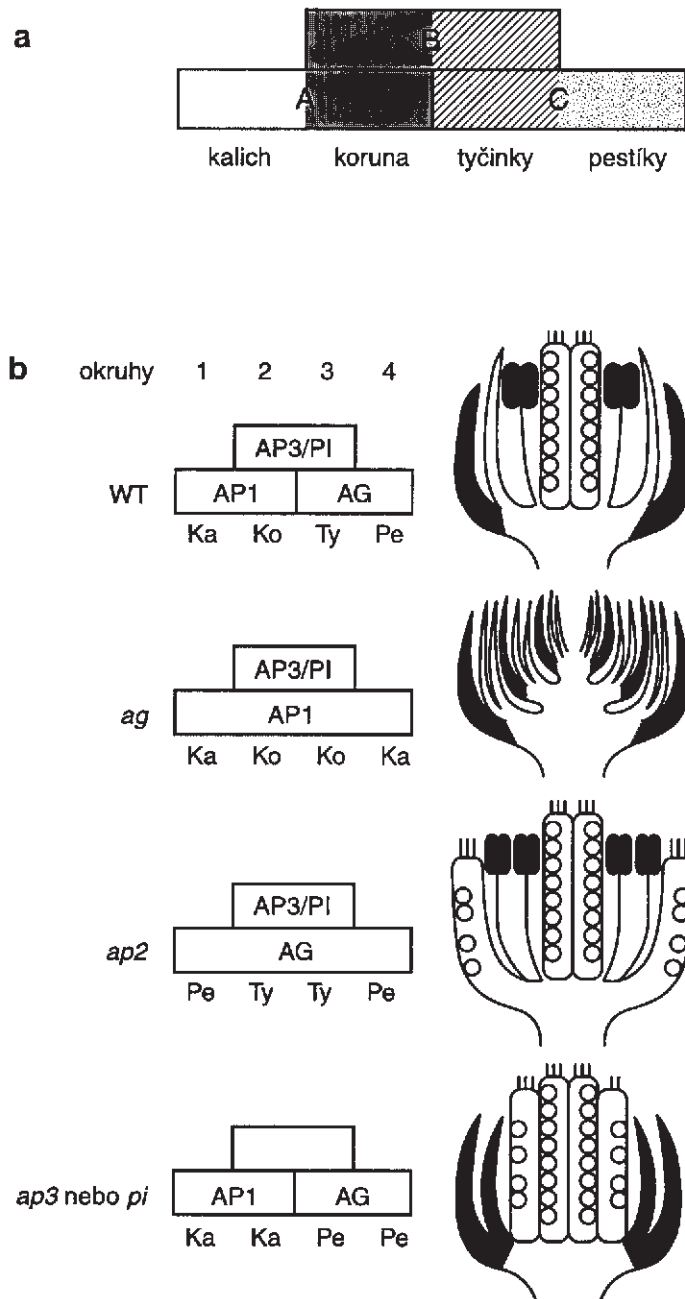
Roubovacími pokusy u některých druhů rostlin bylo prokázáno, že udržení generativního stavu apikálního meristemu vyžaduje stálý přísun indukčního signálu z listů. Po naroubování na nekvetoucí podnož se apikální meristem vrací do vegetativní fáze.



Obr. 84. Vliv fotoperiodických režimů na kvetení krátkodenních (KD) a dlouhodenních (DD) rostlin.

Počet indukčních cyklů

Pro fotoperiodický požadavek krátkodenních a dlouhodenních rostlin je charakteristická nejen délka dne, ale i počet indukčních cyklů (indukční cyklus je jedna světelná a jedna temnostní perioda). U některých druhů stačí k vyvolání tvorby květů jeden indukční cyklus, zatímco u jiných druhů je zapotřebí značný počet cyklů nebo trvalý fotoperiodický režim.



Obr. 85. (a) Zjednodušený model určení identity květních orgánů krytosemenných rostlin. Model předpokládá, že na určení identity květních orgánů se podílejí tři funkce (tvořené kombinací bílkovinných faktorů) A, B a C. V místě, kde působí samotná funkce A, se tvoří kalich, v oblasti překryvu funkcí A a B vzniká koruna, v překryvu funkcí B a C tyčinky a v místě samotné funkce C pestíky. K vytvoření tohoto modelu vedlo studium homeotických mutantů. **(b)** Příklady některých genů tvořících funkce A, B a C a příslušné mutantní homeotické fenotypy u *Arabidopsis* jsou znázorněny schématicky na průřezu květu.

Důležitost temnotní periody

Kritické fotoperiodě odpovídá kritická délka noci (viz Fotoperiodismus). Přerušíme-li výrazně krátkodenní rostlině dlouhou noc krátkým osvětlením, nevykvetě. Naopak, přerušíme-li mnohým dlouhodobým rostlinám dlouhou noc, vyvoláme jejich vykvetení. Přerušeni fotoperiody krátkou tmou zásadní změnu kvetení nevyvolá. Je tedy zřejmé, že rozhodující je délka nepřerušované tmy, nikoliv světla (**obr. 84**).

Kvalitativní a kvantitativní fotoperiodické požadavky

Některé fotoperiodicky citlivé rostliny je možné za neindukčních podmínek udržovat ve vegetativním stavu po téměř neomezenou dobu. Fotoperiodický požadavek takových rostlin označujeme jako kvalitativní (nebo absolutní). V jiných případech nemusí být fotoperioda pro kvetení limitující, jen je urychluje nebo zvyšuje počet květů. Takový požadavek označujeme jako kvantitativní. Hranici mezi absolutním a kvantitativním fotoperiodickým požadavkem lze stanovit jen za přesně vymezených pokusných podmínek, neboť fotoperiodické požadavky rostlin se mění v závislosti na jejich stáří, na teplotě, ozáření a dalších činitelích.

Zastoupení fotoperiodických typů

Odhaduje se, že asi 80 % české květeny jsou druhy fotoperiodicky citlivé, v naprosté většině dlouhodobní. Krátkodennost se často vyskytuje u introdukovaných druhů, jakými jsou kukuřice a soja.

Kvetení dřevin

U velké většiny dřevin se jarovizace ani fotoperiodická indukce kvetení neuplatňují. Juvenilní období je u dřevin dlouhé. U dubu trvá 40–60 let, u břízy 25–30 let, u borovice 5–10 let. U mnohých dřevin se květy vyvíjejí z květních pupenů, které byly založeny již v létě předchozího roku, jak je tomu u jabloň, broskvoně i u lesních a okrasných dřevin.

Příklady rostlin dlouhodobních, krátkodenních a fotoperiodicky neutrálních:

<u>Dlouhodobní</u>	<u>Krátkodenní</u>	<u>Neutrální</u>
<i>Allium cepa</i>	<i>Cannabis sativa</i>	většina dřevin
<i>Arabidopsis thaliana</i>	<i>Glycine max</i>	<i>Lycopersicum esculentum</i>
<i>Avena sativa</i>	<i>Chrysanthemum sinensis</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>

Poznámka: Některé rostlinné druhy zahrnují variety, jejichž fotoperiodická závislost je rozdílná.

10.2.3.2 Molekulárně genetická analýza přechodu z vegetativní do generativní fáze u *Arabidopsis thaliana*

Je vnitřní determinace ke kvetení obecný metabolický stav, či se tohoto procesu účastní velmi specializované geny a jejich produkty? Bylo zjištěno, že během počátečních fází kvetení se v apikálním meristemu hromadí specifický soubor mRNA. Bez dalších funkčních analýz je ovšem těžké rozhodnout, zda se takto zjištěné změny v genové expresi přímo účastní procesu kvetení. První důkazy, že tomu tak je, byly získány studiem tzv. **heterochronních mutantů *Arabidopsis***. Tito mutanti se vyznačují předčasným či zpožděným kvetením a poruchami cirkadiálních rytmů (viz Biorytmy).

Analýzy ukazují, že přechod do kvetení je u *Arabidopsis* (a více méně podobně u některých dalších krytosemenných rostlin) ovlivňován **čtyřmi částečně nezávislými signálními drahami**. První dvě jsou rázu vnitřního (vlastní vývojový program rostliny) a druhé dvě odpovídají na signály z prostředí. Všechny tyto dráhy (mechanismy) ovšem navzájem komunikují a projevují synergii v konečné aktivaci genů určujících charakter apikálního meristemu. Mezi těmito geny má důležitou funkci transkripční faktor **LEAFY (LFY)** (viz dále):

- 1) **Autonomní dráha** – přechod do kvetení je možný po dosažení určitého stáří (vývojového stupně) rostliny. Autonomní dráha, podobně jako jarovizace, vede přes MADS-box transkripční faktor FLC (flowering locus C, MADS-box viz Tvorba květních orgánů), který svojí aktivitou blokuje přechod do generativní fáze. Bílkoviny působící v autonomní dráze blokují expresi FLC mRNA a snižují tak postupně inhibiční působení FLC na přechod do kvetení a ve svém důsledku umožňují aktivaci genu *Leafy*.
- 2) **Dráha závislá na giberelinech** se uplatňuje v podmínkách krátkého dne (pro *Arabidopsis* neindukčních), kdy gibereliny mají schopnost podporovat kvetení **aktivací Leafy** a dalších genů udržujících identitu generativního apikálního meristemu.
- 3) **Jarovizační mechanismus** viz výše.
- 4) **Fotoperiodická indukce** je závislá na fotoreceptorech červeného (fytochromy) i modrého (kryptochromy) světla a také na chodu cirkadiálních biologických hodin (viz Biorytmy). Tato dráha nevede přes FLC. Je popsána řada bílkovin, jejichž mutace narušují výše zmíněné procesy. Centrální postavení v této dráze má transkripční faktor typu Zn (zinkových) prstů CO (constans), který pozitivně ovlivňuje expresi genu LFY. Bílkovina Lfy představuje nový typ transkripčního faktoru, který se podílí na stimulaci exprese dalších genů účastnících se kvetení a tvorby květu (např. AP1 a 2 viz dále). Je dominantním faktorem udržujícím identitu květního meristemu.

Při integraci těchto signálních drah se uplatňuje jeden z obecných molekulárních principů vývojové biologie – integrace signálních drah na úrovni promotoru jednoho klíčového genu/regulátoru. Signalizace z nezávislých zdrojů aktivuje několik různých transkripčních faktorů, které se ovšem vážou do různých elementů cis-DNA téhož promotoru a synergicky aktivují či reprimují genovou expresi (nebo se „přetlačují“).

Geny určující čas kvetení byly již identifikovány u mnoha druhů rostlin. Např. cDNA izolovaná z nezralých květů rýže kódující bílkovinu patřící do skupiny MADS-box transkripčních faktorů (*OsMADS1*) byla ektopicky exprimována v tabáku a působila časnější nástup kvetení. Dramatického vývojového zvratu bylo dosaženo u transgenních rostlin topolu expresí nadbytku bílkoviny kódované genem LFY (*leafy*) z *Arabidopsis*. Na rozdíl od kontrolních rostlin kvetoucích ve stáří několika let začaly transgenní topoly kvést jako byliny po několika měsících.

Geny ovlivňující dobu kvetení nejsou významné jen pro základní výzkum – velmi důležité mohou být i pro zemědělskou praxi. Lze si například představit transgenní obilniny se zkrácenou vegetační dobou, která jim umožní dozrát v nepříznivých podmínkách. Naopak výnos některých kultivarů může být zvýšen tím, že kvetení nastoupí později.

10.2.3.3 Realizace generativního programu

A – Evokace

Evokace je první fází realizace generativního vývojového programu, který se posléze projevuje na morfologické úrovni a spočívá v přeměně vegetativního meristemu v meristem květu nebo květenství. Uplatňuje se při tom diferenciální genová exprese, zajišťující syntézu bílkovin specifických pro generativní meristemy.

B – Morfogeneze květů

Květní morfogeneze začíná přeměnou nedeterminovaného vegetativního vrcholového meristemu (který byl až dosud schopný neomezeně růst a produkovat listy, nody a internodia) v determinovaný meristem – základ květu nebo květenství. Tato přeměna začíná zesílením mitotické aktivity celého vrcholového meristemu. Meristem se zvětšuje a mění svůj tvar. Zrychluje se zakládání listů a pupenů a poté se v rychlém sledu zakládají květní orgány.

a – Interakce mezi homeotickými geny, katastrálními geny a geny určujícími identitu meristemu
I když podmínky vnějšího prostředí u většiny rostlin silně ovlivňují přechod do generativní fáze, mají jen malý vliv na vlastní proces tvorby květních orgánů. Tvorbu květů řídí druhově specifické geneticky podmíněné vývojové programy. Podobně jako v případě genů spoluurčujících nástup kvetení, byla i zde získána řada mutantů (s narušenou tvorbou květů) umožňujících lépe pochopit biologickou podstatu tohoto procesu. Bylo možné je rozlišit do dvou skupin:

- a) **meristemoví mutantí** – nevytvářejí vůbec květy (např. *leafy*)
- b) **orgánoví mutantí** – mají změněnou polohu, tvar a počet květních částí

Pro poznání genů účastnících se regulace tvorby květů bylo využito především dvou modelových rostlin: *Antirrhinum majus* (hledík) a *Arabidopsis thaliana* (huseníček). Přes mnohé rozdíly mají oba tyto druhy příslušející rozdílným čeledím v zásadě obdobné uspořádání květů, které do značné míry platí pro většinu dvouděložných rostlin.

Květ dvouděložných se nejčastěji skládá ze čtyř okruhů květních orgánů anglicky **whorls** (W věnec) – kališních lístků (W1), korunních plátků (W2), tyčinek (W3) a pestíků (W4). Byla popsána řada mutantů se změněným vývojem květních orgánů. Některé z nich (např. plnokvěté kultivary) mají velký význam v okrasném zahradnictví.

Podobně jako u rodu *Drosophila* i zde jde často o tzv. **homeotické mutanty** – to znamená, že na místě určitých orgánů se zakládají jiné, které patří v celku těla jinam (např. u mutantu *antennapedia* rodu *Drosophila* vznikají místo tykadel nohy). U většiny květních homeotických mutantů jsou mutací postiženy dva sousední okruhy, což vedlo k předpokladu, že existují **tři funkce genů určujících typ květních orgánů – A, B a C (obr. 85)**. Funkce A řídí tvorbu kalichu a koruny (W1 a W2), funkce B řídí tvorbu koruny a tyčinek (W2 a W3), funkce C řídí tvorbu tyčinek a pestíku (W3 a W4).

Ztráta funkce A vede ke tvorbě pestíků místo kališních lístků (W1) a tyčinek místo korunních plátků (W2). U *Arabidopsis* tomu tak je u mutantů *apetala 1 (ap1)* a *apetala 2 (ap2)*. Podrobná analýza exprese **AP2** však ukázala, že tento gen je **exprimován v celém květním meristemu** a potlačuje expresi genu **AGAMOUS**.

Poškození funkce B vede k záměně korunních plátků (W2) kališními lístky (W1) a tyčinek (W3) pestíky (W4); tuto třídu reprezentují mutantí *Arabidopsis apetala 3 (ap3)* a *pistillata (pi)*. Funkce těchto genů je negativně regulována katastrálním genem **SUP (SUPERMAN)**, viz dále).

Chybí-li funkce C, tvoří se místo tyčinek (W3) korunní plátky a místo pestíků (W4) kališní lístky a uvnitř květu se zakládají další květy. Funkční **MADS box TF Agamous** (viz dále) totiž zastavuje expresi regulátoru zárodečnosti a tím nedeterminovanosti meristemu **Wuschel** (viz meristem). Je tomu tak u mutantu zvaného **agamous (ag, obr. 85)**.

Genetická analýza dvojitéch mutantů naznačila, že funkce genů B je nezávislá na aktivitě genů reprezentujících funkce A a C. To však neplatí pro vzájemný vztah funkcí A a C. Mutanti s potlačenou funkcí C vykazují zesílenou funkci A a naopak – to znamená, že **funkce A a C se navzájem vylučují**.

Ve skutečnosti vzájemné vztahy regulačních faktorů tvorby květních orgánů jsou složitější než naznačuje zjednodušující ABC model. V oblastech funkce genů B a C je nutná exprese transkripčních faktorů **MADS box Sepallata**. (U mutantu s nefunkčními geny **SEPALLATA** jsou „květy“ tvořeny jen kališními lístky.)

Trojité mutantí s kombinovanými defekty ve všech třech funkcích (genotyp: **ap2-pi-ag**) **produkují** na místě květu **pouze zelené listové útvary**. Chybí-li kontrolní funkce homeotických genů, dostáváme se

k základnímu (výchozímu) stavu květních orgánů. Tyto pokusy potvrzují dávnou intuici J.W. Goetha, že květy jsou přeměněné (metamorfované) listy.

Květní homeotické geny kódují transkripční faktory

Většina hlavních homeotických genů řídících květní morfogenezi byla již naklonována a charakterizována. Prvním byl DEFICIENS u hledíku. Srovnáním sekvencí těchto genů bylo zjištěno, že většina z nich patří do nové rodiny transkripčních faktorů, které obsahují tzv. **MADS box** (patří sem MCM1/kvasinka, Agamous/*Arabidopsis*, Deficiens/hledík a Serum responsivní faktor-SRF/člověk) – úsek bílkoviny na N konci, který má **schopnost vázat se na DNA**. Všechny tyto TF mají schopnost vázat se na cis-DNA element CC(A/T)6TGG v promotorech genů, jejichž expresi řídí. Vedle tohoto úseku má většina těchto bílkovin také **K-box** (tj. podobný keratinu), který tvoří amfipatický α -helix a umožňuje spolu s vazebnými místy na C konci **interakci s dalšími bílkovinami** při vytváření dimerů a tetramerů. MADS box TF působí v buňkách květních orgánů jako **heterotetramery** (včetně transkripčních faktorů Sepallata), které vážou v promotoru zároveň (díky ohybu molekuly DNA) dva vzdálené cis-DNA elementy. U homologů hledíku (Deficiens/Globosa=AP3/PI *Arabidopsis*) bylo zjištěno, že se **takto vážou také do vlastních promotorů a tak pozitivní zpětnou vazbou posilují svoji vlastní expresi. To je jeden z molekulárních mechanismů, které stabilizují nově nastoupenou vývojovou dráhu.** To ovšem neznamena, že všechny faktory řídící vývoj květu patří do rodiny MADS box transkripčních faktorů, nebo že všechny MADS box transkripční faktory řídí pouze květní morfogenezi.

Srovnávací genomická analýza ukazuje, že květní MADS box regulátory byly důležitými faktory při evoluci květu semenných rostlin. První (patřící do funkční skupiny B) se objevily u nahosemenných rostlin před asi 300 miliony let a exprimují se výhradně v samčích šištících.

Katastrální geny a geny určující identitu meristemu

Podrobná analýza chování různých mutantů ukázala, že skutečnost je složitější, než naznačuje ABC model. Do shora uvedených interakcí zasahují také geny, jejichž funkce předchází funkci genů určujících typ květních orgánů; jsou to **geny**, které vymezují oblasti květních okruhů, a proto se nazývají **katastrální**. Patří sem u *Arabidopsis* gen SUPERMAN (SUP); jehož produkt potlačuje funkci orgánově specifického genu PISTILLATA. **Katastrální geny regulují aktivitu MADS box transkripčních faktorů a jejich vlastní aktivita je řízena geny určujícími identitu meristemu.**

Geny určující typ meristemu působí před geny katastrálními a ovlivňují pozitivně jejich aktivitu. U mutantů, které nesou inaktivní formy příslušných genů, dochází k částečnému či úplnému potlačení tvorby květů a v extrémních případech mají místo květu vegetativní vzrostný vrchol. Mezi typické zástupce těchto genů u *Arabidopsis* patří LEAFY (LFY) a CAULIFLOWER (CAL).

Dospíváme tak k představě kaskády na sebe navazujících regulačních genů, která začíná geny pro indukci kvetení, pokračuje geny pro tvorbu meristemu květenství a končí geny specifickými typy květních orgánů. Důležité je zjištění, že **mnohé ze zúčastněných genů působí na více úrovních**. Např. geny APETALA1 a 2 u *Arabidopsis* jsou geny určující typ orgánů v 1. a 2. okruhu (funkce A), ale zároveň působí jako časné geny, které spoluurčují typ meristemu a posilují expresi LEAFY.

b – Tvorba samčího a samičího gametofytu – pylu a zárodečného vaku

Vyústěním procesů květní morfogeneze je **meioza, tvorba pylu a zárodečného vaku** směřující k **opylení a k oplození** – k pohlavnímu rozmnožování. Zvláštním způsobem nepohlavního rozmnožování z neoplozených buněk peštíku je apomixie.