

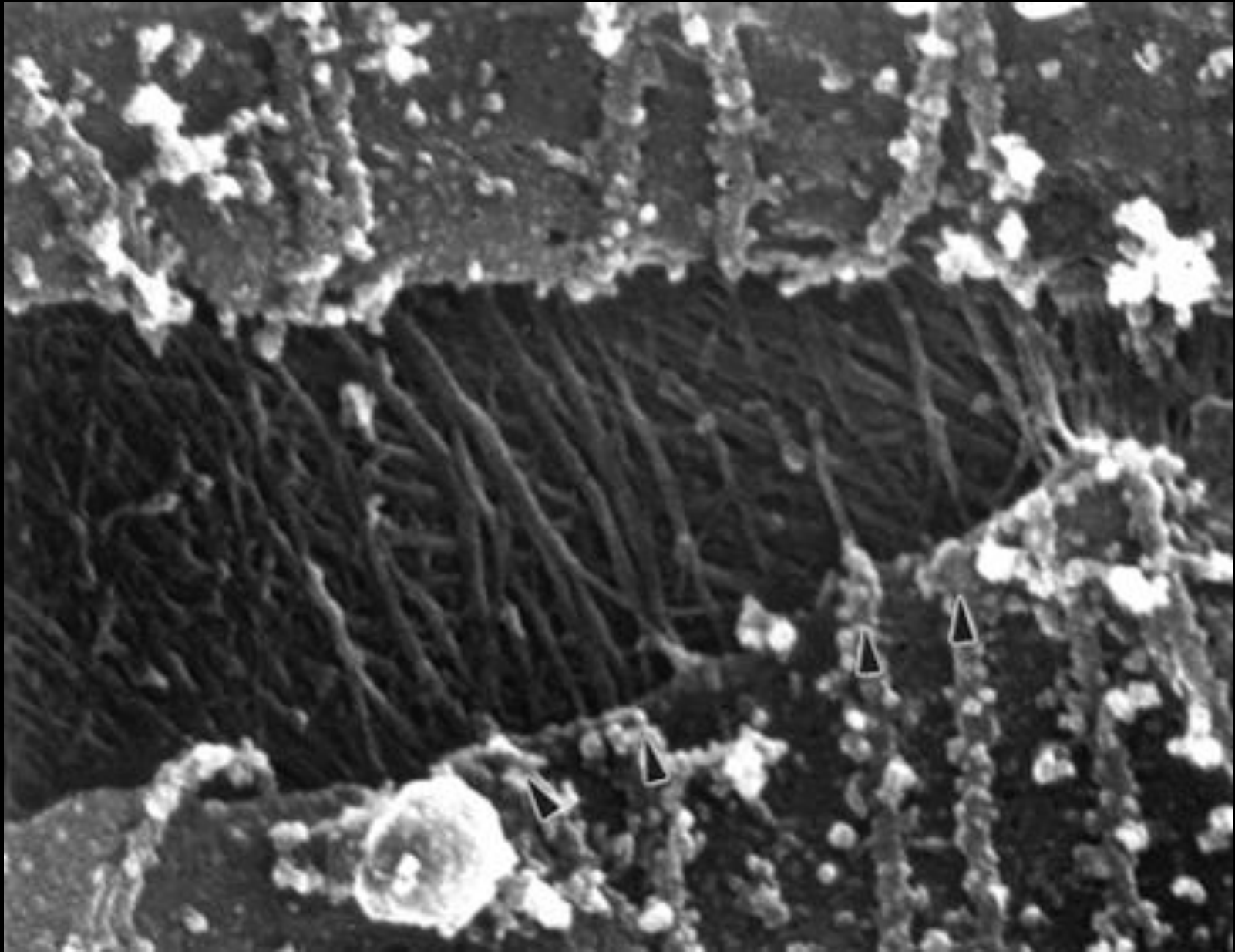
Rekapitulace

- Rostliny jsou od živočichů tak daleko, jak jen lze („univerzální outgroup“).
- Mnohobuněčnost vznikla vícekrát – tj. u rostlin a u živočichů nezávisle.
- Charakteristické rysy rostlinného organismu:
 - Neukončená organogeneze, modulární stavba
 - Neoddělená zárodečná linie, totipotence
 - Vývojová plasticita souvisí se sesilným životem
 - Střídání n a $2n$ generací
- Rostlina vládne buňkám, ne(jen) buňky rostlině.

Buněčné mechanismy ontogeneze – „rostlinná specifika“

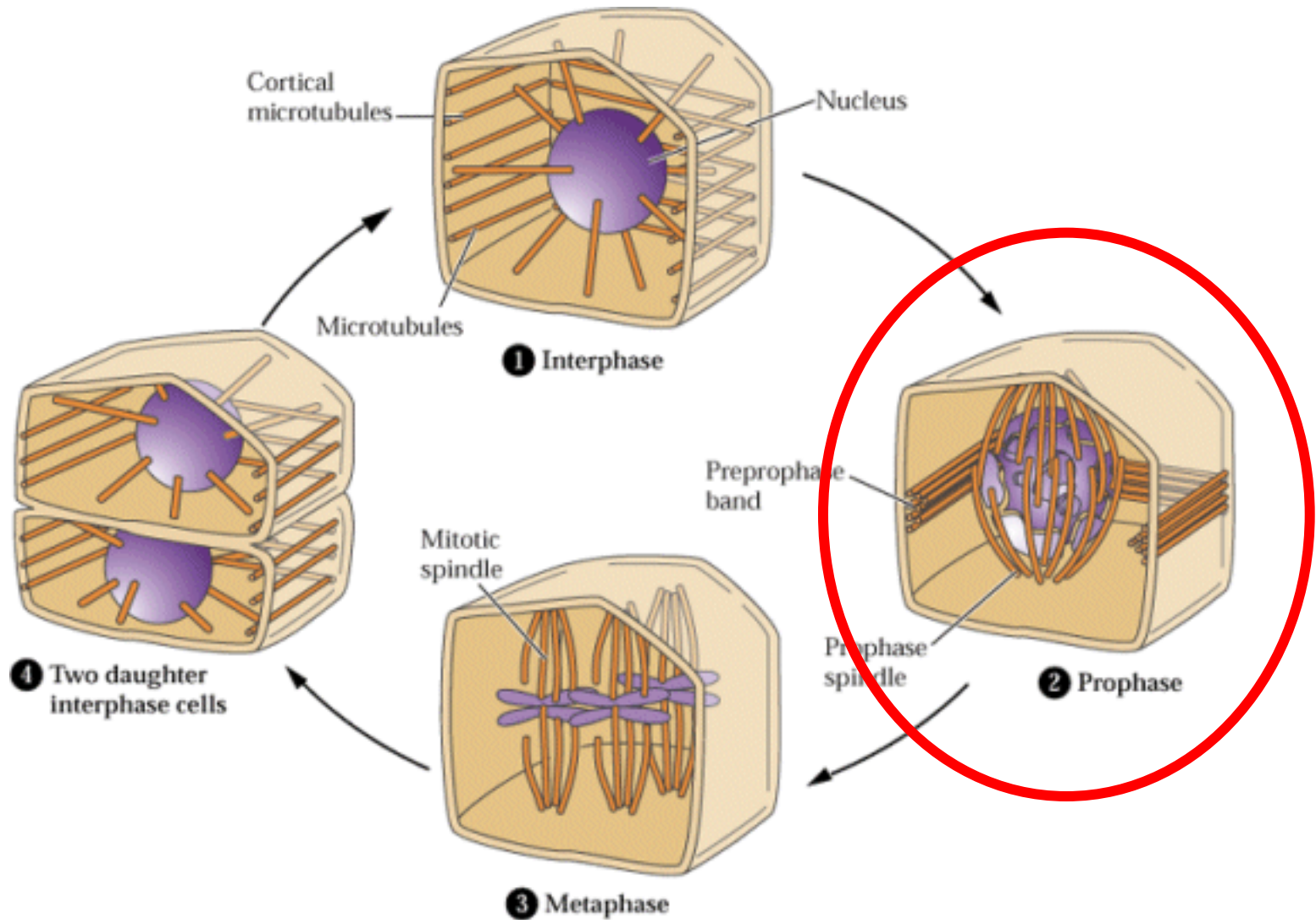
- Rostlinné buňky mají pevnou stěnu a nemigrují.
- Klíčové:
 - Orientace buněčného růstu a dělení
 - Mezibuněčná signalizace a transport

Asociace mezi kortikálními mt a stěnou



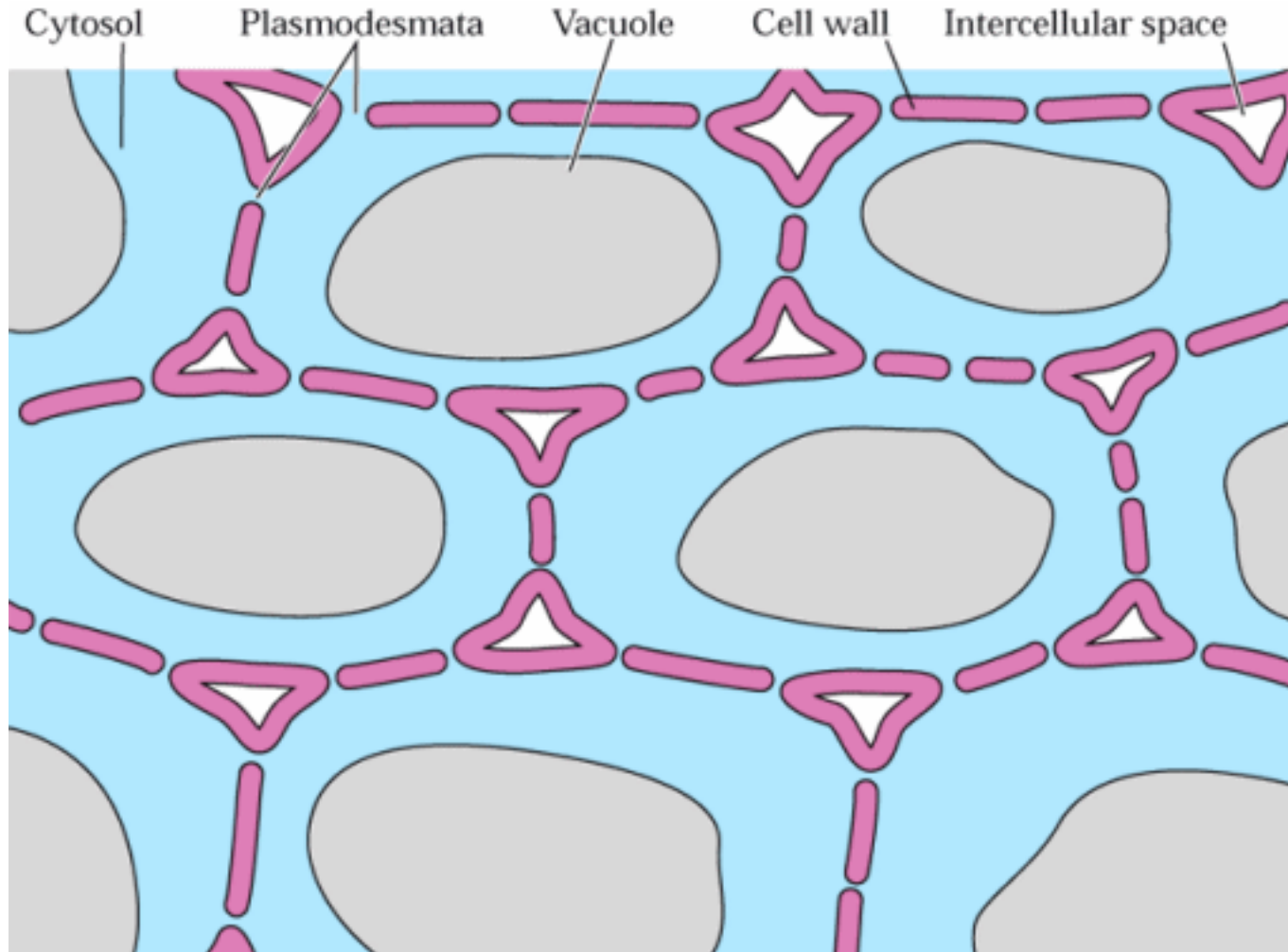
onion root

Uspořádání MT během buněčného cyklu rostlinné buňky



MEZIBUNĚČNÁ KOMUNIKACE

APOPLAST A SYMPLAST

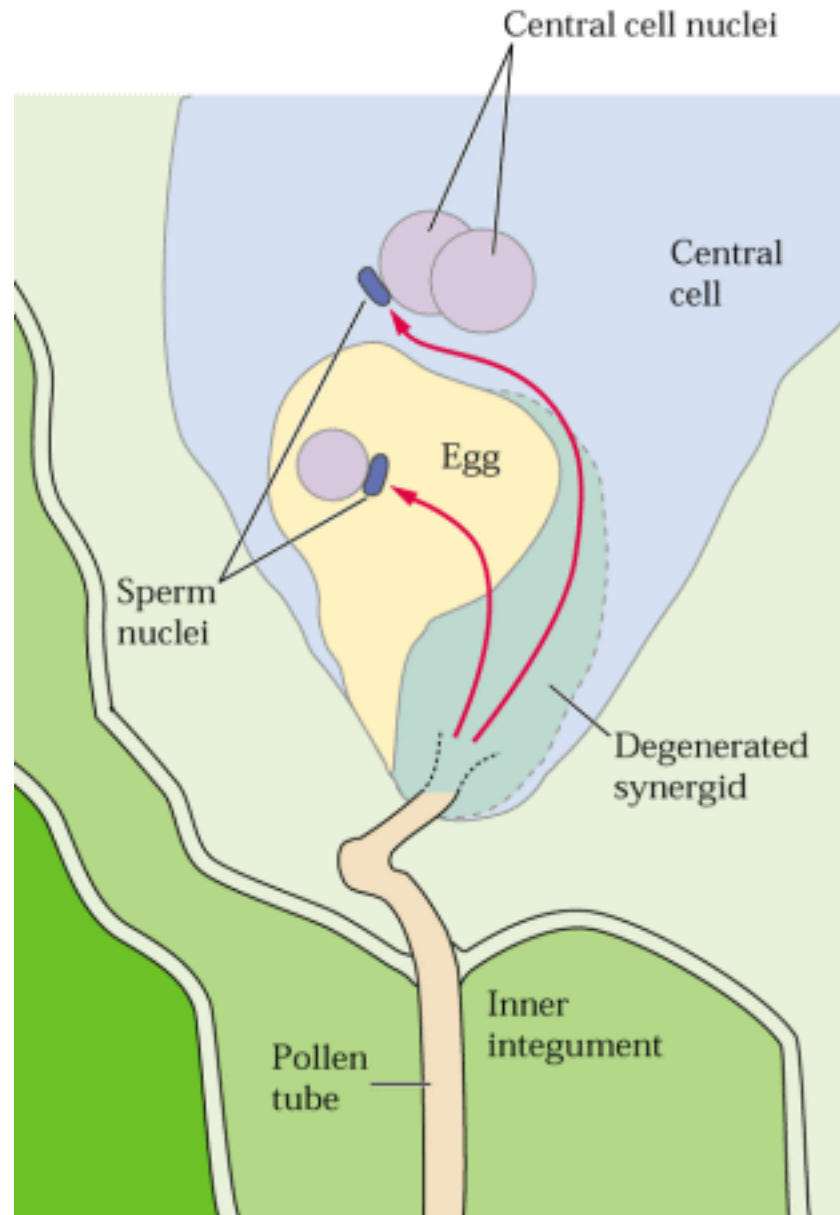


EMBRYOGENEZE začíná - **DVOJITÝM OPLOZENÍM**

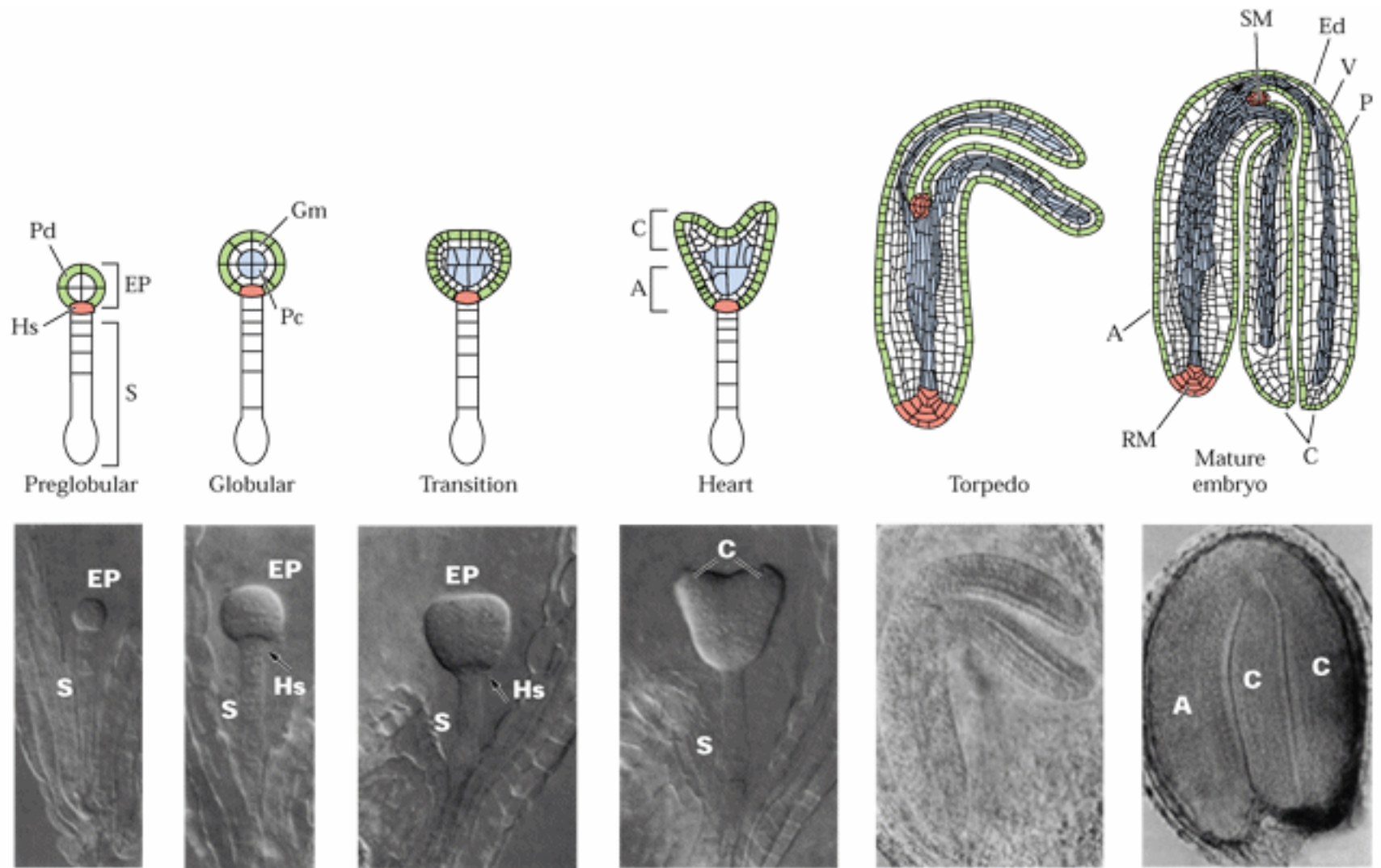
Pylové zrno = **samčí gametofyt.**

Zárodečný vak = **samičí gametofyt.**

(např. Arabidopsis –
modelová semenná
rostlina)



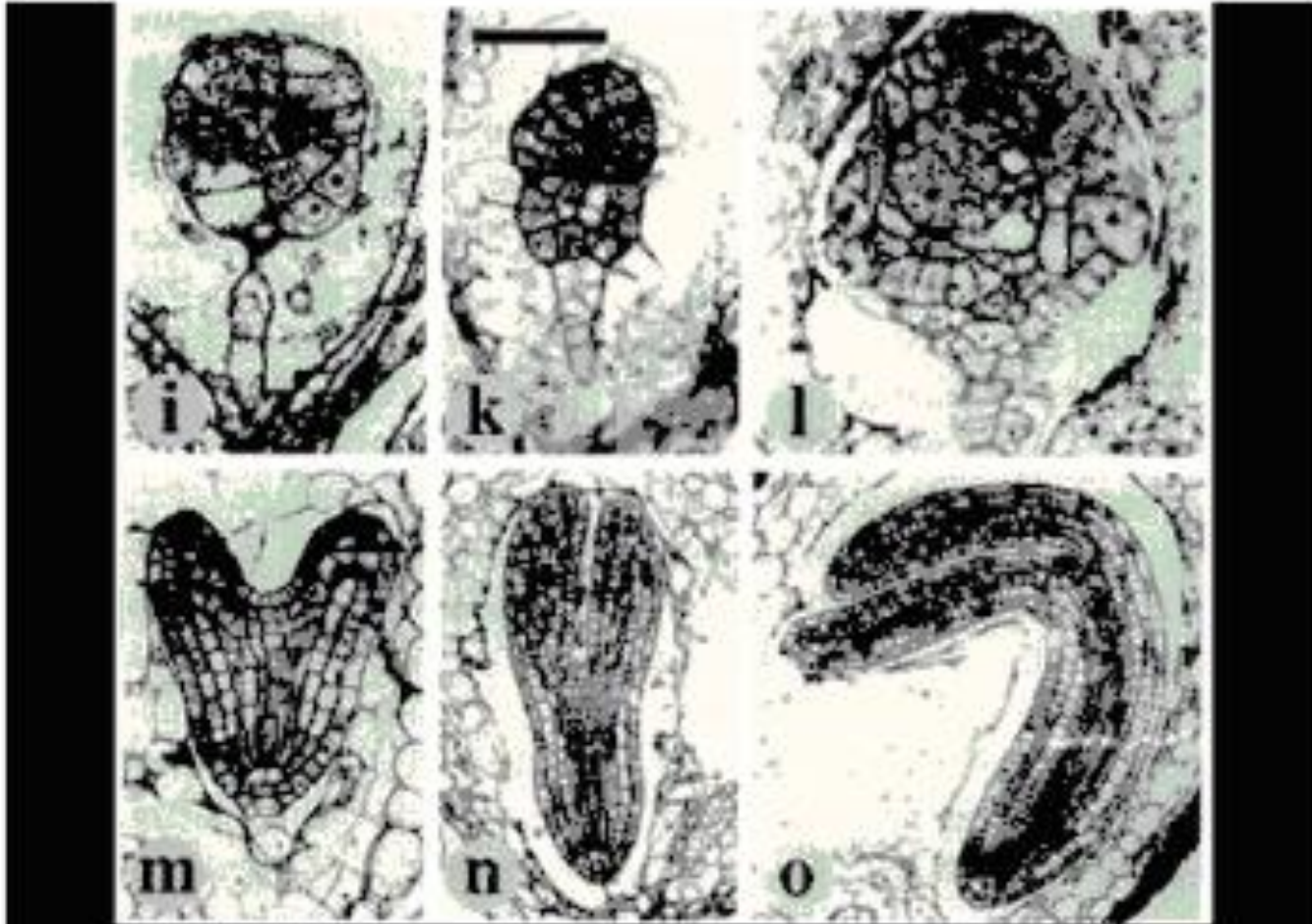
Stádia embryogeneze Arabidopsis



V řízení časně embryogeneze
hrají důležitou úlohu regulátory
buněčné morfogeneze –
sekretorická dráha, cytoskelet a
... IAA

Embryogeneze (a nejen ona) je
algoritmický proces

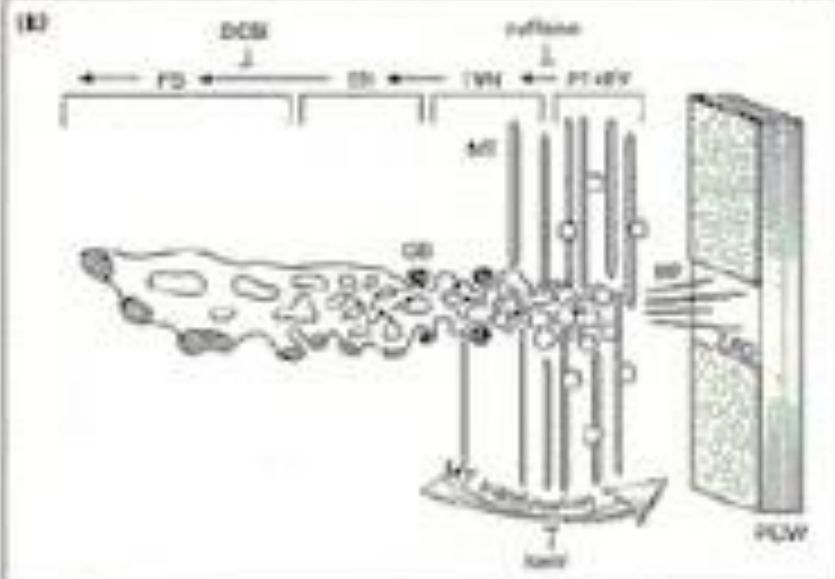
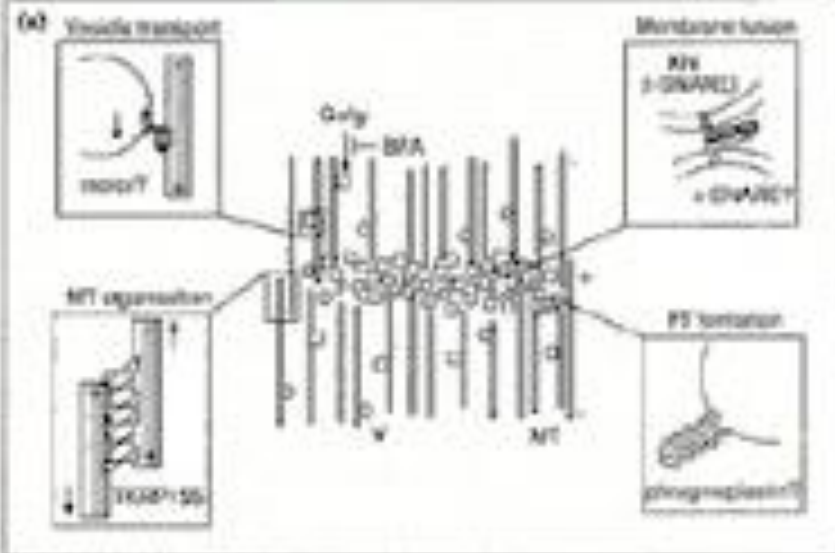
KNOLLE – *knolle* má narušenou tvorbu buněčných přepážek
a v důsledku toho orientaci buněčných dělení



knolle/wild type embryos

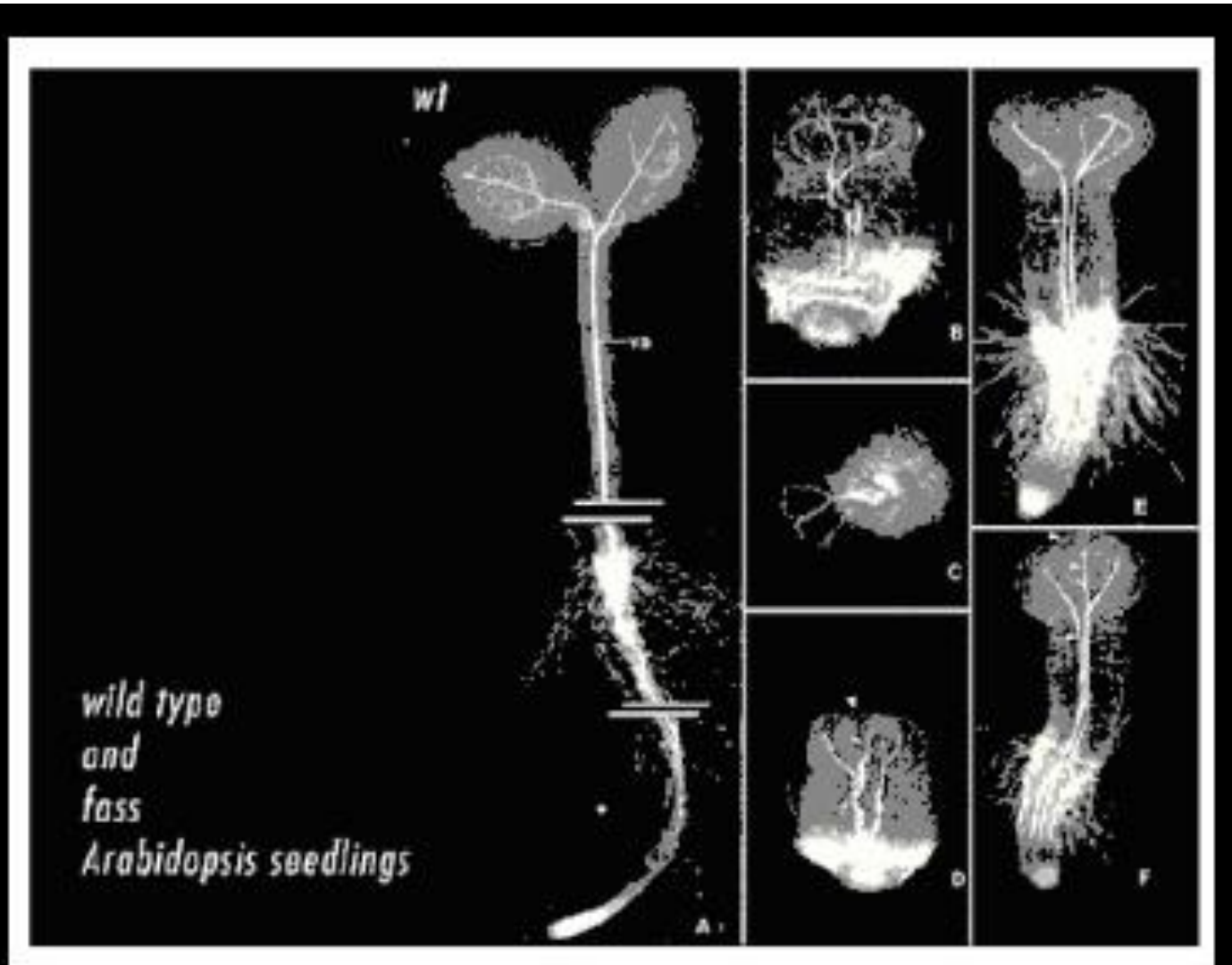
model for the role
of *KNOLLE* during
cell wall formation

Knolle je
SNARE
bílkovina



fass/tonneau

fass postrádá preprofázický pás mikrotubulů – přes neuspořádaná buněčná dělní histogeneze probíhá téměř normálně



**TON2 je
PPasa2A
reg. podj.
kontrolující
kortikální
MTs.**

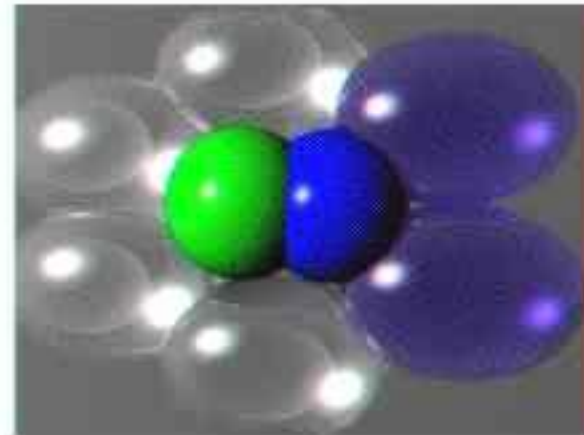
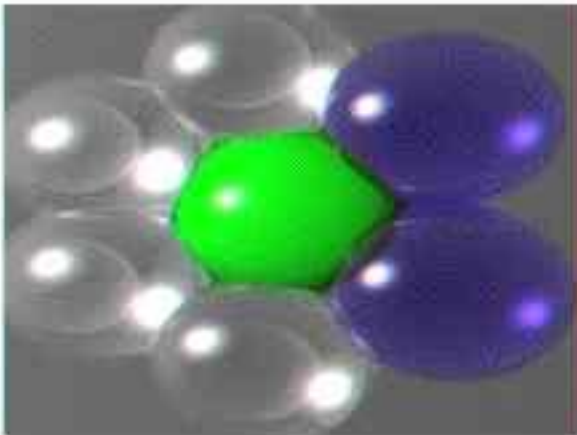
Rozhoduje o osudu buňky

GENEALOGIE

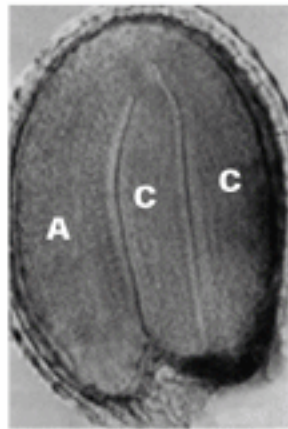
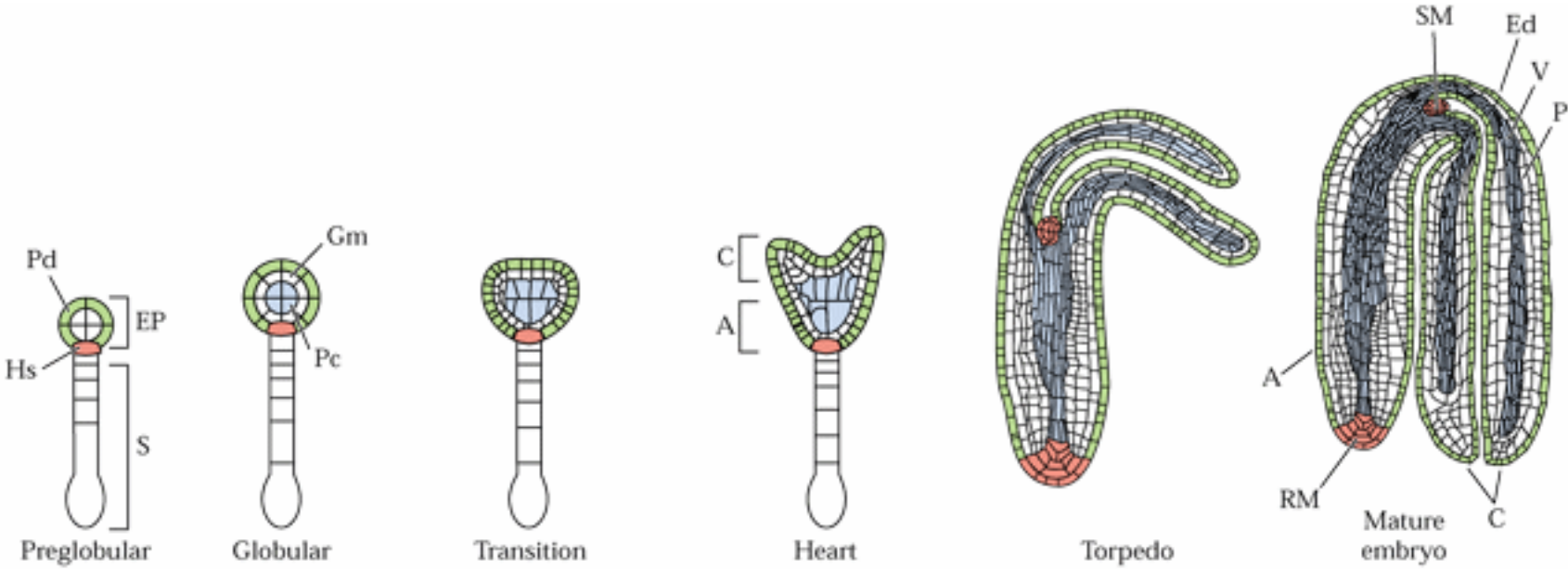
nebo

POZIČNÍ INFORMACE

?

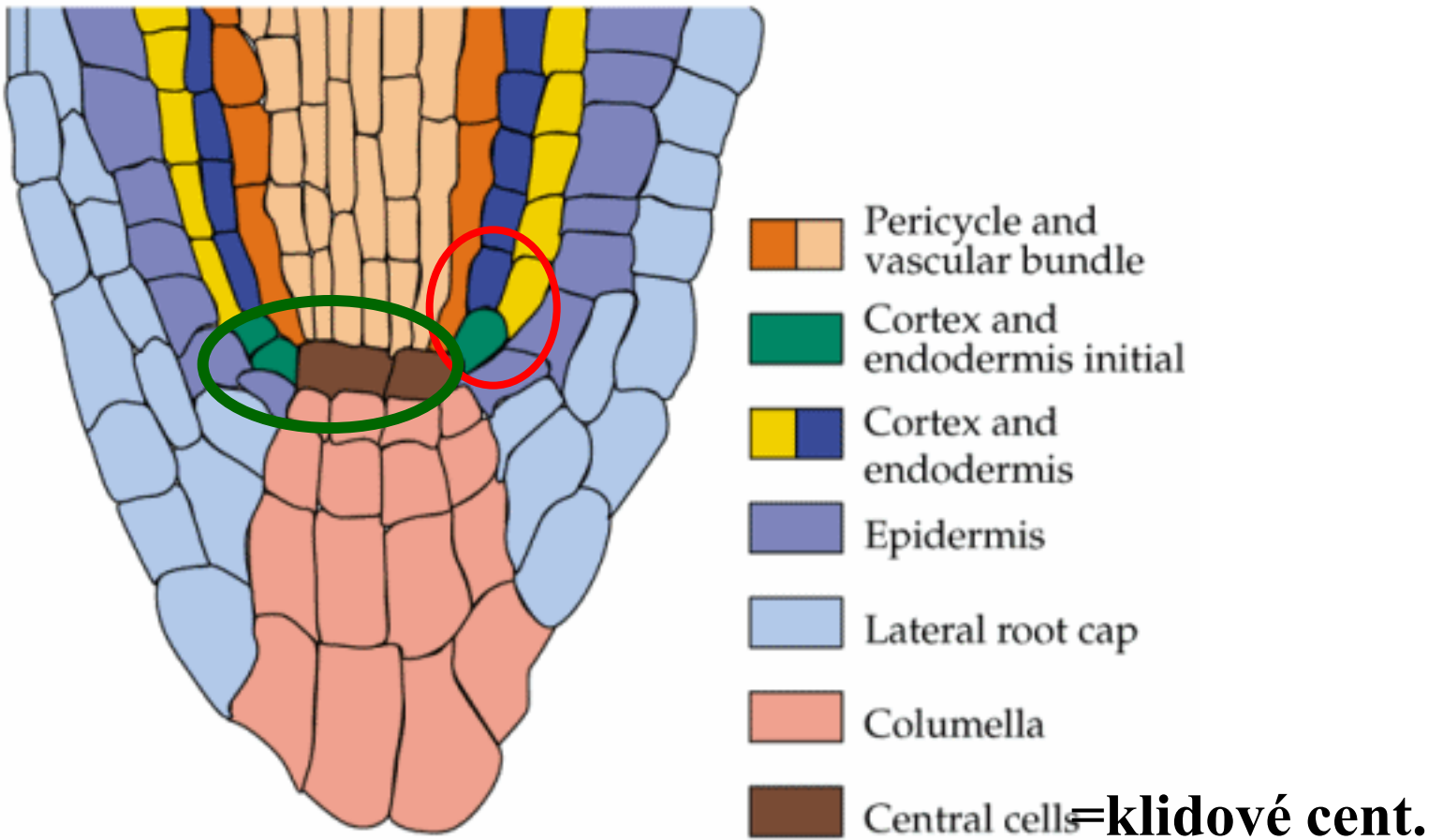


Kořenový meristém „dozrává“ už během embryogeneze



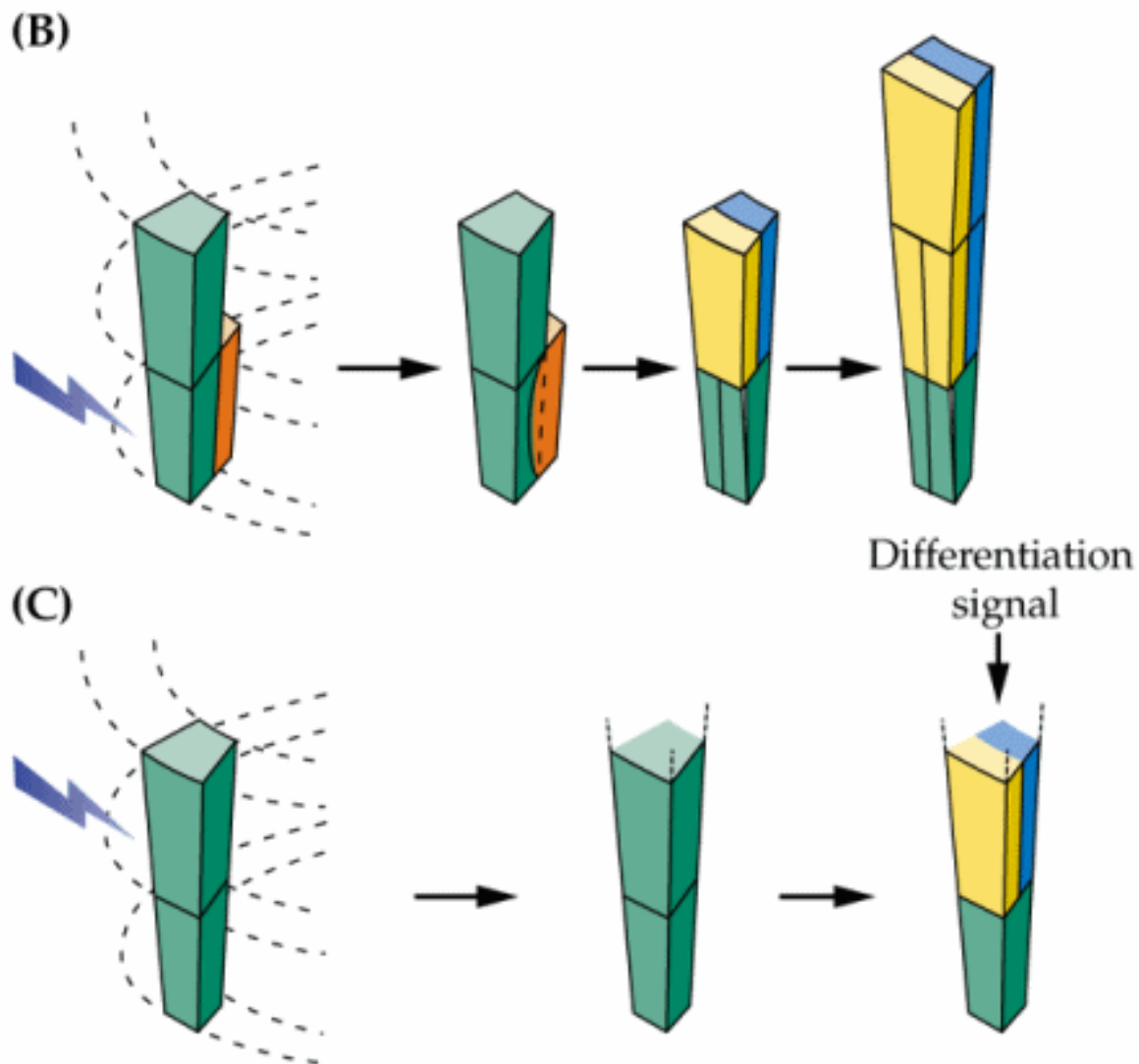
DIFERENCIACE KOŘENOVÉHO MERISTÉMU

(A)



Funkcí klidového centra je udržovat sous. b. v zárodečném stavu.

Laserová mikrochirurgie iniciál kořenového meristému



U rostlin převládá poziční informace.

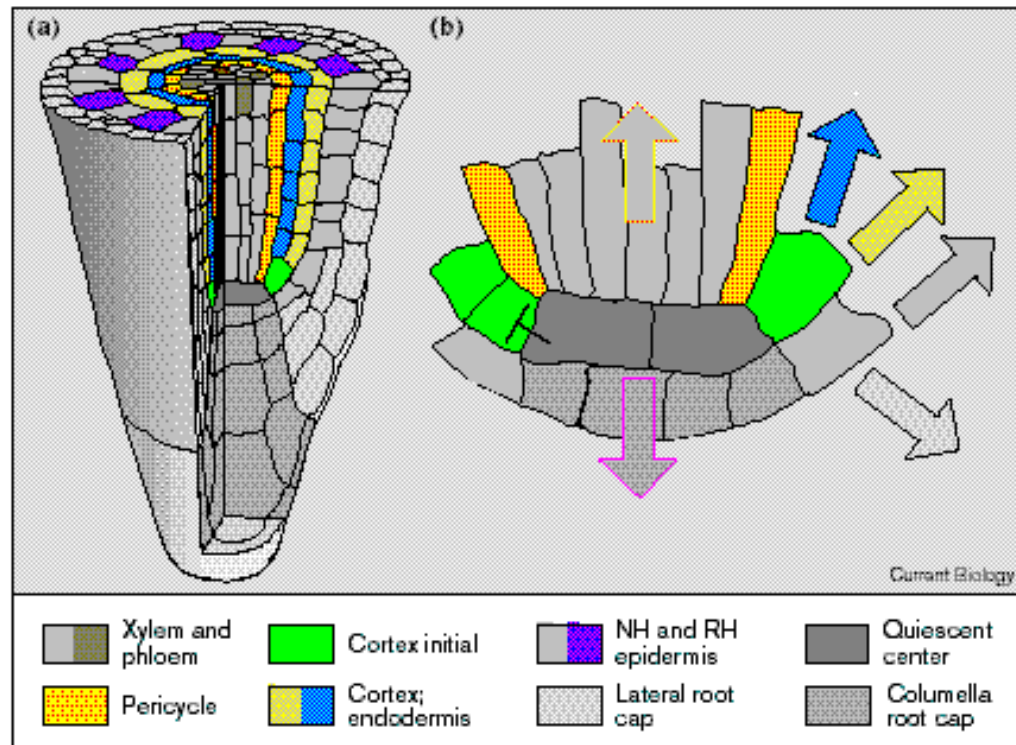
Vývojový osud buňky není určen jejím původem, ale polohou v celku rostlinného organismu.

Formativní asymetrické dělení

je základem mnoha diferenciacních kroků

Klidové centrum a iniciály

transkripční faktory **SHORT ROOT** a **SCARECROW** (SCR)
a diferenciacie endodermis a kortexu



Cell fate in the *Arabidopsis* root meristem. (a) Cell types. (b) Stem cells (initials) and their direction of cell division.



wt



scarecrow

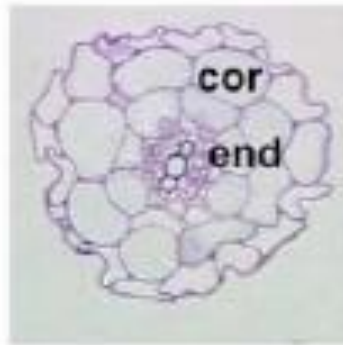
(SCR)

... and
shortroot (SHR)

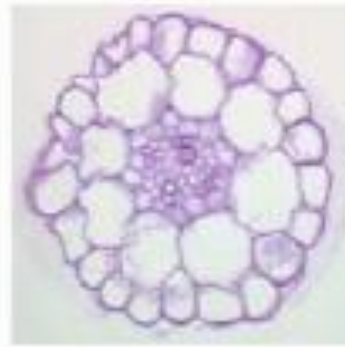
Txn factors AGAIN!

Srovnání histogenese kořenových pletiv WT Arabidopsis a mutantů

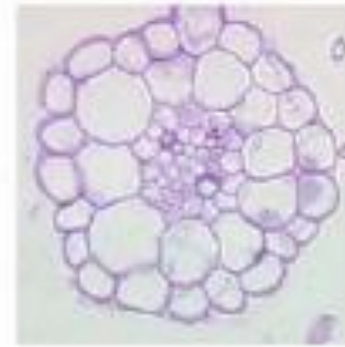
1



Wild type



scarecrow



short root



Wildtype

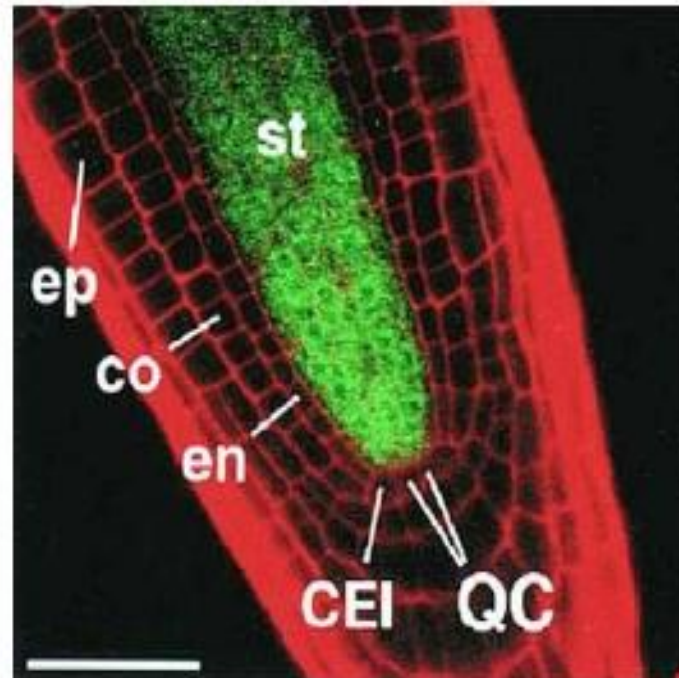
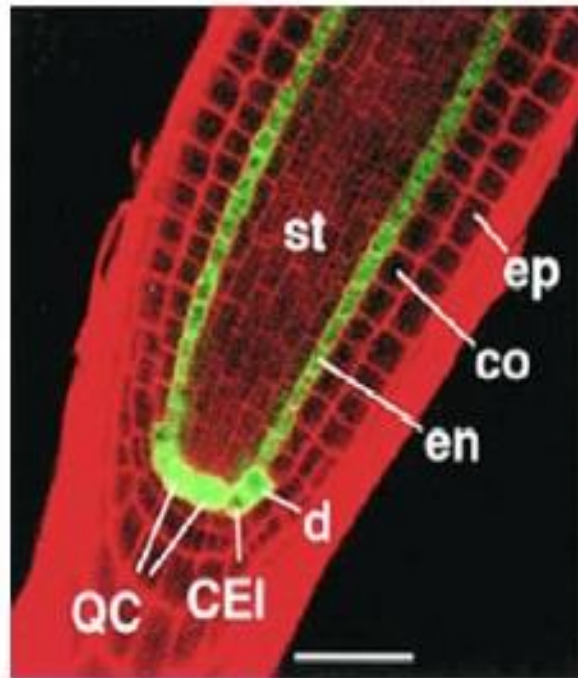


scarecrow



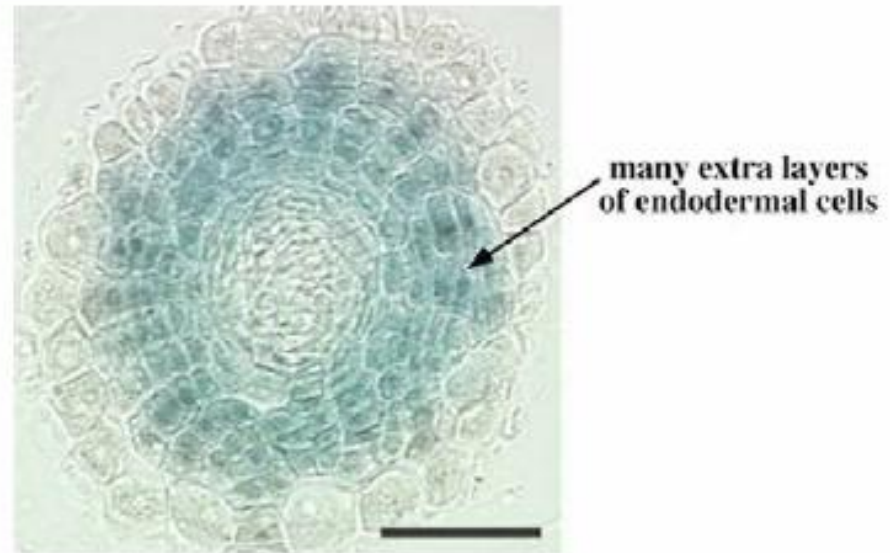
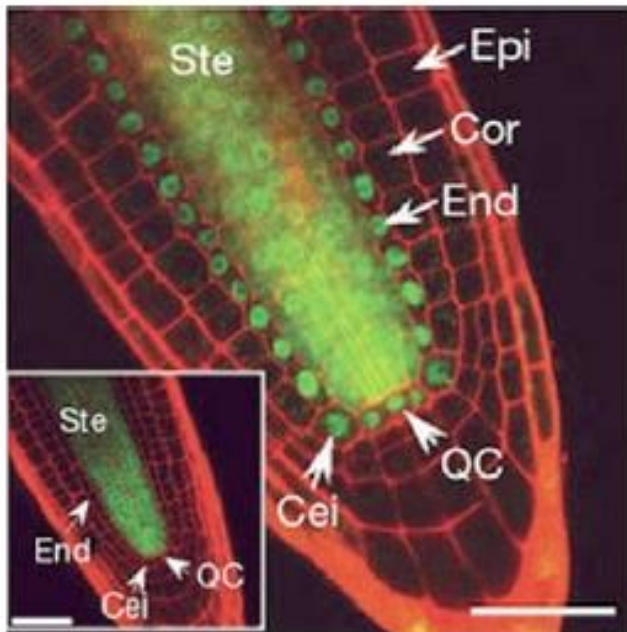
short root

Aktivita promotorů genů SCR a SHR vizualizovaná GFP



Left: SCARECROW promoter driving GFP expression in the *Arabidopsis* root meristem. Right: SHORTROOT promoter driving GFP expression. ep—epidermis, co—cortex, en—endodermis, CEI—cortex/endodermis initial, QC—quiescent centre, st—stele.

SHR protein je transportován ze stele do sousední buněčné vrstvy – endodermis, iniciál a klidového centra



Left: SHORTROOT promoter driving expression of a SHORTROOT-GFP fusion protein. Inset: expression pattern of SHORTROOT promoter. The SHORTROOT-GFP protein is capable of movement to adjacent cells in the endodermis, initials and quiescent centre. Right: Ectopic expression of the SHORTROOT protein causes proliferation of the endodermis, marked by a β -glucuronidase reporter gene.

Důležitým prvkem vývoje a celistvosti rostlinného organismu/poziční informace je komunikace sousedních buněk na **krátkou** vzdálenost **mezibuněčným transportem bílkovin symplastem.**

A co na dlouhou vzdálenost?

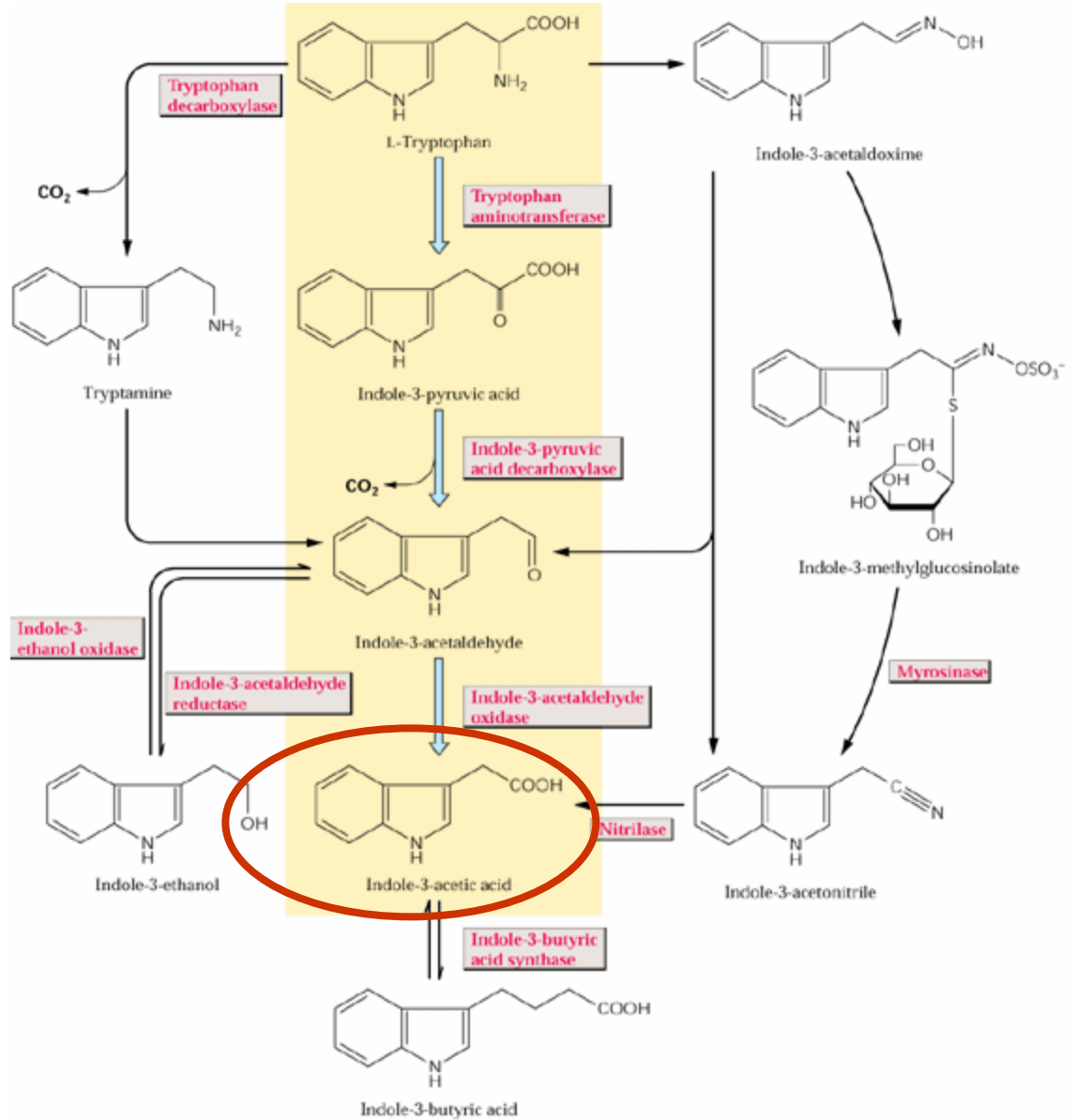
AUXIN - kyselina indolyloctová – IAA

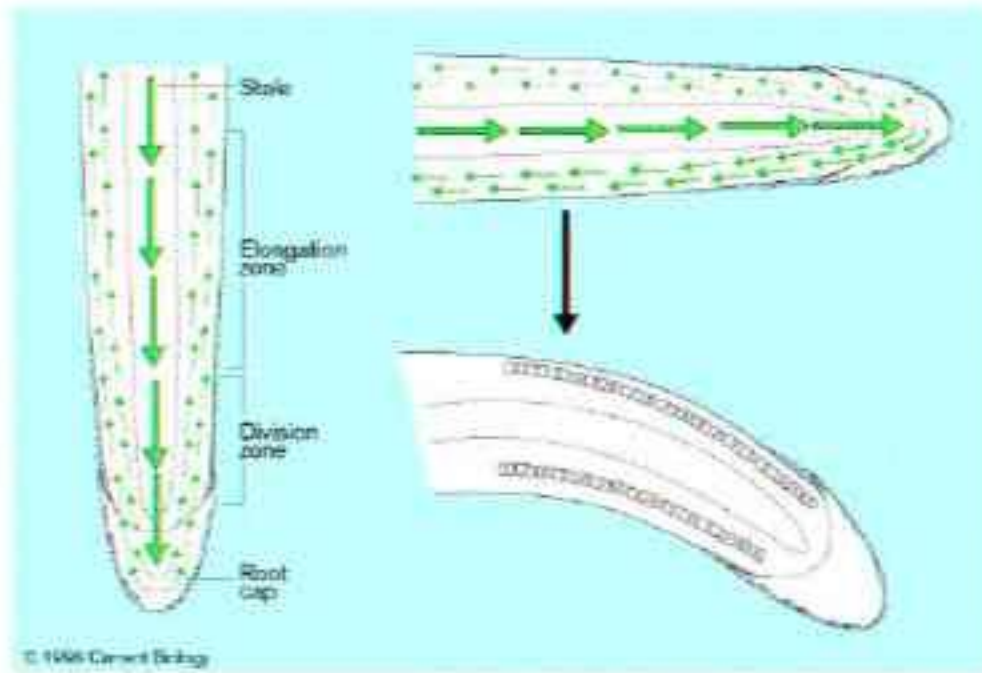
- dominantní **nízkomolekulární morfogen** rostlin. **Je transportován m.j. také apoplastem a působí na velké vzdálenosti.**

Koncentrační gradient auxinu a jeho bílkovinných efektorů je důležitou složkou poziční informace.

Působí na a vzájemně se reguluje s cytokininy.

Rostlinný morfogen auxin je odvozen od tryptofanu

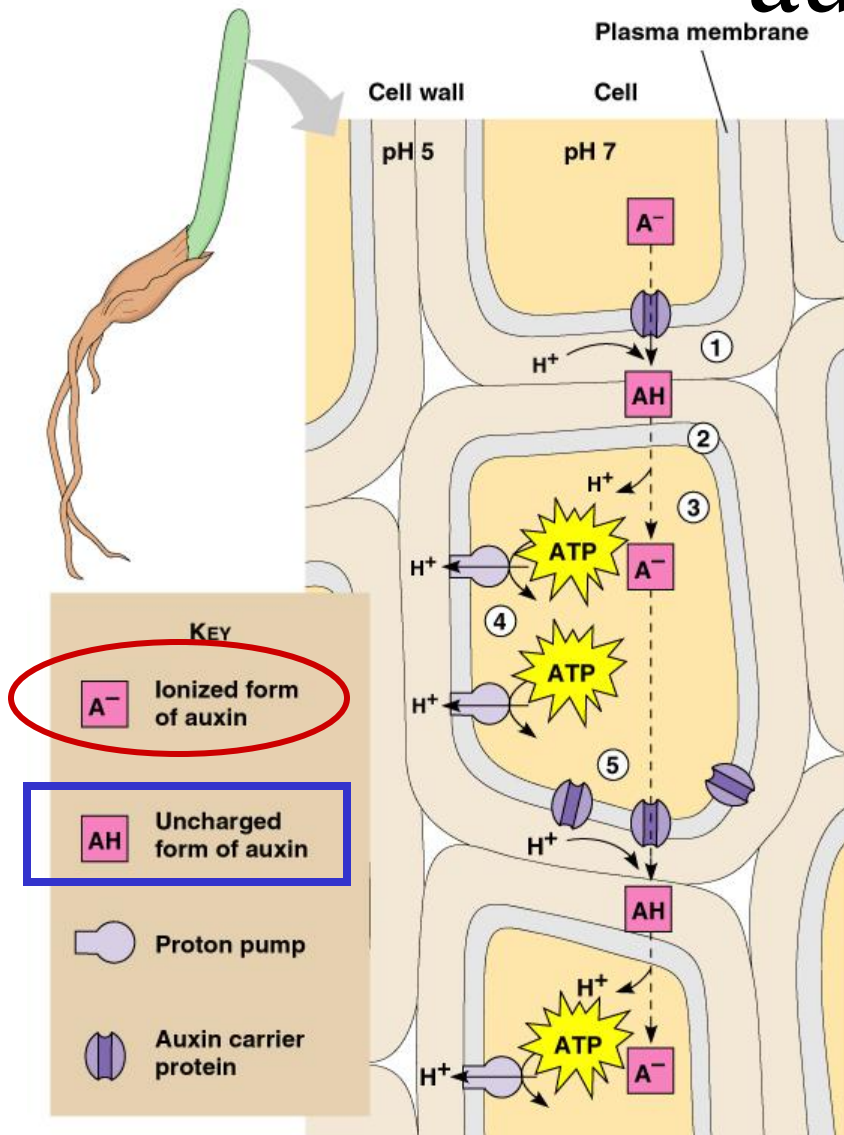




The polar flux of auxin is required for the proper organisation of cell fates in the *Arabidopsis* root meristem.

Autoregulační polarizované strukturované toky auxinu celou rostlinou jsou klíčovou složkou poziční informace u rostlin a koordinují celkovou morfogenezi organismu.

Chemiosmotická teorie transportu auxinu



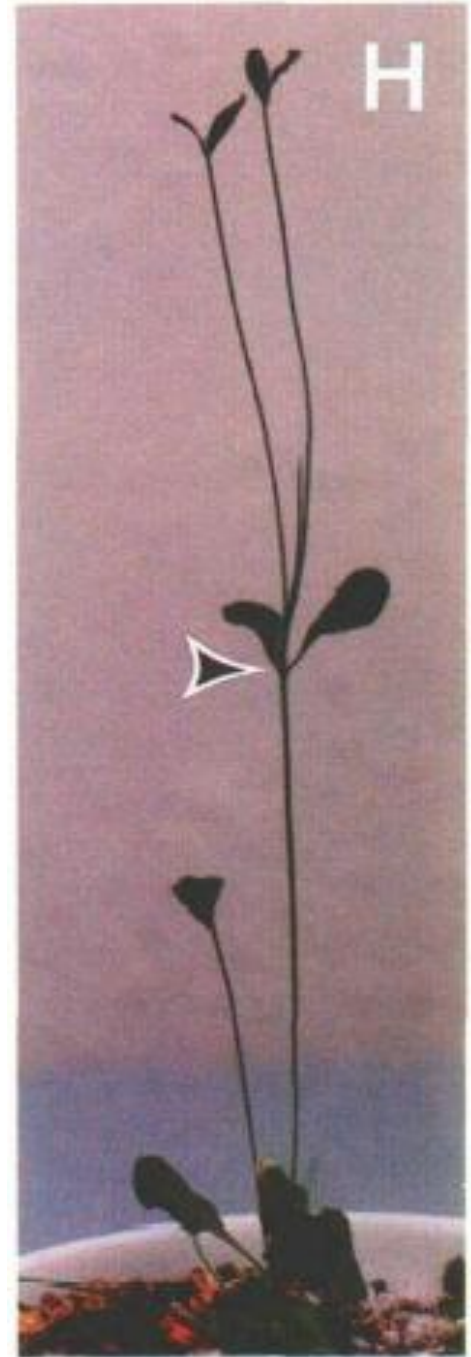
Přenašeče:

AUX1 dovnitř

PIN ven - polární lokalizace.

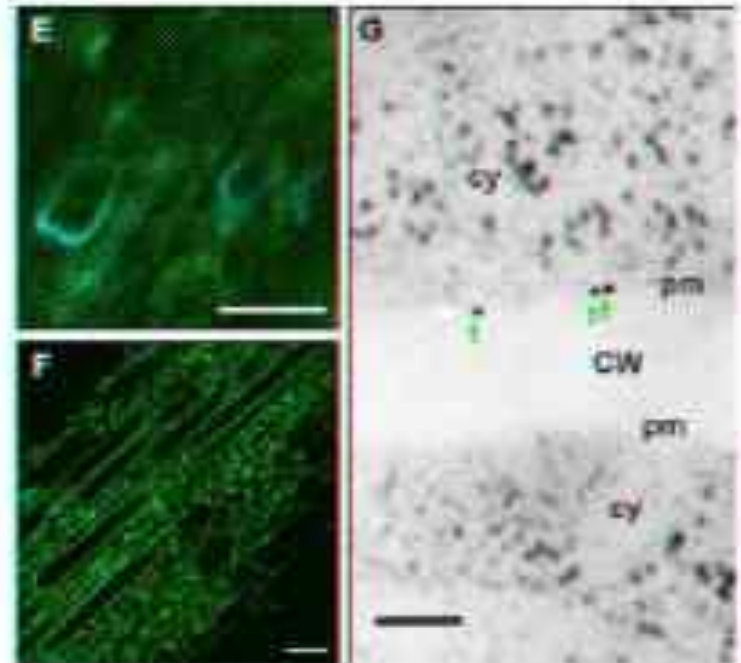
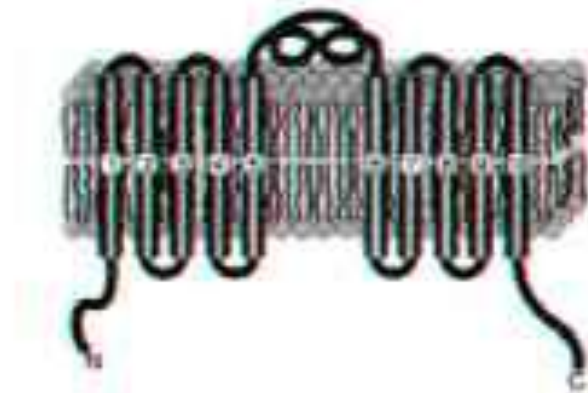
Transport též

- přes ABC transportery (PGP, závislé na ATP)
- sekrecí z váčků jako u neurotransmiterů.



pin1

PIN výtokové přenašeče IAA jsou polarizovaně lokalizovány v plasmalemě



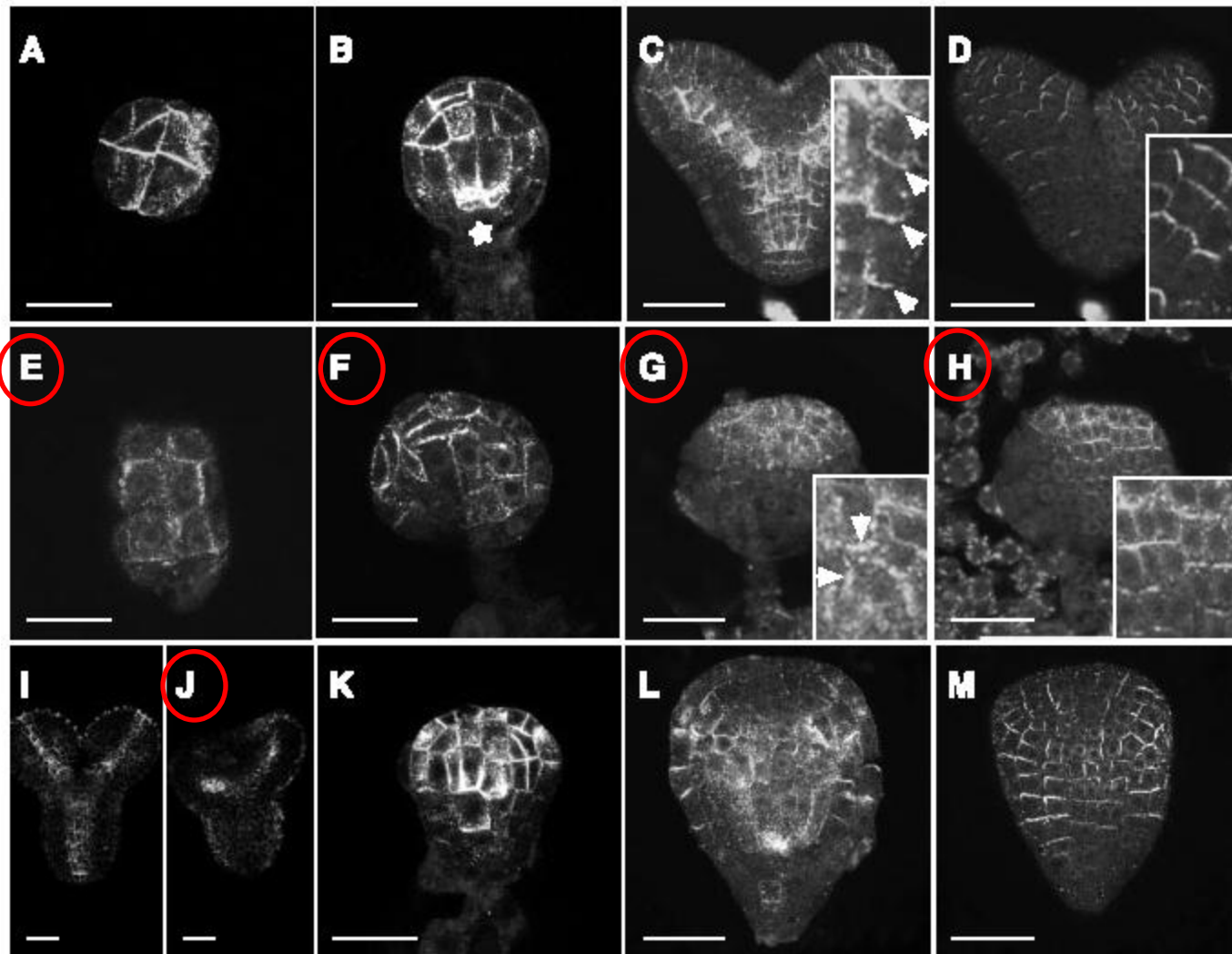


Fig. 1. PIN1 localization in early embryogenesis. (**A to D, I**) Wild-type, (**E to H, J**) *gnom*, and (**K to M**) *monopteros*. Stages of embryogenesis (25): (**A and E**) early-globular, (**B, F, K**) mid-globular, (**C, D, G, H, L, M**) mid-heart, and (**I and J**) early/mid-torpedo. Asterisk (**B**) and arrows (insets in **C** and **G**) mark polar localization of PIN1. (**A to C, E to G, I to L**) Internal optical sections; (**D, H, M**) surface views; apical end of embryo is up. Bars, 20 μm . Images were obtained by confocal microscopy (26).

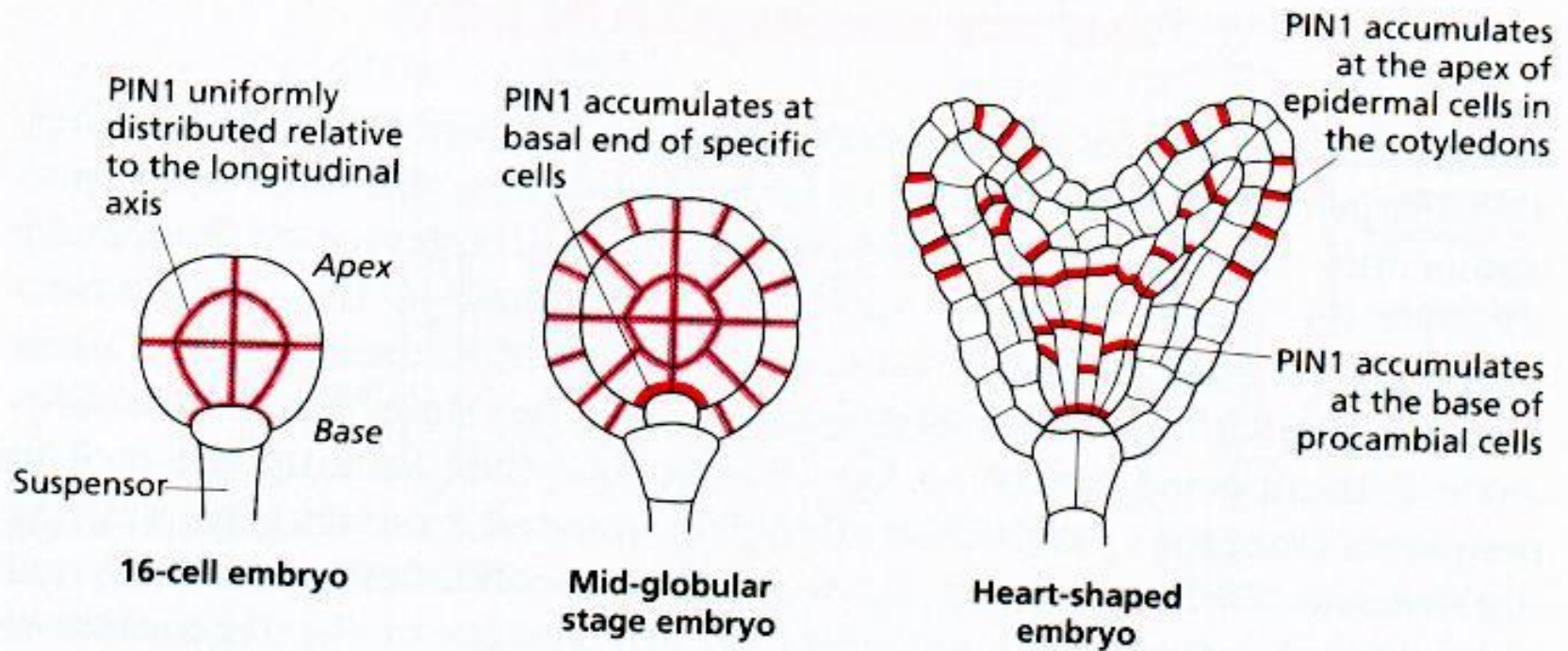
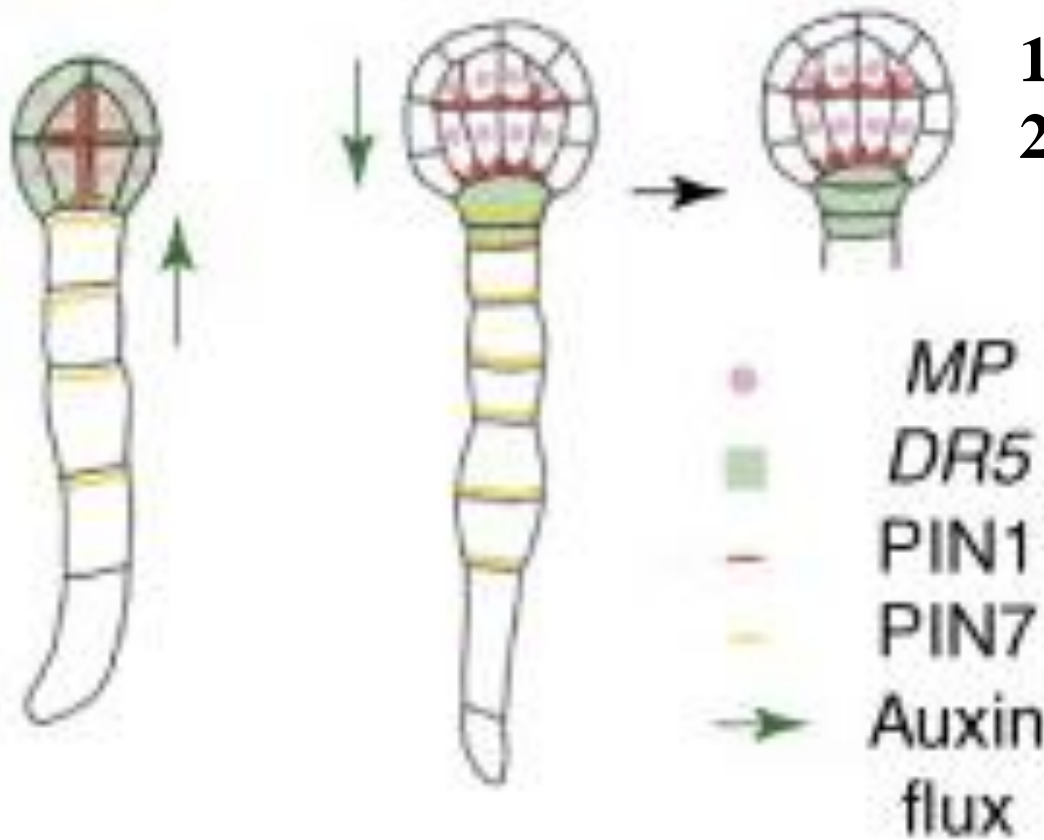
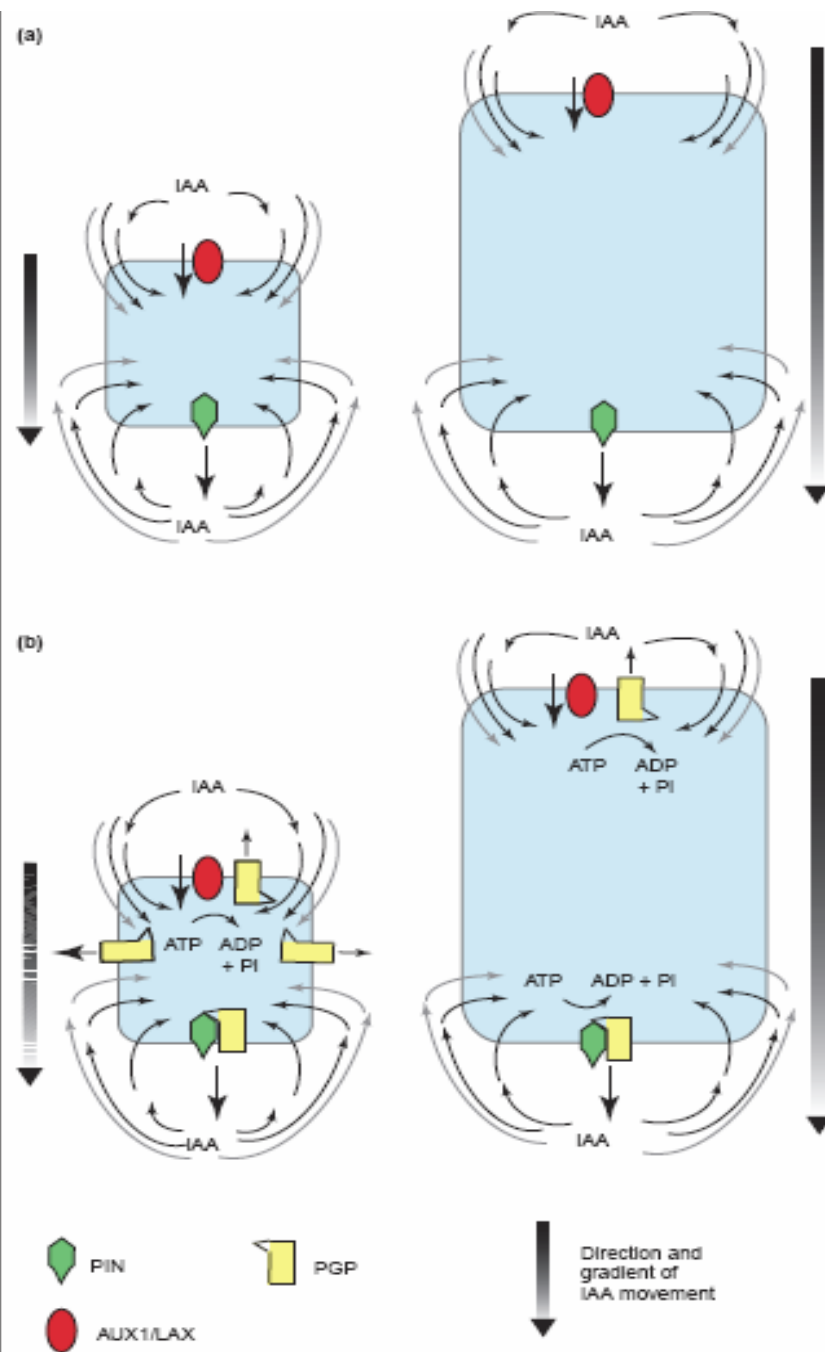


Fig. 4.6 The polarization of PIN1 distribution in the *Arabidopsis* embryo. The position of the PIN1 protein is indicated in red. (Adapted from Steinmann *et al.*, 1999.)



1. PIN7 polarization
2. PIN1 polarization

Current Opinion in Plant Biology



PINy jsou podobné přenašečům PGP jsou ABC transportery

- a RECEPTORY
(např. **ABP1** v ER a PM)

(Figure 1 Legend) A revised model of auxin transport. (a) PIN-based model of auxin transport. In the current, PIN-based model of auxin transport, auxin enters the cells through both diffusion and the auxin symporter AUX1. Auxin then exits from cells via a polarly localized efflux complex that is characterized by PIN proteins. This model is sufficient to explain auxin transport in more mature tissues, in which the cells are longer and re-diffusion of auxin is not a factor. In meristematic regions, however, in which cells are small and concentrations of auxin are high, re-diffusion of auxin would inhibit polar auxin transport. In these cells, mathematical models indicate that PIN-mediated efflux is insufficient to explain the rate of auxin transport seen *in vivo*. Arrows indicate the direction and magnitude of auxin movement. (b) PGPs have been shown to play an essential role in auxin transport. Mathematical models predict that, in the smaller cells of meristematic regions, a transporter with apolar localization is necessary to explain the rates of auxin transport seen *in planta*. ATP-dependent auxin efflux by apolarly localized PGPs fits the model and overcomes the problem of auxin re-diffusion. In longer cells, PGPs might also function to increase the rate and directionality of auxin transport and might exhibit polar localization. Where PGPs and PINs co-localize, interactions between PGPs and PINs stabilize PIN proteins at the PM and result in an increased specificity and rate of transport, providing directionality to auxin efflux. PGP and PIN proteins both have tissue-specific expression patterns, and it is likely that specific PIN-PGP pairings provide tissue-specific regulation of auxin transport streams.

Receptorem auxinu je **TIR1** a jeho homology: F-box podjednotka SCF E3 ligázy.

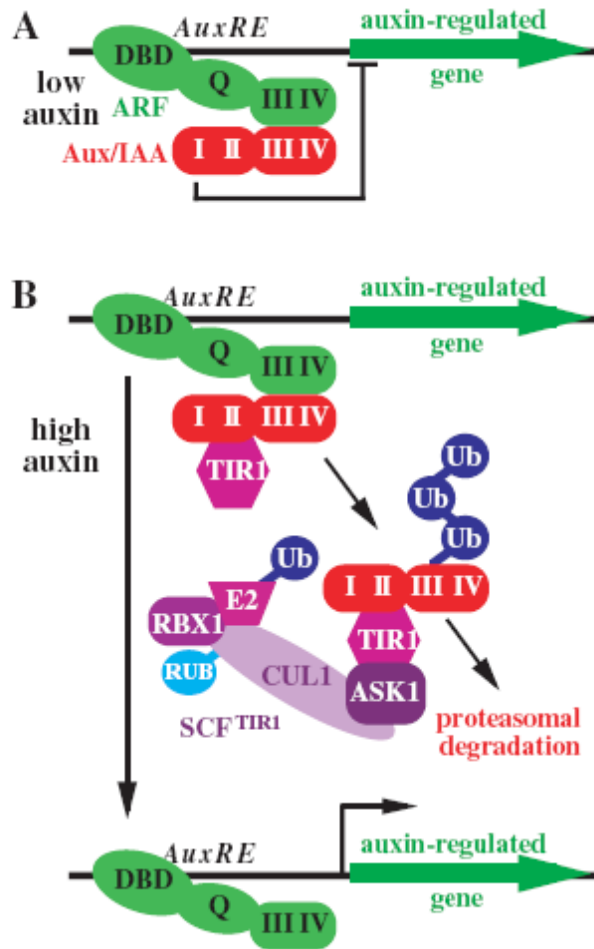


FIG. 4. The SCF^{TIR1} relieves Aux/IAA repression of activating ARFs. (A) An activating ARF protein (green) binds an *AuxRE* promoter element via an N-terminal DNA binding domain (DBD). Under low-auxin conditions, an Aux/IAA repressor (red) binds the activating ARF via heterodimerization between Aux/IAA and ARF domains III and IV. (B) Auxin promotes Aux/IAA domain II-TIR1 association, bringing the Aux/IAA protein to the SCF^{TIR1} complex (purple) for ubiquitination (Ub) and subsequent destruction by the 26S proteasome. The activating ARF, with a Gln-rich (Q) middle domain, is then freed to promote auxin-induced gene expression.

De novo syntéza AUX/IAA represorů
umožňuje **potlačení signálu** =
atenuaci.

Podobně kinázy fungují jako přenašeče
signálů jen díky proti-působícím
fosfatázám...

„jemné ladění“

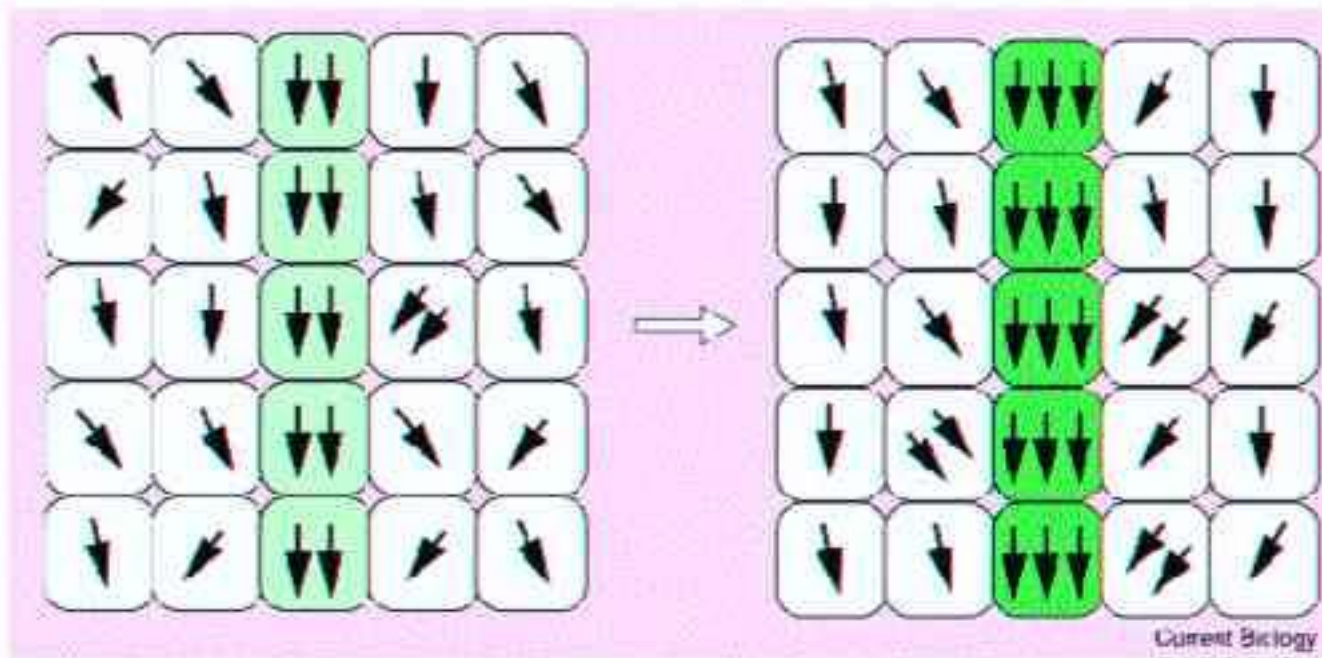
A close-up photograph of a green leaf, showing its intricate network of veins. The veins are a lighter green color, contrasting with the darker green of the leaf's surface. The veins form a complex, branching pattern that fills the entire frame. The lighting is soft, highlighting the texture and structure of the leaf.

Auxin a vznik pravidelnosti („patterning“)

Auxin pozitivně reguluje svůj vlastní transport

Kanalizační hypotéza

Plant morphogenesis: long-distance coordination and local patterning. Thomas Berleth and Tsvi Sachs, *Current Opinion in Plant Biology* 4: 57-62 (2001).



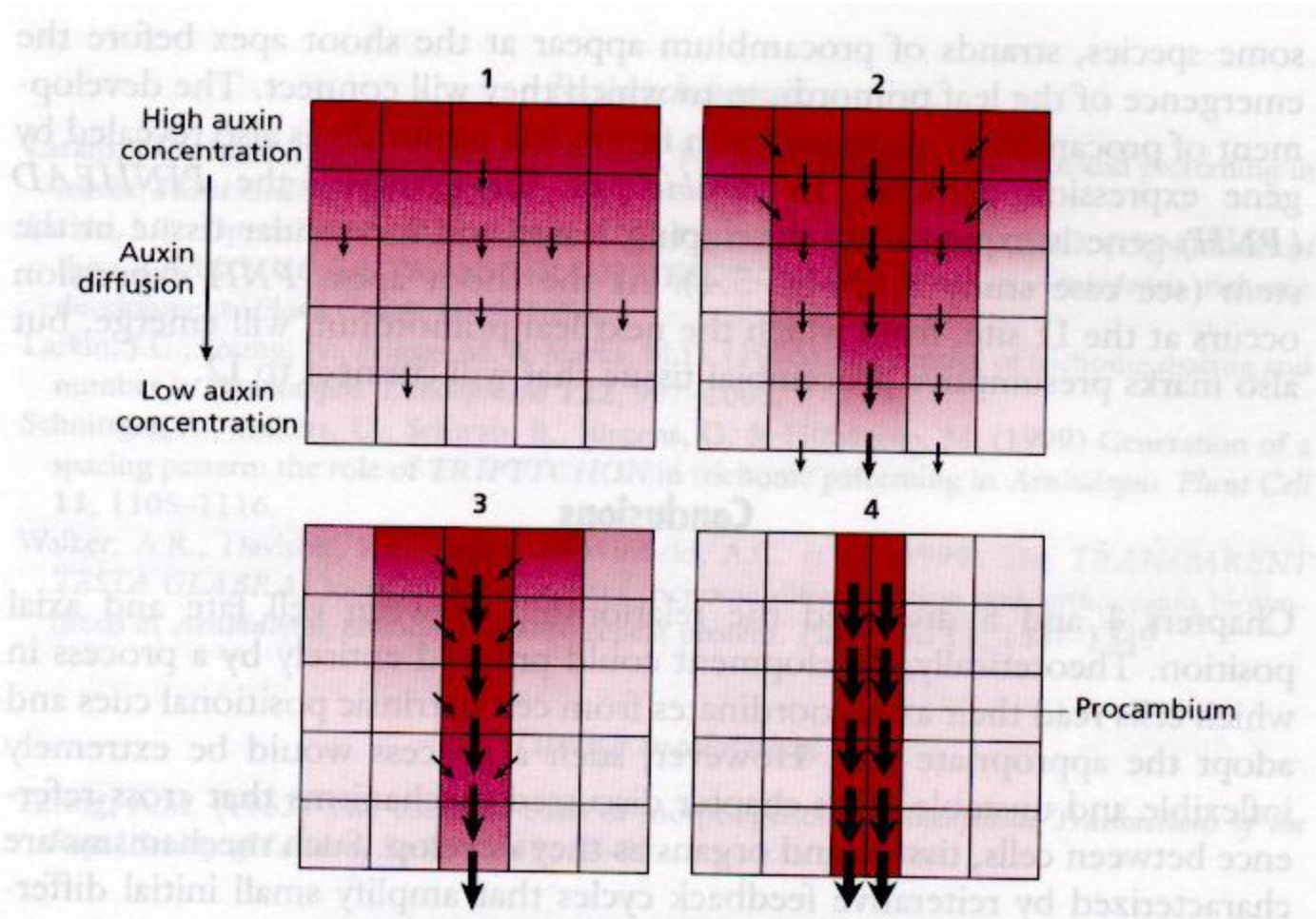
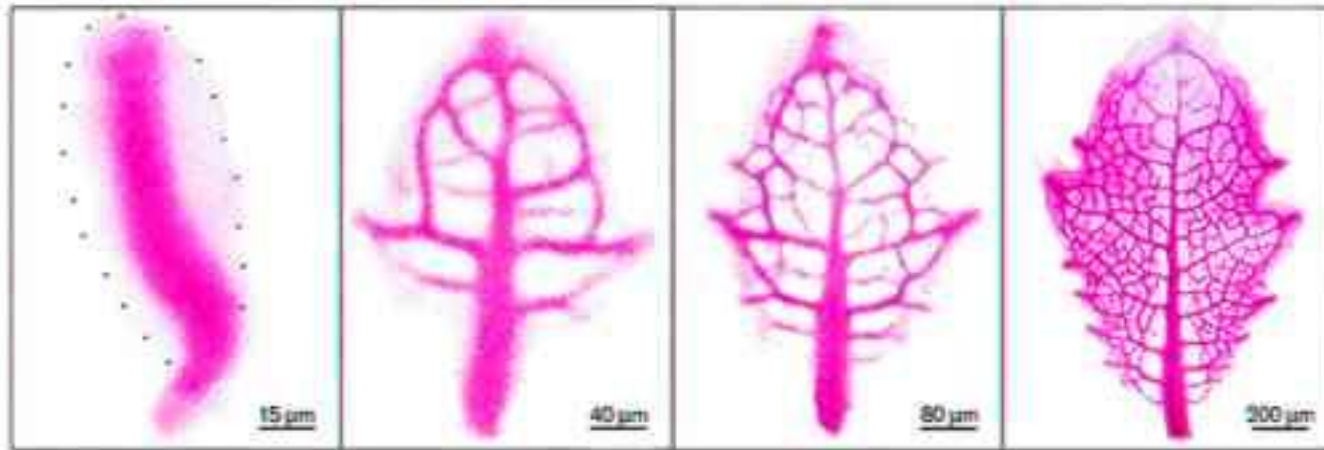


Fig. 6.15 The canalization hypothesis for auxin flow and vascular development in leaves. Auxin levels are shown in red, and polar auxin transport is indicated by arrows. 1, Cells exposed to a gradient of auxin begin net auxin transport in the direction of auxin diffusion. 2, 3, Positive feedback results in the channelling of auxin into an increasingly narrow strand of increasingly polarized cells. 4, Auxin concentration in the strand rises above the threshold required for differentiation into procambium.

3. *Arabidopsis* mutants with defects in auxin traffic or perception have a disrupted vasculature.



The expression of a reporter genes associated with vascular cell fate (derived from a homeodomain transcription factor, ATHB-8) is progressively refined during leaf development. This may reflect a progressive refinement, or "canalisation" of auxin transport.

Konektivita vodivých pletiv listů závisí na transportu IAA.

Autoregulační polarizované strukturované toky auxinu celou rostlinou jsou klíčovou složkou poziční informace u rostlin a koordinují celkovou morfogenezi organismu.

„Realistický“ model fylotaxe zahrnuje toky IAA

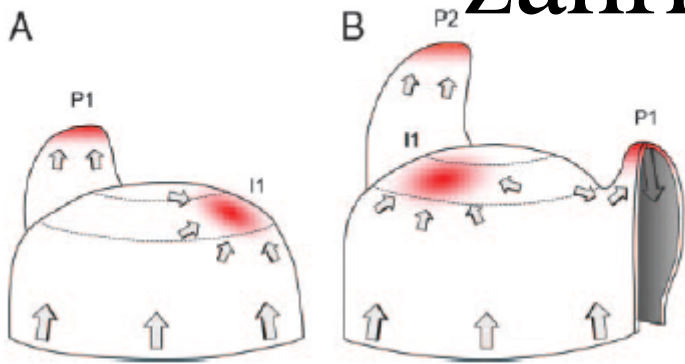
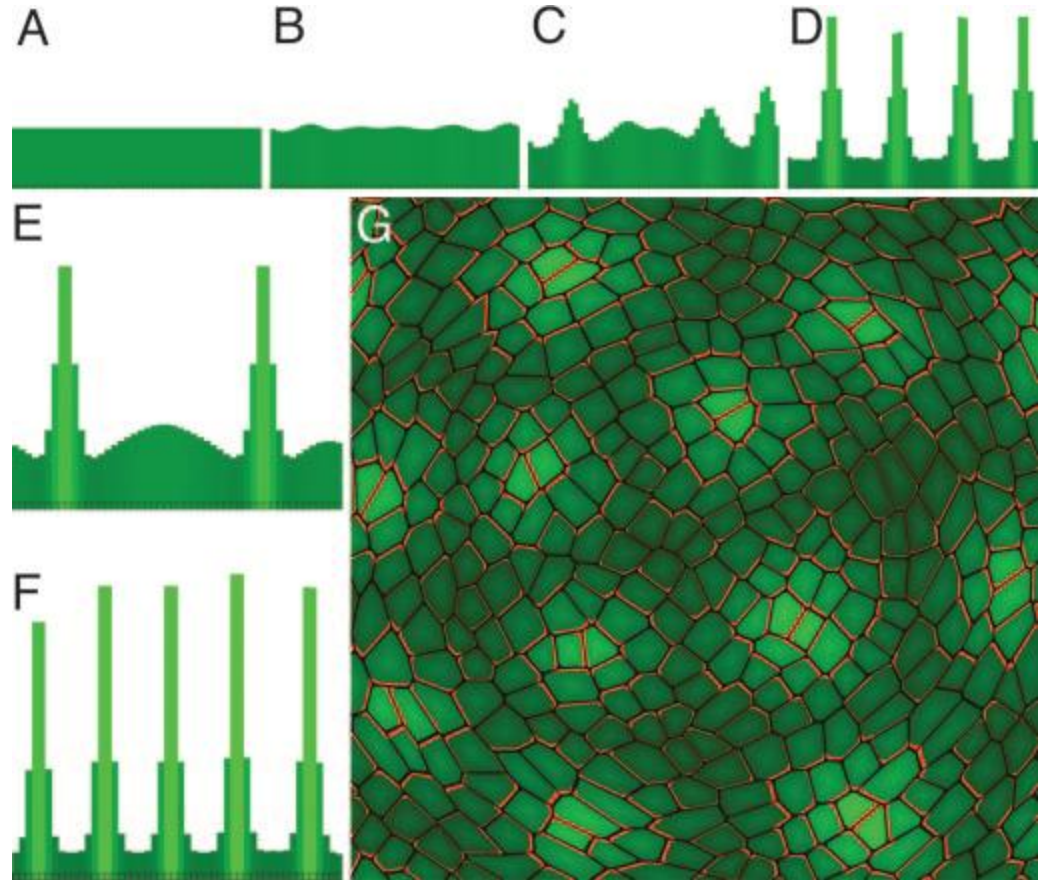


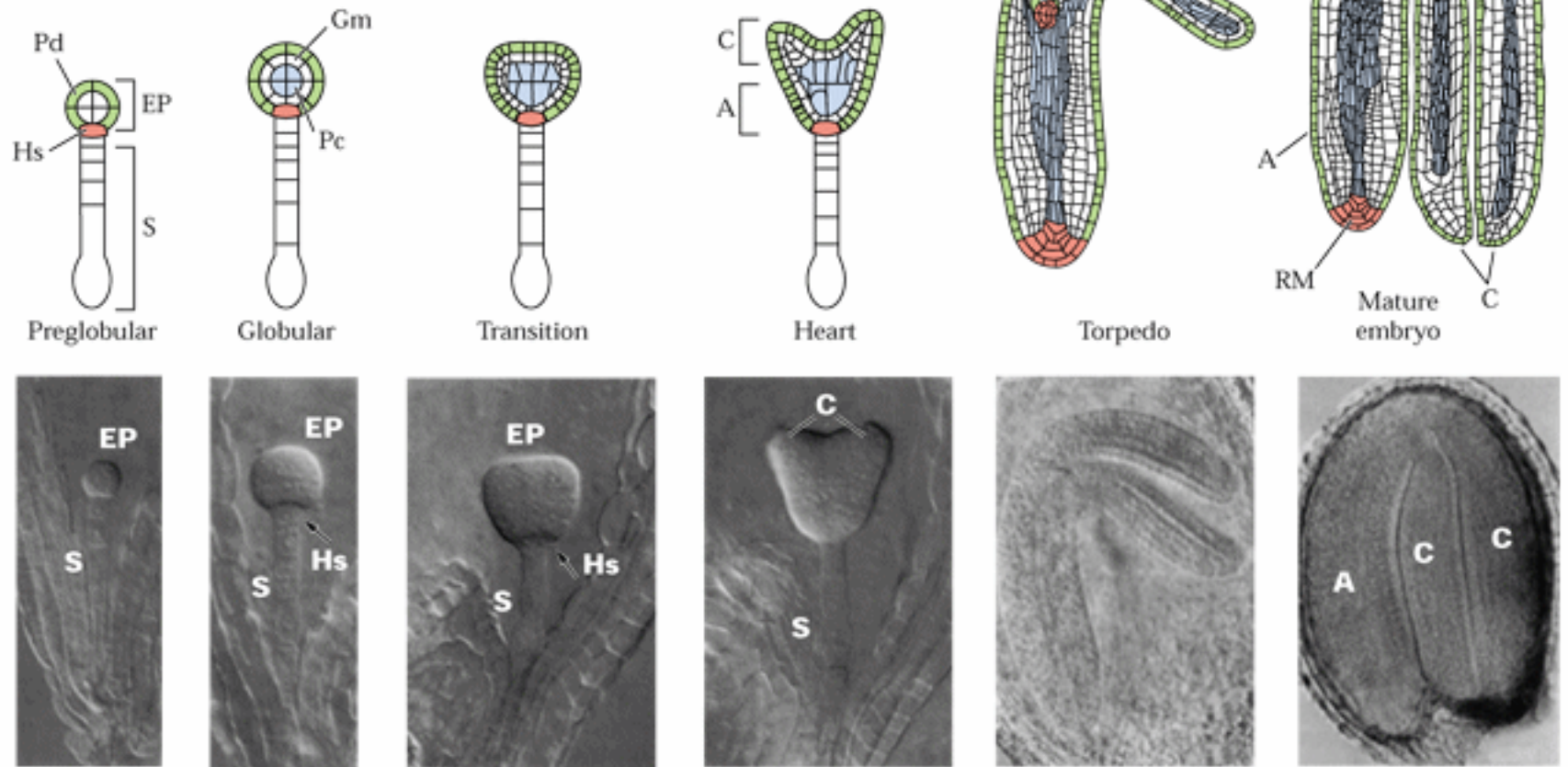
Fig. 1. Conceptual model of the regulation of phyllotaxis by polar auxin fluxes in the shoot meristem. Adapted from ref. 10. (A) PIN1 orientation directs auxin fluxes (arrows) in the L1 layer, leading to accumulation of auxin (red color) at the initiation site (I1) in the peripheral zone. This accumulation eventually results in organ induction. (B) Later, basipetal PIN1 polarization inside the bulging primordium (P1) drains auxin into inner layers, depleting the neighboring L1 cells. As a consequence, another auxin maximum is created in the peripheral zone at position I1 removed from primordia P1 and P2.



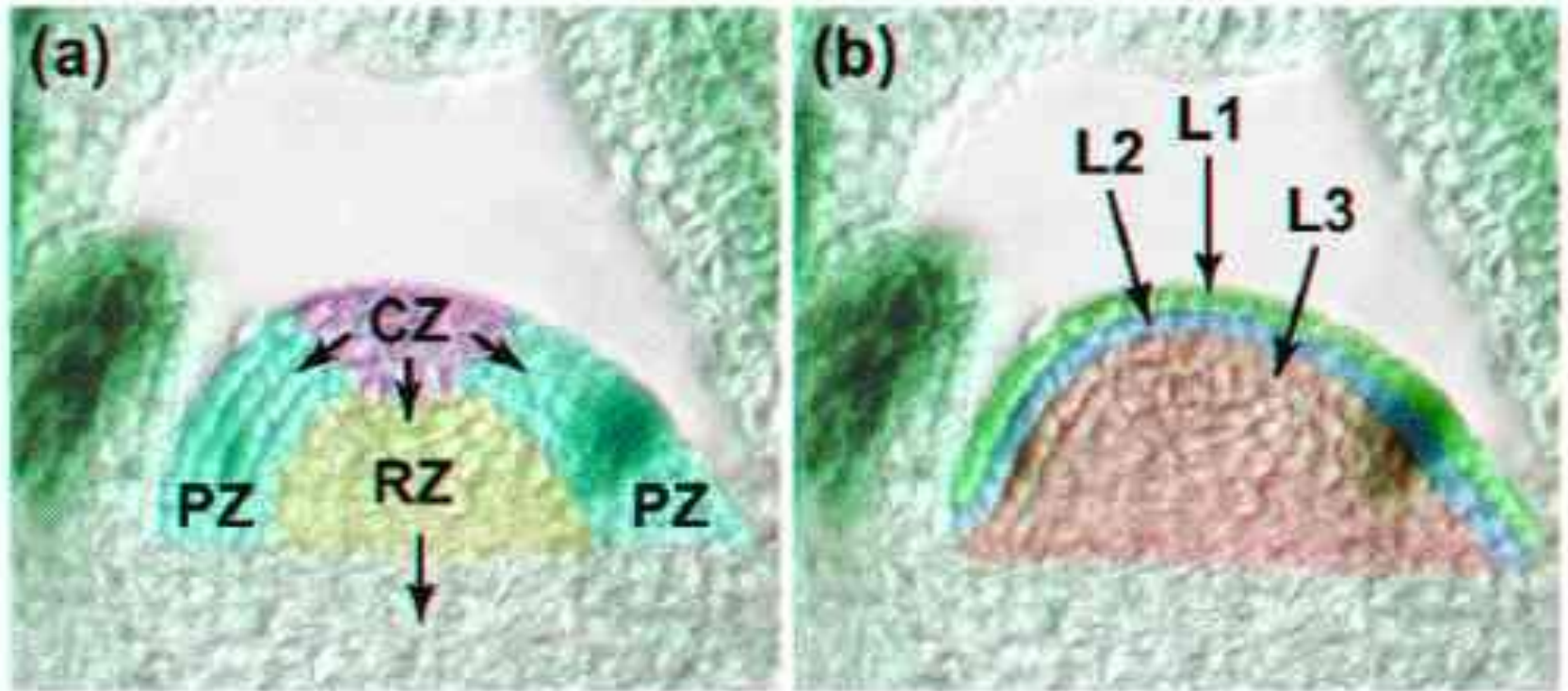
Pattern generation by the transport-based model. (A–D) Pattern emergence in a sequence of 50 cells with wraparound boundary conditions (the leftmost and the rightmost cell are considered neighbors). Taller bars (brighter green) indicate higher IAA concentration. Simulation steps 30, 60, 70, and 80 are shown. A small amount of noise is required to break symmetry. (E and F) Pattern dependence on model parameters. Higher values of the transport coefficient result in more peaks (G) Pattern formed in a simulated cellular structure. PIN1 is depicted in red.

(R.S. Smith et al., PNAS 2006)

Apikální meristém dokončuje diferenciaci až po vyklíčení



Domény apikálního meristému



Mutanti s poruchami vývoje apikálního meristému *shoot meristemless* (*stm*) a *clavata* (*clv*)

stm

WT

clv1,2,3

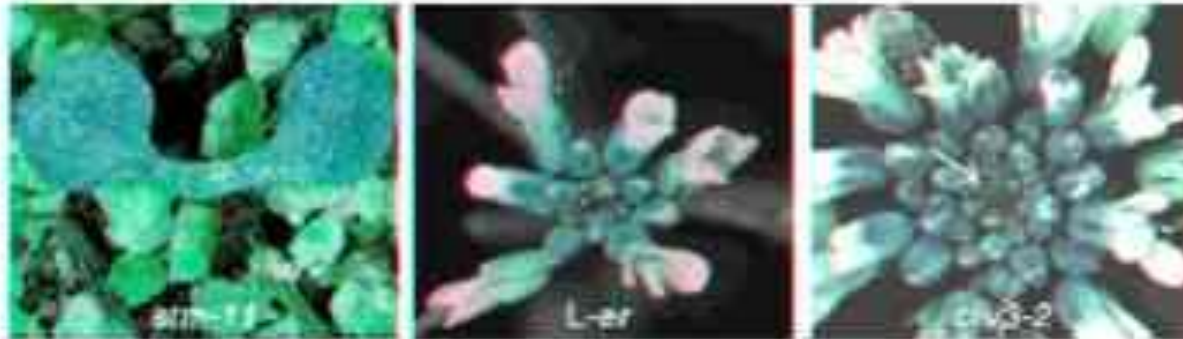
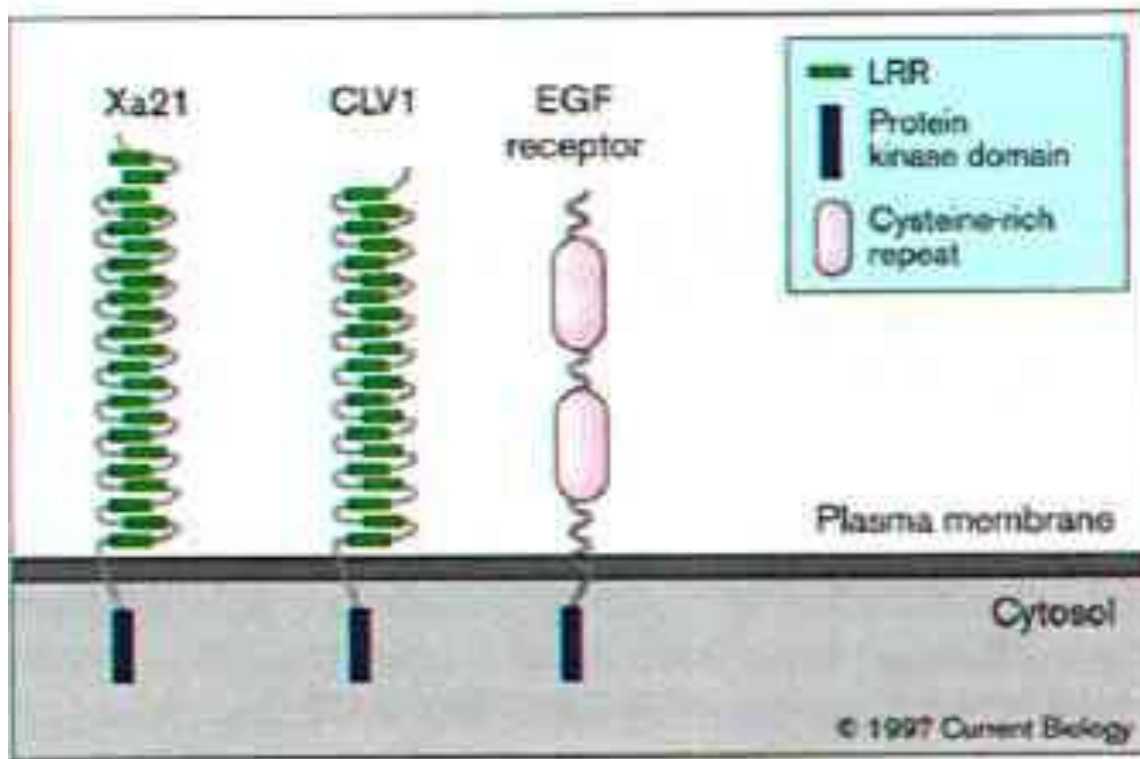


Figure 2. Arabidopsis shoot apical meristem mutants with an altered balance between *stm* cell accumulation and organogenesis. **Left panel:** Top view of a *shootmeristemless* (*stm*) mutant seedling. The two embryonic leaves (cotyledons) have expanded but no SAM is detected between them. **Center panel:** Top view of a wild-type (*Arabidopsis thaliana*) shoot apical meristem after the transition to flowering. The SAM grows as a point, and produces flowers in a spiral pattern with the youngest floral meristems closest to the center. **Right panel:** Top view of a *clavata* (*clv*) mutant shoot apical meristem after the transition to flowering. The grossly enlarged SAM grows as a mound rather than a point (arrow), and produces superfluous flowers containing extra organs of all types.

STM je homeobox-like TF, zatím co CLV1 je...

Lokus CLAVATA 1 kóduje receptorovou kinázu interagující s peptidem Clavata 3

The CLAVATA1 gene encodes a putative receptor kinase that controls shoot and floral meristem size in Arabidopsis. Clark, S. E.; Williams, R. W.; Meyerowitz, E. M. Cell, 89: 575-85 (1997).



Aktivita **WUS** udržuje zárodečný charakter iniciál apikálního meristému – **stimuluje expresi genu CLV3**, ale sám je **aktivitou genů CLV inhibován**.

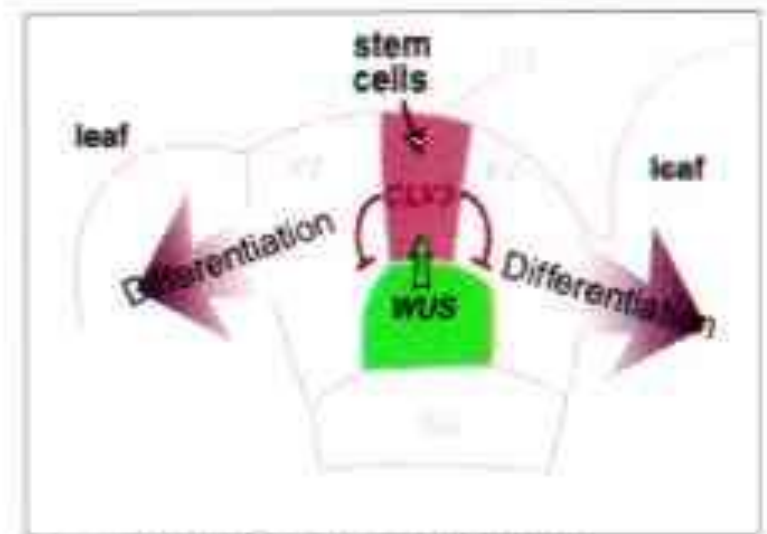
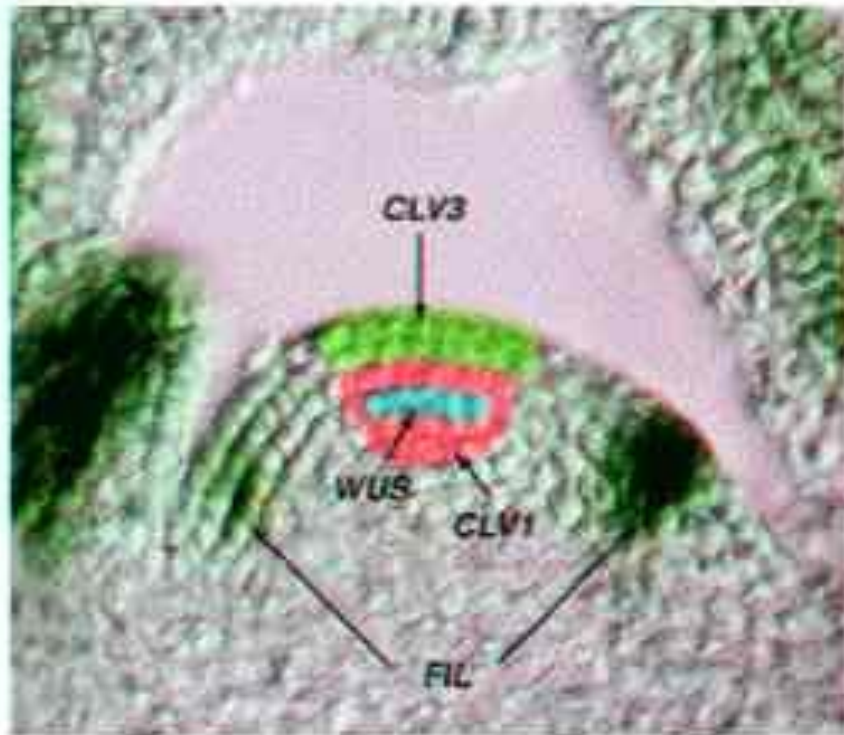
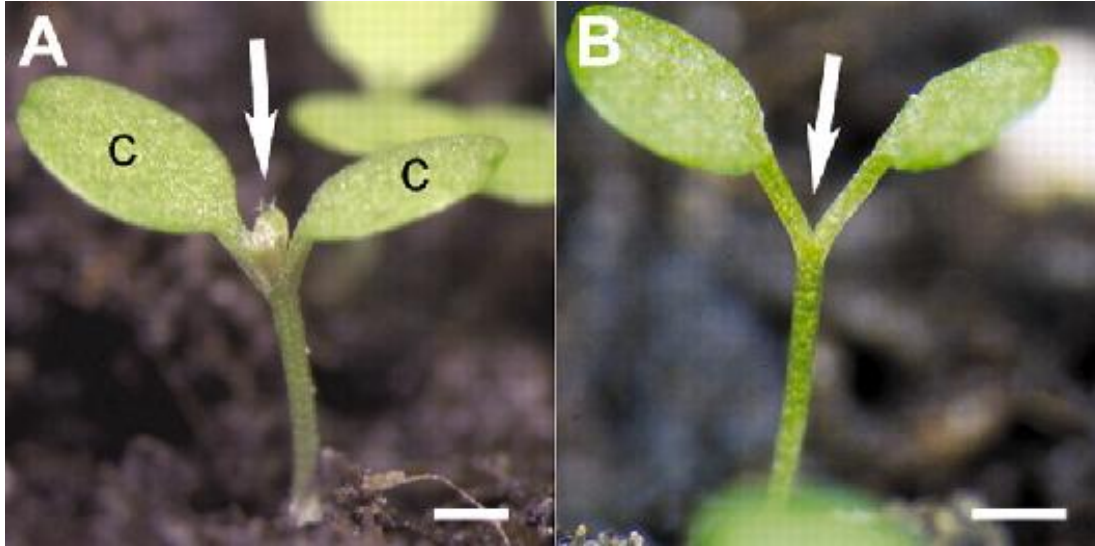


Figure 7. Model for Shoot Meristem Maintenance

Defining the shoot apical meristem

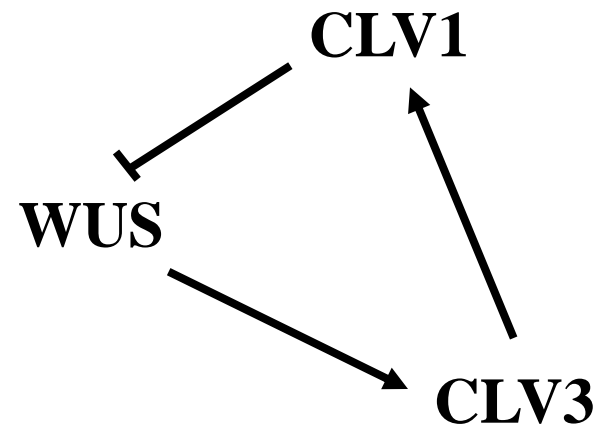


wt

wuschel



clavata



Meristém jako sebeudržující rovnovážný systém

1. Udržuje skupinu dělivých/zárodečných buněk v centrální oblasti.
2. Iniciuje diferenciaci buněk a tvorbu orgánů v periferní zóně
3. Udržuje dynamickou rovnováhu mezi těmito procesy



Nach der Entfernung eines Keimblattes wird der Sproßapex in dem reifen Embryo von *Arabidopsis thaliana* sichtbar. Der Pfeil deutet den Bereich an, in dem sich das primäre Sproßmeristem befindet.

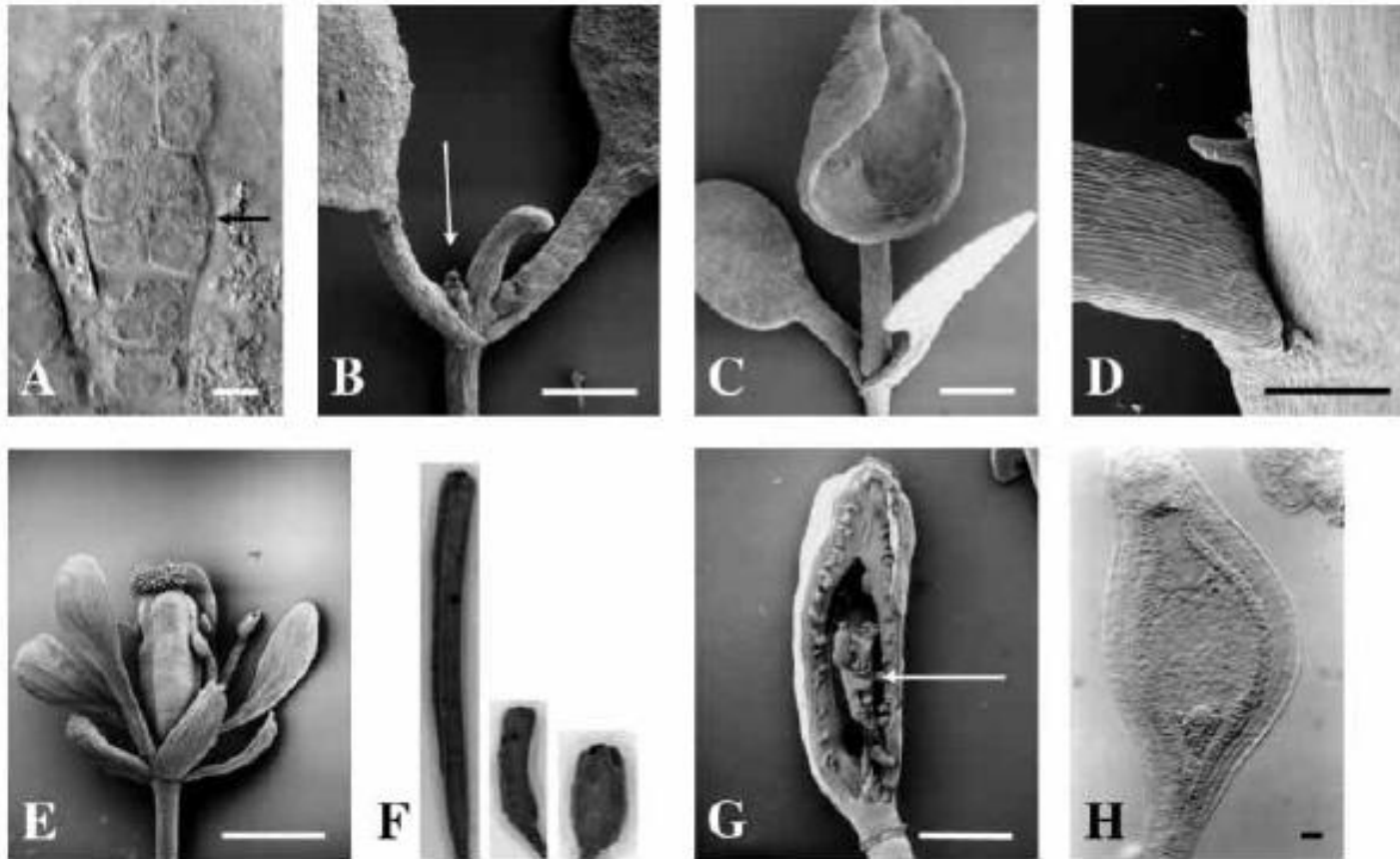
Rozvrhování postembryonálního vývoje je **determinované jen zčásti**

Modely k demonstraci mechanismů:

vývoj již založeného listu

vývoj květu

...poté co už se rozhodlo o kvetení

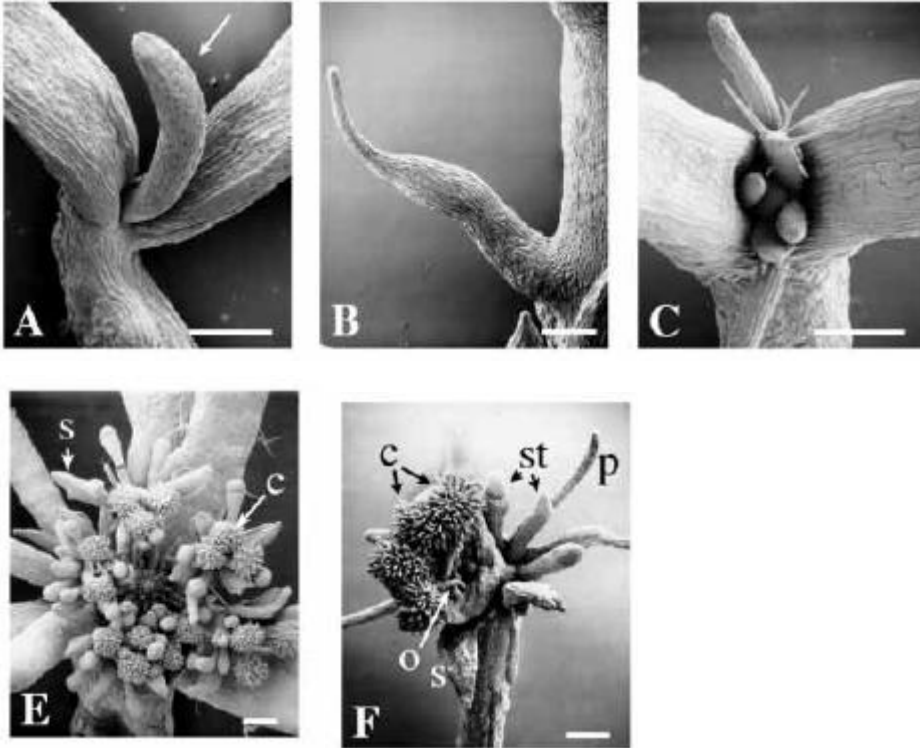


pinhead/zwille

Defekt SAM ...

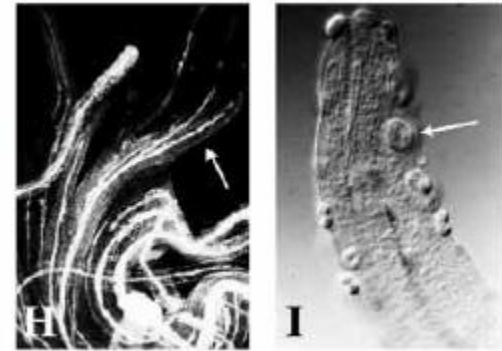
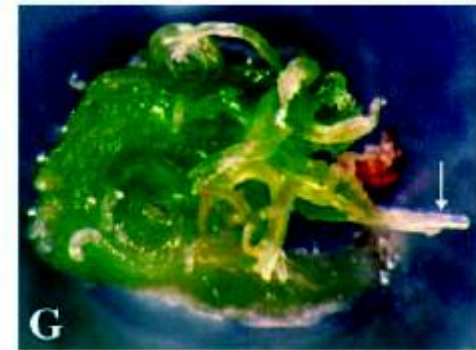
Fig. 2. Phenotypes associated with *pnh* mutants. (A) Abnormal embryo. The upper cells of the suspensor have divided aberrantly (arrow); see Fig. 3B for wild-type appearance. (B) Seedling in which a radially symmetric pin-like structure is in the position normally occupied by the SAM. After a delay, new meristems arise in the axils of the cotyledons (arrow). (C) Seedling in which a trumpet-shaped leaf is in the position normally occupied by the SAM. Adaxial tissue is on the inside of the 'bell', abaxial on the outside. (D) Primary inflorescence axil showing barren axil phenotype. (E) Flower in which the gynoecium is made up of several carpels. (F) Siliques from wild-type Ler (left), *pnh* (center), and *ago/+; pnh/pnh* plants. (G) Arrow points to ectopic carpels found interior to the normal fourth whorl carpels. (H) 'Linear' ovule. Bar, 25 μ m (A,H); 1 mm (B,C,E,G); and 250 μ m (D).

...a určení adax/abax polarity

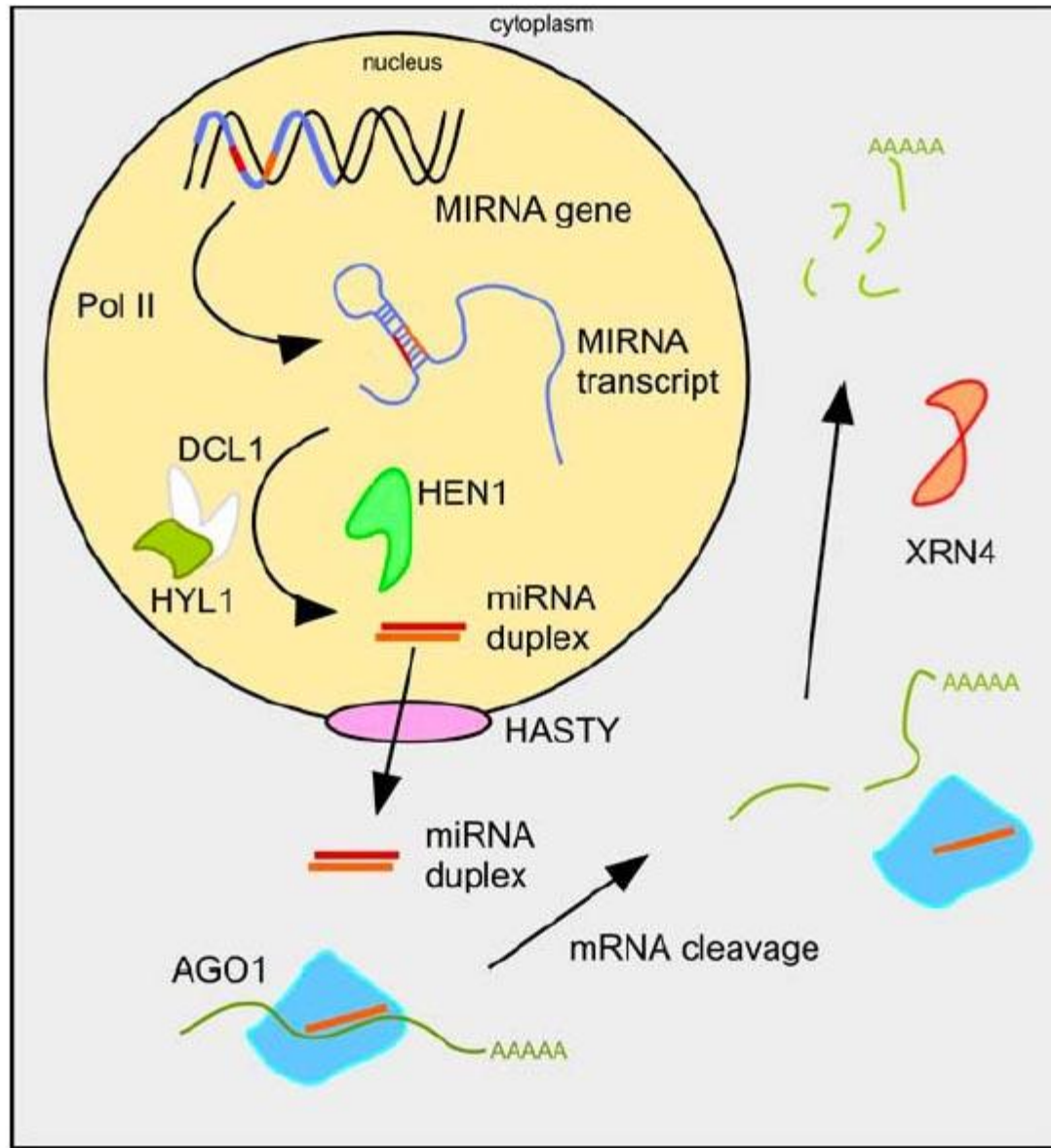


argonaute

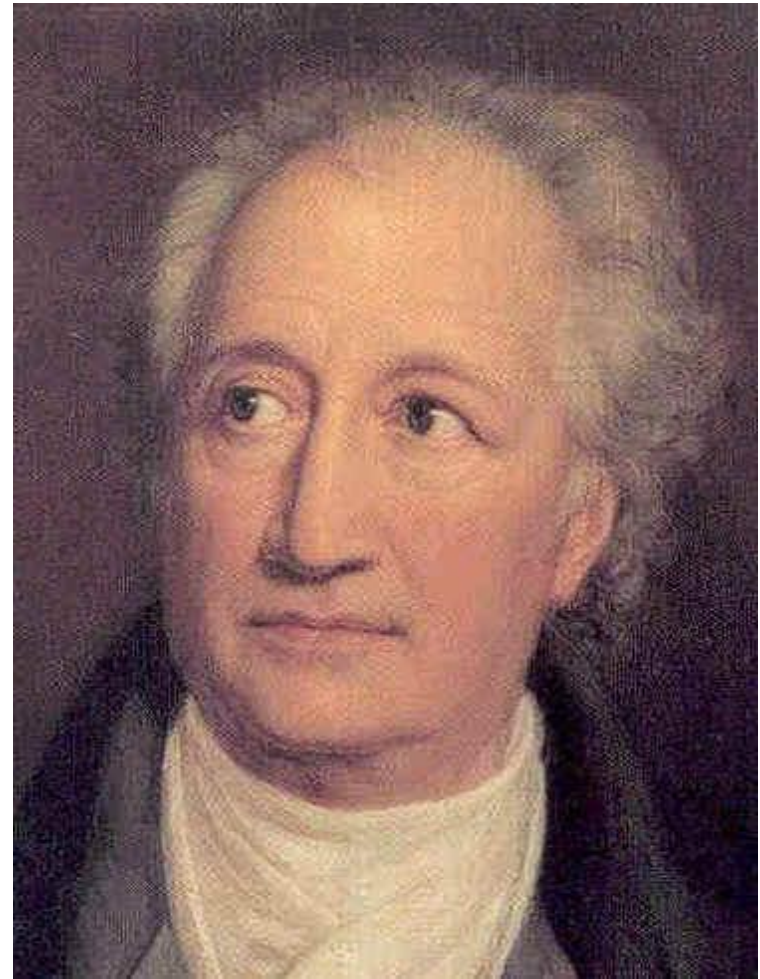
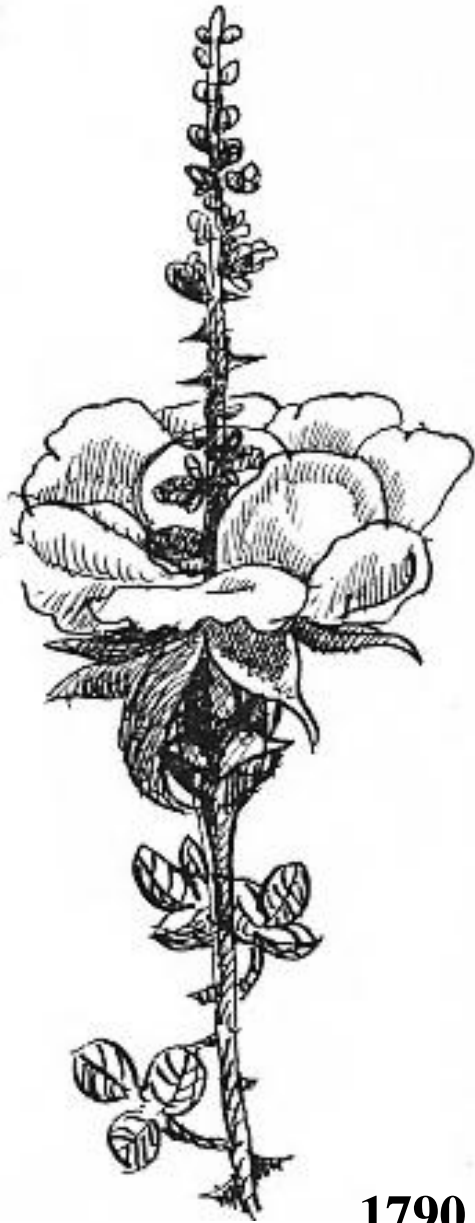
AGO1:
RNA binding
some mutants defective root
patterning (extra ground tissue
layers)



ago1/ago1 pnh/+



Biogenesis and action of microRNAs in plants
 modified from Kidner et al. (2005)



J.W.Goethe
1749-1832

1790 - Versuch die Metamorphose der Pflanzen zu erklären

LEAFY - *lfy* je dominantní regulátor/udržovatel identity květního meristému

A - mutant vytváří místo květů listovité sekundární výhony

B - 35S::*LFY* exprimuje *Lfy* konstitutivně a vytváří květy místo sekundárních výhonů z růžice.

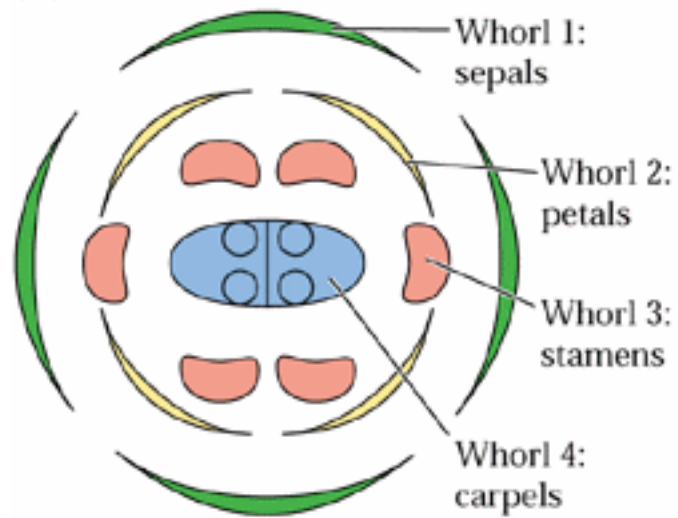
[A]



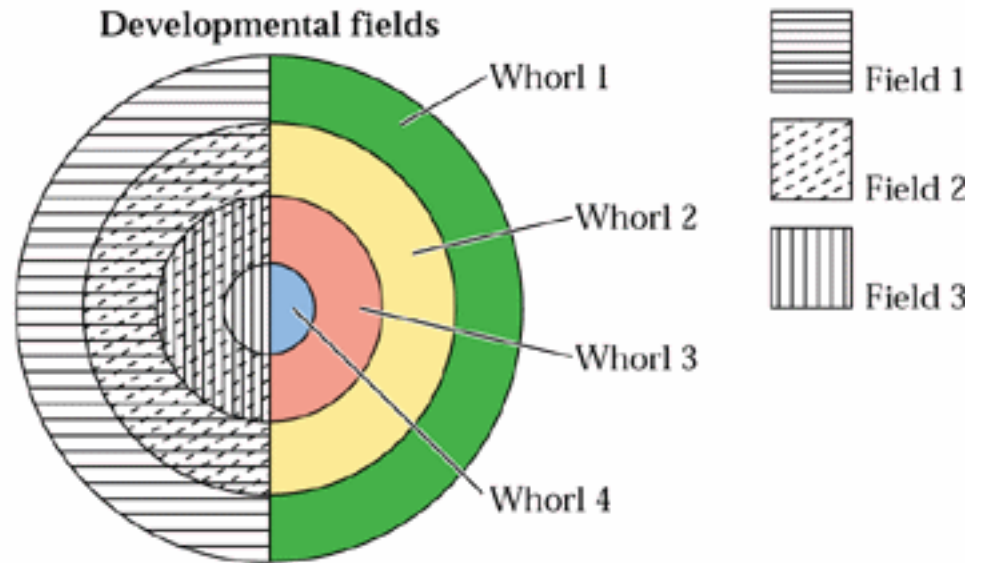
[B]



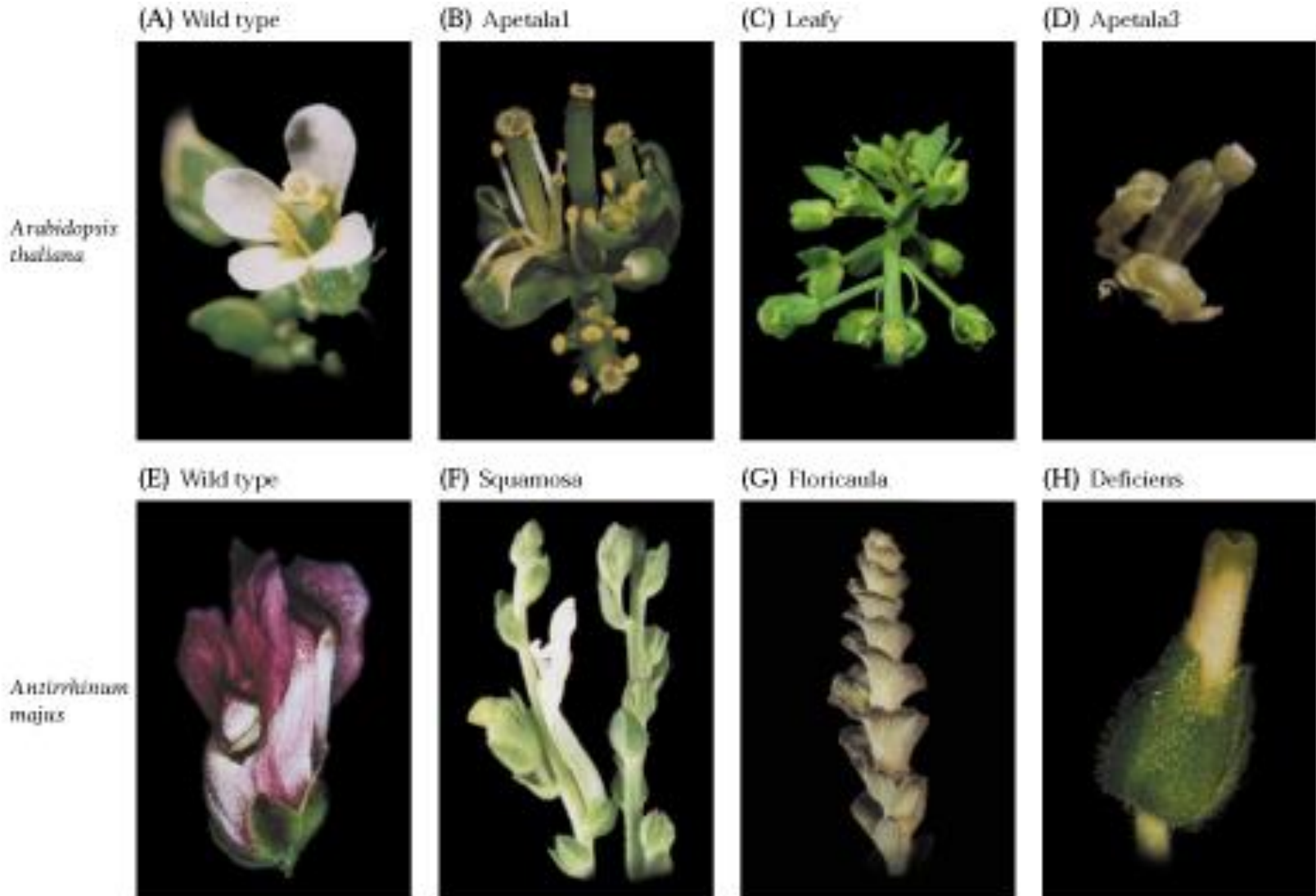
(A) Floral whorls



Developmental fields

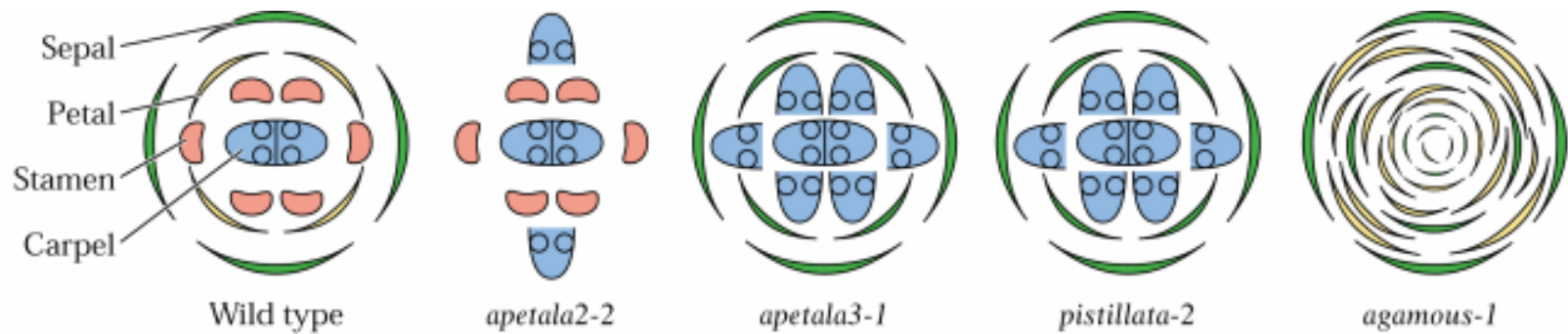


Homeotiční květní mutanti

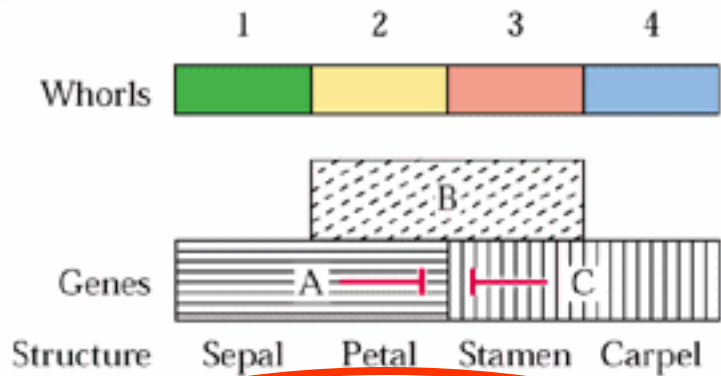


analogie s homeotickými mutanty r. *Drosophila*...

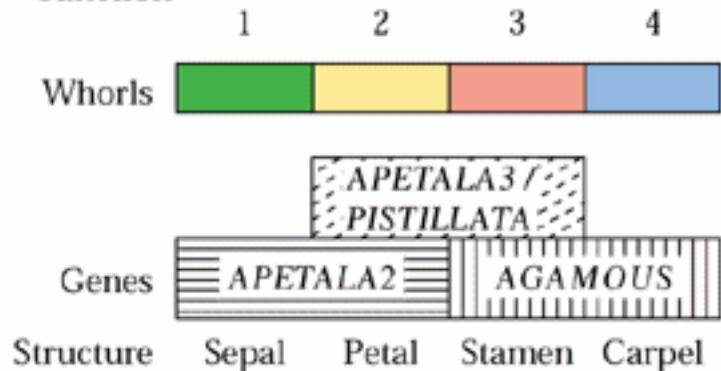
Přehled homeotických květních mutantů



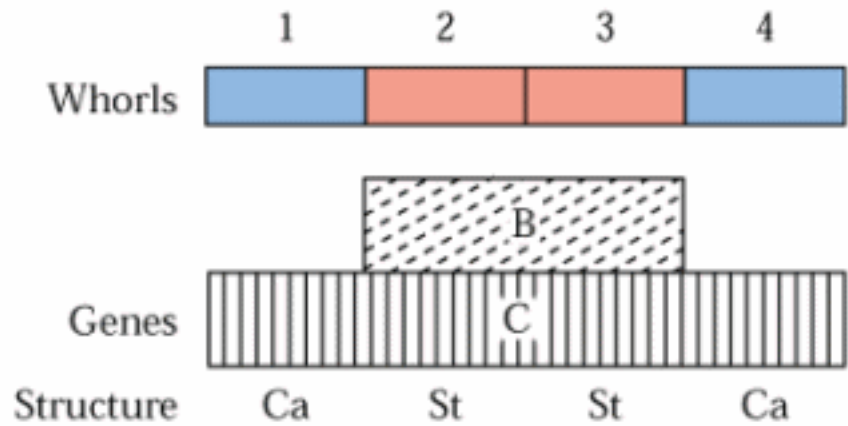
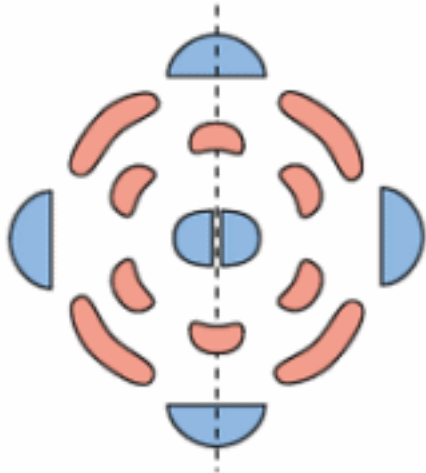
(B) Combination ABC model



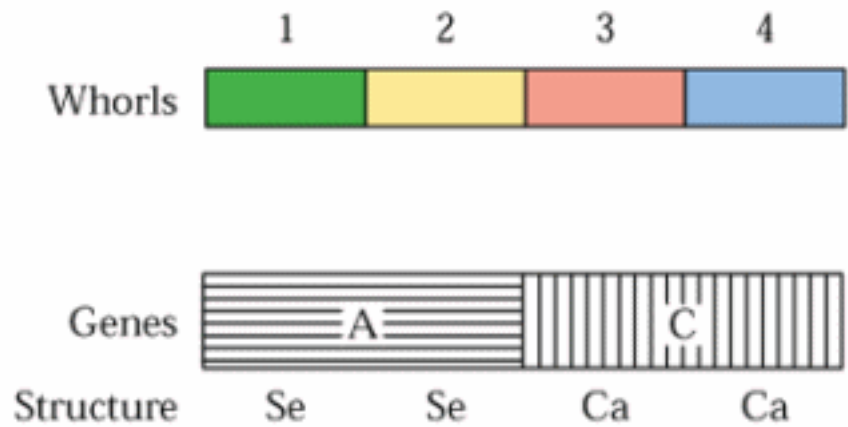
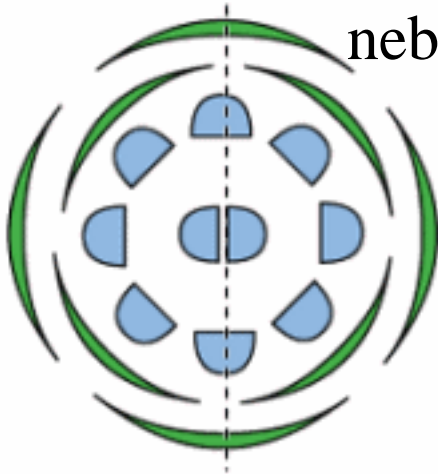
(C) Original ABC genes and their proposed function



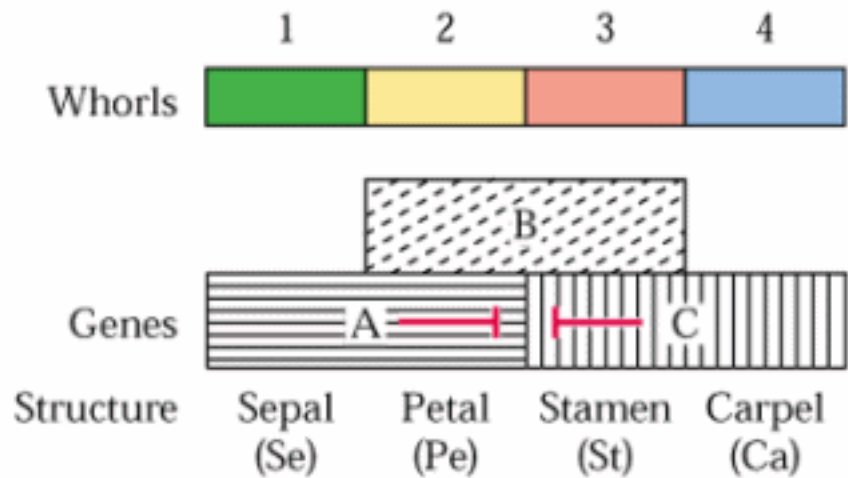
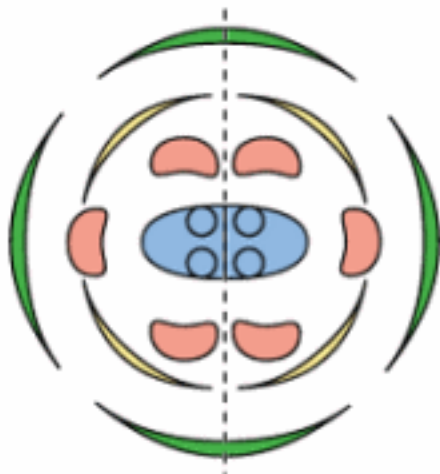
Loss of A function *apetala 1*



Loss of B function *pistillata*
nebo *ap3*

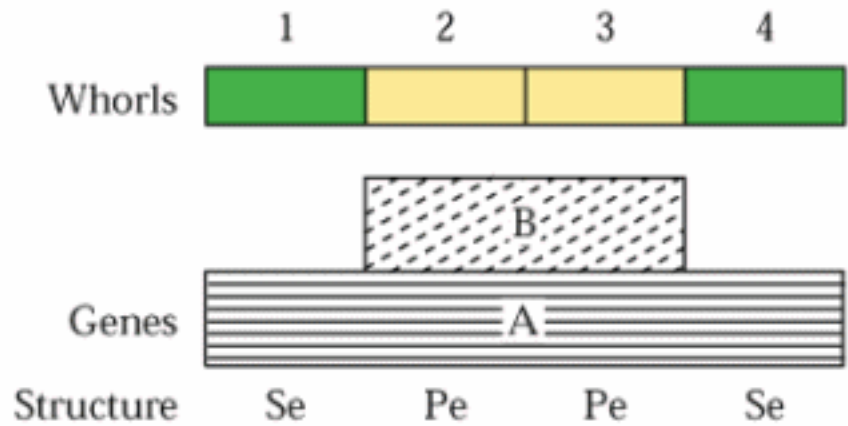
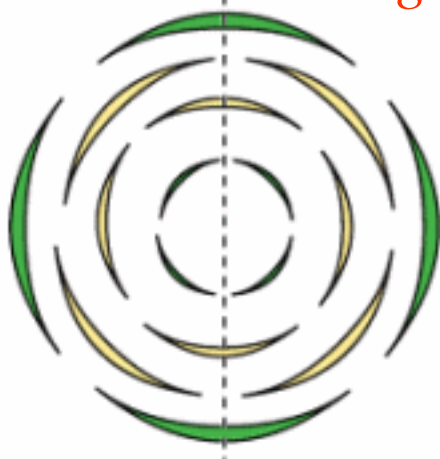


Wild type

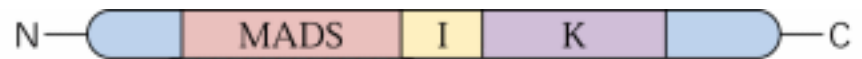


Loss of C function

agamous



**Většina z nich jsou - MADS box
transkripční faktory**



Ceratopteris (CRM1)

Antirrhinum (DEFICIENS)

Arabidopsis (AGL-15)

Consensus (Plants)

M	V	R	R	K	I	K	I	E	N	A	T	T	R	Q	V	T	F	S	K	R	R	G	G	L	L	K	K	A	H	D	L	S	V	L	C	D	A	E	V	A	V	I	I	F	S	S	K	G	K	L	F	Q	F			
M	A	R	G	K	I	Q	I	K	R	I	E	N	Q	T	N	R	Q	V	T	Y	S	K	R	R	N	G	L	F	K	K	A	H	E	L	S	V	L	C	D	A	K	V	S	I	I	M	I	S	S	T	Q	K	L	H	E	Y
M	G	R	G	K	I	E	I	K	R	I	E	N	A	N	S	R	Q	V	T	F	S	K	R	R	A	G	L	L	K	K	A	H	E	L	S	V	L	C	D	A	E	V	A	V	I	V	F	S	K	S	G	K	L	F	E	F
M	G	R	G	K	I	E	I	K	R	I	E	N	-	T	N	R	Q	V	T	F	S	K	R	R	N	G	L	L	K	K	A	H	E	L	S	V	L	C	D	A	E	V	A	L	I	I	F	S	S	R	G	K	L	F	E	F

Kvést či nekvést?

Přechod do generativní fáze
už není naprogramovaný ...

...je ovlivněn řadou vnějších i
vnitřních faktorů. Stářím rostliny,
teplotou, fotoperidou, dostupností
živin.

Jarovizace je epigenetický proces = demethylace DNA a modifikace chromatinu

(A)



0 days of
vernalization at 4°C

(B)



100 days of
vernalization at 4°C

Přísně buněčně autonomní – působí pokles exprese lokusu FLC.

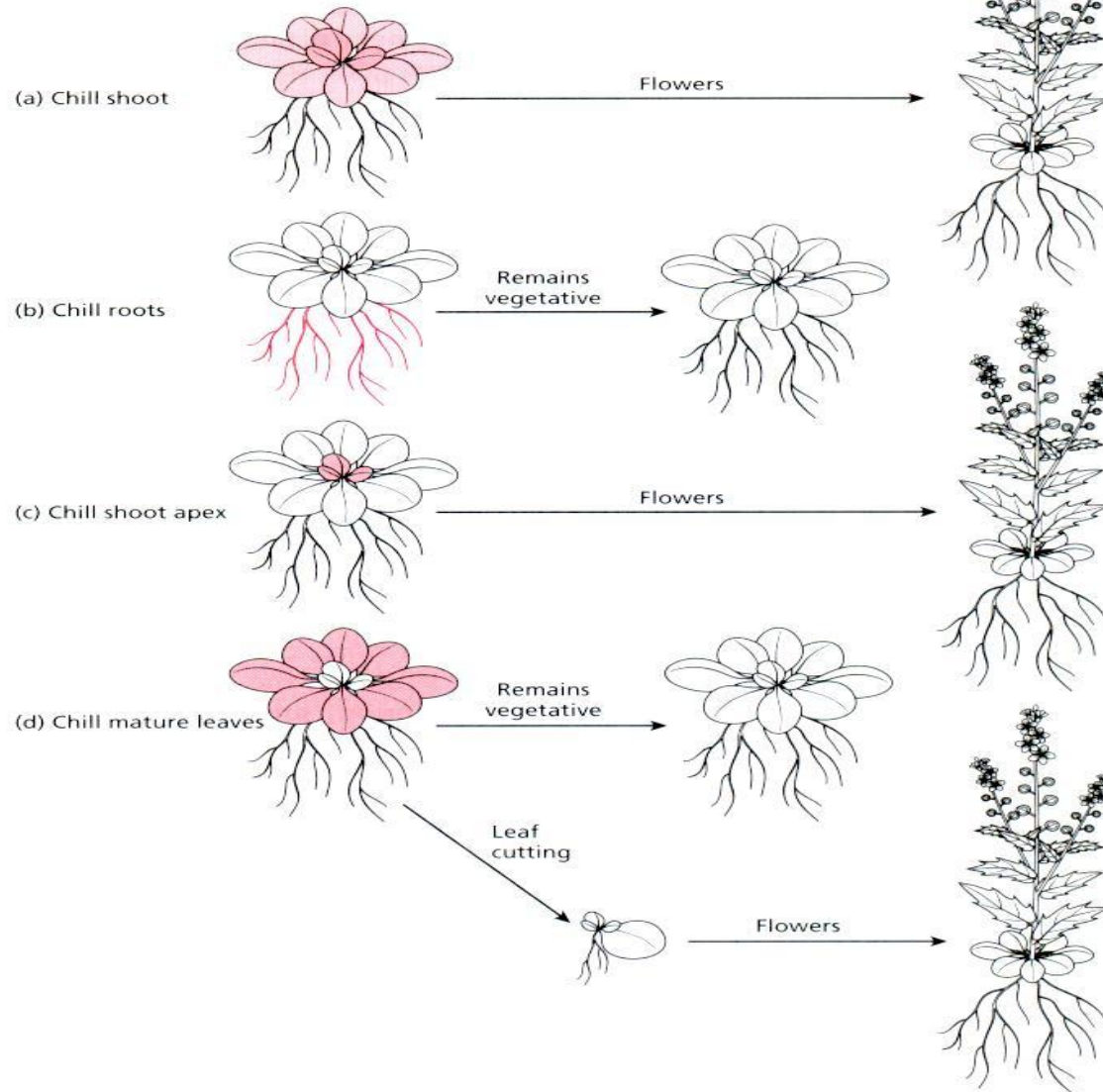
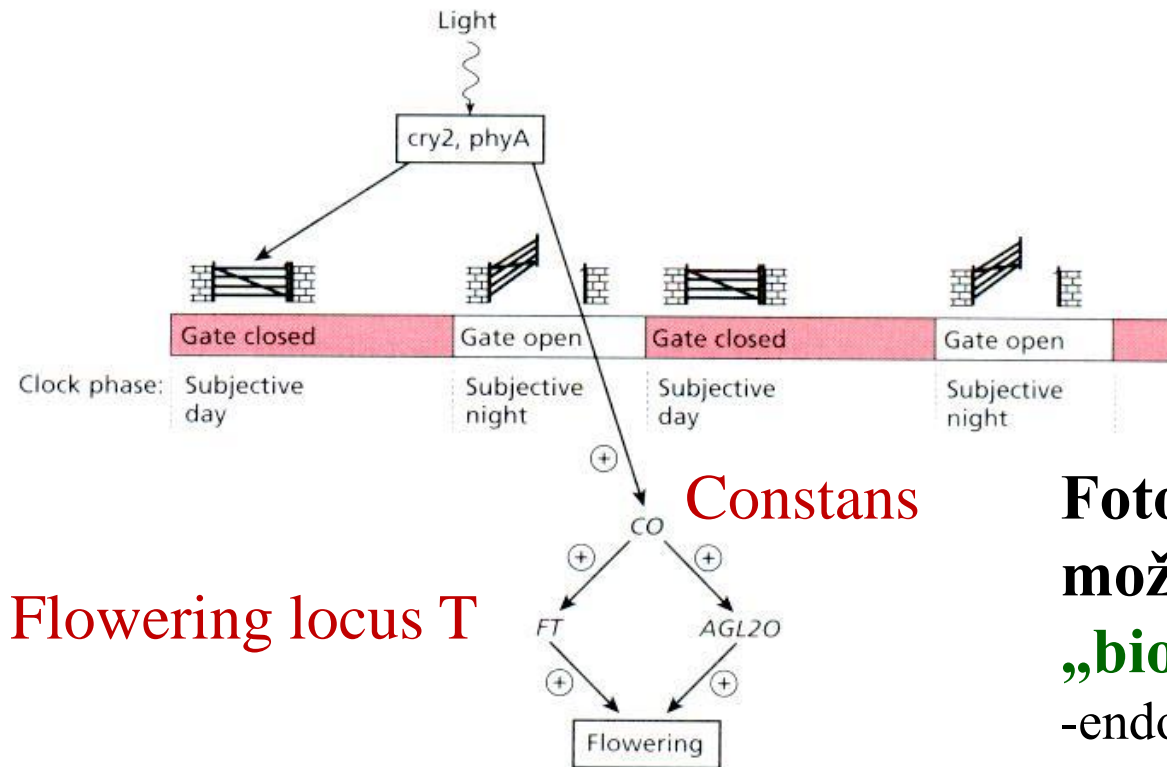


Fig. 8.10 The effects of vernalizing different regions of *Thlaspi arvense* (field pennycress). *Thlaspi arvense* has an absolute vernalization requirement and will not flower unless subject to a cold period. Flowering can be induced by specifically chilling the whole shoot (a) or only the shoot apex (c), but not by chilling only the roots (b) or only mature leaves (d). However, a leaf cutting taken from a chilled leaf will flower (d). These results suggest that vernalization acts at a local level in the plant.

Kontrola kvetení délkou dne

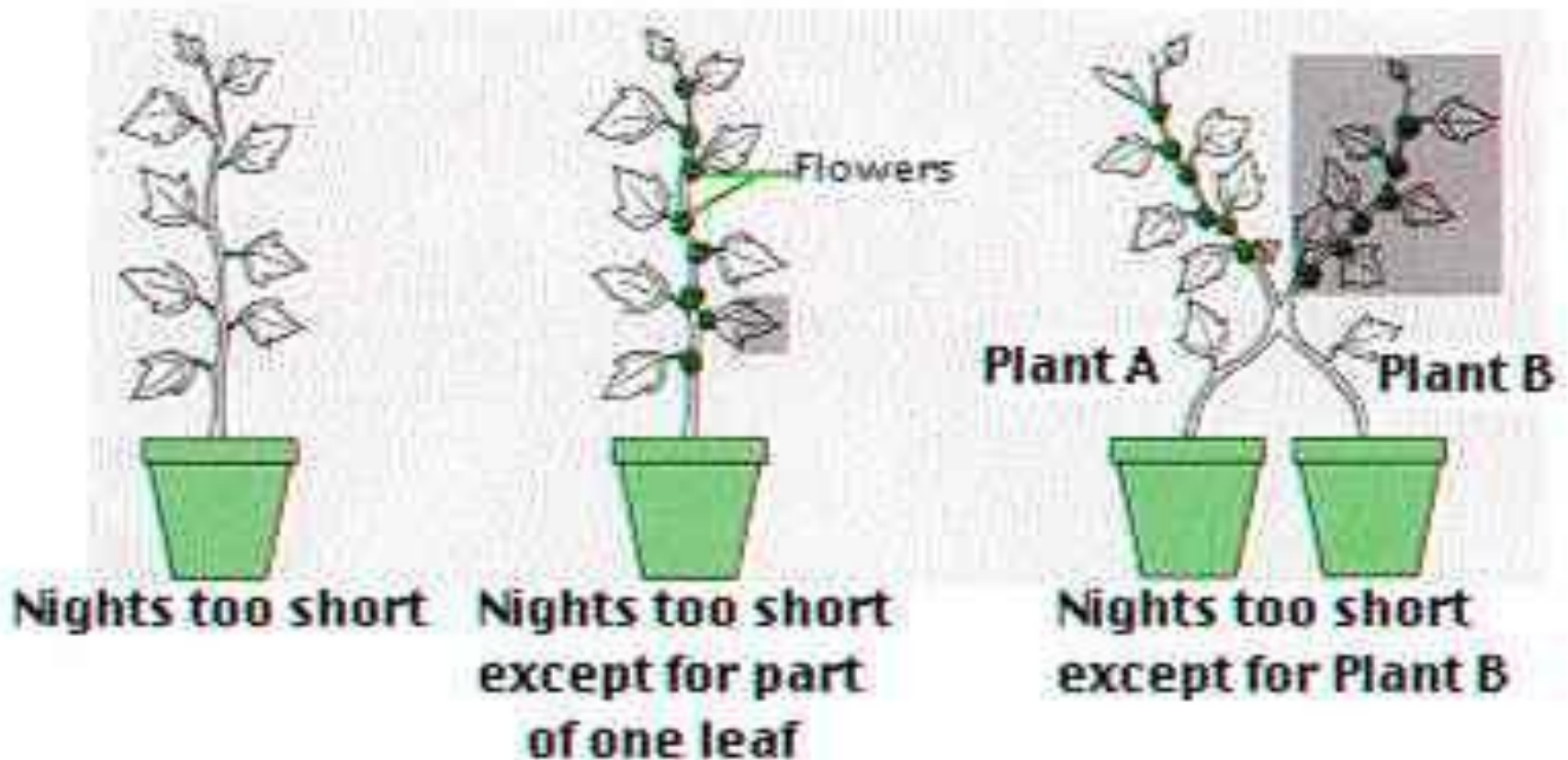


Fotoperiodická reakce je možná jen když fungují „biologické hodiny“ -endogenní oscilátor

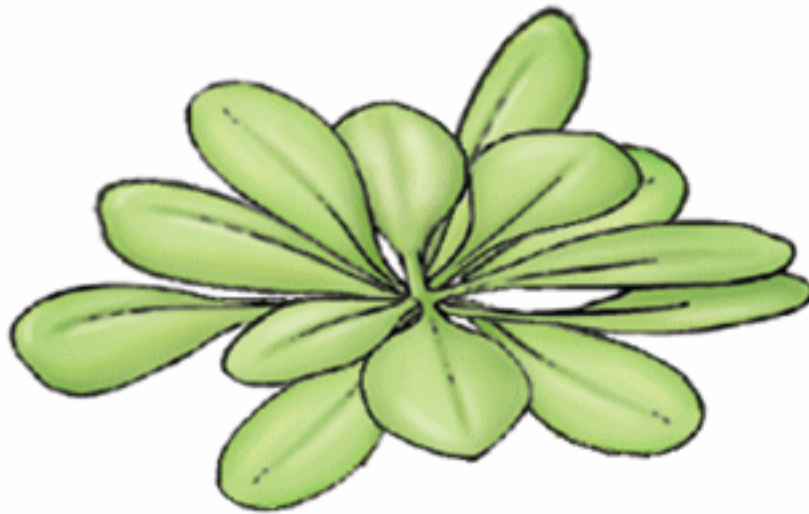
Fig. 7.12 A model for the photoperiodic regulation of flowering in *Arabidopsis*. The photoperiodic response is induced by light absorbed by cry2 and phyA. When the circadian clock is in the day phase, signal transduction between these photoreceptors and CO is blocked. When the clock is in the night phase, signal transduction is allowed, increasing CO expression and inducing flowering. Hence flowering is induced when night length is shorter than the period for which the gate is open. Arrows accompanied by a 'plus' sign indicate positive regulation.

Dálkový přenos „florigenu“ po rostlinném organismu.

Je možné, že dálkově přenášeným signálem je nízkomolekulární bílkovina.



(A)



Wild-type control
(ecotype *Landsberg erecta*)

(B)



35S::CO transformant

Flowering locus T a Constans

- *CO* sám o sobě není florigen.
- Je exprimován a působí výhradně v doprovodných buňkách floemu aktivací *FT*.
- *FT* je exprimován v různých pletivech a aktivován různými drahami. Je pravděpodobné, že působí buněčně neautonomě (23kDa). *Je to pravděpodobně dominantní složka „florigenu“.*
- *CO* působí ještě přes další *FT* nezávislou dráhu.

Fotomorfogenese: světlo není jen zdroj energie, ale také morfogenní signál.



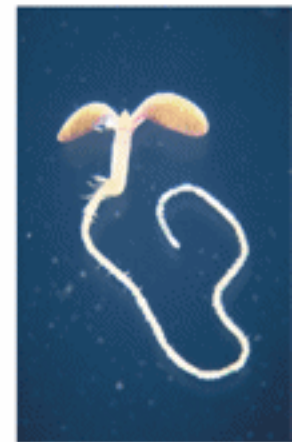
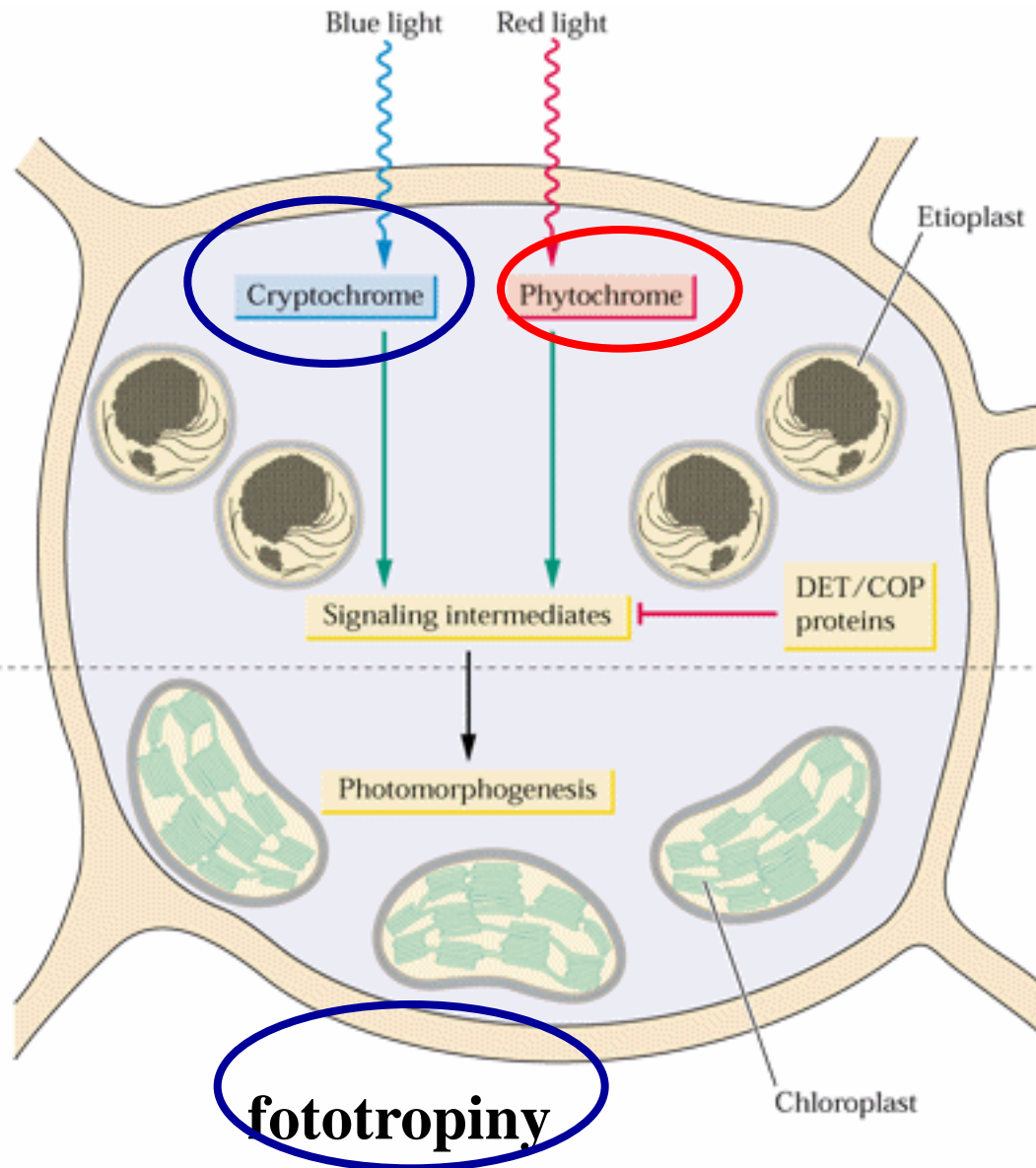
Deetiolated/constitutive photomorphogenesis (*det/cop*) mutanti Arabidopsis

WT

det/cop



Wild-type plants



det/cop mutants

COP9 complex/SIGNALOSOM

- strukturně podobný víku proteasomu
- podílí se na regulaci degradace bílkovin řízením aktivity E3 ligáz neddylací a deneddylací.

- Účinné vlnové délky světla fotosyntézy a fotomorfogeneze se značně překrývají.
- **Dlouhovlnné červené světlo** není fotosyntet. využitelné a slouží jako indikátor vegetačního zastínění.
- Rostlina reaguje na směr, intenzitu, spektrální složení a trvání světla.
- Rostlina pro svůj růst a vývoj integruje různé druhy informace přinášené světlem.

Rekapitulace II

- Klíčovou roli v rostlinné ontogenezi má orientovaný růst a dělení buněk a mezibuněčná komunikace.
- O osudu buněk rozhoduje spíše pozice než původ.
- Transport a vnímání auxinu je rozhodující pro rozvrhování struktur rostlinného těla
- Velikost a aktivita meristemu je přísně kontrolována
- Pletiva a orgány jsou často určeny kombinacemi transkripčních faktorů – ale nezapomeňme na miRNA
- Vývoj je modulován prostředím (ontogeneze jako chování)

Typické jevy v ontogenezi

Rostliny

- Buňky nemohou migrovat
- Převážně poziční determinace; mechanismy tvorby uspořádání založeny na zpětnovazebných obvodech, které zesilují malé rozdíly.
- Oddělené cesty získávání živin (kořeny a listy) a energie (listy).

Metazoa

- Migraci buněk brání tkáňová kompartmentalizace (závislá na mezibuněčné adhezi)
- Někdy genealogická („lineage“) determinace.
- Apoptóza působená nedostatkem "přeživačích signálů" od okolních buněk je důležitým rysem vývoje živočichů.

U živočichů i rostlin hraje klíčovou roli v ontogenezi specifická **represe genové exprese** na úrovni chromatinu (polycomb - např. FIE) a **tkáňově specifická genová aktivace**.

Shrnutí

- Přes nezávislý evoluční osud má vývoj mnohobuněčných rostlin a živočichů důležité společné rysy – na molekulární úrovni v určování buněčného osudu a na „biokybernetické“ úrovni při vzniku pravidelných uspořádání.
- Podstatné rozdíly vyplývají z odlišnosti „constrains“ v důsledku přisedlosti a autotrofie rostlin.
- Nejdůležitějším rysem odlišujícím vývoj rostlin a živočichů je kontinuální (celoživotní) organogeneze rostlin na rozdíl od omezené terminální organogeneze živočichů.
- Tím je umožněna nesrovnatelně větší morfologická plasticita rostlin.

zarsky@ueb.cas.cz
fatima@natur.cuni.cz

<http://kfrserver.natur.cuni.cz>