

12. ONTOGENEZE II : KVETENÍ, FOTOPERIODISMUS

12.1 REGULACE PŘECHODU Z VEGETATIVNÍ DO REPRODUKTIVNÍ FÁZE

Přechod od vegetativního růstu ke kvetení je zásadní změnou růstu a organogeneze. Představuje ukončení opakované tvorby listů a zároveň přípravu vrcholových meristémů k utváření orgánů pro další reprodukci. Načasování reprodukce do optimálních podmínek je u rostlin velmi důležitým evolučním faktorem. Při regulaci tohoto kroku se účastní všechny mechanismy růstu. Napojení vnitřních regulačních mechanismů na signály z okolí skýtá mnoho kombinačních možností při adaptaci. Uplatňuje se jak strategie rychlého ukončení vegetace než nastanou nepříznivé podmínky, tak strategie co nejdélejšího využití příhodné vegetační doby a dosažení maximální velikosti rostliny a maximálního množství semen. U rostlin našich zeměpisných šířek se uplatňuje často kombinace obou strategií. Výsledkem evoluce vyšších rostlin je výskyt rostlin jednoletých, dvouletých a víceletých, monokarpických, tj. plodících jednou za život a polykarpických, tj. plodících opakovaně na nových výhonech.

Nástup reproduktivní fáze je regulován v reakci na signály z vnějšího prostředí, především na délku dne a noci (fotoperiodickou reakcí) nebo na trvání nízkých teplot (jarovizací). Je ovlivněn rovněž dostupností vody a živin. Rostliny mají také autonomní mechanismy „počítání“ vlastního stáří, jež nedovolují předčasně ukončit vegetativní růst, jak je uvedeno v kapitole o juvenilitě. U mnoha rostlin se uplatňují vnější i vnitřní regulační mechanismy. Příkladem může být *Arabidopsis thaliana*, u které byly studovány geny, které patří fotoperiodické, jarovizační nebo autonomní regulační cestě a také geny, které představují spojovací články mezi nimi.

12.2 JUVENILITA

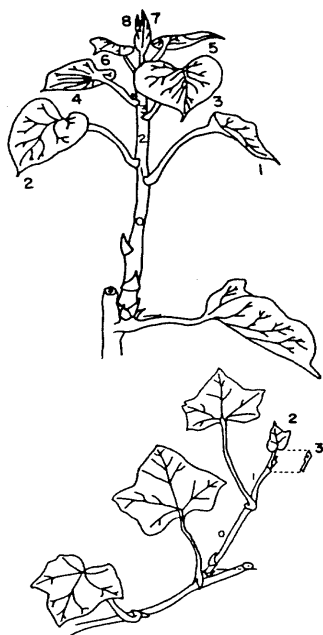
Při bližším pohledu na kteroukoliv rostlinu můžeme pozorovat, že opakované fytoмеры nejsou zcela totožné. Změny podél stonku jsou více nebo méně povlnné. Mění se morfologie listů, délka internodií, větvení stonku a také anatomické detaily stavby. Probíhají také na první pohled malé, ale významné změny v samotné struktuře vrcholu, zvyšuje se počet buněk vrcholu a mění se kvantitativní poměry zonace. Je mnoho rostlin, které nemohou ukončit vegetativní fázi, dokud nedosáhnou určitého stáří, tj. dokud se nacházejí v **juvenilní fázi**.

Juvenilita je tedy neschopnost mladých rostlin přejít k reprodukci, i když jsou splněny všechny vnější podmínky. Je dobře známa u dřevin, které potřebují určitý počet sezón vegetativního růstu, než začnou plodit. Také byliny mohou mít juvenilní fázi, která může trvat dny až týdny. Juvenilitou se rovněž vysvětluje neúčinnost fotoperiodické indukce před dosažením určité fáze růstu. **Neměří se astronomickým, ale biologickým časem.** Na příklad *Perilla* musí mít 3 páry listů, než začne vnímat fotoperiodickou indukci, tabák vytváří až několik desítek listů před přechodem k reprodukci. Adaptační výhoda juvenility je odklad energeticky náročné reprodukce až do zajištění dostatečné asimilační plochy.

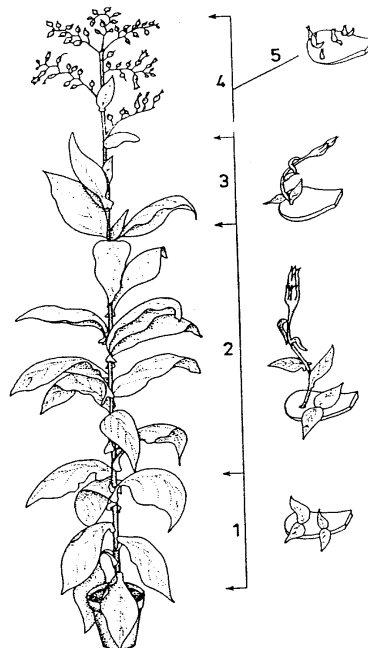
Juvenilita je dědičná vlastnost rostliny, která podléhá vnitřním regulacím dospívání rostlin. Mnoho rostlin stavem juvenility vůbec neprochází. Jiné do juvenilního stavu vstupují dodatečně za podmínek příznivých vegetativnímu růstu. Příkladem může

být *Chenopodium rubrum*, které citlivě reaguje na fotoperiodickou indukci ihned po vyklíčení nebo pak až po dvou týdnech. Podle toho buď kvete miniaturní rostlina po vytvoření 1-2 párů listů nebo vyroste bohatě větvená rostlina s velkým počtem květů.

Juvenilní rostliny se často liší od dospělých tvarem listů, rychlostí růstu a snadnějším zakořeňováním. Nejznámějším příkladem je břečťan (**obr. 12-1**). Morfologické rozdíly začínají již na vrcholu. Juvenilní břečťan má menší vrcholy, pomalejší dělení buněk a až dvojnásob dlouhý plastochron. Ukončení juvenilnosti je u něho spojeno se zrychlením dělení buněk a značným zkrácením růstu internodií v okamžiku přechodu k maturaci.



Obr. 12-1. Juvenilní (dole) a dospělý (nahore) výhon břečťanu. Juvenilní břečťan má listy laločnaté, postavení listů dvouřadé, plazivý růst a hodně anthokyanu. Dospělé výhony mají listy celokrajné, spirálové postavení listů a vzpřímený růst.



Obr. 12-2. Z rostliny tabáku byly odebrány listové řízky a z nich regenerovány rostliny *in vitro*. Z juvenilních pater regenerují vegetativní rostliny, rostliny regenerované ze středních pater kvetou po vytvoření několika listů. Počet listů klesá směrem k vrcholu kvetoucí mateřské rostliny a na řízcích z listenů (z květenství) regenerují rovnou květní poupata.

Juvenilní a dospělý stav jsou často velmi stálými vlastnostmi vrcholových meristémů i pletiv, které z nich pocházejí. Roub z dospělé rostliny si zachovává na juvenilní podnoži svou dospělost. **Juvenilita a dospělost se zachovává při množení řízky.** Kousek izolovaného pletiva z listu nebo stonku z různých pater jeví při regeneraci různou připravenost k reprodukci (**obr. 12-2**). Ontogeneticky nejmladší jsou spodní patra, produkovaná ještě juvenilním vrcholem. S přibývajícemi patry přichází dospívání.

Regulace juvenilnosti se účastní **fytohormony**. Juvenilita se odráží v gradientech fytohormonů a v různé citlivosti k fytohormonům. Manipulace s juvenilitou pomocí fytohormonů je však obtížná. Kladné výsledky jsou spíše ojedinělé. U břečťanu lze pomocí giberelinu prodloužit juvenilní stav. U některých jehličnanů se aplikace giberelinů naopak používá ke zkrácení juvenilnosti semenáčků o několik sezón. Při stimulaci plození ovocných dřevin cytokininem patrně jde o korelativní působení přes snížení apikální dominance. Ontogenetickým změnám tvaru a velikosti listů a větvení odpovídají změny

v metabolismu cytokininů. Z uvedených příkladů vyplývá, že regulace juvenilnosti a dospívání nejde u rostlin jedinou cestou. Společný je výsledek: změna genové exprese z juvenilní na dospělou.

12.3 JAROVIZACE

Jarovizace je proces, který **působením nízkých teplot** připravuje rostliny pro přechod ke kvetení. Teplota má také přímý vliv na kvetení, ale jarovizace, podobně jako fotoperiodismus je jevem induktivním, který vyvolává kvetení až po uplynutí delší doby. Jarovizace může probíhat již **ve fázi bobtnání semen** (např. u ozimých obilovin) nebo až **ve fázi růstu mladých zelených rostlin** (např. u cukrovky a *Arabidopsis thaliana*). Požadavek snížených teplot nemají všechny rostliny, běžný je u ozimých a dvouletých bylin (**obr. 12-3**).



Obr. 12-3. Tato rostlina cukrovky prožila 41 měsíců bez snížených jarovizačních teplot a je stále ve vegetativním stavu a stále jen roste.

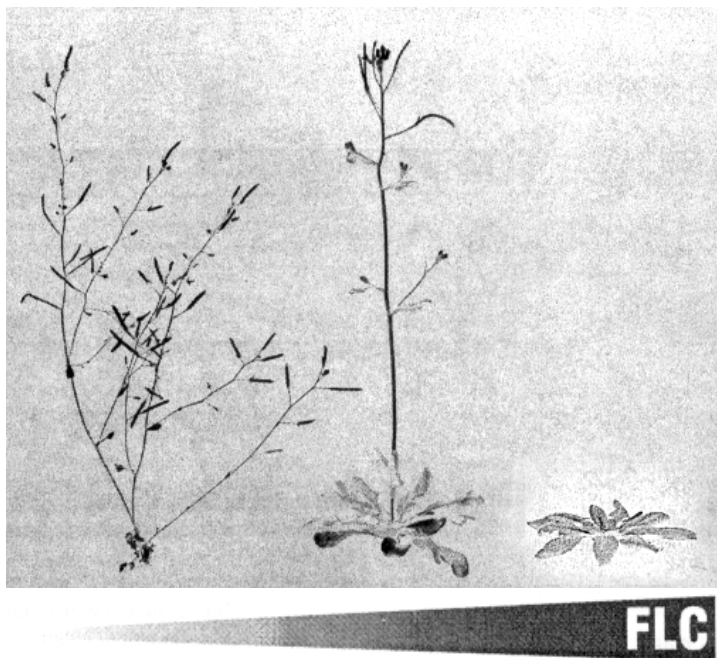
Optimální teploty pro jarovizaci se pohybují od teplot slabě nad nulou (u ozimých pšenic) do 10 -15 °C i více, kdy požadavek jarovizace již přestává být výrazný. Trvání doby jarovizace je různé. Odrůdy pšenice z mírnějšího klimatu mívají delší požadavek jarovizace než odrůdy pocházející z oblastí s mrazivou zimou. Jarovizace se tak jeví jako adaptační ochrana před zmrznutím v podmínkách kolísavých teplot. Jarovizační požadavek vzniká v embryogenezi. Nezralá embrya obilovin mají nižší požadavek jarovizace.

Obsah giberelinů ke konci jarovizace stoupá. Jarovizace se dá úplně nebo částečně nahradit

giberelinem. Předpokládá se účast giberelinu při rozbíhajícím se klíčení semen a při růstu rostlinky v období jarovizace. Světelný signál přijatý fotoreceptorem fytochromem často ovlivňuje průběh jarovizace zelených rostlin.

Vrchol je orgánem přijímajícím signál snížených teplot. Následkem jarovizace nastávají změny v struktuře plastidů a mitochondrií ve vrcholu. Pro jarovizaci (a to i v semeni) je nutná určitá míra aktivního metabolismu a replikace DNA. Během jarovizace probíhají změny struktury DNA a demethylace cytosinu v DNA.

Průběh jarovizace není provázen viditelnými morfologickými změnami. Ukončení jarovizace je však spojeno s větší aktivitou růstu a se snížením mrazuvzdornosti. Zvýšení růstové aktivity ve vrcholu a v subapikální zóně má za následek růst stonku do délky (vybíhání) a posléze diferenciaci květních orgánů. U *A.thaliana* je požadavek jarovizace korelován s expresí genu FLOWERING LOCUS C (FLC). S postupující jarovizací exprese FLC klesá (**obr. 12-4**), klesá také metylace cytosinu v DNA.

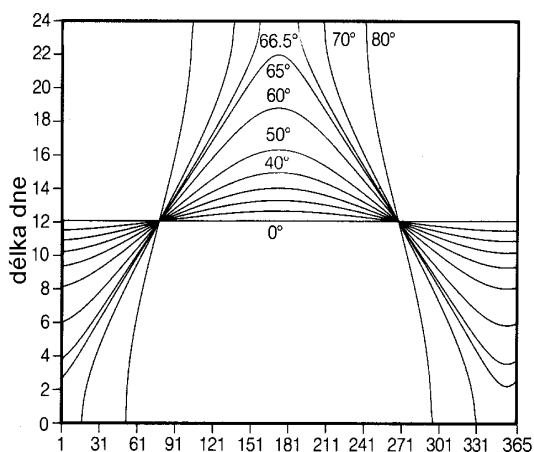


Obr. 12-4. U rostliny *Arabidopsis thaliana* vlevo byl mutací vyřazen gen *FLC*, rostlina vpravo byla transformována tímto genem, aby došlo ke zvýšené jeho expresi ; uprostřed pro srovnání je normální rostlina (divoký typ). Dole vyznačena poměrná velikost exprese *FLC*.

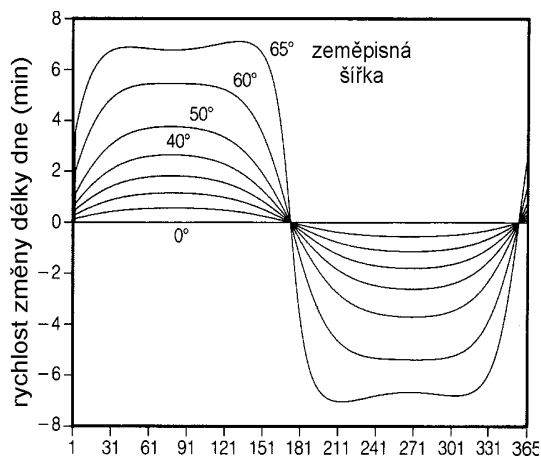
Jarovizace se při buněčném dělení předává následujícím populacím buněk a zakládajícím se orgánům. Může se přenášet řízkováním. Nepředává se potomstvu při sexuální rozmnožování.

12.4 FOTOPERIODICKÁ KVĚTNÍ INDUKCE

Při fotoperiodické indukci kvetení probíhá ve vegetativních rostlinách příprava k diferenciaci květů. Rozhodujícím vnějším faktorem je **trvání dne a noci v průběhu 24 hodinového cyklu**. K indukci kvetení potřebují některé rostliny dlouhý den, jiné krátký den. Fotoperiodický signál je hlavním prostředkem synchronizace reprodukční fáze rostlin se sezónními změnami počasí a optimálního využití vegetační sezóny. Pomocí fotoperiodických signálů **rostliny vnímají astronomický čas**, kterému odpovídají délka dne a její změny během roku (obr. 12-5 a 12-6).



Obr. 12-5. Změny délky dne (v hodinách) v různé zeměpisné šířce během roku.



Obr. 12-6. Rychlost změny délky dne (v minutách za den) v různé zeměpisné šířce v průběhu roku.

V nižších zeměpisných šířkách jsou výkyvy v délce dne menší, proto regulace délkou dne musí být preciznější. Naproti tomu ve velmi vysokých zeměpisných šířkách je vegetační doba sama o sobě omezena dlouho trvajícím mrazem a rostliny musí využít ke své vegetaci a reprodukci krátké období léta. Fotoperiodismus se uplatňuje hlavně v adaptaci rostlin mírného pásma a subtropů.

Délka dne nereguluje u rostlin pouze nástup kvetení. Má vliv i na nástup dormance, klíčení, tvorbu vegetativních rozmnožovacích orgánů a na stárnutí. Nejvýrazněji se však projevuje ve fotoperiodické květní indukci. Ve fylogenezi, v přírodě i v procesu šlechtění, vznikly různé typy citlivosti k délce dne. Rozmanitost jde až do ekotypů a kultivarů. Mnoho rostlin vyžaduje k reprodukci dostatečně dlouhý den. V roce 1920 byly však objeveny rostliny, které vyžadovaly krátký den pro kvetení. První byl tabák. Od té doby bylo testováno na požadavek délky dne mnoho rostlin, nejen kulturních, ale i divoce rostoucích. Největší pozornost byla věnována kultivarům, protože údaje o nich pomáhaly při šlechtění a introdukci užitkových rostlin.

Klasifikace rostlin podle fotoperiodické květní indukce:

A. Dlouhodenní rostliny zrychlují nástup do reproduktivní fáze tím více, čím je delší den. Někdy optimum není na stálém světle, ale při 18-20 h. **Absolutně dlouhodenní** rostliny mají **kritickou délku dne**, pod kterou již nejsou schopny kvést, jen stále rostou. **Fakultativně** neboli **kvantitativně dlouhodenní** rostliny kvetou na krátkém dni se zpožděním.

Dlouhodenní jsou např. pšenice, žito, ječmen, oves, cukrovka, ředkvička, salát, *Arabidopsis thaliana*. Absolutně dlouhodenní rostliny jsou *Hyoscyamus niger*, *Nicotiana glauca*, *Nicotiana glauca*, *Spinacia oleracea*, *Lolium temulentum* s kritickou délkou dne kolem 15 h, *Sinapis alba* s kritickou délkou dne 14 h. Posledním dvěma (při splnění určitých podmínek) stačí jediný dlouhý den k indukci kvetení.

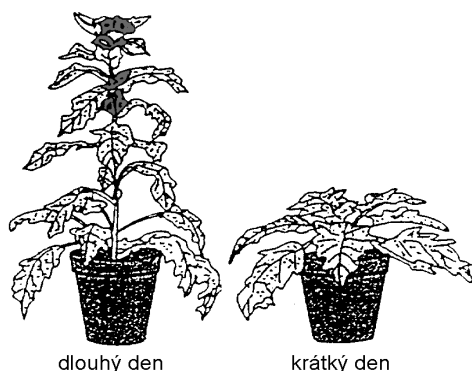
B. Krátkodenní rostliny zrychlují nástup do reproduktivní fáze při zkracování délky dne až do určité meze, která je dána potřebou získávat energii při fotosyntéze. **Absolutně krátkodenní** rostliny mají kritickou délku dne, nad kterou již nejsou schopny kvést a jen stále rostou. **Fakultativně** neboli **kvantitativně krátkodenní** rostliny kvetou na dlouhém dni se zpožděním.

Krátkodenní jsou např. kukuřice, rýže, konopí, bavlník, soja. Absolutně krátkodenní jsou některé kultivary soje, rýže, tabáku, dále *Xanthium strumarium* s kritickou délkou dne 8,3 h, *Pharbitis nil* s kritickou délkou dne kolem 10 h, některé ekotypy *Chenopodium rubrum* s kritickou délkou dne 16 h. Posledním dvěma stačí jediný krátký den k tvorbě květních pupat, jsou-li rostliny indukované ve fázi děložních lístků, patrně ještě před vstupem do juvenilní fáze.

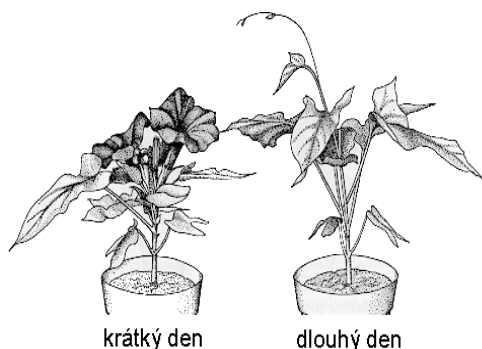
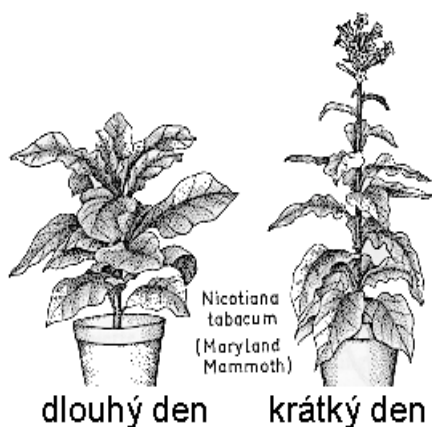
C. Rostliny neutrální k délce dne. Jejich přechod do reproduktivní fáze probíhá autonomně, bez ohledu na délku dne. Bývají to často rostliny z extrémních podmínek nebo rostliny s výraznější juvenilitou. Mezi neutrálními rostlinami najdeme také kultivary hrachu, fazolu, kukuřice, slunečnice, tabáku, bramboru.

Rostliny připravující se ke kvetení mění často velmi nápadně celý svůj růst. Zvláště výrazné je prodlužování stonku u dlouhodenních rostlin (**obr. 12-7 až 12-9**).

U rostlin převládají kvantitativní fotoperiodické reakce kvetení. Přesto hodně poznatků o regulaci kvetení pochází z pokusů, prováděných na absolutně fotoperiodických rostlinách, kterým pokud možno stačí ke kvetení jediný fotoperiodický cyklus. Takové rostliny umožňují lepší kontrolu nad průběhem experimentu a poskytují přesnější výsledky. Jsou to zejména *Xanthium strumarium*, *Pharbitis nil*, *Chenopodium rubrum*, *Sinapis alba*, *Lolium temulentum*, *Hordeum vulgare*. V poslední době je největší zájem o *Arabidopsis thaliana*.



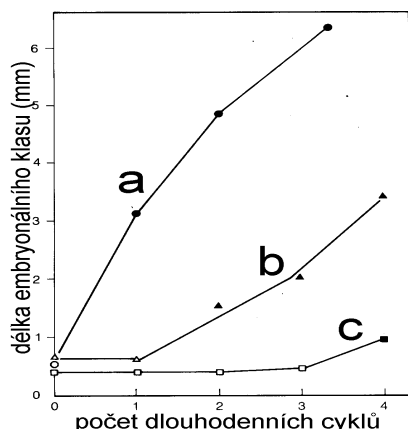
Obr. 12-7. Dlouhodenní rostlina *Hyoscyamus niger* z dlouhého dne s prodlouženými internodii a založenými květy v úžlabích horních listů; srovnání s vegetativní růžicí listů.



Obr. 12-8. Krátkodenní rostlina *Pharbitis nil* vystavena jednomu krátkému dni ve fázi děložních listů kvete, kdežto kontrola z dlouhého dne roste jako vegetativní.

Obr. 12-9. Dlouhodenní tabák *N. glauca* a krátkodenní tabák *N. tabacum* na dlouhém dni (vlevo) a na krátkém dni (vpravo).

U rostlin převládají kvantitativní fotoperiodické reakce kvetení. Přesto hodně poznatků o regulaci kvetení pochází z pokusů, prováděných na absolutně fotoperiodických rostlinách, kterým pokud možno stačí ke kvetení jediný fotoperiodický cyklus. Takové rostliny umožňují lepší kontrolu nad průběhem experimentu a poskytují přesnější výsledky. Jsou to zejména *Xanthium strumarium*, *Pharbitis nil*, *Chenopodium rubrum*, *Sinapis alba*, *Lolium temulentum*, *Hordeum vulgare*. V poslední době je největší zájem o *Arabidopsis thaliana*.



Počet fotoperiodických cyklů, potřebných ve fázi 2-3 listů k indukcí kvetení je různý od jediné fotoperiody až po několik týdnů. Některé rostliny mohou vnímat fotoperiodický signál hned po vzejití, jiné mají různě dlouhou juvenilní fázi (obr.12-10).

Obr. 12-10 Vliv stáří na požadavek fotoperiodické indukce *Lolium temulentum*: a - rychlý vývoj klasu po indukcí jediným dlouhým dnem ve fázi 6-7 listů, b - pomalejší vývoj po indukcí dvěma dlouhými dny ve fázi 4-5 listů, c - nejpomalejší vývoj u rostlin indukovaných ve fázi 2-3 listů

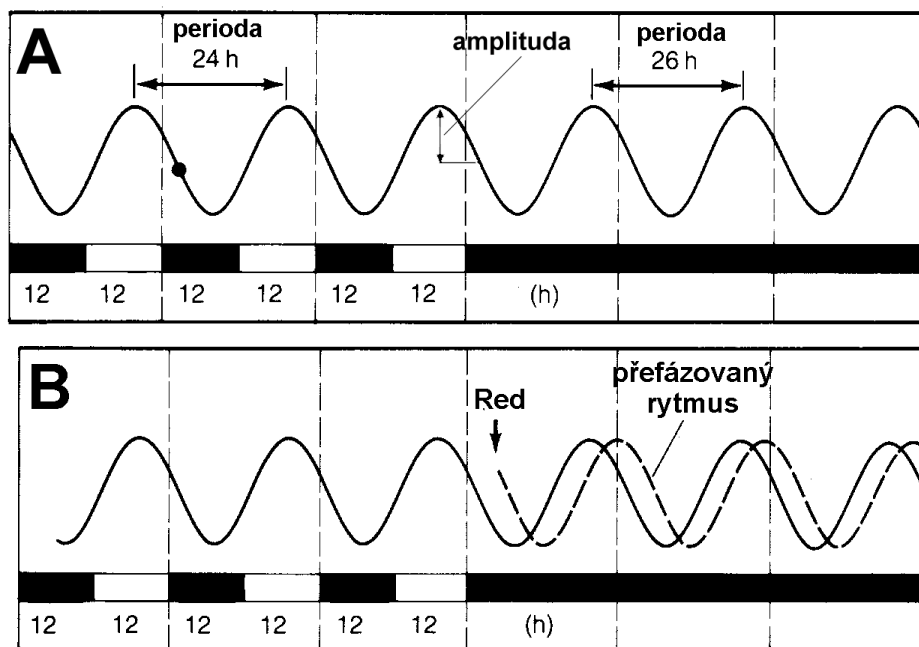
12.5 MĚŘENÍ ASTRONOMICKÉHO ČASU : BIOLOGICKÉ HODINY A KALENDÁŘ

Fyziologické děje v živých organismech mají zpravidla rytmický charakter, který z velké části vyplývá ze závislosti životních aktivit na střídání dne a noci. Oscilace dějů, které sledují denní střídání světla a tmy, mají proto periodu, která odpovídá 24hodinovému astronomickému dni. **Fotoperiodická květní indukce je speciálním případem rytmu, spouštěného, udržovaného a každodenně korigovaného světelným signálem, přijatým fotoreceptorem.**

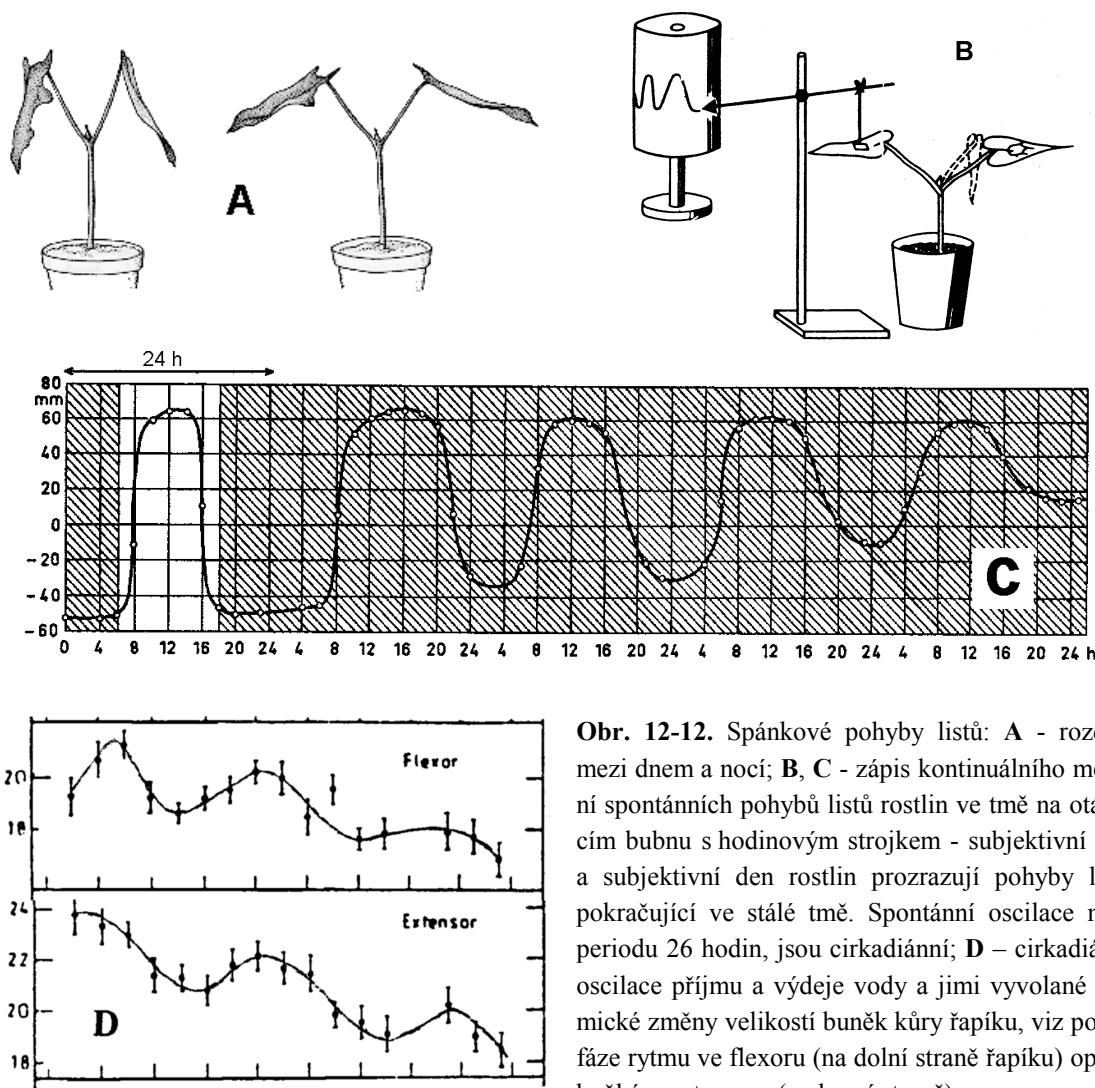
Oscilace různých aktivit mohou pokračovat i po přenesení rostlin do stálé tmy. Rytmus, který pokračuje nadále v **konstantních podmínkách**, je **rytmus endogenní**. Tento spontánní endogenní rytmus má přirozenou periodu, která nebývá přesně 24hodinová, ale zhruba se jí blíží, je to **rytmus cirkadienní**. Stejně jako u jiných organismů (včetně savců) je rozdělen na **subjektivní den a subjektivní noc**.

Amplituda endogenního rytmu se dříve nebo později v konstantních podmínkách zmenšuje a rytmus odeznívá. **Perioda** jeví značnou stálost po celou dobu trvání rytmu. **Fáze** endogenního rytmu se dá posunout (seřídit) pomocí světelného signálu, např. krátkým ozářením červeným světlem (R, **obr. 12-11**).

V přírodě jsou cirkadienní rytmy denně seřizovány na periodu 24 hodin. Světelný signál je přijímán fytochromem a změny forem fytochromu jsou v rostlině podnětem pro synchronizaci s nástupem světla a tmy. Střídání dne a noci v přírodě není jen udržováním chodu biologických hodin, tj. cirkadienních endogenních rytmů, ale také jejich každodenním seřizováním na astronomický čas. Postupné změny délky dne v přírodě (různý posun fáze) jsou přítom pro rostlinu jakýmsi „listováním v kalendáři“.



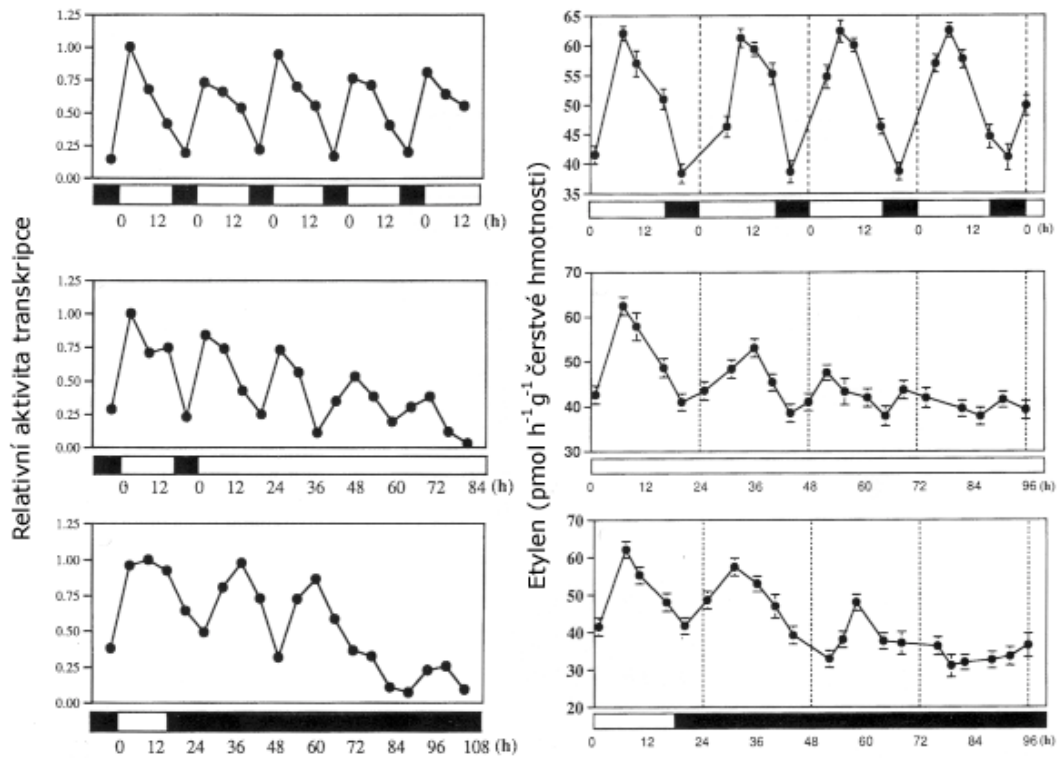
Obr. 12-11. A - Rytmus navozený střídáním 12h světla a 12h tmy má periodu 24 h. Po přenesení do stálé tmy běží rytmus endogenní s periodou poněkud odlišnou - cirkadienní, B - Fázi rytmu je možné posunout krátkým osvětlením červeným světlem.



Obr. 12-12. Spánkové pohyby listů: **A** - rozdíl mezi dnem a nocí; **B, C** - zápis kontinuálního měření spontánních pohybů listů rostlin ve tmě na otáčecím bubnu s hodinovým strojkem - subjektivní noc a subjektivní den rostlin prozrazují pohyby listů pokračující ve stálé tmě. Spontánní oscilace mají periodu 26 hodin, jsou cirkadiánní; **D** - cirkadiánní oscilace příjmu a výdeje vody a jimi vyvolané rytmické změny velikostí buněk kůry řapíku, viz posun fáze rytmu ve flexoru (na dolní straně řapíku) oproti buňkám extensoru (na horní straně).

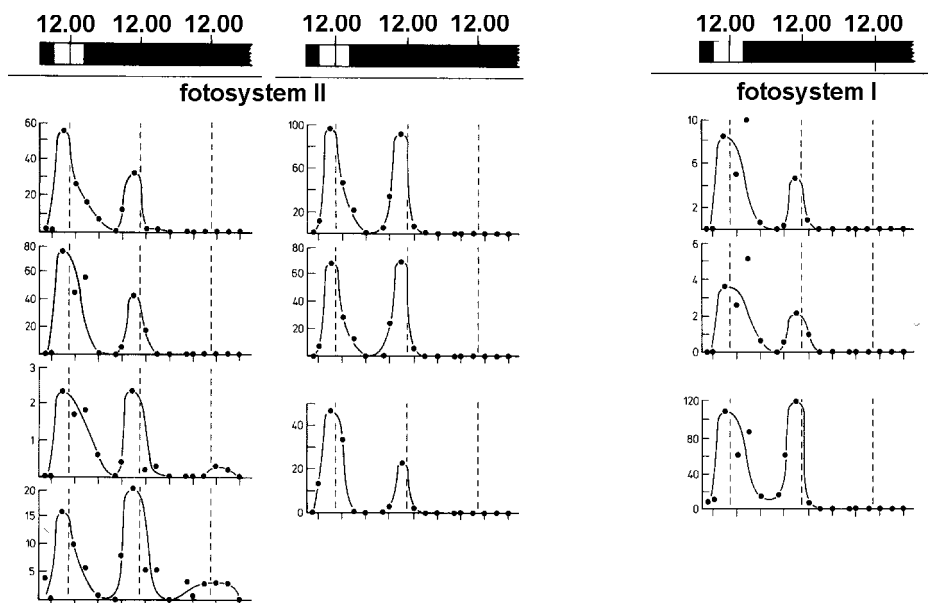
Endogenní cirkadiánní rytmy byly u rostlin demonstrovány nejdříve na spánkových pohybech listů (**obr. 12-12**). V přírodě pohyby listů reagují na den a noc. Po přenesení rostlin do stálé tmy pokračují spontánní pohyby listů ještě několik dní a prozrazují tak subjektivní den a noc rostliny. Pohyby listů jsou důsledkem pohybů vody v pulvinu na bázi listových řapíků. Transport vody přes cytoplazmatickou membránu buněk pulvinu vyvolávají změny osmotického tlaku, způsobené výdejem a příjmem draslíkových iontů. Celý proces pohánění protonová pumpa, jejíž činnost má rytmický charakter. Ohyb listu v pulvinu je podpořen tím, že fáze rytmu na straně odvrácené a přivrácené ke stonku jsou proti sobě posunuté. Tento proces je spouštěn a korigován světelným signálem, který je přijímán fytochromem, má výraznou reakci v červené oblasti (660nm) spektra a je vratný světlem FR. Endogenní rytmus reakcí na modré světlo mají změny turgoru, které řídí otvírání a zavírání průduchů v průběhu dne.

Cirkadiánní kolísání se projevuje u řady biochemických dějů, mimo jiné také u hladin fytohormonů. Příkladem může být rytmus biosyntézy etylenu (**obr. 12-13**). U rostlin bylo rovněž nalezeno kolísání hladiny hormonu melatoninu (u živočichů reguluje denní rytmus metabolické aktivity a chování).



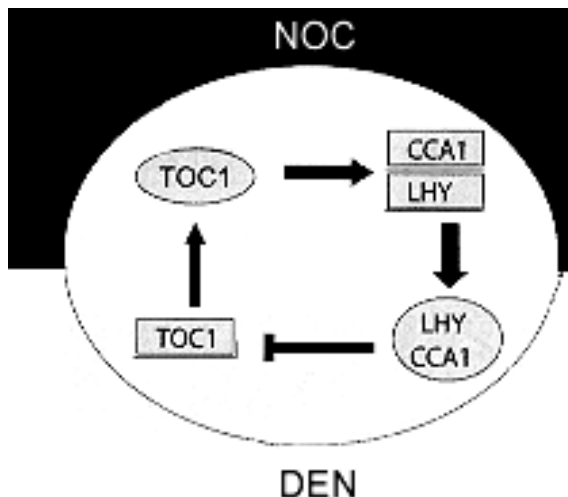
Obr. 12-13. Endogenní rytmus transkripce genu pro syntézu jednoho z enzymu biosyntézy etylenu a hladiny etylenu při střídání dne a noci (nahore), na stálém světle (uprostřed) a ve tmě (dole).

Endogenní rytmy transkripce genů jsou velmi sledovanou oblastí studia rytmicity. Z 8000 sledovaných genů *Arabidopsis* mělo asi 6% endogenní rytmus transkripční aktivity, mezi nimi také geny účastníci se reakcí fotosyntézy (**obr. 12-14**), metabolismu dusíku, fosforu a síry, dýchání, změn struktury biomembrán a buněčné stěny. Řada genů kodujících fotosyntetické proteiny mají nejvyšší aktivitu brzo ráno, proteiny účastné v metabolismu a transportu asimilátů dosahují maxima koncem dne, mobilizace škrobu vrcholí v noci. Expres genů pro biosyntézu stěny a pro dlouhivý růst mají maximum v noci.



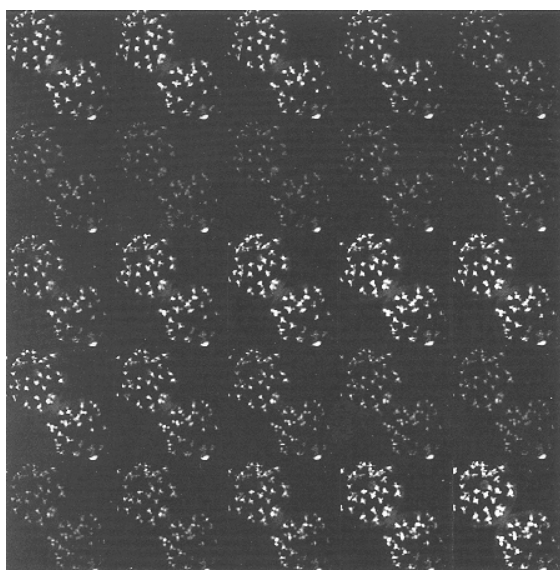
Obr. 12-14a. Příklady endogenních rytmů exprese genů kódujících různé bílkoviny fotosyntetického aparátu - oscilace přetrvávají ve tmě po dobu 1-2 cyklů.

Soudí se, že centrální mechanismus měření času, **oscilátor**, je založen na zpětnovazebné smyčce aktivity genů *TOC1* (*Timing Of CAB 1*), *CCA1* (*Circadian Clock Associated 1*) a *LHY* (*Late elongated HYpocotyl*) (**obr. 12-14b**).



Obr. 12-14b. Zjednodušený model centrálního oscilátoru u *Arabidopsis thaliana*. Protein kóvaný genem *TOC1* pozitivně reguluje geny *CCA1* a *LHY* (tj. zvyšuje jejich transkripční aktivitu) a proteiny kóvaný geny *CCA1* a *LHY* negativně regulují (tj. inhibují) aktivitu *TOC1* (v obdélníku - gen, v elipse - protein).

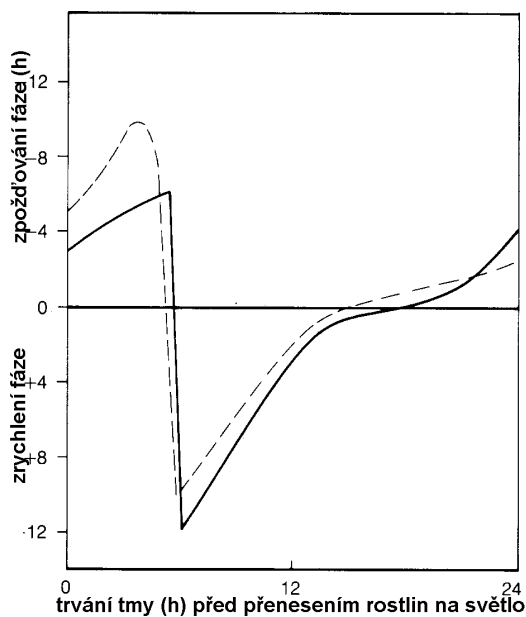
Touto smyčkou je dán endogenní rytmus s cirkadienní periodou: aktivita *TOC1* má maximum v době subjektivního soumraku, zatímco aktivity *CCA1* a *LHY* mají maximum v době subjektivního svítání. Na tuto smyčku navazují změny aktivity dalších genů, které jsou buď součástí oscilátoru, nebo představují již výstupy a řídí rytmické fyziologické procesy jako jsou pohyby listů, zavírání průduchů nebo fotoperiodická květní indukce. Mezi výstupy patří také rytmicita biosyntézy fytochromů (příklad další regulační smyčky, tentokrát mezi příjmem signálu a výstupem biologických hodin!). K nejvíce studovaným jevům patří rytmické chování genu pro protein CAB (Chlorophyll a/b Binding Protein) který se začíná akumulovat před svítáním, maximum má ráno a aktivita genu klesá před setměním (**obr. 12-14c**).



Obr. 12-14c. Průběh cirkadienního rytmu CAB2 u rostlinek *Arabidopsis thaliana* po přenesení do stálé tmy, zviditelněný pomocí vneseného genu pro luciferasu ze světlušky. Bioluminescence u těchto transformantů byla řízena promotorem pro CAB2, který jak je vidět, má endogenní rytmus. Snímky byly pořizovány každé dvě hodiny po dobu 48 hodin; vždy dvě Petriho misky s klíčovými rostlinkami představují jeden snímek. Exprese CAB2 jakožto části fotosyntetického aparátu začíná během subjektivního svítání a má maximum exprese během subjektivního dne.

12.6 FOTOPERIODISMUS JE SOUHRU MECHANISMŮ MĚŘENÍ ČASU A FOTOMORFOGENEZE

V přírodě seřizování biologických hodin na astronomický 24hodinový den probíhá v různou dobu podle toho, kdy se stmívá a svítá v různé roční době. Zrychlení nebo zpomalení endogenního rytmu odpovídá prodlužování nebo zkracování dne. Fáze rytmu lze měnit několikaminutovým přerušením tmy červeným světlem, které krátkodobě zvýší podíl aktivní formy fytochromu P_{fr} .



Obr. 12-15. Posun fáze rytmu světlem: zpoždování fáze při zásahu na začátku subjektivní tmy a zrychlování fáze na konci subjektivní tmy je stejné pro pohyb korunních plátků u *Kalanchoe* (plná čára) jako pro kvetení u *Chenopodium* (přerušovaná čára).

Zpoždění fáze světlem nastává na začátku subjektivní noci (tj. noční fáze endogenního rytmu), uprostřed subjektivní noci je náhlý přechod od největšího zpoždění k největšímu zrychlení fáze. Během subjektivního dne jsou změny povlnné (obr. 12-15).

V přírodě je fáze rytmu nastavena signálem svítání a je dále seřizována signálem soumraku. Pokusy ukázaly, že tma musí trvat určitou dobu, záleží však také na délce a spektrálním osvětlení, které předchází tmě. Světelný signál je přijímán fotoreceptorem. Aktivní forma P_{fr} spouští další sled reakcí. Temná perioda musí u krátkodenních rostlin trvat určitou dobu (pouhé krátké ošetření rostlin světlem FR nemůže nahradit temnou periodu).

Změny forem fytochromu mohou v přírodě podléhat náhodným změnám počasí a tím také změnám spektrálního složení slunečního světla.

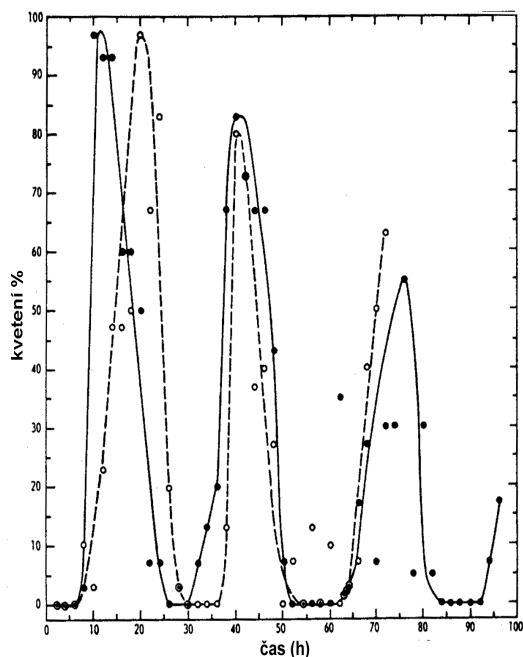
Právě endogenní rytmy a jejich každodenní, velmi postupně se měnící korekce, představují tu konzervativní složku fotoperiodismu, která velmi snižuje závislost fotoperiodické reakce na nahodilých změnách počasí a slouží rostlině jako spolehlivé hodiny a kalendář.

Většina klasických poznatků o endogenních rytmech kvetení byla získána u krátkodenních rostlin, které mají výraznou periodičnost požadavku na tmu (obr. 12-16). Ale i některé dlouhodobní rostliny potřebují rytmické osvětlení pro kvetení (obr. 12-17). U *Arabidopsis thaliana* byly dokonce zjištěny cirkadienní endogenní rytmy aktivity jednotlivých genů, které se účastní fotoperiodické květní indukce.

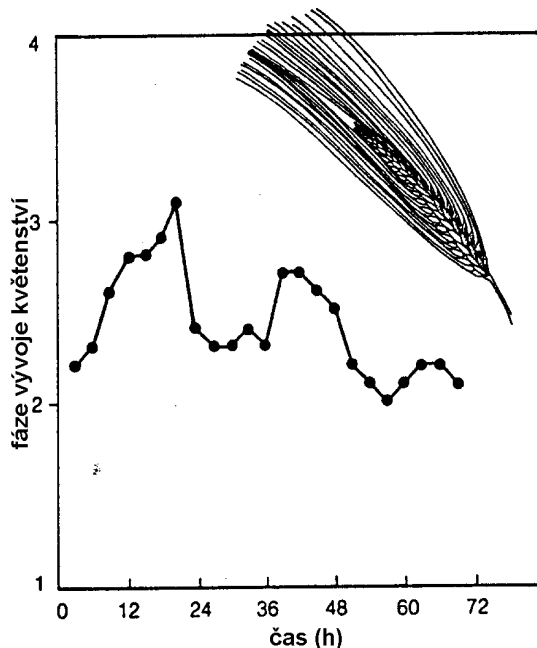
U **krátkodenních rostlin** byla prokázána dostatečnost krátkodobého ozáření pro účinné rušení temné periody a vratnost reakce na červené světlo dlouhovlnným červeným světlem. To ukazuje na účast fytochromu B. Fotoperiodická reakce krátkodenních rostlin tak připomíná fotomorfogenetickou reakci **LFR**, jakou jsme viděli u stimulace klíčení semen salátu, s tím rozdílem, že **fytochrom B v aktivní formě inhibuje kvetení**.

U **dlouhodobních rostlin** hraje dlouhovlnné červené světlo (FR) pozitivní roli v indukci kvetení. Kladný účinek FR vykazuje zřetelnou cirkadienní rytmicitu na pozadí

dlouhého dne nebo nepřetržitého osvětlení (**obr. 12-17**). U dlouhodobých rostlin hraje roli nejen trvání světlé periody v rámci denního střídání dne a noci, ale také celkové množství světla, tedy i intenzita světla. To vše, včetně kladné reakce na světlo FR, odpovídá fotomorfogenetické reakci typu **HIR** a účasti fytochromu A, přitom **fytochrom A v aktivní formě stimuluje kvetení**. Fytochrom B inhibuje kvetení u dlouhodobých rostlin (mutanti bez fytochromu B jsou ranější než výchozí nepoškozené rostliny. Kryptochromy u *Arabidopsis* pozitivně ovlivňují nástup kvetení.

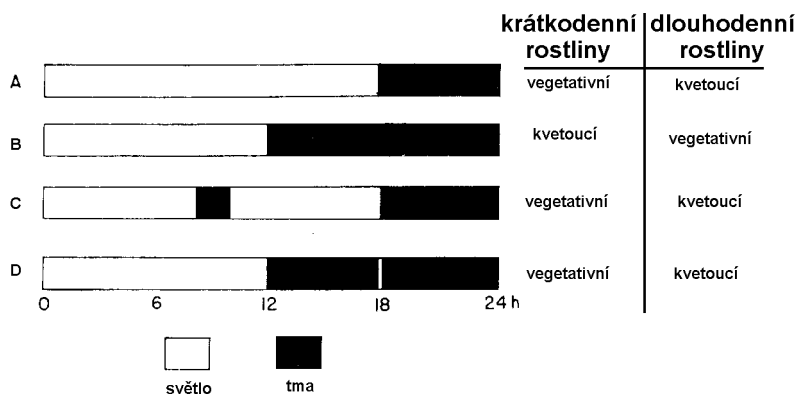


Obr. 12-16. Rytmičká reakce kvetení krátkodenních rostlin *Chenopodium rubrum* na délku tmy. Plná čára – rostliny, které byly přeneseny na trvalé osvětlení po různě dlouhé době tmy (čas v hod. na ose x) Přerušovaná čára – rostliny byly přeneseny na stálé světlo po 72 hodinách tmy přerušené na 4min červeným světlem v čase udaném v hodinách na ose x. V obou případech se v intervalech zhruba 24 hodin projevuje rušivé působení světla snížením % kvetení.



Obr. 12-17. Rytmičká reakce vývoje vrcholu u dlouhodobního ječmene. Ječmen rostoucí na stálém světle byl po dobu 6 hodin osvětlen dlouhovlnným červeným světlem; začátek osvětlení udaném v čase na ose x. Mezi vývojovou fází 2 a 3 (osa y) nastává přechod mezi vegetativním a reproduktivním vrcholem.

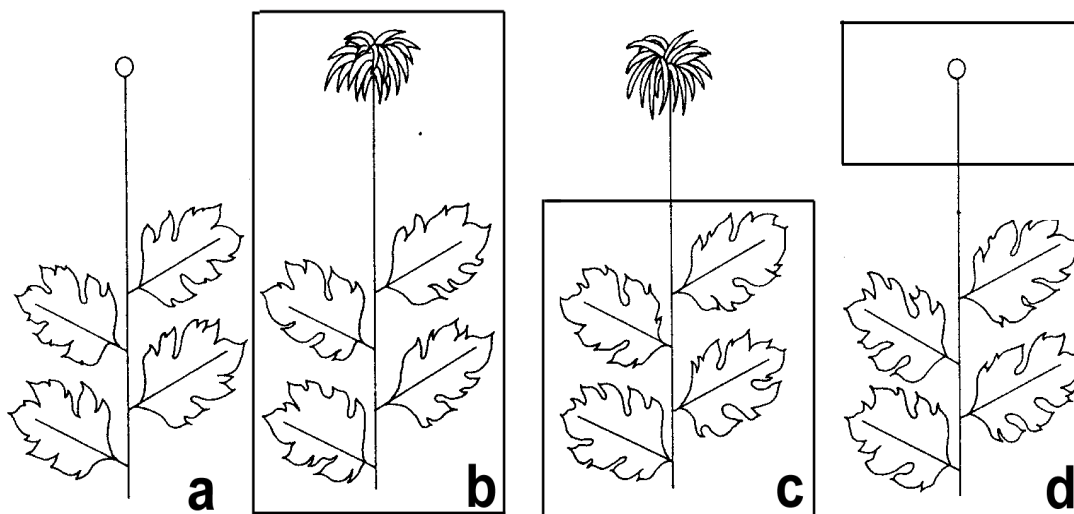
Fotoperiodická reakce dlouhodobých rostlin není tedy jen pouhým opakem fotoperiodické reakce rostlin krátkodenních (**obr. 12-18**). Přerušování temné periody světlem po dobu 5-30 minut ruší indukci krátkodenních rostlin. Dlouhodobé rostliny zpravidla vyžadují déle trvající světlo k tomu, aby mohly světelný režim vnímat jako dlouhý den. Přerušování světelné periody krátkou tmou rostliny zpravidla nevnímají vůbec.



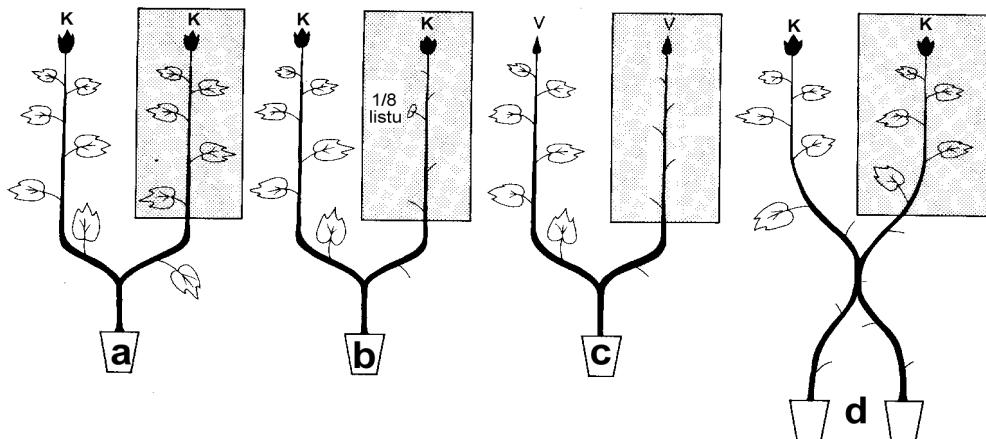
Obr. 12-18. Fotoperiodické reakce absolutně krátkodenních a absolutně dlouhodenních rostlin: **A** - dlouhý den, **B** - krátký den, **C** - dlouhý den přerušovaný tmou, **D** - krátký den s přerušením noci světlem.

12.7 PŘÍJEMCEM FOTOPERIODICKÉHO SIGNÁLU PRO INDUKCI KVETENÍ JSOU LISTY

Schopnost vyvolat kvetení, neboli **květní stimulus**, se přenáší do vrcholů, kde se realizuje změna organogeneze z vegetativní na květní, ale přítomnost listů je nezbytná pro příjem fotoperiodického signálu (**obr. 12-19**). Stačí však jeden list nebo část jednoho listu (**obr. 12-20**). Nejaktivnější jsou mladé listy, které právě dokončují svůj růst. Květní stimulus se šíří v rostlině a může být předán jiné rostlině roubováním (**obr. 12-20 d až 12-22**). Podmínkou je, aby roub s podnoží dobře srostl a aby se vytvořila mezi buňkami dobře fungující plasmodesmata.



Obr. 12-19. Krátkodenní chryzantéma nekvete na dlouhém dni (**a**), kvete na krátkém dni (**b**) nebo když krátkému dni jsou vystaveny listy, zatím co vrchol může zůstat na dlouhém dni (**c**); nekvete, když je krátkému dni vystaven vrcholový pupen a listy jsou ponechány na dlouhém dni (**d**).

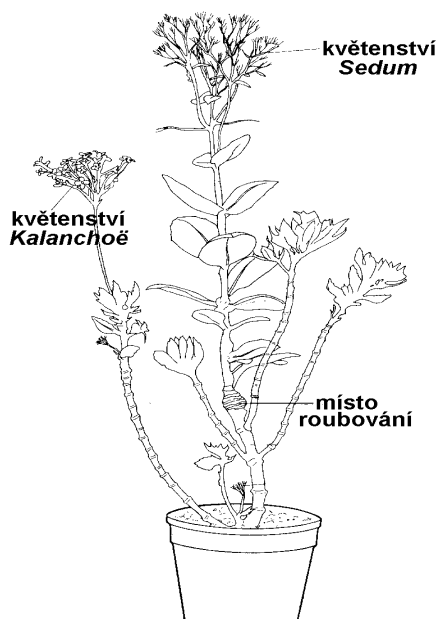


Obr. 12-20. a - Květní stimulus se u krátkodenních rostlin tvoří na krátkém dni a šíří se i do výhonu vystaveného dlouhému dni (vlevo) a oba výhony kvetou ; b - k indukci postačila 1/8 jediného listu, ostatní byly odstraněny; c - výhon úplně zbavený listů nevnímá fotoperiodickou indukci ; d - květní stimulus se přenesl roubováním do jiné rostliny a obě rostliny kvetou.

12.8 KVĚTNÍ STIMULUS JE UNIVERZÁLNÍ PRO VŠECHNY FOTOPERIODICKÉ I NEUTRÁLNÍ ROSTLINY.

Schopnost předávat kvetení z rostliny indukované ke kvetení do rostliny, která nebyla vůbec podrobena indukci, platí i při roubování různých druhů. Vrchol přiroubovaného neindukovaného výhonu přijme květní stimulus i v případě, že patří k jiné fotoperiodické skupině. Tak bylo například dosaženo přenosu květního stimulu mezi krátkodenním *Xanthium* a dlouhodenní rudbekií, mezi krátkodenní *Kalanchoe* a dlouhodenním *Sedum* nebo mezi tabáky z různých fotoperiodických skupin (**obr. 12-21** a **12-22**).

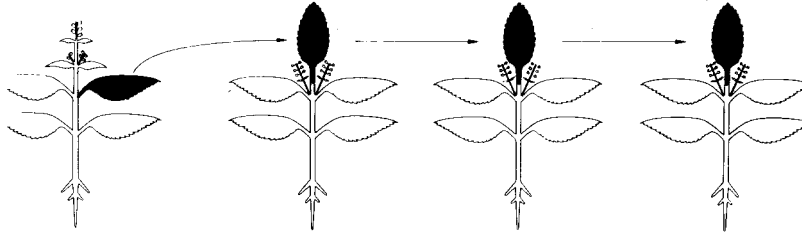
Květní stimulus mohou předávat roubováním i jednotlivé listy (**obr. 12-23**). Při přenášení květního stimulu roubováním záleží na tom, aby donor květního stimulu byl indukován takovou fotoperiodou, která je pro jeho kvetení induktivní.



Obr. 12-21. Absolutně dlouhodenní rostlina *Sedum spectabile* pěstovaná na krátkém dni, naroubována na kvetoucí krátkodenní rostlinu *Kalanchoe blossfeldiana* a kvete. **Obr. 12-22.** Neutrální tabák, *Nicotiana tabacum* cv. Trapezond (vlevo) kvete, je-li do něj naroubován dlouhodenní tabák *Nicotiana glauca* pěstovaný na

feldiana z krátkého dne. *Sedum* kvete na krátkém dni díky květnímu stimulu z indukovaného *Kalanchoe*.

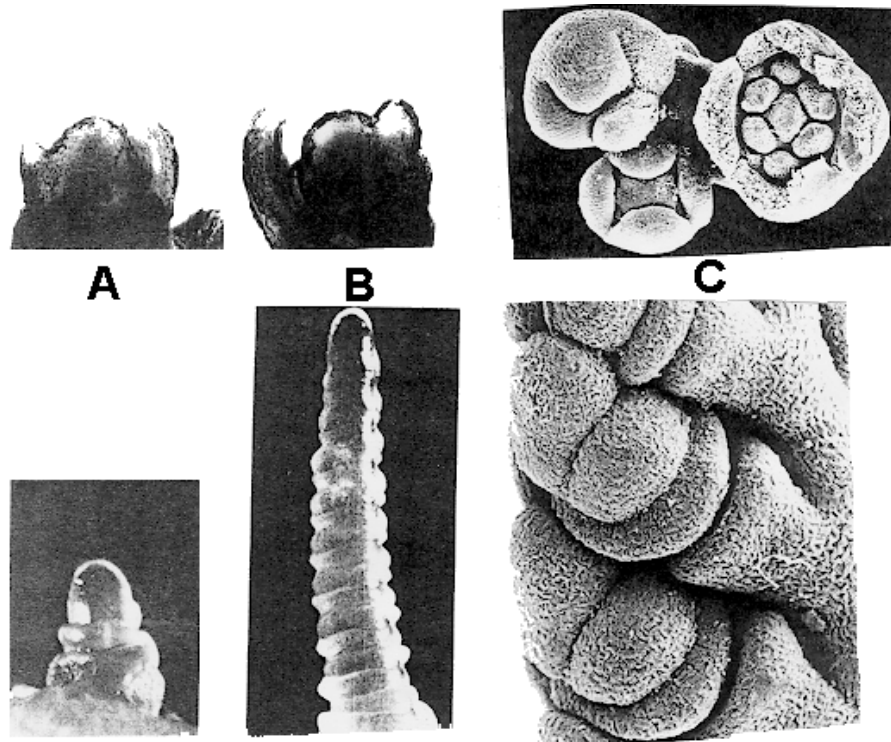
dlouhém dni. Rovněž tak vytvoří květní poupata (vpravo), je-li do něj naroubován krátkodenní tabák *Nicotiana tabacum* cv. Maryland Mammoth pěstovaný na krátkém dni. U tabáku přijímajícího květní stimulus od svých roubů byly odstraněny vlastní juvenilní listy.



Obr. 12-23. Indukovaný list *Perily*, naroubovaný na dekapitovaný stoněk neindukované rostliny, vyvolává u ní kvetení v úžlabních pupenech; roubování téhož indukovaného listu je možné opakovat s úspěchem několikrát a tímto jediným indukovaným listem vyvolat kvetení několika rostlin.

12.9. KVĚTNÍ STIMULUS PŮSOBÍ VE VRCHOLECH STONKŮ

Příjemcem květního stimulu, produkovaného v listech během květní indukce, jsou vrcholové meristémy stonků, kde se vlastní přechod ke květní organogenezi uskutečňuje. Změny organogeneze na vrcholu jsou hluboké a představují **ukončení fáze vegetativního růstu a začátek zakládání specializovaných květních orgánů**. Končí zakládání listů, zakládají se menší listeny.

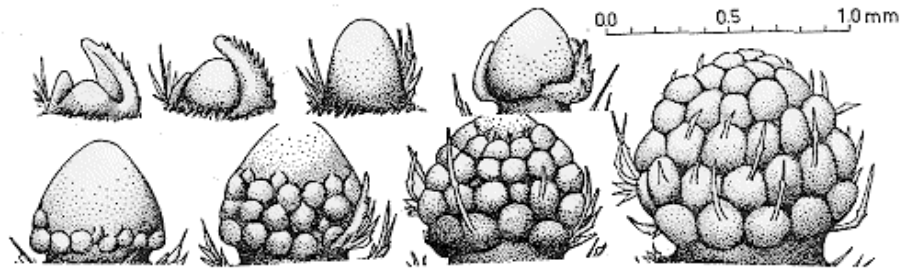


Obr. 12-24. Vrcholy stonku kapusty (nahore) a pšenice (dole). **A** - Vegetativní vrcholy se zakládajícími se listy, **B** - vrcholy při přechodu do reprodukční fáze: v úžlabí redukovaných listů se urychleně zakládají pupeny. **C** - u kapusty jsou to rovnou květní pupeny, na nichž se zakládají květní orgány, u pšenice jsou to kláskové základy (větve květenství), z nichž květní základy teprve vznikají.

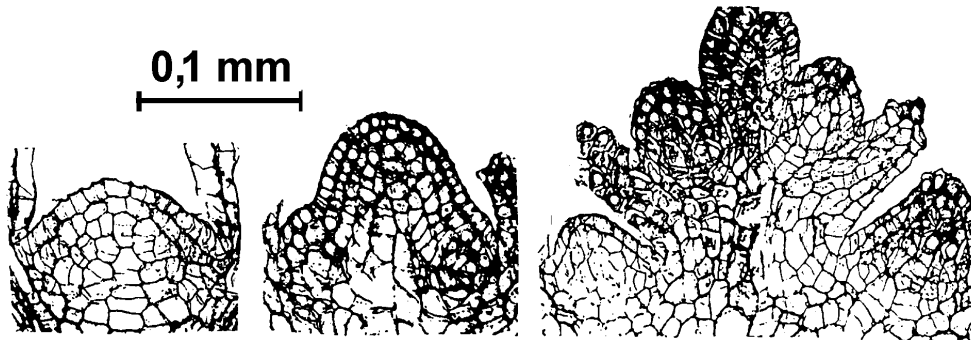
Zakládání květenství a růst květonosného stonku, který bývá bohatě větvený, začíná **stimulací růstu pupenových základů** na vrcholu. Následující zakládání květů a květních orgánů představuje většinou hlubokou **změnu fylotaxe** (**obr. 12-24 a 12-25**).

Zvětšení vrcholu bývá často první morfologickou známkou přechodu ke kvetení a je důsledkem **zrychlení buněčného dělení**, které je obecné u všech kvetoucích rostlin. Další postup růstových změn již odpovídá budoucí morfologii květonosného stonku a květu (**obr. 12-24 a 12-25**).

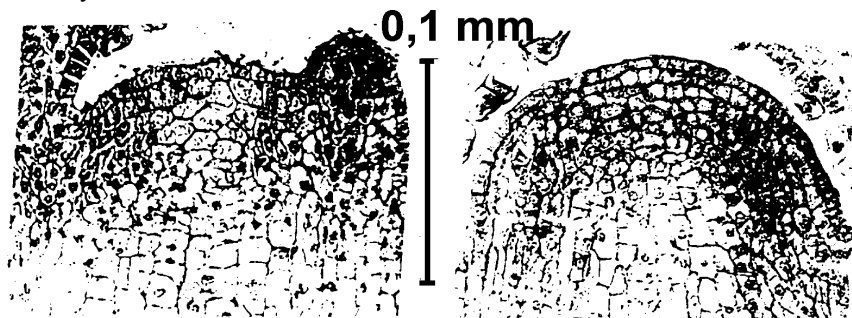
Morfogenetické změny jsou výsledkem různých **změn rychlostí a směrů buněčného dělení v různých částech vrcholového meristému** (**obr. 12-26**). Celkovému zvýšení mitotické aktivity vrcholu odpovídají změny v zónách a postupná **ztráta zonace** (**obr. 12-27**), větší členitost membránového systému, větší aktivita syntézy RNA a proteosyntézy. Po fotoperiodické indukci byl rovněž zaznamenán **přechodný vzestup počtu sekundárních plasmodesmat** ve vrcholu a **přechodný vzestup hladiny sacharosy** ve vrcholu na úkor škrobu z okolních pletiv.



Obr. 12-25. Postupné změny vrcholu stonku u *Xanthium* po fotoperiodické indukci.



Obr. 12-26. Přechod z vegetativní do reprodukční fáze je změnou rychlostí a směrů buněčného dělení, jak prozrazuje anatomická struktura na podélných řezech vrcholem *Chenopodium rubrum* 3 dny následující po indukci krátkým dnem.



Obr. 12-27. Změny v organizaci vrcholu při přechodu z vegetativní fáze - centrální zóna ztrácí svou odlišnost (příklad podélných řezů vrcholů *Pharbitis nil*, vlevo na stálém světle, vpravo 4 dny po indukci krátkým dnem).

Přechod do fáze květní organogeneze závisí na spolupráci genů podporujících opakovanou organogenezi vegetativního stonku a genů urychlujících nástup kvetení (obr. 12- 28). U *Arabidopsis thaliana* bylo nalezeno na 80 genů účastnících se pozitivní nebo negativní regulace doby kvetení. Podrobnější studium funkce některých genů umožňuje nahlédnout do jednotlivých kroků přenosu signálu kvetení. Poskytuje také stále se doplňující představu o celé kaskádě regulací v závislosti na vnitřních a vnějších signálech



Obr. 12- 28. Arabidopsis thaliana na dlouhém dni: Wt – divoký typ, Tfl 10 – mutant *terminal flower*, Lfy 1- mutant *leafy*; Emf - mutant *embryonic flower*

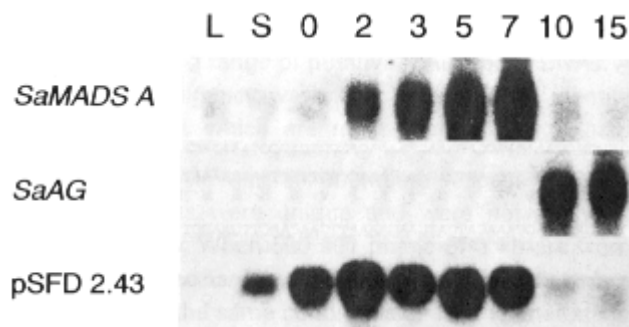
Příkladem genu **podporujícího vegetativní růst** je *EMBRYONIC FLOWER (EMF)*. Mutantům v tomto genu chybí vegetativní fáze a rostlinky vytváří květní orgány za děložními lístky. Také gen *TERMINAL FLOWER 1 (TFL1)* udržuje vegetativní funkci centrální zóny vrcholu. Zatímco divoký typ má nedeterminované květenství (t. j. nemá terminální květ), mutanti v tomto genu mají květní stonk ukončen terminálním květem a jsou velmi rané.

Geny, které **urychlují nástup kvetení**, mohou být součástí jarovizační, fotoperiodické nebo autonomní cesty regulace kvetení. K fotoperiodické cestě, v níž se přenáší signál délky dne (spojuje oscilátor se světelným signálem a s indukci změn organogeneze) patří např. *GIGANTEA (GI)* a *CONSTANS (CO)*. Mutanti s potlačenou transkripční aktivitou v těchto genech mají prodlouženou vegetativní fázi a jsou pozdní. Za cílové geny působení transkripčního faktoru CO jsou považovány *FLOWERING LOCUS T (FT)* a *AGAMOUS -LIKE 20 (AGL20)*. Fotoperiodická cesta směřuje k regulaci genu *SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION of CO (SOC1)*.

Integrace autonomní, jarovizační, fotoperiodické, a giberelinem indukované regulační cesty pro kvetení vyústí v regulaci genu *LEAFY (LFY)*, jehož aktivita je nutná pro ukončení nedeterminovaného vegetativního růstu a vytvoření květního vrcholu a je také předpokladem pro funkci dalších genů specifických pro diferenciaci květních orgánů.

Posloupnost a podmíněnost funkce květních genů odpovídá postupnosti přechodu z vegetativní fáze k tvorbě květů a také objasňuje ty případy, kdy se vývoj pozdrží v některé přechodné fázi nebo dojde k abnormálnímu zmnožení některého orgánu na úkor postupu ontogeneze.

Květní geny podobné genům z *Arabidopsis* byly nalezeny i u některých hospodářsky významných rostlin jako je rýže, rajče, brambor, tabák, pšenice, ječmen nebo kukuřice a také u absolutně dlouhodobých rostlin *Lolium temulentum* a *Sinapis alba* (obr. 12-29) a u absolutně krátkodenní rostliny *Pharbitis nil*. Mutant *Arabidopsis thaliana*, nedostatečný v genu *CONSTANS*, byl úspěšně opraven pomocí transformace podobným květním genem, získaným z *Pharbitis*. To ukazuje na příbuznost odpovídajících si květních genů u rostlin z různých fotoperiodických a taxonomických skupin.



Obr. 12-29. Northern blot analýza exprese genů MADS boxu u *Sinapis alba*. Vzorky reprezentují dospělé listy (L), stonky (S) a vrcholy neindukovaných vegetativních rostlin (0). Poly(A) RNA z těchto vzorků po elektroforéze v denaturujícím formaldehydovém gelu byla přenesena na nitrocelulozové membrány a na nich testována fragmenty cDNA bez oblasti MADS boxu. Pozitivní reakce ukazuje přítomnost příslušné RNA. Po dvou dnech fotoperiodické indukce (2) byla ve vrcholech zjištěna exprese genu podobného *AGAMOUS* s doménou MADS, kterou mají mnohé geny regulující vývoj rostlin (*SaMADS*). Jiné doby indukce charakterizuje gen *SaAG* exprimovaný ve květech a *pSFD 2.43* charakteristický pro vrcholové meristémy.

Všechny uvedené změny ve vrcholu, které se spoluúčastní přechodu ke kvetení jsou následkem působení květního stimulu.

12. 10. CO JE TO KVĚTNÍ STIMULUS?

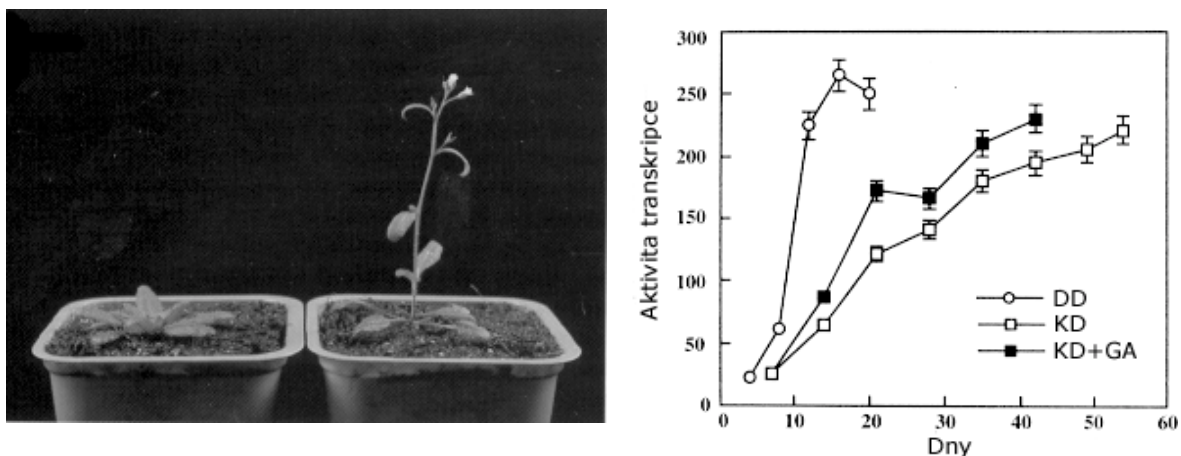
Je to **univerzální signál ke kvetení**, který vzniká v listech bez ohledu na typ regulace kvetení, šíří se v rostlině, je přenosný roubováním a vyvolává v cílových plechivech vrcholů stonku změny, nutné pro květní organogenezi. Reguluje cytologické, růstové a morfologické změny ve vrcholech a celý sled změn genové exprese, který k nim vede.

Fotoperiodická indukce je doprovázena řadou změn v hormonální regulaci. **Auxin** a **etylen** mohou vyvolat kvetení u ananasu, nikoliv už u jiných fotoperiodických rostlin. **Cytokinin** u absolutně dlouhodobé rostliny *Sinapis alba* vyvolává aktivaci buněčného dělení na krátkém dni (podobné jako při květní indukci dlouhým dnem) a vyvolává také expresi květního genu *SaMADS*, avšak žádné další změny ve vrcholu nenásledují a rostliny pokračují ve vegetativním růstu. V jiných případech aktivace dělení buněk cytokininem ve vrcholu může dokonce podpořit vegetativní organogenezi a oddálit kvetení. **ABA** může ve vynímečných případech urychlit kvetení.

Žádný z těchto fytohormonů sám o sobě neodpovídá zmíněné definici květního stimulu, neboť hormonální signály nejsou univerzální a nepřenášejí se roubováním. Některé hormonální změny jsou však natolik krátkodobé nebo lokální, že by mohly představovat signál pro nějaký krok v regulaci kvetení.

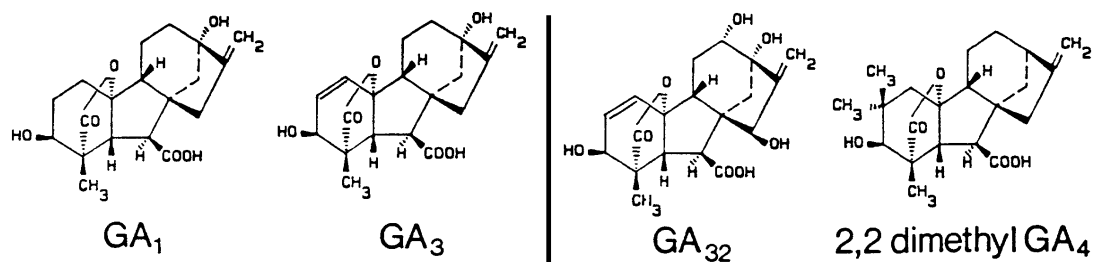
Gibereliny mají v regulaci kvetení výjimečné místo. U dlouhodobých rostlin, které mají ve vegetativní fázi zkrácený stonk (příklad absolutně dlouhodobé rostliny *Hyoscyamus niger*), vyvolává giberelin podobné prodlužování stonku jako indukce

dlouhým dnem a za růstem stonku následuje i kvetení na neinduktivním krátkem dni. Také u *Arabidopsis thaliana* giberelin urychluje kvetení (**obr. 12-30**).



Obr. 12-30. *Arabidopsis thaliana*: exogenní aplikace giberelinu urychluje prodlužování stonku a kvetení na krátkem dni (vlevo); exprese květního genu *LFY* se zvyšuje po přidání giberelinu ve srovnání s neošetřenou kontrolou na krátkém dni (vpravo)

Mezi gibereliny jsou i takové, které vyvolávají spíše kvetení než prodlužování (**obr. 12-31**). Giberelin však není univerzálním květním stimulem, nefunguje např. u krátkodenních rostlin.



Obr. 12-31. Gibereliny s funkcí prodlužování (GA_1 , GA_3) a gibereliny s převládajícími účinky na kvetení GA_{32} , dimethyl GA_4

Představa, že květní stimulus je nějaký květní hormon „florigen“, je starší než jsou objevy klasických fytohormonů. K její oživení přispěly sugestivní výsledky pokusů s přenosem květního stimulu roubováním. Přesto, že se již před časem podařilo u absolutně krátkodenních rostlin na stálém světle docílit přechodu ke kvetení pomocí extraktu z jiné kvetoucí rostliny, dodnes florigen nebyl chemicky definován. Proto stejnou váhu má odlišná představa o květním stimulu jako o složité souhře mnoha faktorů, která zajišťuje komunikaci mezi indukovanými listy a reagujícími vrcholy.