

C RŮST A VÝVOJ

9 Obecné problémy růstu a vývoje

I velmi dokonalé znalosti fyzikálních a biochemických principů fyziologických procesů (transportních procesů, metabolismu) nejsou ještě dostatečné k tomu, abychom vysvětlili vznik dospělé rostliny z oplozeného vajíčka. Na čem vlastně záleží, zda semeno za příznivých vnějších podmínek vůbec vyklíčí? Jak je zajištěno, aby se jednotlivé orgány vytvářely ve správné velikosti a ve vhodnou dobu? Je sice pravda, že na počátku všeho je tvorba nových buněk závislá na dostatku stavebního materiálu z biochemických procesů, ale pro život rostliny zdaleka nepostačuje jen hromadění nových buněk - je nutná i jejich tvarová a funkční specializace, a kromě výměn hmoty a energie i výměna informací. Jen tak mohou vznikat odlišná pletiva i celé orgány, které rostlina potřebuje ke svému životu.

Tvorbu a zvětšování velikosti nových buněk označujeme jako *růst* (v užším slova smyslu). Další procesy související se specializací vytvořených buněk nazýváme *diferenciace*. Společným působením obou těchto procesů dochází k postupným tvarovým změnám (*morfogenezi*), které provázejí rostlinu po celý její život, tedy v průběhu jejího ontogenetického vývoje. Termínem *růst* v širším slova smyslu označujeme nejružnější nevrátne změny kvantitativního charakteru (zvýšení počtu buněk, délky, objemu, hmotnosti). Termínem *vývoj* pak zdůrazňujeme hlavně změny kvalitativní, které ovšem jsou velmi těsně spojeny se změnami kvantitativními.

Průběh růstových procesů u většiny rostlin není tak pevně určen, jak tomu bývá u živočichů. Přesto lze pozorovat zřetelnou orientaci nových struktur podle jisté osy (*axiální charakter růstu*) a opakování některých strukturních jednotek (*modulární charakter růstu*). Zvláště významnou úlohu hraje u rostlin *polarita* buněk i celých orgánů, projevující se nestejnými vlastnostmi protilehlých, zdánlivě stejných struktur. Polarita je indukována velmi brzy po vzniku nové buňky gradientem vnějšího prostředí (např. teplotou, světlem, gravitačním polem). Na trvalém fixování polarity se významně podílí změny ve struktuře cytoskeletu, a také jemné rozdíly ve stavbě buněčné stěny a plazmalemy. Polarita je nutnou podmínkou pro zajištění axiálního růstu rostlin.

9.1 Růstové procesy na buněčné úrovni

Růst závisí v prvé řadě na zmožení počtu buněk a na zvětšení jejich rozměrů do konečného stavu. Na rozdíl od živočichů probíhají tyto procesy jen v úzce vymezených zónách zvaných *meristémy*. Již v embryonálním stavu se vyčleňují dva typy primárních meristémů, jeden pro růst kořenů a druhý pro růst nadzemních částí. Tyto meristémy se udržují aktivní v apikálních částech kořene a výhonku prakticky po celý život rostliny. Kromě toho se u většiny rostlin dodatečně zakládají sekundární meristémy mimo apikální zóny (interkalárně, např. kambium). Meristematické buňky jsou poměrně malé, s velkým jádrem, s tenkou buněčnou stěnou a bez centrální vakuoly.

Dělení buněk (*cytokineze*) je prvním růstovým projevem. V dělicích se buňkách dochází k několika nápadným a pravidelně se opakujícím změnám, které označujeme jako fáze buněčného cyklu:

- a) **interfáze**, u které lze rozlišit tři časové etapy
 - G₁ - *presyntetická* (narůstá jádro i cytoplazma),
 - S - *syntetická* (dochází k replikaci DNA),
 - G₂ - *postsyntetická* (příprava na mitózu).
- b) **mitóza**, která se tradičně člení se na čtyři úseky:
profáze, metafáze, anafáze, telofáze.

Na rozdělení jádra rychle navazuje tvorba střední lamely, nových částí buněčné stěny a plazmatické membrány. Materiál pro stavbu těchto součástí je transportován především ve váčcích z Golgiho komplexu. Orientace střední lamely určuje, zda k rozdělení buněk dojde ve směru kolmém k povrchu orgánu (*antiklinálně*) či ve směru směru rovnoběžném s nejbližším vnějším povrchem (*periklinálně*), což má pro výsledný tvar rostoucího orgánu zásadní význam. Neméně významné je i řízení růstu primární stěny (směr ukládání mikrofibril celulózy). Na něm závisí větší či menší roztažitelnost jednotlivých úseků buněčné stěny, a tedy i směr, ve kterém se buňka nejvíce prodlužuje. V obou případech jsou hlavními řídicími prvky uvedených syntéz mikrotubuly. Jakým systémem přenosu informací jsou však řízeny vlastní mikrotubuly, není dosud uspokojivě vysvětleno.

Po ukončeném dělení jedna ze dvou dceřinných buněk vstupuje do dalšího cyklu (celý cyklus trvá obvykle 8 - 24 hodin), zatímco druhá obvykle přechází do prodlužovací fáze a více už se nedělí. Někdy však dochází i u těchto buněk k další syntéze a k replikaci DNA, která však není provázena dělením. Tak vznikne místo běžné diploidní buňky buňka tetraploidní. Obvykle mívá i větší rozměry.

Prodlužovací fáze buněčného růstu následuje hned po dělení v blízkosti meristému. U nově vytvořených buněk dochází nejen k podstatnému zvětšení jejich objemu, ale také ke změnám vnitřní stavby (zmnožení organel, vznik centrální vakuoly).

Zvětšování objemu buňky je složitý biofyzikální proces, který je v poslední době intenzivně zkoumán. Ukazuje se totiž, že právě tato růstová fáze je mimořádně citlivá na různé vnější i vnitřní regulace. Dřívější teorie prodlužovacího růstu buněk vycházely z primární úlohy tvorby a včleňování nového stavebního materiálu do buněčné stěny. Příjem vody byl chápán jen jako průvodní jev - zaplňování nových prostor. Podle našich současných znalostí právě příjem vody a vzniklý turgorový tlak má naprosto nezastupitelnou aktivní úlohu při růstu buněk - bez násilného rozpínání buněčné stěny není její zvětšování možné.

Fyzikální mechanismy prodlužovacího růstu buněk mají dva řídicí komplexy:

- (1) řízení velikosti turgorového tlaku,
- (2) řízení roztažitelnosti buněčné stěny.

Velikost turgorového tlaku závisí v prvé řadě na osmotickém tlaku buňky, a tudíž i na funkci transportních proteinů v plazmatické membráně, které řídí vstup osmoticky aktivních látek do buňky. Je dobré si uvědomit, že při poklesu turgorového tlaku (v důsledku růstu buněčné stěny) dojde i k poklesu vodního potenciálu v buňce. To má za následek zrychlený příjem vody do buňky, spojený se zvýšením turgoru. K udržování turgoru na původní výši je však nutné udržovat i původní hodnotu osmotického tlaku dalším příjmem osmoticky aktivních látek (hlavně iontů solí).

Experimentálně bylo dokázáno, že k dlouhivému růstu buňky dochází až po dosažení jisté prahové hodnoty turgorového tlaku (p_0). Při dalším zvyšování turgoru (p) se úměrně zvyšuje i rychlost růstu (r):

$$r = x (p - p_0)$$

kde koeficient x vyjadřuje roztažitelnost (extenzibilitu) buněčné stěny. Relativní rychlost růstu (r) je zde chápána jako rychlost zvětšování objemu buňky.

Roztažitelnost buněčné stěny závisí nejen na orientaci a zřasení mikrofibril celulózy a na četnosti vodíkových můstků mezi nimi, ale i na zastoupení dalších výplňových složek (pektiny, xyloglukany, extensin atd.). Je také známo, že hodnotu roztažitelnosti může rostlina v jistých mezích rychle měnit účinkem specifických látek - fytohormonů (především působením auxinů a giberilinů, jak bude blíže uvedeno v kapitole 10).

Dosud nejsou známy všechny mechanismy řídící dlouhivý růst buněk. Ovšem již z toho co víme, lze odvodit, že tento *růst se nutně musí zpomalit až zastavit*:

- (a) při poklesu turgoru pod prahovou úroveň, a to v důsledku nedostatečného zásobení rostoucích buněk jak vodou, tak i osmoticky aktivními látkami,
- (b) při snížené roztažitelnosti buněčné stěny, např. při včleňování impregnačních látek, zejména ligninu.

Je velmi pravděpodobné, že rostliny mohou také regulovat hodnotu prahové úrovně turgoru (nejspíš pomocí cytokininů a giberelinů), což může ve svých důsledcích vést k rozdílům v citlivosti k nedostatku vody (tedy při jak velké ztrátě vody a tudíž i snížení turgorového tlaku se již zastaví růst).

9.2 Diferenciace a růst jednotlivých orgánů

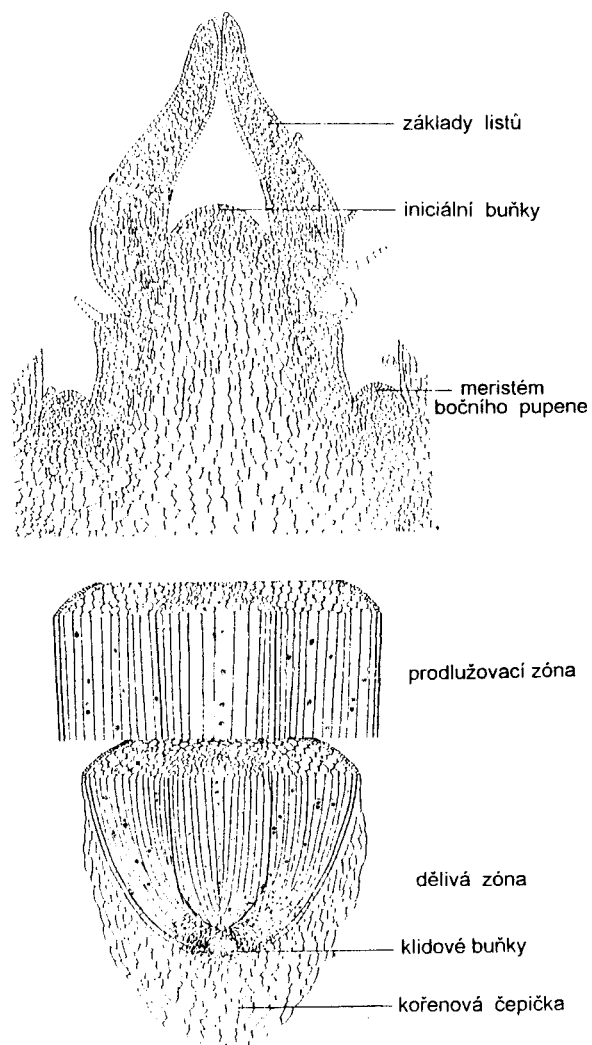
Diferenční fáze navazuje na prodlužovací růst a někdy se s ní částečně překrývá. V buňkách dochází k celé řadě strukturních změn (např. tvorba sekundární buněčné stěny, zmnožení organel), které souvisejí s funkcemi, pro které jsou předurčeny. I značně pozměněné buňky však obvykle neztrácejí potenciální schopnost dělení, jak lze dokázat experimentálně v tkáňových (explantátových) kulturách. Diferenciací v širším smyslu rozumíme nejen specifické změny jednotlivých buněk, ale také tvorbu pletiv s určitou funkcí a vznik celých orgánů. Podívejme se nyní, jaké jsou hlavní zvláštnosti růstu jednotlivých částí rostlin.

Kořeny jsou orgánem s poměrně jednoduchou a jednotnou stavbou. Apikální meristéum kořene se aktivuje v klíčícím semeni neobyčejně rychle a stejně rychlý je i celý další růst. Dělivé buňky se nacházejí pouze v kořenové špičce a před poškozením je chrání *kořenová čepička*, vylučující slizovité látky. Čepička nemá ovšem funkci jen ochrannou, ale podílí se i na řízení růstu kořene. Mezi čepičkou a vlastní dělivou zónou bývá ještě skupina zvláštních buněk (klidové centrum), které se dělí jen v případě poškození kořenové čepičky.

Rozhraní mezi vlastním meristémem a zónou dlouhivého růstu je dosti dobře rozlišitelné - právě zde začíná diferenciace vodivých elementů. Základy bočních kořenů se nevytvářejí v apikálním meristému, ale v pericyklu ve vzdálenosti několika milimetrů až centimetrů od kořenové špičky. Hlavní i boční kořeny mají od samého počátku diferenciace velmi dobře vyvinutou *endodermis*, která je pro jejich správnou funkci skutečně nezbytná. Tloušťnutí kořenů je zajištěno u nahosemenných a u většiny dvouděložných činností kambia, které se zakládá mezi lýkem a dřevem. U jednoděložných se obvykle kambiální kruh nezakládá a k tloušťnutí dochází pouze zvětšováním buněk a tvorbou nových cévních svazků.

Základy **prýtu** jsou vytvořeny již v embryu, stejně jako pro kořen, ve formě jednoduchého apikálního meristému (s opačnou polaritou než meristéum kořene). Velmi brzy se ovšem projeví jeho podstatně složitější stavba. Apikální meristéum stonku musí být schopen zajišťovat nejen růst a větvení vlastního stonku, ale i zakládání dalších meristému pro růst listů a květů. Uspořádání buněk v apikální části stonku je nejen značně odlišné od kořenové špičky, ale také specifické pro různé druhy či skupiny rostlin.

V typickém případě lze rozlišit na apikálním stonkovém meristému vnější jedno- až třířadovou vrstvu buněk, dělících se antiklinálně (buňky pláště čili *tunika*), a vnitřní buňky (*korpus*) dělící se periklinálně až neuspořádaně. Dělivé buňky lze nalézt mnohem dále od špičky vzrostného vrcholu stonku, než jak tomu bývá u kořenových špiček. Nicméně k tvorbě **základů listů** (listových *primordií*) dochází v těsné blízkosti vegetačního vrcholu. Již v této první fázi je diferenciace velmi dokonale řízena. Rozhoduje totiž o mnoha skutečnostech, na kterých závisí budoucí stavba rostliny: o počtu listů, o časových intervalech mezi jejich tvorbou, o typu fylotaxe a také ovšem o způsobu a frekvenci větvení stonku.



Obr.36. Meristematické a prodlužovací zóny v apikálních částech kořene a prýtu.



Obr.37. Endogenní fáze zakládání bočního kořene v pericyklu. (Salisbury et Ross 1992, upraveno).

Listy se rozvíjejí z listových primordií pomocí několika dalších specifických meristémů. V prvních fázích růstu má největší dělivou aktivitu vrstva buněk na vnějším konci primordia, později i na okrajích (*marginální meristém* zajišťující růst do šířky), a někdy i v bazální části (*interkalární meristém*, zvláště aktivní u listů trav). Složité tvary listových čepelí u některých druhů rostlin jsou vytvářeny nestejnou aktivitou jednotlivých úseků marginálního meristému.

Meristémy listů jsou udržovány v aktivním stavu někdy velmi dlouho (např. u trav je schopen i zcela dospělý list obnovit růst za jistých podmínek). U listů většiny dvouděložných rostlin trvá dělivý růst poměrně krátce a nelze jej znovu aktivovat. U těchto listů je dělení buněk ukončeno již při dosažení jedné pětiny až poloviny konečné plochy listu - pak již dochází jen ke zvětšování objemu buněk. V této dlouhivé fázi růstu jsou však jisté rozdíly - buňky mezofylu zastavují růst dříve než epidermální, a proto při dalším zvětšování plochy (již jen růstem epidermis) dochází ke vzniku rozsáhlých intercelulár v mezofylu.

Vytrvalé rostliny se sezónní periodicitou růstu (např. naše stromy) zakládají listová primordia pro jarní období růstu již při tvorbě pupenů v předcházejícím roce. Také v semenech mnoha druhů lze nalézt ještě před vyklíčením na embryu primordia několika prvních listů.

10 Vnitřní chemické regulátory růstu

Základní informace pro řízení růstu, diferenciaci a morfogeneze je sice kódována v DNA každé rostlinné buňky, ovšem tato informace sama o sobě není ještě dostatečná pro zajištění optimálního průběhu uvedených procesů. Buňky musí neustále monitorovat stav vnějšího prostředí a také komunikovat navzájem. Podněty z těchto zdrojů významným způsobem ovlivňují expresi genetické informace.

Koordinace růstových procesů v rostlinách není tedy možná bez dokonalého řídicího mechanismu. Zdaleka nejde jen o řízení procesů uvnitř jedné buňky - je nutná souhra činnosti souborů buněk (pletiv) i velmi vzdálených. Naše znalosti mechanismu řízení růstu a morfogeneze u rostlin jsou dosud velmi nedokonalé. Je však jisté, že přenos morfogenetických signálů se děje převážně pomocí poměrně jednoduchých chemických sloučenin. K nejdůležitějším z nich patří rostlinné hormony (*fytohormony*). Kromě nich ovšem může být růst ovlivňován celou řadou běžných metabolitů (např. koncentrací sacharózy). Ty mohou jednak působit samostatně či ve funkci mediátorů fytohormonů.

10.1 Obecné otázky působení fytohormonů

Fytohormon je definován jako *organická sloučenina, která po syntéze v jedné části rostliny je transportována do jiné její části, kde ve velmi malé koncentraci způsobuje fyziologickou reakci.*

K fytohormonům tedy nepočítáme anorganické ionty přijímané z vnějšího prostředí, ani organické metabolity produkované rostlinou ve velkých kvantech (sacharidy, aminokyseliny), i když mohou významně růst ovlivňovat. Nezahrnujeme k nim ani uměle vyrobené sloučeniny s regulační účinkem na růst.

V současné době máme nejvíce poznatků o fytohormonech tří početných skupin označovaných jako **auxiny**, **gibereliny** a **cytokininy**. K velmi významným a všeobecně rozšířeným fytohormonům patří i **kyselina abscisová** a **etylén**. Tyto základní fytohormony mají nezastupitelnou funkci v naprosté většině rostlin. Kromě nich je známa ještě řada dalších sloučenin, které vyhovují definici fytohormonu (např. *kyselina jasmonová*, *brassinosteroidy*, *polyaminy* a celá řada *fenolických látek*). O jejich funkci máme dosud poměrně málo poznatků, avšak přesto jejich významnost je zcela nepochybná. Výskyt těchto látek bývá však někdy omezen jen na některé taxonomické skupiny rostlin.

Každý fytohormon může působit na buňky v různých orgánech a výsledek tohoto působení může být velmi nejednotný. Je totiž závislý na vývojovém stavu příslušného orgánu i na interakcích jak s dalšími fytohormony, tak i s mnoha dalšími vnitřními i vnějšími faktory. Jakékoliv zobecňování vlivu jednotlivých fytohormonů na růstové procesy je proto velmi obtížné.

Ve výzkumu mechanismu hormonální regulace není rostlinná fyziologie dosud na takové úrovni poznání jako fyziologie živočichů. Zdá se však, že některé základní principy budou společné. I u rostlin bude totiž působení hormonů možné dvěma hlavními cestami:

- ◆ proniknutím do buňky a ovlivňováním genové aktivity v jádře,
- ◆ pomocí receptorového systému v plazmatické membráně, obvykle ve spojení s dalšími přenašeči signálu (mediátory) uvnitř buňky.

Biochemická podstata *ovlivňování genové aktivity* pomocí fytohormonů není dosud uspokojivě známa. Přesto existuje již řada důkazů, že probíhá především na úrovni přepisu (transkripce) a úpravy (processing) mRNA. Ta je totiž ovlivňována enzymy a není proto obtížné si představit možné působení fytohormonu aktivujícího příslušný regulační protein. Nelze však vyloučit ani posttranslační modifikace enzymů mimo jádro.

Identifikace specifických *receptorů* v plazmatické membráně pro jednotlivé fytohormony se již v řadě případů podařila, stejně tak již máme jistou představu o vnitrobuněčném přenosu signálu pomocí *druhotných mediátorů*. K dosud nejlépe prozkoumaným patří přenos signálů založený na hydrolýze jedné skupiny fosfolipidů (fosfoinositidy) enzymem *fosfolipázou*. Vzniklé produkty (vodorozpustný *inositol-1,4,-S-trisfosfát* a v tucích rozpustný *diacylglycerol*) mohou pak ovlivňovat činnost některých aktivačních enzymů (např. *proteinkináz*), ale i transportních proteinů (např. pro Ca^{2+} , které mají opět velmi významný aktivační účinek na řadu enzymů.). Je tedy zřejmé, že v tomto případě je působení fytohormonů spojeno se zapojením složitého řetězce mediátorů.

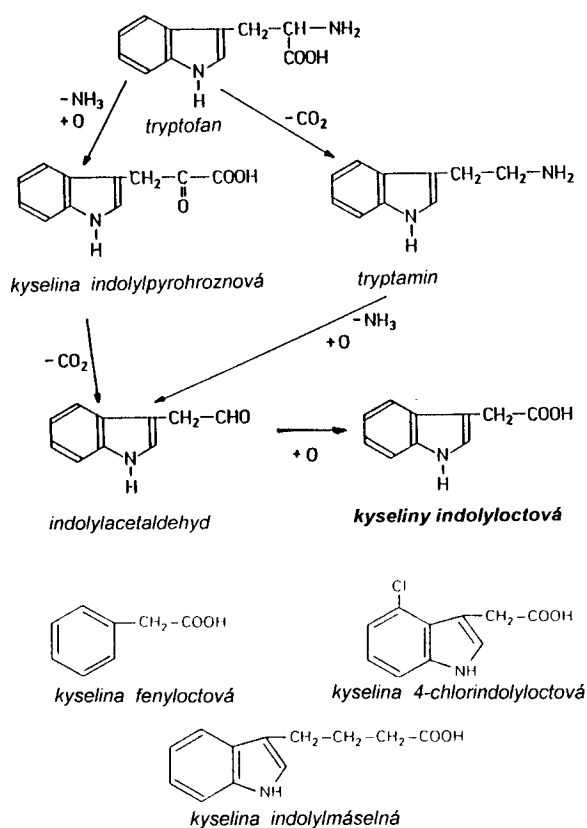
10.2 Auxiny

Ze všech rostlinných hormonů byly jako první objeveny auxiny. Po dlouhá léta byl znám vlastně jen jedna látka tohoto typu, a sice **kyselina β -indolyloctová** (angl. *Indoleacetic Acid*, zkráceně **IAA**). Dnes víme, že se v rostlinách vyskytují ještě nejméně tři další organické kyseliny s podobným účinkem:

- kyselina 4-chlorindolyloctová,
- kyselina β -indolylmáselná,
- kyselina fenyloctová.

Kromě toho můžeme v rostlinách najít další tři velmi podobné sloučeniny, které však považujeme pouze za prekurzory auxinů (*indolylacetaldehyd*, *indolylacetonitril* a *indolyletanol*). Velmi snadno se oxidují na IAA. Známe však i několik uměle připravených látek s účinkem charakteristickým pro auxiny - jde o aromatické sloučeniny s karboxylovou skupinou, což jsou zřejmě dva nezbytné předpoklady pro ovlivnění příslušných receptorů v rostlině (např. *kyselina α -naftalenoctová*, NAA).

Ze všech jmenovaných auxinů a jejich prekurzorů máme daleko nejvíc poznatků o tvorbě, transportu a degradaci kyseliny indolyloctové. Její **syntéza** je možná několika cestami, které vycházejí z aminokyseliny *tryptofanu*. Enzymy, které se na této syntéze podílejí, jsou nejvíce aktivní v mladých rostoucích částech rostlin. Apikální meristémy v nadzemních částech a mladé listy jsou tedy hlavními místy syntézy IAA. Odbourávání (degradace) IAA začíná obvykle ztrátou karboxylové skupiny. Kromě řízení rychlosti syntézy a degradace IAA může rostlina kontrolovat její koncentraci pomocí dočasné inaktivace vazbou na některé organické látky, zejména na cukry a aminokyseliny. Z těchto *konjugátů* se pak IAA snadno uvolňuje pomocí hydrolytických enzymů. Vázaná IAA má velký význam jako zásobní forma, která může být ukládána v semenech a rychle aktivována při klíčení.



Obr.38. Schéma dvou možných cest syntézy kyseliny indolylactové v rostlinách. Ve spodní části obrázku jsou uvedeny další tři nativní auxiny.

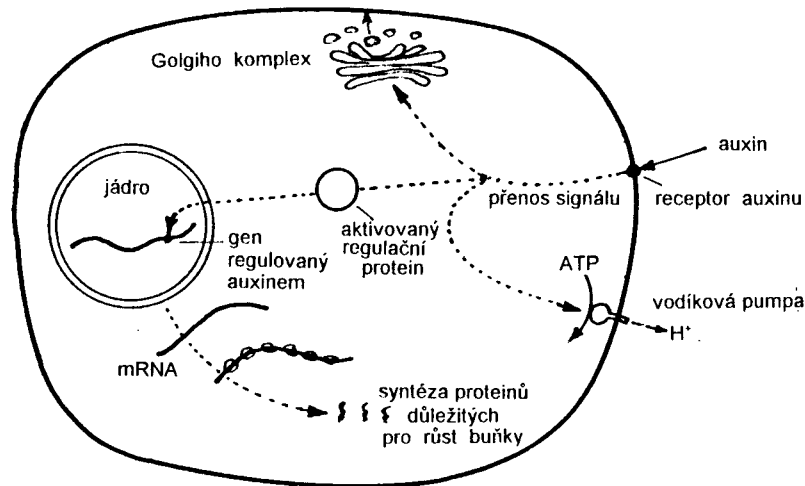
Transport IAA v rostlině má několik zvláštností. Na rozdíl od většiny ostatních metabolitů, jen zřídka bývá nalézána v lýku či v xylemu. Nejčastěji je vedena parenchymatickými buňkami v blízkosti cévních svazků. Tento transport je poměrně pomalý (jen asi 10 mm za hodinu) a vyžaduje metabolickou energii. Plazmatické membrány překonává symportem s vodíkovými ionty. Další zvláštností je výrazně polární charakter transportu IAA - v nadzemních částech se pohybuje vždy od růstového vrcholu a od mladých listů směrem ke kořenům (= *bazipetálně*). Tento způsob transportu nutně vyžaduje i jistý způsob polarizace plazmatické membrány (její rozdílné transportní vlastnosti v různých částech buňky). Rychlost transportu auxinů může být významně ovlivňována působením některých specifických metabolitů, zejména ze skupiny flavonoidů.

Působení auxinů na procesy v rostlinách je mnohostranné. Nejznámější je stimulace dlouhivého růstu buněk, částečně i rychlosti dělení, a to často již v koncentraci 10^{-8} M. Stejně tak dobře prozkoumaný je kladný vliv zvýšené koncentrace auxinů na růst kořenů, zvláště na četnost větvení a na tvorbu adventivních kořenů. Tato vlastnost má široké praktické využití při zakořeňování řízků rostlin (nejúčinnější bývá kyselina indolylmásečná). Vliv auxinů na buněčné aktivity se v přírodních podmínkách uplatňuje i při poranění, kdy stimulují tvorbu ochranné vrstvy z korkovatělých buněk zacelujících rány. Bylo ale zjištěno, že účinek auxinů na dělení se projevuje pouze za přítomnosti dalších fytohormonů ze skupiny cytokininů. Auxiny mohou také ovlivňovat tvorbu některých dalších fytohormonů (např. etylénu, který má převážně inhibiční účinky) a působit tak nepřímo, zprostředkovaně.

Auxiny jsou také zapojeny do řízení pochodů, kterými rostlina reaguje na jednostranné působení prostředí (*gravitropismus*, *fototropismus*). Ty budou podrobněji probrány v dalších kapitolách. Obtížně vysvětlitelný je podíl auxinů na *apikální dominanci* růstu (inhibiční vliv

vegetačního vrcholu na níže položené pupeny), která je u rostlin běžným jevem. Podle původní představy byla "nadvláda" vrcholového meristému vysvětlována vysokou koncentrací auxinů transportovaných z vegetačního vrcholu. Jak je známo, příliš vysoká koncentrace auxinů (zhruba nad 10^{-4} M) může mít již výrazně inhibiční účinky na růst. Tudiž mohla by i brzdít rozvoj níže položených pupenů. Nové poznatky svědčí spíše v neprospěch klasické auxinové teorie - mezi stupněm inhibice pupenů a rychlostí přítoku nativních auxinů nebyla zjištěna kladná závislost. Na druhé straně však víme, že jistý podíl auxinů na apikální dominanci je zcela nepochybný. Působí však pravděpodobně v interakci s jinými fytohormony, či nepřímo usměrňováním translokace látek v lýku.

Velmi složité je také vysvětlení **mechanismu působení** auxinů v buňkách. Stimulace dlouhivého růstu je tradičně vysvětlována vlivem auxinů na roztažitelnost buněčné stěny. K tomu dochází pravděpodobně vlivem sníženého pH v buněčné stěně, jako následek zrychlení transportu vodíkových iontů přes plazmalemu stimulačním působením auxinů na činnost protonových pump. Toto působení ovšem není přímé, ale zprostředkované přes receptory auxinů v plazmatické membráně a řetězec druhotných mediátorů v buňce.



Obr.39. Schema možných mechanismů při působení auxinu na růst buněk. (Taiz et Zeiger 1991, upraveno).

Moderní výzkumy se však neomezují pouze na změny vlastností buněčné stěny, ale také na vnitrobuněčné procesy, které mohou být pod jejich vlivem. Bylo dokázáno, že auxiny jsou schopny velmi rychle měnit genovou aktivitu (především na úrovni transkripce). Z plazmatické membrány bylo již izolováno několik proteinů, které mohou sloužit jako receptory IAA. Neznáme však dosud přesněji průběh celého přenosu signálu, avšak je velmi pravděpodobný fosfolipidový mechanismus, o kterém byla již zmínka v obecném úvodu.

10.3 Gibereliny

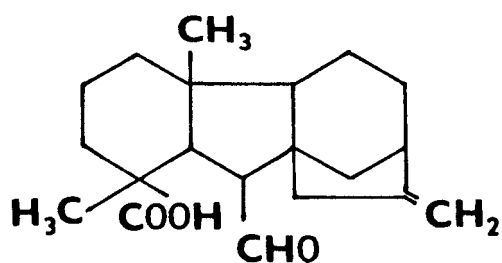
Objev této skupiny fytohormonů je přibližně stejně starý jako v případě auxinů (pozorování účinků ve dvacátých letech a izolace ve třicátých letech tohoto století). Byl učiněn v Japonsku a na dlouhou dobu zapomenut - teprve od padesátých let se začaly gibereliny skutečně intenzivně zkoumat. V současné době známe asi 85 různých giberelinů, ovšem řada z nich budou asi jen fyziologicky inaktivní prekurzory či málo účinné formy.

Všechny gibereliny patří mezi terpeny s 18 až 20 uhlíky ve čtyřech kruhových systémech a nejméně s jednou karboxylovou skupinou. Jsou proto kyselé povahy. Označují se zkratkou **GA** (*Gibberellic Acid*) s číselným indexem. Byly nalezeny u všech dosud

zkoumaných druhů cévnatých rostlin i u značného množství druhů rostlin nižších. Některé jsou společné mnoha druhům (např. GA₁), jiné lze najít mnohem vzácněji.

Syntéza giberelinů *in vivo* vychází z acetátových skupin, ze kterých se tvoří kyselina mevalonová a isopentenylpyrofosfát, jako základní stavební prvek všech terpenů. Degradace giberelinů v rostlinách je velmi pomalá, ale často dochází k inaktivaci vazbou s jinými sloučeninami. Konjugáty s glukózou (glukosidy) jsou velmi důležitou zásobní formou giberelinů.

Pravděpodobně každá rostlinná buňka má jistou schopnost tvořit gibereliny, nicméně v některých orgánech je tato tvorba zvláště intenzivní. K nim patří především mladé listy, které produkcí giberelinů mohou velmi zrychlovat růst stonku. Neobyčejně vysoká koncentrace giberelinů bývá pravidelně zjišťována v mladých, vyvíjejících se semenech. Transport giberelinů, na rozdíl od auxinů, není jen bazipetální, ale všestranný, a může probíhat v lýku i v xylému. Syntéza giberelinů probíhá nejen v nadzemních částech, ale i v kořenech, ovšem vlastní růst kořenů je jimi jen velmi málo ovlivňován. Spíše bývá zjišťováno, že většina produkce giberelinů je transportována xylemem do nadzemních částí.

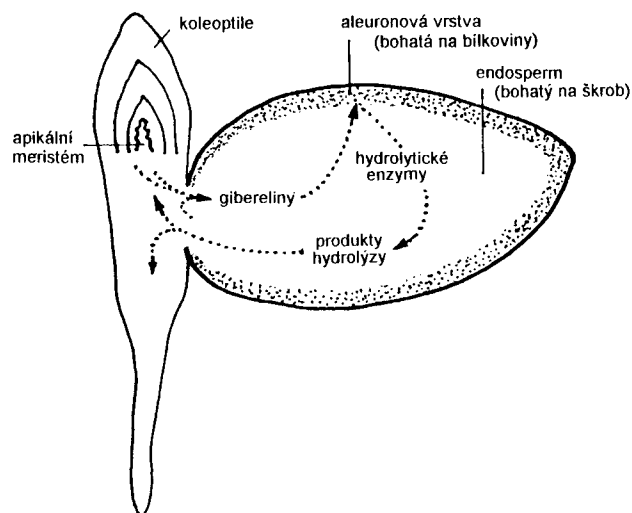


Obr.40. Giberelin GA₁₂-aldehyd, výchozí sloučenina pro syntézu desítek dalších giberelinů v rostlinách.

Z **fyziologických účinků** giberelinů je nutno na prvním místě jmenovat obecnou stimulaci růstu, zejména pak dlouhivého růstu stonku. Geneticky pozměněné rostliny s poruchou syntézy giberelinu mají zakrslý vzrůst a jejich reakce na uměle dodaný giberelin je překvapivě rychlá.

Gibereliny mají významnou funkci při klíčení semen. Na počátku klíčení se uvolňují hydrolýzou z konjugovaných zásobních forem, později jsou produkovány embryem. Stimulují tvorbu a vylučování hydrolytických enzymů, a tudíž řídí i rychlost uvolňování substrátu z rezerv v semeni pro růst klíčící rostlinky. Zvýšení koncentrace α -amylázy v aleuronové vrstvě obilky bývá také používáno jako biotest na stanovení koncentrace giberelinů v extraktech.

Mechanismus působení giberelinů není zatím dokonale poznán. Je však jisté, že stimuluje dělení buněk (zkrácením G₁ a S-fáze), hlavně však jejich dlouhivý růst v subapikálních růstových zónách. Ke zrychlení dlouhivého růstu buněk dochází především zvýšením roztažitelnosti buněčné stěny. Gibereliny brání reakcím, které ztuzují buněčnou stěnu, ale na rozdíl od působení auxinů nedochází ke změně její acidity. Na rychlost růstu působí příznivě i velké množství hexos, uvolňovaných při stimulované hydrolýze polysacharidů, neboť ty jsou zdrojem energie a stavebního materiálu pro rostoucí buňky. Navíc přispívají ke zvýšení osmotického tlaku, a tedy i k následnému zvýšení turgoru. Ten, jak již víme, je nutným předpokladem růstu. Zmíněná stimulace tvorby hydrolytických enzymů působením giberelinů se vysvětluje aktivací genů a zrychlením procesu transkripce.



Obr. 41 Schematické znázornění funkce giberelinů při klíčení obilky.

Experimentálně bylo zjištěno, že aplikací giberelinů lze někdy přerušit dormanci semen i pupenů a nahradit tak vlastně působení nízkých teplot, dlouhé fotoperiody či červeného světla, které jsou jinak na odstranění dormance nutné. Stejně tak mohou gibereliny někdy nahradit účinek dlouhého dne při indukcii kvetení. Mechanismus ani fyziologický význam těchto účinků není dosud uspokojivě vysvětlen.

Gibereliny nedokážeme vyrábět synteticky. Jejich biotechnologická produkce kulturami hub je drahá a proto i praktické využití je omezené. Přesto se občas používají zejména tam, kde záleží na zvětšení rozměrů rostlin či jejich orgánů (např. byl zkoušen postřik hroznů révy vinné). Zvětšení rozměrů rostlin ošetřených gibereliny však nebylo v některých případech spojeno se vzrůstem hmotnosti sušiny. Více než vlastní gibereliny došly praktického využití sloučeniny, které jejich syntézu v rostlinách blokují a způsobují tudíž zpomalení růstu (růstové retardanty). K takovým látkám patří např. chlorcholinchlorid, známý pod zkratkou CCC ("*Retacel*"), ale i jiné sloučeniny známé pod obchodními názvy *Phosphon* a *Paclo-butrazol*. Často se těmito přípravky ošetřovaly obiloviny, neboť kratší stébla jsou méně náchylná k polehání. Jejich používání však už není dovoleno, neboť zdravotně nebezpečné metabolity těchto látek se dostávaly do potravního řetězce.

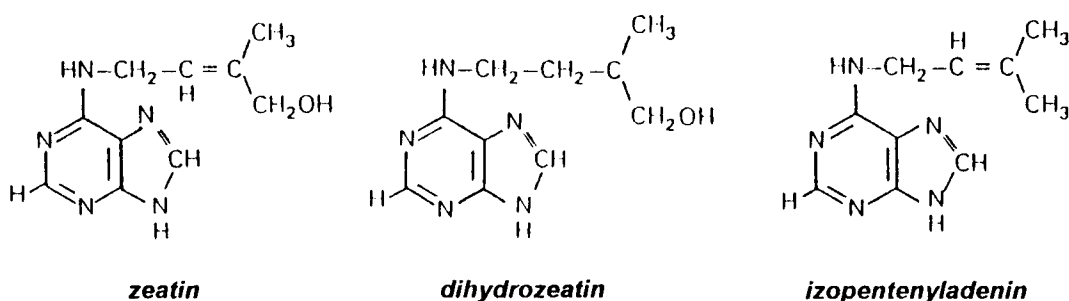
10.4 Cytokininy

Na počátku padesátých let byly na několika výzkumných pracovištích usilovně hledány a testovány látky, které by mohly regulovat rychlost buněčného dělení (*cytokineze*). Toto úsilí bylo motivováno nejen možnými aplikačními aspekty, ale vycházelo i z potřeby lépe vysvětlit růstově-regulační procesy. Rozkladem DNA byla získána sloučenina nazvaná *kinetin*, která byla sice velmi účinná, ale - jak se později zjistilo - v rostlinách se volně nikdy nevyskytuje. Teprve v šedesátých letech se skutečně podařilo z rostlin extrahovat přirozeně se vyskytující (nativní) látky s velmi podobnou strukturou a účinky jako měl kinetin. První izolace se podařila z endospermu nedozrálých obilok kukuřice (*Zea mays*) - proto dostala nově objevená sloučenina název *zeatin*. Je asi vůbec nejhojnější ze všech cytokininů, kterých dnes již známe několik desítek. Část z nich nacházíme v rostlinách ve volné formě, část jich bývá vázána na některé jiné sloučeniny (např. jako atypické báze v tRNA, nikoli však v DNA!). Spolu se synteticky připravenými analogy představuje celá skupina cytokininů více než 200 sloučenin.

Z chemického hlediska jsou si všechny cytokininy dosti podobné, ovšem tvorba různých derivátů je zde častější než u jiných fytohormonů. Základní kostru tvoří *adenin*, na který je

připojen boční řetězec (např. isopentenyl u jednoho z velmi běžných cytokininů, *isopentenyladeninu*). Kromě toho se na každý z cytokininů může napojovat ribóza za vzniku nukleosidu (ribosidu) a po připojení fosfátové skupiny vznikají *nukleotidy*. Ty jsou obvykle nejčastější transportní formou cytokininů. Největší regulační účinky však mívají jen základní formy, označované též jako *volné báze*.

Syntéza cytokininů se odvozuje od *adenosinmonofosfátu*, ze kterého se pak odštěpuje fosfátová skupina a ribóza. Obdobně jako u auxinů a giberelinů je i zde možná tvorba konjugátů (zejména glykosidů), které mohou být využity k ukládání do rezervních orgánů či pro transport. Také u cytokininů máme potíže s přesným určením místa jejich syntézy, neboť toto nemusí být totožné s místem jejich nejvyšší koncentrace. Existují ale dostatečné důkazy o zvláště intenzivní syntéze cytokininů v kořenových špičkách, odkud jsou rozváděny xylémem do ostatních orgánů. U některých druhů rostlin byla dokazována tvorba cytokininů i v nadzemních částech. Nejčastěji však mladé listy a jiné nadzemní orgány s meristemy, v nichž pravidelně zjišťujeme vysokou koncentraci cytokininů, jsou jimi v hojné míře zásobovány z kořenů.



Obr.42. Nejběžnější cytokininy v rostlinách.

Mechanismus působení cytokininů je znám jen v omezené míře. Jejich hlavní účinek na iniciaci a zrychlení celého cyklu při dělení buněk je pravděpodobně dosahován několika různými regulačními mechanismy. Jedním z nich je zvýšení aktivity některých proteinkináz, zapojených do řízení chodu buněčného cyklu. Významný je také vliv cytokininů na urychlení přepisu DNA a tím i zkrácení syntetické fáze cyklu. Účinek cytokininů na dělení buněk je podmíněn přítomností auxinů, které ovlivňují především iniciaci replikace DNA.

I přes dosud neuspokojivé znalosti mechanismu působení, máme mnoho experimentálních údajů o chování rostlin po aplikaci cytokininů. Velká část jich byla získána při kultivacích meristémů *in vitro*. Z nich je zcela zřejmá koordinace působení cytokininů s auxiny nejen při již zmíněném dělení buněk, ale především při jejich *diferenciaci*. Jen za určitého poměru koncentrací těchto dvou fytohormonů regenerují z kalusové kultury dokonale vyvinuté rostliny. Při převaze auxinů je preferována tvorba kořenů, nadbytek cytokininů vede pouze k tvorbě stonků a listů.

Cytokininy podporují *tvorbu pupenů* u dvouděložných rostlin a ruší jejich dormanci (způsobenou např. apikální dominancí), ovšem další růst iniciovaných pupenů je možný pouze za spoluúčasti auxinů a giberelinů.

Významný je také účinek cytokininů na zpomalení některých projevů *stárnutí*. Mnoho pokusů bylo prováděno zejména s listy, které si podstatně déle zachovávají funkční chloroplasty a vysoký obsah chlorofylu jestliže je v nich obsah cytokininů zvýšen (umělou aplikací či přirozenou cestou po zakořenění řapíku). Ukazuje se, že cytokininy především chrání membrány před degradací (antioxidační ochrana nenasycených mastných kyselin). Neméně významný je i poznatek, že orgány se zvýšeným obsahem cytokininů jsou

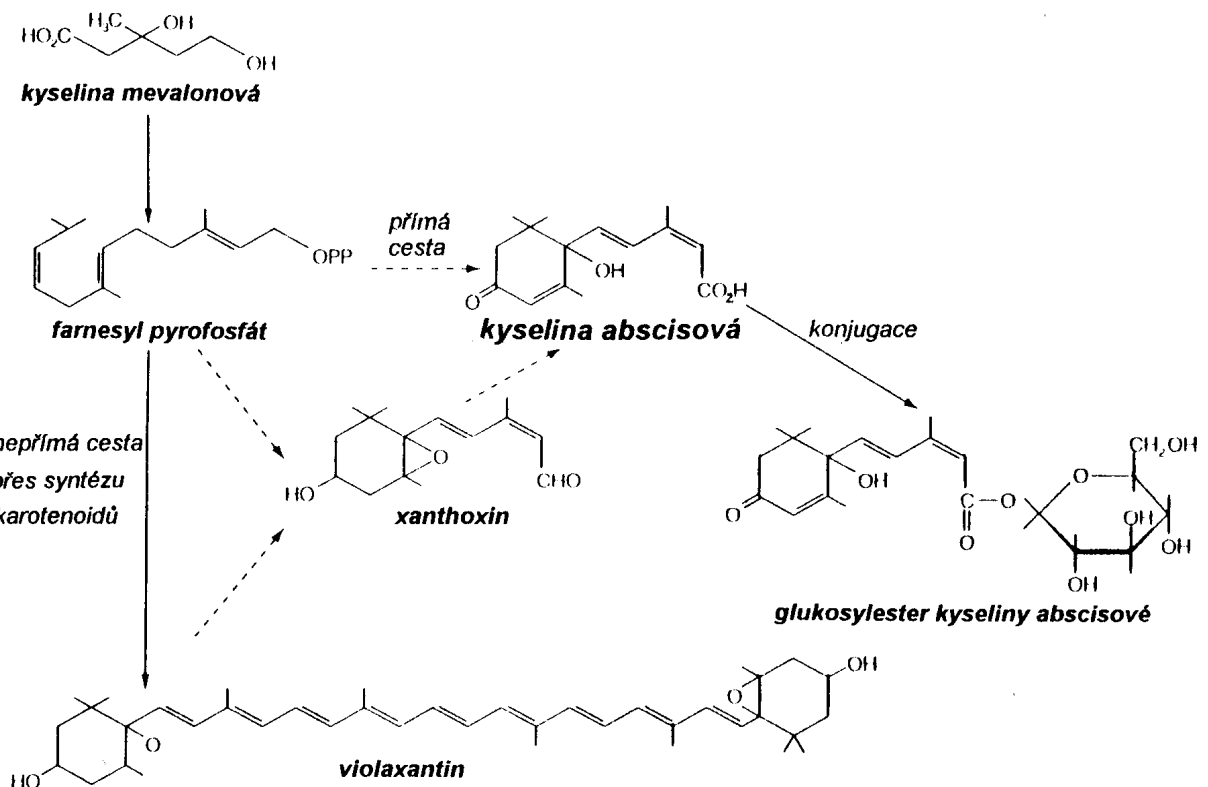
přednostně zásobovány metabolity rozváděnými v lýku, což má význam nejen pro zpomalení stárnutí některých orgánů, ale zejména pro preferenční zásobení rostoucích částí rostliny. Také rychlost toku asimilátů do zásobních orgánů může být řízena cytokininy.

Z dalších zjištěných účinků cytokininů můžeme ještě jmenovat stimulační vliv na klíčení semen. V odstranění jejich dormance do jisté míry nahrazují vliv nízkých teplot. Významný stimulační vliv byl pozorován při tvorbě funkčních chloroplastů z proplastidů (včetně zvýšení rychlosti tvorby gran a chlorofylu), což lze vysvětlit zrychlenou tvorbou specifických proteinů. Obtížněji vysvětlitelná je však celá řada dalších účinků, např. na tvorbu plodů, rychlost dozrávání, atd.

10.5 Kyselina abscisová

I když k objevu tohoto fytohormonu došlo mnohem později než u všech dosud probíraných skupin (až v roce 1963), vůbec to neznamená, že by byl snad méně významný. Stále zřetelněji se ukazuje, že kyselina abscisová (angl. *Abscisic Acid*, zkráceně *ABA*) je nejen velmi mocným regulátorem růstových procesů u všech vyšších rostlin, ale plní i další funkce související se zvýšením odolnosti vůči nepříznivým vnějším vlivům.

Po chemické stránce se jedná o relativně jednoduchou sloučeninu - seskviterpenoid s 15 uhlíky v molekule. **Tvorba ABA** v rostlině může probíhat jednak přímo z kyseliny mevalonové a farnesylpyrofosfátu, a nebo nepřímo štěpením některých karotenoidů, především violaxanthinu na xanthoxin (u listů v chloroplastech, u nezelených orgánů pak v jiných typech plastidů). Xanthoxin je pak postupně oxidován na ABA-aldehyd a vlastní ABA. Tyto procesy už nejsou vázány na plastidy, ovšem přesto u listů nacházíme největší množství ABA uloženo právě v chloroplastech. Je nutno poznamenat, že i xanthoxin má fyziologické účinky zcela podobné ABA, ovšem je velmi málo pohyblivý.



Obr.43. Možné cesty syntézy kyseliny abscisové v rostlinách. (Taiz et Zeiger 1991, upraveno).

Z **fyziologických účinků** ABA bývá na prvním místě uváděno zpomalení růstových procesů. V těch částech rostliny, které vstupují do dormance (zejména pupeny na konci léta), nacházíme velmi často zvýšenou koncentraci ABA, ovšem ne u všech druhů rostlin. Zřejmě jsou možné ještě jiné mechanismy, jak uvést meristémy do klidového stavu. Při *dozrávání semen* však ABA hraje prakticky vždy významnou úlohu - jednak brzdí předčasný růst embrya v nevyzrálých semenech, a také řídí tvorbu a ukládání některých látek. Dříve velmi zdůrazňovaná řídicí úloha ABA při tvorbě odlučovací vrstvičky (způsobující opad listů, květů a plodů) není v současné době již obecně uznávána. Podstatně větší vliv na tyto procesy má totiž IAA a etylen - ABA však může nepřímo spolupůsobit.

Kromě regulace růstu má ABA mimořádně významnou úlohu v řízení mnoha dalších fyziologických procesů při *působení stresových faktorů* na rostlinu. Při nedostatku vody v listech (indikované mírným poklesem turgoru a vodního potenciálu buněk) koncentrace ABA velmi rychle vzrůstá. Toto zvýšení vede k zavření průduchů (mechanismem již dříve popsáním v kapitole věnované průduchové regulaci výměny plynů), a to mnohem dříve, než by k němu došlo jiným způsobem. Zavírací reakce průduchů bývá dokonce pozorována již při počátku vysychání půdy, ačkoliv vodní potenciál listů je dostatečně vysoký - přenos informace je vysvětlován uvolněním a transportem ABA z kořenů do listů. Ke zvýšení koncentrace ABA dochází také pod vlivem nízkých teplot a zasolení půdy. ABA je tedy významným článkem obecné stresové reakce, která vede (mimo jiné) i k tvorbě nových proteinů zvyšujících celkovou odolnost. Tvorba ABA za všech stresových situací je iniciována především poklesem turgoru buněk, ovšem příslušný receptor změny tlaku (v plazmatické membráně) a přenos signálu pro genovou aktivaci dosud neznáme.

Mechanismus působení ABA lze rozdělit do tří hlavních oblastí:

a) *inhibice činnosti ATPáz* v plazmatické membráně, což vede k poklesu gradientu vodíkových iontů. S tím je spojeno vylučování draslíku z buněk a tudíž i pokles jejich turgoru. Pokles turgoru má za následek rychlé zastavení dlouhivého růstu buněk v meristémech. Působení ABA na epidermální svěrací buňky pak vede k zavírání průduchů. V tomto ohledu je tedy účinek ABA právě opačný než účinek auxinů.

b) Celková *inhibice syntézy proteinů* a tudíž i aktivity některých enzymů (např. hydroláz v semenech), což se uplatňuje zejména při navozování dormance. Jde tedy o antagonistický účinek ke giberelinům. Poměr mezi obsahem ABA a obsahem giberelinů v semenech obvykle rozhoduje o tom, zda jsou klíčivá či dormantní.

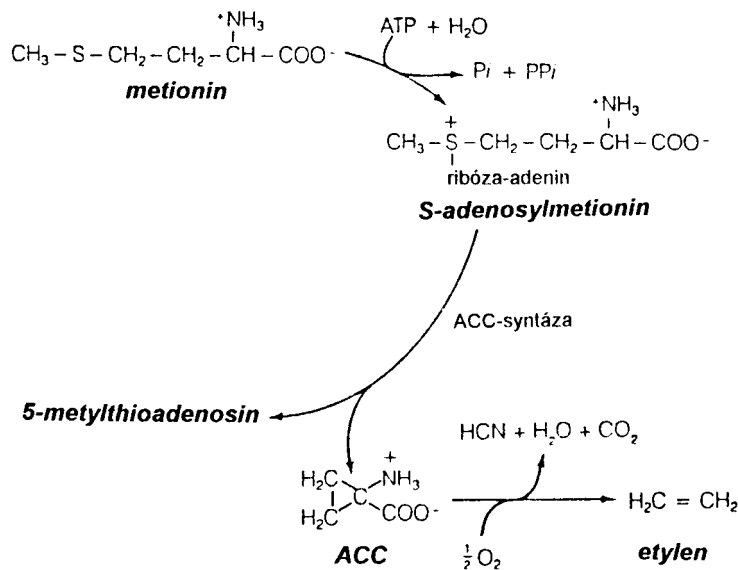
c) Specifická *aktivace a inaktivace některých genů* (působením na úrovni transkripce). To umožňuje za stresových podmínek nahradit část stávajících proteinů novými, s výhodnějšími vlastnostmi (stresové proteiny).

10.6 Etylén

Zařazení tohoto nejjednoduššího uhlovodíku s dvojnou vazbou - a navíc plynu - mezi fytohormony je poněkud překvapující, ale etylén svými fyziologickými účinky mezi ně rozhodně patří. Působení etylénu na růst rostlin bylo pozorováno již na začátku tohoto století. Teprve zavedení plynové chromatografie v šedesátých letech umožnilo provádět exaktní experimentální výzkum jeho působení.

Etylén produkují vyšší rostliny ve všech svých částech, dále řada hub (včetně hub žijících v půdě), a některé mikroorganismy. Zvláště velký výdej etylénu bývá zjišťován u dozrávajících plodů, u velmi mladých i u stárnoucích listů, a také při působení různých stresových faktorů. Také poraněné rostlinné orgány zvyšují mnohonásobně produkci etylénu již v průběhu několika desítek minut.

Syntéza etylénu v rostlinách se odvozuje z cyklických přeměn aminokyseliny *methioninu* až na zvláštní kyselinu *1-amino-cyklopropan-1-karboxylovou* (ACC) za spotřeby energie jedné molekuly ATP. Ke konečné tvorbě etylénu z ACC je nutný jeden atom kyslíku. Transport etylénu v rostlině probíhá nejčastěji prostou difuzí v intercelulárách. Cévními svazky po celé rostlině je rozváděna pouze ACC, která se také může hromadit ve vakuolách. Rychlost tvorby ACC (katalyzovaná enzymem ACC-syntázou) je hlavní reakcí, na které závisí konečné množství uvolňovaného etylenu. Velmi často bývá pozorován autokatalytický efekt - vyšší koncentrace etylenu dále zvyšuje rychlost jeho tvorby (stimulováním tvorby i rozpadu ACC).



Obr.44. Schema syntézy etylénu (5-methylthioadenosin je regenerován zpět na metionin).

Jak již bylo uvedeno, k syntéze etylénu je nutný kyslík, a proto u orgánů v hypoxických podmínkách (např. u kořenů v zaplavených či udusaných půdách) se nutně musí její rychlost snižovat. Přesto právě za těchto podmínek může dojít k překvapivému nahromadění etylenu v intercelulárách, neboť je velmi omezena možnost jeho difuze do vnějšího prostředí. V listech je syntéza etylenu inhibována světlem. Naopak vysoké koncentrace auxinů obvykle produkci etylenu stimulují.

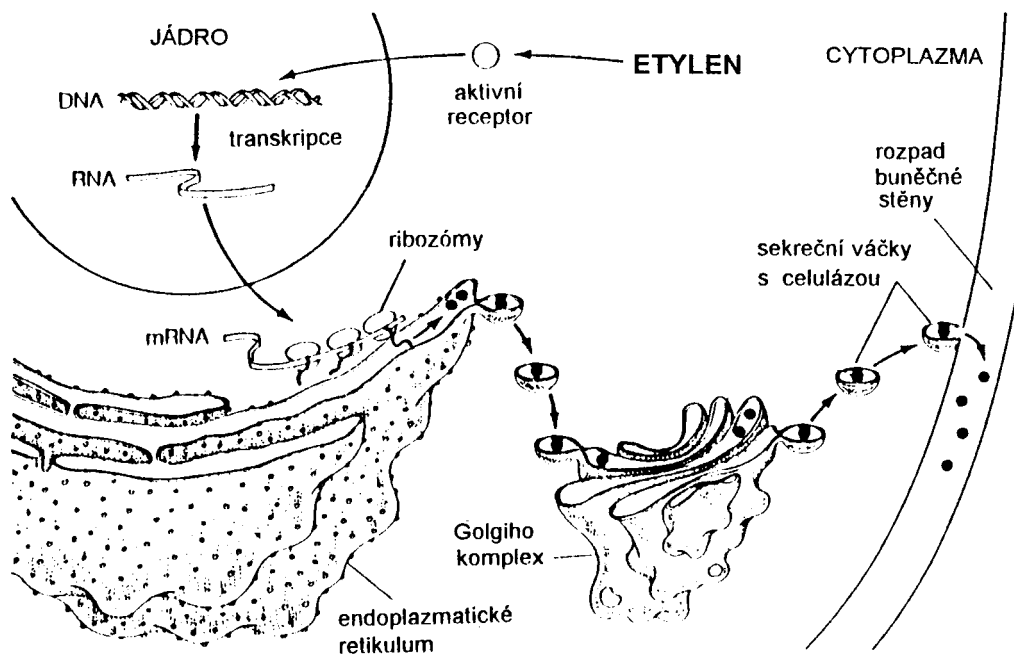
Fyziologické účinky etylenu jsou velmi rozmanité a někdy i poněkud protichůdné. Nejčastěji bývá pod jeho vlivem pozorováno zpomalení dlouhivého růstu stonků i kořenů a současně jejich tloušťnutí. Podstatou těchto změn je jiná orientace mikrofibril celulózy v buněčných stěnách. Reakce buněk v některých orgánech však může být nestejná - to pak vede k obloukovitému zakřivení rostoucího orgánu (např. řapíku listů - epinastie). Někdy také dochází působením etylenu ke ztrátě gravitropismu. Známé jsou však i některé kladné účinky etylenu na růstové procesy - zrychluje dlouhivý růst některých vodních rostlin, vyvolává tvorbu adventivních kořenů, tvorbu odlučovací vrstvičky buněk v řapících listů a také může stimulovat klíčení semen.

Četné jsou i účinky etylenu na jiné procesy, než je pouze růst a morfogeneze. K nejvýznamnějším patří stimulační účinky některých procesů souvisejících se zráním plodů. Nejčastěji k tomu dochází díky významnému zvýšení aktivity enzymů hydrolyzujících polysacharidy (celuláza, pektinázy). Aktivace těchto enzymů pod vlivem etylenu bývá pozorována nejen v

plodech, ale i v jiných orgánech a vede k velmi závažným následkům (např. lýtická tvorba intercelulár v kořenech, opad listů, plodů a květů, degradace struktur ve stárnoucích orgánech, atd.).

Etylén může působit již ve velmi nepatrné koncentraci (asi $1 \text{ cm}^3 \cdot \text{m}^{-3}$) a jeho tvorba může být někdy až překvapivě velká (např. ve zralém jablku dosahuje koncentrace etylénu často více než $2000 \text{ cm}^3 \cdot \text{m}^{-3}$!). Bezkontaktní vzájemné ovlivňování rostlin pomocí etylénu je tedy docela dobře možné. Zvláště výrazné může být toto působení v prostředí s omezenou výměnou vzduchu, např. v půdě. Zde může docházet nejen k vzájemnému ovlivňování kořenů sousedních rostlin, ale také etylen produkovaný půdními mikroorganismy a houbami může ovlivňovat růst kořenů.

Mechanismus působení etylenu v buňkách je znám velmi nedostatečně a nebyly také dosud přesně určeny specifické receptory. Současné výzkumy však naznačují, že funkci receptorů by mohly mít jisté proteiny s obsahem mědi, které jsou schopny selektivního ovlivňování procesu transkripce. Tím lze vysvětlit vliv etylénu na indukci tvorby celé řady enzymů - kromě celulázy jde i o některé zcela specifické enzymy s obranným účinkem při houbových infekcích a příznivě působící na urychlení hojivých procesů po poranění. Byl také dokázán přímý vliv etylénu na funkci membrán, zejména na zvýšení jejich propustnosti pro ionty solí.



Obr.45. Schema možného působení etylénu na rozpad buněčné stěny při dozrávání plodů. (Taiz et Zeiger 1991).

Praktické využití etylénu pro ovlivňování procesů v rostlinách souvisí v první řadě s regulací rychlosti dozrávání plodů. Pro urychlení zrání ovoce koncentraci etylénu ve skladových komorách zvyšujeme (zejména bývá využíváno u banánů, které se musejí sklízet a transportovat ve zcela nezralém stavu). Naopak, máme-li zájem na zpomalení zrání (při skladování jablek), pak etylen vytvářený ovocem musíme ze vzduchu odstraňovat (např. větráním či pohlčováním v roztoku manganistanu draselného). Tvorbu etylenu lze také zastavit v bezkyslíkatém prostředí (uložení ovoce v dusíkové atmosféře).

Některé účinky etylenu nedovedeme zatím vysvětlit, i když jsou prakticky využívány. Jedná se zejména o indukci kvetení u bromeliovitých (ačkoli u jiných rostlin etylen obvykle kvetení inhibuje!), a o výrazné zvyšování podílu samičích květů u tykvovitých (ve společném působení s IAA).

10.7 Metodické přístupy ke studiu fytohormonů

Pokrok ve výzkumu fytohormonů je velmi těsně závislý na vývoji nových metod, a to převážně metod biochemických. Cílem práce rostlinných fyziologů není však pouhé sledování obsahu a chemických změn těchto sloučenin, ale poznání jejich významu pro řízení fyziologických funkcí v rostoucí rostlině. To je neobyčejně obtížný úkol, který nelze provádět bez jistých zjednodušení. Nejčastěji se používají tyto koncepčně odlišné přístupy:

- a) Stanovujeme vztah mezi reakcí rostliny (typ reakce, její velikost) a obsahem fytohormonů v příslušných orgánech, aniž bychom tento obsah uměle ovlivňovali.
- b) Aplikujeme syntetický či extrahovaný fytohormon na jistou část rostliny a sledujeme změny fyziologických procesů.
- c) Experimentálně navodíme nedostatek jistého fytohormonu a následným jeho dodáním pozorujeme nápravnou reakci. Pro tento typ pokusů jsou velkou pomocí rostliny geneticky pozměněné (mutanti, transgenní rostliny) se sníženou tvorbou určitého fytohormonu.
- d) Experimentálně navodíme zvýšenou produkci fytohormonů a pozorujeme reakce rostliny. K tomu jsou opět využívány molekulárně biologické metody - např. přenos bakteriálních genů pro tvorbu IAA a cytokininů do genomu pokusné rostliny.

V naprosté většině pokusů vycházíme z předpokladu, že limitující je jen koncentrace fytohormonu, nikoli kapacita receptorového systému. Tento předpoklad ale nemusí být vždy správný. Další nepříjemnou komplikací pokusů bývá vzájemné ovlivňování několika současně přítomných fytohormonů, které lze stěží vyloučit. Některé fytohormony též mohou velmi rychle a vratně přecházet do méně aktivních či zcela inaktivních konjugovaných forem.

Koncentrace fytohormonů v rostlinách je velmi nízká (řádově 10^{-6} až 10^{-8} M) a proto metody pro jejich stanovení musí být velmi citlivé a navíc dostatečně selektivní. Vlastní stanovení obvykle začíná extrakcí z čerstvého vzorku (alkoholem či acetonem) a převedením odparů do bezvodých organických rozpouštědel. Pak následuje pracná separace a čištění (především chromatograficky). Ke konečné kvantitativní detekci vyčištěných vzorků se nabízí celá řada metod s velmi rozdílnou přesností.

Biotesty jsou nejméně přesné a proto se dnes používají zřídka, převážně jen k orientačním účelům. Pro každou skupinu fytohormonů byly vypracovány standardní postupy na vhodných testovacích objektech (např. *pro auxiny*: zakřivení či délkové přírůstky segmentů koleoptile ovsa, *pro giberiliny* rychlost růstu hypokotylu salátu, atd.). Biotesty nejsou vhodné pro skutečně kvantitativní analýzu či pro zjištění rozdílů v chemickém složení testovaných sloučenin. Zato bývají někdy nenahraditelné pro ověření biologické účinnosti přesně definovaných sloučenin, izolovaných fyzikálně-chemickými metodami.

Fyzikálně chemické metody dnes zcela převládají. Především je používána kapalinová chromatografie (HPLC), dále plynová chromatografie (GC), někdy i ve spojení s hmotovou spektrometrií (GS-MS). Výhodou těchto metod, kromě značné citlivosti, jsou i menší nároky na čistotu extraktu.

Imunologické metody mají extrémní citlivost, nedostižnou jinými postupy. Jejich širšímu využití však brání obtížná příprava a tím i vysoká cena specifických protilátek (*imunoglobuliny*, které jsou produkovány pouze živočišnými buňkami). Také nároky na čistotu extraktů jsou vysoké. Existuje řada modifikací imunologických metod, např. s využitím radioizotopů či enzymů.

11 Vnější faktory regulující růst a vývoj

Růst každé rostliny v přírodě je ovlivňován desítkami nejrůznějších fyzikálně-chemických faktorů, které jsou navíc ve vzájemných interakcích. Zkoumat celý tento komplex je prakticky nemožné. Naštěstí významnost jednotlivých faktorů není stejná - lze tedy přednostně studovat působení těch nejdůležitějších, ke kterým nepochybně patří *záření a teplota*.

11.1 Fotorecepce, vlastnosti fytochromů a kryptochromů

Záření je pro rostliny v první řadě zdrojem energie. V kapitolách věnovaných fotosyntéze jsme si již vysvětlili, jakým způsobem je fotosynteticky účinná část spektra rostlinou zachycena a využita. Vazba radiální energie do asimilátů je jistě základním předpokladem růstu, ale není to jediný způsob, jak záření může působit na růst. Záření je totiž pro rostliny nejen zdrojem energie, *záření je i zdrojem důležitých informací o vlastnostech prostředí*, ve kterém se nacházejí. Na základě těchto informací pak mohou usměrňovat růst, vývoj i pohyby jednotlivých svých částí takovým způsobem, aby bylo zajištěno přežití a reprodukce v daném typu prostředí. Informační význam nemá jen *množství* záření a *směr* ze kterého dopadá na rostlinu, ale i *spektrální složení* a *periodicita* (střídání světla a tmy v průběhu dne).

Aby rostlina vůbec mohla využít informace přenášené zářením, je nutná jeho absorpce, dále pak převod a zesílení přijatého signálu. Jako *fotoreceptory* slouží specializované barevné sloučeniny (*pigmenty*). Některé z nich pohlcují jen dlouhovlnné červené záření, jiné zase mají maximum absorpce v krátkovlnné oblasti (modrá a fialová část spektra).

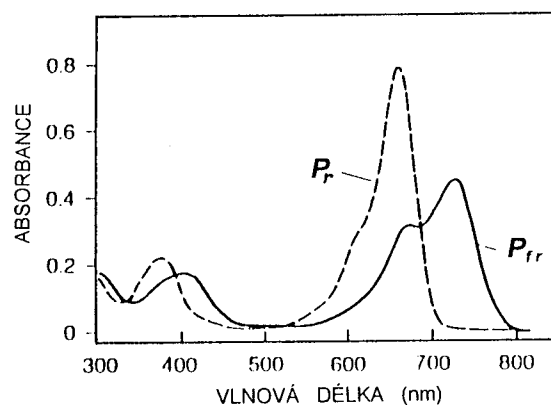
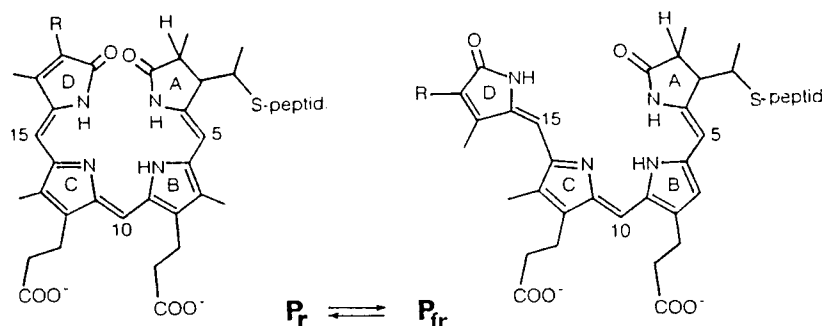
Fytochromy jsou nejdůležitější a také nejlépe prozkoumanou skupinou fotoreceptorů. Jsou proteiny (obvykle homodimery) volně pohyblivé v cytosolu, které mají kovalentně (přes sirný můstek) připojen tetrapyrolový řetězec. V důsledku přítomnosti této skupiny (*chromofóru*) mají charakter barviva (pigmentu) s velmi účinnou absorpcí některých složek světla. V každé rostlině se obvykle může vytvářet (v závislosti na podmínkách prostředí a ontogenetickém stádiu) nejméně pět různých typů fytochromů (označovaných písmeny A, B, C, D, E), které mají sice rozdílné proteinové nosiče (příslušné geny jsou již známy), ale stavba a funkce chromofóru je u všech shodná.

Základní *forma* všech typů fytochromů má modrou barvu a maximum absorpce ve spektrální oblasti *jasně červeného záření (660 nm)* a označuje se **P_r**, (*Phytochrome - red*). Jen tato forma je rostlinami syntetizována. Po ozáření světlem obsahujícím jasné červenou složku dojde v chromofóru k izomerační změně a barva fytochromu se změní na olivově zelenou s maximem absorpce v tmavě červené oblasti (**730 nm**). Tuto druhou formu, označovanou jako **P_{fr}** (*Phytochrome - far red*) lze převést zpět na základní formu ozářením tmavě červeným světlem.

Mezi oběma formami fytochromů jsou zcela zásadní rozdíly ve fyziologických účincích. **Procesy v rostlinách jsou aktivovány převážně jen formou P_{fr}**, zatímco forma P_r je fyziologicky účinná jen ve zcela výjimečných případech. Rozdíly v účinnosti obou forem se vysvětlují změnami ve struktuře základního proteinu, ke kterým dojde po izomerační změně v chromofóru.

K transformaci P_r na P_{fr} obvykle postačuje velmi nepatrné množství záření s obsahem červené složky (asi 200 J m⁻², což je méně než 1 % přijaté energie z plného slunečního záření za dobu jedné minuty). Tato transformace však nikdy není úplná, a to ani při ozáření jen jasné červeným světlem, což ostatně vyplývá z překryvu absorpčních křivek obou forem fytochromů (obr. 46). V rostlinách vystavených světlu se proto vyskytují obě formy fytochromů, ovšem jejich poměr se může měnit v závislosti na aktuálním spektrálním složení dopadajícího záření. *Forma P_{fr} je však velmi málo stabilní* a proto i bez ozáření tmavě

červeným světlem se u zatemněných rostlin samovolně vrací na P_r a částečně se také rozkládá.



Obr.46. Chromofor molekuly fytochromu a absorbní spektra obou reverzibilních forem, P_r a P_{fr} .

Je důležité si uvědomit, že fytochromy mohou rostlinám zprostředkovat informace o *několika odlišných vlastnostech vnějšího prostředí*, a sice:

(a) **zda se rostlina nachází ve tmě či na světle:** v tomto případě může postačovat jako spouštěcí signál pouze *přítomnost* i velmi malého množství aktivní formy fytochromů, které se vytvoří i při velmi slabém osvětlení (přesněji malou *dávkou* záření) bez ohledu na jeho spektrální složení. Mezi nejcitlivější reakce na přítomnost záření patří inhibice růstu stonku (u semenáčků hypokotylu či mezokotylu) při rušení etiolace (nadměrného „vytahování“ zatemněných rostlin). Reakci vyvolá již přeměna 0,02% zásoby fytochromů na aktivní formu.

(b) **jaké je spektrální složení světla v daném prostředí,** zejména jaký je poměr mezi zastoupení jasně červené a tmavě červené složky (R/FR). Tento poměr indikuje zejména stupeň zastínění daného místa jinými rostlinami (či hustotu porostu). Záření vlivem selektivní absorpce kratších vlnových délek (400-700 nm) asimilačními barvivy má pod hustšími porosty výrazný nadbytek tmavě červené složky ($R/FR \cong 0,2$), zatímco na nezastíněných místech bývá $R/FR \cong 1$. Změny spektrálního složení světla ovlivňují *poměr* mezi množstvím aktivní a neaktivní formy fytochromů v rostlinách, a právě tento poměr může mít zásadní význam pro řízení celé řady fyziologických procesů zahrnujících klíčení semen, aktivaci celé řady metabolicky významných enzymů, a především morfogenetické procesy (zakládání nových odnoží a listů, řízení tvaru a velikosti listů a stonků, aj.).

(c) **jaká je délka dne či noci** (tedy délka světlé a tmavé periody v rámci denního cyklu), což je důležité pro řízení fotoperiodicky závislých procesů v rostlinách. Tato funkce fytochromů je vždy propojena s vnitřní časomírou a bude podrobněji popsána v kapitole 11.3.

Receptory modrého záření - kryptochromy.

Kromě fytochromů je ve všech rostlinách přítomna ještě jiná skupina fotoreceptorů aktivovaná pouze krátkovlnným zářením. Jak bylo dokázáno přesným měřením akčních spekter, tento typ fotoreceptorů je citlivý nejen na modré a fialové světlo, ale i na část ultrafialového záření (UV-A), v celkovém rozmezí vlnových délek asi od **320 do 500 nm**. Izolace a identifikace těchto pigmentů je obtížná. Přesto již víme, že se nejčastěji jedná o pigmenty s flavinovým chromofórem kovalentně vázaným na specifické membránové proteiny. Tyto *flavoproteiny* mají charakter autofosforylujících proteinkináz k jejichž aktivaci fosforylací dojde po absorpci fotonů krátkovlnného světla. Název *kryptochromy* jim byl dán především pro značný výskyt u nižších rostlin (dříve nazývané jako rostliny tajnosnubné, *Cryptogamae*).

Mezi **procesy řízené modrým světlem** pomocí kryptochromových receptorů patří především *fototropické pohyby* orgánů rostlin (blíže viz kap. 12.2) a *pohyby průduchů*. Aktivuje některé biochemické procesy (např. syntézu anthokyanů) Modré světlo má ale také výrazný účinek na některé *morfogenetické procesy* (včetně tvorby květních orgánů), i na inhibici rychlosti růstu stonků a listů. Tyto procesy, jak již víme, mohou být také regulovány pomocí fytochromů. Rozlišit podíl obou typů fotoreceptorů bývá někdy velmi obtížné zejména proto, že modré světlo aktivuje nejen kryptochromy, ale je absorbováno částečně i fytochromy (viz absorpční křivka na obr.46), a převádí tady jejich jistou část (někdy až 40% z celkového obsahu!) do aktivní formy. Oba typy fotoreceptorů sice mohou regulovat procesy v rostlinách zcela nezávisle, avšak dosti běžná je i jejich vzájemná součinnost. **Mechanismus působení** fytochromů a kryptochromů na fyziologické procesy není dokonale znám, což je pochopitelné vzhledem k rozsahu zjištěných účinků. Existuje však řada prací dokazujících jako následek působení jejich zářením aktivovaných forem *fosforylací* některých regulačních proteinů (tedy funkce *kinázy*), ale dosti často bývá současně pozorována i aktivace vodíkových pump a zvýšený příjem draslíku do buňky. Dochází též ke zvýšení koncentrace *iontů vápníku* v cytosolu (vázaných na obvyklý nosič, bílkovinu *calmodulin*). Vápník je schopen aktivovat celou řadu enzymů v buňce, a má tedy zřejmě významnou funkci druhotného mediátora u všech světlem řízených reakcí.

11.2 Vliv světla na klíčení, růst a morfogenezi

Světlo ovlivňuje růst rostlin od samého počátku, tedy od klíčení semen. Z přibližně jednoho tisíce dosud zkoumaných druhů bylo zhruba u dvou třetin zjištěno, že jejich semena jsou lépe klíčivá na světle než ve tmě. U semen zbývající třetiny buď nebyla zjištěna žádná závislost nebo byla naopak klíčivost světlem inhibována. Pokusme se nyní vysvětlit, jaké mohou být příčiny těchto jevů.

Jestliže zdravé semeno neklíčí, ačkoli vnější podmínky jsou pro klíčení příznivé, nachází se ve stavu **dormance** (někdy ovšem termín dormance bývá používán pro jakýkoliv klidový stav, tedy i pro případ suchých semen). Živá semena, která ani za dostatku vody, příznivé teploty a kyslíku, ale bez přístupu světla neklíčí, označujeme jako *fotodormantní*.

Již v klasických pokusech s fotodormantními semeny salátu, které vedly k objevu fytochromů, byl zjištěn rozhodující vliv červeného světla na jejich klíčení. Jak již dnes víme, přítomnost dostatečného množství aktivní formy fytochromů (P_{fr}), vytvořené z inaktivní formy (P_r) působením světla s významným podílem jasně červené složky, je nutnou podmínkou klíčení.

Ke změně forem fytochromů může dojít pouze u semen, která přijala dostatečné množství vody a proteiny tudíž přešly do hydratovaného stavu. V suchých semenech sice ke změně forem nedochází, ale přesto zjišťujeme v jejich zastoupení velké mezidruhové rozdíly. Bylo dokázáno, že tyto rozdíly jsou závislé na podmínkách, za kterých semena dozrávají. Pokud při dozrávání převažuje tmavě červená složka světla nad červenou (což je vždy, když světlo proniká k dozrávajícím semenům strukturami obsahujícími chlorofyl), pak po dozrání tato semena obsahují převážně jen neaktivní P_r a v důsledku toho jsou fotodormantní. Pokud jsou však při dozrávání příznivé podmínky pro tvorbu P_{fr} , pak je dostatečné množství této aktivní formy fytochromů v semenech uchováno, a taková semena jsou po ovlhčení klíčivá i ve tmě (nejsou fotodormantní). Avšak i u těchto semen může dojít k inhibici klíčení působením tmavě červeného světla, které inaktivuje P_{fr} , nebo mohou být neklíčivá z jiných důvodů.

Popsané závislosti mají vážné ekologické důsledky, neboť spektrální složení světla bývá na různých stanovištích v přírodě velmi odlišné. Jak bylo již zmíněno, pod korunami lesních stromů, stejně tak i pod hustým listovým zápojem jiných porostů (louky, polní plodiny) je však až pětkrát více tmavě červeného světla (o vlnové délce 700 až 750 nm) než světla jasně červené barvy, což vede ke snížení obsahu aktivní formy fytochromů a tudíž i inhibici klíčení. Je však zajímavé, že citlivost k tomuto inhibičnímu působení je u různých druhů odlišná - u světlomilných rostlin je podstatně větší než u druhů snášejících stín.

Při hlubším studiu fotodormance nás nemůže uspokojit pouhé zjištění, že přítomnost aktivní formy fytochromů (P_{fr}) je pro klíčení nutná, ale ptáme se, proč je vlastně nutná, tedy jakým mechanismem ovlivňuje procesy spojené s klíčením semen. Pro kauzální analýzu je důležitý poznatek, že největší účinek má záření zachycené embryem (v oblasti hypokotylu a radikuly), nikoliv dělohami. Tím je možné vyloučit stimulační účinky látek tvořících se působením světla v dělohách (tedy látek jiných než fytochromy, protože ten není mobilní). Naše současná představa je taková, že klíčovou funkci má aktivní forma fytochromů obsažená v buňkách, které vstupují do fáze dlouhivého růstu. Působí stimulačně především na transportní proteiny v membránách. Tím dojde ke vzestupu osmotického tlaku buněk, což je předpokladem zvýšení jejich turgoru, na kterém dlouhivý růst závisí. Pokud je turgorový tlak nízký, semeno neklíčí. Stejně tak dobře může být důležitá i aktivace některých enzymů v cytosolu zprostředkovanou fosforylací či ionty vápníku, jak již bylo dříve zmíněno.

Nelze zatím spolehlivě odpovědět na otázku, jak fytochromy při rušení fotodormance ovlivňují koncentraci a účinek fytohormonů. Jako velmi pravděpodobné se ukazuje ovlivnění tvorby giberelinů a cytokininů, o nichž je známo, že při aplikaci na dormantní semena mohou nahradit účinek P_{fr} . Také je možné uvažovat o vlivu aktivní formy fytochromů na odbourávání inhibitorů klíčení, především kyseliny abscisové.

Účinky světla na procesy spojené s tvorbou jednotlivých orgánů (**morfogenezi**) jsou výrazné u mladých rostlin hned po vyklíčení. U trav je světlem zastavován růst mezokotylu i koleoptile, a současně je stimulováno rozvinutí stočených listů. Tyto procesy jsou řízeny fytochromovým systémem - lze je navodit již velmi slabým červeným světlem. V tomto případě je zřejmě fytochromy stimulována tvorba giberelinů, či alespoň zvýšena citlivost některých buněk na jejich působení. Aplikací giberelinů totiž dosáhneme stejného efektu jako působením červeného světla.

U klíčících rostlinek dvouděložných druhů je jednou z prvních nápadných reakcí na světlo *narovnění ohybu hypokotylu* (i epikotylu). Tento ohyb je pravděpodobně vyvoláván působením etylenu, jehož syntéza je na světle zastavena. Působením světla se dále zrychluje růst plochy listů i délka řapíku. Velmi rychle, často během několika hodin, dochází k tvorbě chlorofylu a plně funkčních chloroplastů z proplastidů, tedy včetně řádně fungujících thylakoidních membrán a enzymů nutných pro zabezpečení asimilačních procesů.

Nejen u semenáčků, ale i u dospělých rostoucích rostlin je světlem *zpomalována rychlost růstu stonku* a jiných nadzemních částí (např. listů trav). Na této inhibici se významně podílí oba systémy fotoreceptorů (fytochrom i kryptochrom). Modré světlo mívá často rychlejší a výraznější účinek.

11.3 Fotoperiodismus

V těch oblastech naší planety, kde dochází k velkým a pravidelně se opakujícím změnám klimatických faktorů (což je kromě tropických oblastí prakticky všude), je pro rostliny velice důležité, aby průběh jejich fyziologických funkcí byl synchronizován s ročními klimatickými cykly. Nestačí pouhé přizpůsobování se okamžitému stavu vnějších faktorů. Mnohé procesy v rostlinách potřebují ke zdárnému dokončení dosti dlouhou dobu (např. tvorba květů a dozrání semen), u některých je dokonce naprosto nezbytné, aby započaly ještě *před* vlastním působením kritického faktoru (např. zvýšení odolnosti vůči mrazu). Proto je pro rostliny tolik potřebná informace, v jakém ročním období se nacházejí. I v tomto případě hraje hlavní úlohu záření a jeho příjem fytochromovým systémem.

Nejspolehlivějším ukazatelem fáze ročního cyklu je pro rostliny rostoucí v téže zeměpisné šířce délka světelné části dne (fotoperiody) a její postupné změny (zkracování, prodlužování). Všechny reakce rostlin, které jsou závislé na jisté délce fotoperiody, nazýváme *reakce fotoperiodické*. Daleko nejpodrobněji byly tyto reakce zkoumány v souvislosti s tvorbou květů, ale velký význam má délka fotoperiody i na klíčení, rychlost růstu, tvorbu odnoží, translokaci asimilátů a mnohé další procesy.

Popis fotoperiodických závislostí v obecné rovině je mimořádně obtížný, neboť v nich panuje obrovská mezidruhová variabilita. Není divu, vždyť jednotlivé rostlinné druhy, a to i ty, které dnes rostou v přírodě na témže místě, často vznikaly v oblastech s odlišným radiačním režimem (daným zeměpisnou šířkou). Navíc, vzhledem k rozdílné rychlosti růstových a vývojových procesů, může mít pro ně informace o délce dne nestejnou důležitost. Co je však zvláště závažné, to je *rozdílná spojitost mezi délkou dne a klimatickou příznivostí* pro růst rostlin v různých oblastech naší planety. Tak např. zkracování délky dne je pro rostliny v našem klimatickém pásmu významnou informací o nástupu teplotně nepříznivého období (zimy), ale pro rostliny rostoucí v oblastech s mediteránním typem klimatu je to naopak informace o nástupu období příznivého pro růst, neboť po letním suchu bude konečně dostatek srážek.

Podívejme se nejprve na některé **fotoperiodické závislosti kvetení**. Jen málo druhů zakládá květy zcela bez jakékoliv vazby na délku fotoperiody (*fotoperiodicky neutrální rostliny*). Častěji se setkáváme s nárokem na jistou délku dne (fotoperiody), a podle toho rozdělujeme rostliny na dlouhodobní a krátkodobní.

U rostlin absolutně (či obligátně) *dlouhodobních* dochází k tvorbě květů výhradně až po překročení určité minimální délky dne. Tato kritická délka dne je specifická pro různé druhy, ale obvykle bývá delší než 12 hodin. U fakultativně dlouhodobních rostlin se s prodlužováním délky dne pouze zvyšuje pravděpodobnost tvorby květů, avšak jisté procento jedinců vykvétá i za krátkého dne.

Dlouhá fotoperioda naopak inhibuje tvorbu květů u *krátkodobních* rostlin. Také zde se setkáváme s rostlinami absolutně a fakultativně krátkodobními. Nověji byly vyčleněny ještě další kategorie, jako např. rostliny *dlouho-krátkodobní*, které vytvářejí květy sice za krátkého dne, ale pouze tehdy, jestliže předcházelo období s dlouhými dny, (tedy jen na podzim a nikoli na jaře, i když aktuální délka dne může být v obou ročních dobách shodná.). K takovým rostlinám patří např. *Bryophyllum crenatum*. Další příklady rostlin s různou fotoperiodickou závislostí jsou uvedeny v následující tabulce. Je potřeba ještě upozornit, že i různé odrůdy téhož druhu se mohou značně lišit ve svých nárocích na délku dne, některé

mohou být krátkodenní a jiné dlouhodenní. Také teplota v průběhu kultivace může značně měnit fotoperiodickou závislost!

Tabulka 7. Příklady několika běžných druhů rostlin s rozdílnými nároky na fotoperiodu.

Absolutně krátkodenní druhy:

Chryzantéma (*Chrysanthemum morifolium*, některé kultivary)

Kukuřice (*Zea mays*)

Merlík bílý (*Chenopodium album*)

Kalanchoe (*Kalanchoe blossfeldiana*)

Fakultativně krátkodenní druhy:

Slunečnice roční (*Helianthus annuus*)

Cibule (*Allium cepa*)

Sója obecná (*Glycine max*, některé odrůdy)

Konopí seté (*Cannabis sativa*)

Absolutně dlouhodenní druhy:

Ředkvička (*Raphanus sativus*)

Špenát (*Spinacia oleracea*)

Jetel luční (*Trifolium pratense*)

Psárka luční (*Alopecurus pratensis*)

Fakultativně dlouhodenní druhy:

Salát (*Lactuca sativa*)

Řepa (*Beta vulgaris*)

Lipnice luční (*Poa pratensis*)

Pšenice (*Triticum aestivum*)

Fotoperiodicky neutrální druhy:

Okurka setá (*Cucumis sativus*)

Rajče (*Lycopersicon* sp.)

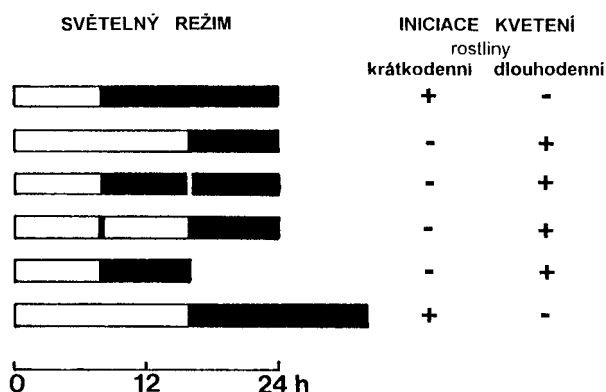
Fazol obecný (*Phaseolus vulgaris*)

Bob obecný (*Faba vulgaris*)

I v rámci téže kategorie fotoperiodické závislosti jsou velké mezidruhové rozdíly v počtu dní, který je nutný k navození reakce - v extrémním případě může být kvetení iniciováno jediným denním cyklem (např. u několika druhů trav, merlíků, okřehků aj.), většinou je však zapotřebí cyklů několik.

Při fenomenologickém výzkumu fotoperiodismu bylo provedeno obrovské množství pokusů, ve kterých se zejména využívalo rostlin s kvetením absolutně závislým na fotoperiodě a navíc s jednodenní indukční dobou, jako např. merlík červený (*Chenopodium rubrum*), nebo řepeň durkoman, (*Xanthium strumarium*). Bylo dokázáno, že pro krátkodenní rostliny, ke kterým patří právě merlík a řepeň, není důležitá délka světelné části dne, ale musí být přesně dodržena **dostatečná délka noci**. Ta navíc nesmí být přerušena ani krátkým osvětlením světlem které obsahuje červenou část spektra (tedy např. běžným denním či umělým světlem bez selektivních filtrů). Pokud by ovšem následoval osvit tmavě červeným světlem, indukce kvetení by proběhla normálně. **Účast fytochromů** v řízení fotoperiodických reakcí byla dokázána i v jiných typech pokusů.

Jak se dalo očekávat, přerušení "dne" krátkým zatemněním bylo téměř vždy bez účinku (krátké zatemnění nemá vliv na změnu forem fytochromů). Zato krátký osvit v průběhu noci působil i na dlouhodenní rostliny - ovšem opačně než na krátkodenní - vedl k indukci kvetení.



Obr.48. Iniclace kvetení (+) u krátkodenních a dlouhodenních rostlin za různého světelného režimu.

Pro vysvětlení mechanismu fotoperiodické stimulace či inhibice zakládání květů bychom v první řadě potřebovali znát jakým způsobem vlastně rostlina "měří" délku dne či noci. Jednou z možností se zdála být postupná autoreverze P_{fr} na P_r , ke které dochází ve tmě. K indukci fotoperiodické reakce by pak mohlo být důležité dosažení jistého poměru mezi P_{fr} a P_r či úplná absence formy P_{fr} . Jak již víme, narušení tmavé periody světlem, při kterém se rychle mění poměr mezi P_{fr} a P_r , má pro fotoperiodickou reakci vždy vážné následky..

Ovšem podrobnější analýza výrazných vnitřních výkyvů v citlivosti k fotoperiodické indukci (např. při uměle prodlužované temné periodě či při narušování temné periody krátkým osvětlením v různou dobu od začátku zatemnění) ukázala, tento řídicí systém typu "přesýpacích hodin", navíc spoléhající pouze na poměrně jednoduchou reakci, nemůže uspokojivě vysvětlit řízení všech fotoperiodicky závislých dějů. Účast fytochromového systému je zajisté nezpochybnitelná, ovšem jeho k jeho řídicí funkci bude ve většině případů fotoperiodicity nutná spolupráce s vnitřní časomírou oscilátorového typu ("*biologické hodiny*", blíže v kapitole 12.4).

Rouškou tajemství je také zahalen způsob **přenosu signálu pro kvetení** uvnitř rostliny. Bylo bezpečně prokázáno, že fotoperiodická indukce tvorby květních základů neprobíhá přímo v apikálním meristému. Délku dne (respektive noci) detekují *listy* a informace musí být do meristému nějakým způsobem přenesena. Skutečnost, že jde o látkový přenos, lze dokázat např. roubováním neindukovaného vrcholu na indukovanou rostlinu, či stanovením doby nutné k přenosu (řádově hodiny). Dříve se uvažovalo o zvláštním fytohormonu ("*florigen*"), avšak úsilí o jeho izolaci nebylo korunováno úspěchem. Nové výzkumy však naznačují, že na indukci květů se asi podílí více látek současně (fytohormonů i jiných metabolitů), a že velmi důležitá bude časová posloupnost změn v jejich zastoupení.

Velké naděje se vkládají do molekulárně-biologického přístupu k vysvětlení vnější indukce květních základů. U několika druhů již byly identifikovány skupiny genů zodpovědné za řízení tohoto procesu, v chodu jsou práce na jejich izolaci a nalezení způsobu vazby na další články příčinného řetězce.

Délka fotoperiody ovlivňuje kromě kvetení i celou řadu dalších procesů, zejména rychlost růstu. Mnoho druhů bylin i dřevin z temperátní zóny má **zpomalený růst za krátkých dní** (i když úhrnné množství záření a jeho spektrální složení udržujeme v pokusech na stejné výši

jako za dlouhých dní!). Obvykle je toto zpomalení růstu v těsné souvislosti se zvýšením odolnosti vůči mrazu. Také u jiných druhů rostoucích u nás a v severněji položených oblastech můžeme pod vlivem krátkých dní pozorovat změny v aktivitě fytohormonů vedoucí k indukci celého komplexu reakcí, označovaného jako "**podzimní syndrom**" (např. zastavení tvorby chlorofylu, rychlé stárnutí a opadávání listů, dormance pupenů, atd.). Velmi časté je však spolupůsobení nízké teploty, na které se nyní podíváme trochu podrobněji.

11.4 Vliv teploty na růst a vývoj

Růst naprostě většiny rostlin probíhá jen v poměrně úzkém teplotním rozmezí zhruba od 5 do 40 °C. Negativní účinek nízkých teplot (mrazu a chladu) a příliš vysokých teplot souvisí především s teplotní závislostí biochemických reakcí, s poruchami funkce membrán a s inaktivací enzymů. Jde tedy o stresové účinky, které budeme souhrnně probírat v kapitole 13.3.

Působení nízkých teplot však také může mít *příznivý vliv na průběh růstu a vývoje*. U rostlin z oblastí s výrazným ročním kolísáním teplot jsou nízké teploty v určité vývojové fázi přímo existenčně nutné, neboť na nich závisí tvorba květů, zrušení dormance semen a pupenů, vývoj hlíz, cibulí a některé morfogenetické procesy. Ve všech případech jde o takové působení, jehož účinek není pozorovatelný ihned, ale až s jistým zpožděním.

Vernalizace patří k nejlépe známým pozitivním účinkům nízkých teplot, spojených s tvorbou květů. Požadavky různých druhů na nízké teploty se však značně liší. Velmi specifické nároky mají zejména jednoleté druhy klíčící na podzim a také rostliny dvouleté. *Pro přechod do reprodukční fáze dvouletek jsou nízké zimní teploty absolutně nutné, zatímco závislost jednoletek je obvykle jen kvantitativní (fakultativní)*. Nízké teploty u nich zvyšují pravděpodobnost kvetení a hlavně urychlují jeho začátek. U mnoha vytrvalých rostlin je iniciace kvetení vázána na nízkou teplotu a současně na krátkou fotoperiodu.

Velké množství pokusů bylo zaměřeno na zjištění optimální teploty pro vernalizační procesy a nezbytnou dobu trvání těchto teplot. Byla zjištěna obrovská variabilita mezi druhy, avšak nejčastější hodnoty **účinné teploty** leží v rozmezí 0 až 10°C. Minimální doba působení těchto teplot kolísá od 4 do 8 týdnů, saturační doba pak od 4 týdnů do 3 měsíců. Účinkem vysokých teplot (20 až 30°C, někdy i více) bezprostředně po působení nízkých teplot je možné indukci kvetení zrušit (*devernalizace*).

Bylo dokázáno, že působení nízkých teplot není zprostředkováno jinými částmi rostliny, ale *k recepci dochází přímo ve vzrostném vrcholu*. Je velmi pravděpodobné, že významným mediátorem působení chladu jsou gibereliny, jejichž koncentrace v meristémech se v průběhu vystavení nízkým teplotám zvyšuje. Někdy se uvažuje o spolupůsobení giberelinů ještě s další, neznámou látkou ("*anthesin*"). Jisté však je, že indukovaná květoschopnost se může někdy udržovat velmi dlouho - často až jeden rok, avšak i zde jsou velké mezidruhové rozdíly.

Dormance semen a pupenů je dalším významným životním projevem rostlin, při kterém hraje teplota často rozhodující úlohu. Nejde při tom jen o navození vstupu do klidového či dormantního stavu, ale zejména o jeho překonání, tedy pokračování v růstu po splnění jistého teplotního požadavku.

Velmi známé je příznivé působení nízkých teplot na *klíčení semen* některých druhů. V našich přírodních podmínkách většina semen překonává zimu v nabotnalém stavu na převážně vlhkém povrchu půdy. Pro ty druhy, které nejsou mrazuvzdorné, by vyklíčení již na podzim mělo katastrofální následky. Proto je tolik důležitá vnitřní inhibice klíčení, která mizí až po několika týdnech působení teplot blízkých nule.

Jak funguje tento zábranný mechanismus a čím dochází k jeho uvolnění přesně nevíme. V průběhu působení chladu byla v semenech pozorována celá řada biochemických

změn - rozklad zásobních tuků a proteinů, hromadění škrobu i osmoticky aktivních cukrů. Je však obtížné v těchto změnách najít příčinnou posloupnost. Pozoruhodný je vzestup koncentrace giberelinů a je dokázáno, že dochází i k odbourávání některých inhibitorů (zejména ABA).

Dormance pupenů může být indukována nízkou teplotou, avšak často k ní dochází už v letních měsících (např. u stromů) pod vlivem zkracování délky dne. Pro zrušení dormance bývá u některých druhů významná fotoperioda (dlouhý den), u jiných jen nízká teplota a velmi často musí být splněny oba požadavky (dlouhý den po období s nízkou teplotou).

Navození i zrušení dormantního stavu je vyvoláno přímým působením teploty či záření na příslušný pupen a není převoditelné z jednoho pupenu na jiný (neošetřený). Také délka fotoperiody aktivuje přímo pupen (např. u dřevin v bezlistém stavu), ačkoli ve vegetačním období jsou listy pro příjem informace o fotoperiodě naprosto nutné. Nejúčinnější teploty pro zrušení dormance bývají v rozmezí 0 až 10 °C a minimální doba působení několik týdnů. Existují ovšem velké rozdíly jak mezi druhy, tak mezi ekotypy téhož druhu.

Rychlého zrušení dormance lze mnohdy úspěšně dosáhnout aplikací giberelinů, působením par některých těkavých látek, a také ponořením příslušné části rostliny do teplé vody (40 až 50 °C) po dobu asi 15 sekund. Pro urychlení vývoje některých okrasných cibulovin (např. tulipánů) byly vypracovány přesné postupy založené pouze na změnách teplotního režimu během podzimních měsíců, které umožňují "načasovat" dobu rozkvetu na žádaný termín.

Vliv denního kolísání teplot (*termoperiodismus*) na rostliny je poměrně malý. Jen velmi zřídka jsou větší teplotní výkyvy nutnou podmínkou pro iniciaci kvetení - spíše jen zrychlují růst, zvyšují počet květů (rajčata), u brambor zvyšují počet tvořených hlíz.

12 Pohyby rostlin a procesy řízené vnitřními rytmy

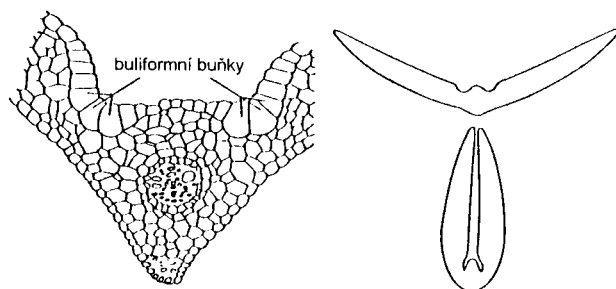
Rostliny jsou sice většinou trvale přisedlé organismy, avšak jejich části mají schopnost aktivního pohybu. Tato schopnost je nejen velmi významná pro úspěšné přežití v měnícím se prostředí, ale navíc neobyčejně nápadná. Snad právě proto byly pohyby rostlin zkoumány už v samém počátku rostlinné fyziologie a jejich výzkum pokračuje i v dnešní době. Přesto zůstává stále mnoho nedořešeno.

V našem přehledu si podrobněji probereme pouze dvě hlavní skupiny pohybů - nastie a tropismy. Pomineme tedy pohyby vnitrobuněčné (proudění cytoplazmy, pohyby organel), lokomoční pohyby některých nižších rostlin a specializovaných buněk (taxe), a také veškeré pohyby neživých částí rostlin, způsobované čistě fyzikálními procesy.

12.1 Nastie

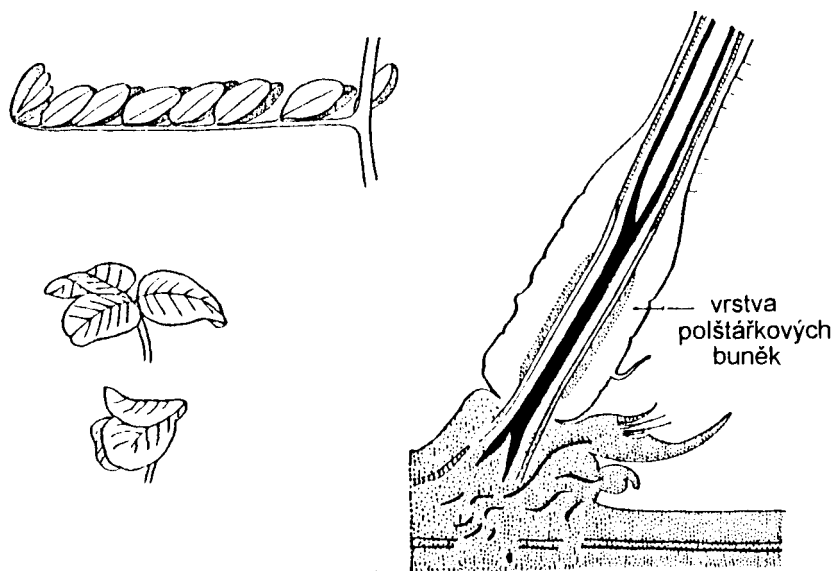
Jako nastie označujeme takové pohyby, jejichž směr není určen směrem působení podnětu. Většina nastických pohybů má reverzibilní charakter, neboť je způsobována změnou tvaru buněk v motorických zónách, nikoliv nevratným růstem.

K nejjednodušším pohybům patří **hygronastie** u listů mnoha druhů trav, a to zejména těch, které rostou na suchých stanovištích. Podélné složení či svinutí jejich listů za nedostatku vody je způsobováno změnou turgoru skupin buněk na adaxiální straně. Tyto buňky (označované jako buňky *buliformní*) jsou většího rozměru a mají velmi slabou kutikulu - ztrácejí tudíž vodu (a tím i turgor) rychleji než ostatní.



Obr.49. Hygronastické pohyby (skládání listů) u xerofytních druhů trav. (Salisbury et Ross, upraveno).

Složitější, i když velmi dobře prozkoumané, jsou **nyktinastie** ("spánkové" pohyby) u řady druhů se složenými listy (např. z čeledi *Fabaceae* a *Mimosaceae*). Poloha listů (přesněji řečeno prostorová orientace roviny, ve které je umístěna listová čepel) se u těchto rostlin pravidelně každý den dvakrát mění - ve dne bývá přibližně horizontální, v noci téměř vertikální. Na bázi řapíků celého listu i jednotlivých lístků, tedy v místech, kde dochází k aktivně řízeným ohybům, lze pozorovat zvláštní vrstvy buněk ("polštářky").



Obr.50. Příklady nyktinastického skládání listů u bobovitých rostlin a detail kloubu na bázi řapíku jednoho lístku. (Dostál et Dykyjová 1962, upraveno).

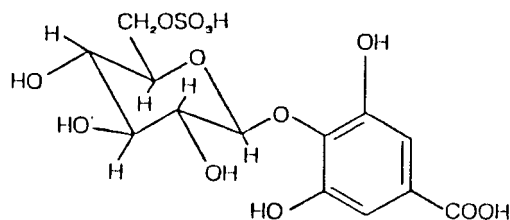
Pohyb listu je způsoben vzrůstem turgoru v polštářkových buňkách na jedné straně řapíku a současně poklesem turgoru v buňkách na opačné straně. Změny turgoru jsou způsobeny přesunem vody, kterému předchází přesun osmoticky aktivních látek (zejména K^+ , tedy obdobně, jako při pohybech průduchů. A také zde je transport draslíkových iontů podmíněn zrychleným transportem H^+ , po *aktivaci protonových pump* v plazmatické membráně. Aktivaci způsobuje záření absorbované jak fytochromy, tak i kryptochromy v buňkách polštářků, a navíc v součinnosti s vnitřními rytmickými procesy (listy obvykle nereagují na změnu světlo-tma či tma-světlo, pokud by k ní došlo mimo obvyklou denní dobu).

Na rozdíl od pohybů průduchů je však zde ještě jedna komplikace - tentýž podnět (světlo či tma) způsobuje zcela opačné ovlivnění transportních procesů v buňkách horní strany polštářku než v buňkách spodní strany.

K nejsložitěji řízeným pohybům patří nepochybně **thigmonastie**, při níž reagují především listy na dotek a otřes. Stejnou reakci však může u nich vyvolat i náhlá změna teploty či podráždění elektrickým proudem. Mechanická stránka těchto pohybů je zcela stejná jako u nyktinastií (změna turgoru u buněk polštářků), ovšem navíc zde přistupuje *šíření signálu* z podrážděné části rostliny do částí nepodrážděných.

Šíření vzruchů, tak běžné u živočichů vybavených nervovými vlákny, je u rostlin proces mnohem vzácnější a záhadnější. I u rostlin byl sice prokázán vznik akčních potenciálů po podráždění, ovšem bylo současně dokázáno, že samotný elektrický signál je málo účinný, pokud není doplněn látkovým (chemickým) mechanismem přenosu.

K uvedeným poznatkům se došlo již na začátku dvacátého století, ale teprve až v polovině osmdesátých let se podařilo izolovat a identifikovat ony záhadné chemické sloučeniny, kterými se šíří vzruchy do motorických buněk polštářků. Nejčastěji se jedná o deriváty kyseliny gallové, (např. β -D-glukosid-6-sulfát kyseliny gallové, označovaný jako **PLMF 1**, z angl. *Periodic Leaf Movement Factor*). Celá skupina těchto látek se označuje jako **turgoriny**, a lze je považovat za specifický typ fytohormonů.



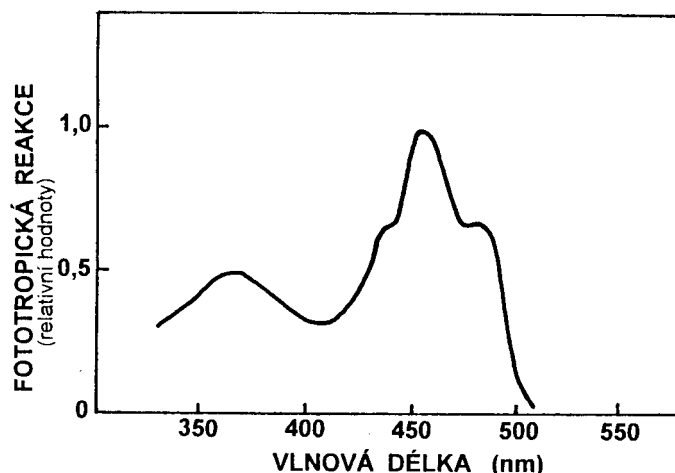
Obr.51. Struktura neúčinnějšího turgorinu PLMF1.

12.2 Fototropismus

U všech tropismů, na rozdíl od nastií, je *směr pohybové reakce závislý na směru působení podnětu*. Mechanická stránka těchto pohybů je obvykle spojena s usměrněným *růstem* buněk (nikoli tedy jen se změnami turgoru, jak tomu bylo u nastií). Tomu nutně musí odpovídat i složitější způsob řízení - mnohdy tak složitý, že naše dosavadní poznatky nestačují na jeho vysvětlení.

U **fototropismu** je orientovaný pohyb částí rostliny vyvolán působením viditelného záření (tedy *světla*). Typickým příkladem je zakřivování stonku směrem ke zdroji záření, či pohyby listů a květů v závislosti na poloze slunce na obloze.

Klasickým objektem pro analýzu fototropických pohybů byly klíčící rostliny trav, zejména koleoptile ovsu. Velmi brzy se zjistilo, že na *příjem signálu* je daleko nejcitlivější špička koleoptile. Při velmi nízké intenzitě světla (měřené v jednotkách hustoty toku záření jednotkovou plochou čili *ozářenosti* daného objektu), koleoptile se ohýbá vždy směrem ke zdroji záření (= pozitivní zakřivení), a velikost ohybové reakce je úměrná celkové *dávce záření* (= součinu ozářenosti a doby působení). Při relativně vyšší hodnotě ozářenosti (zhruba nad $0,3 \text{ J}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, což u bílého světla odpovídá přibližně toku fotonů $1,4 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$; to je méně než jedna tisícina hustoty toku slunečního záření za jasného dne!), je závislost zakřivení na dávce záření (zvyšované délkou expozice) podstatně složitější. Zpočátku má charakter shodný s reakcí za nízké ozářenosti, avšak při stoupajících dávkách záření se koleoptile vrací do vzpřímené polohy (=zdánlivá ztráta fototropismu). Při velmi vysokých dávkách záření dochází k obnovení pozitivní fototropické reakce, tedy k ohybu směrem ke zdroji záření.



Obr.52. Typické akční spektrum fototropického ohybu koleoptile ovsa. (Taiz et Zeiger 1991, upraveno).

Velikost první pozitivní fototropické reakce (za malých dávek záření) je přímo úměrná těmto dávkám a nezávislá na hodnotě aktuální ozáření (tedy zda stejná dávka byla aplikována světlem o velké intenzitě po krátkou dobu, či slabým světlem po delší dobu). Rozporné reakce za vyšších dávek jsou zřejmě spojeny s vlivem záření na nějaký další regulační mechanismus. Skutečně bylo zjištěno, že po jisté době (několik desítek minut) způsobují vyšší dávky záření výrazný *pokles citlivosti špičky listů* zkoumaných rostlin na záření. Snížení citlivosti samovolně mizí asi po dvaceti minutách expozice ve tmě.

Výrazný pokrok ve výzkumu závislosti fototropických reakcí na dávkách záření přineslo zkoumání vlastností a heterogenity *receptorového systému*. Již dříve bylo dokázáno, že ohybovou reakci navozuje hlavně modré a fialové světlo (o vlnové délce přibližně 350 až 500 nm). Bylo tedy zřejmé, že fototropické reakce jsou závislé na receptorech modrého záření označovaných jako *kryptochromy*, s nimiž jsme se již seznámili při výkladu o fotomorfogenezi (kap. 11.1). Na rozdíl od tradičních představ bylo nově zjištěno, že tyto receptory se nevyskytují jen ve špičce koleoptile, ale i v níže položených místech, kde jich je ovšem mnohem méně a hlavně potřebují k aktivaci vyšší dávku záření. Uvedená pozorování zdánlivého snížení citlivosti špičky koleoptile při vyšších dávkách záření si nyní vysvětlujeme *nasyčením fotoreceptorů na obou stranách špičky* (ohybová reakce předpokládá aktivaci receptorů jen na osvětlené straně!). Za velmi vysokých dávek záření se aktivují i málo citlivé receptory na osvětlené straně spodnější strany koleoptile (pod špičkou), což vede k obnovení pozitivní fototropické reakce (k opětovnému ohybu směrem ke zdroji záření).

Dosud jsme se věnovali pouze otázce jakým způsobem dochází v rostlinách k **percepci signálu**, tedy k příjmu informace o záření. To je však jen začátek celé fototropické reakce - signál totiž musí být převeden k příslušným výkonným článkům regulované soustavy, tedy k buňkám, které jsou schopny na tento signál reagovat zrychlením růstu. V případě koleoptile je tedy nutný převod informace o zachyceném záření od špičky k níže položeným pletivům, která pod jeho vlivem zpomalují růst na osvětlené straně a zrychlují růst na straně odvrácené od zdroje záření.

Po dlouhá léta se nesterá rychlost růstu vysvětlovala rozdílnou koncentrací auxinů - záření mělo způsobovat jejich transport do méně osvětlených pletiv (*teorie Cholodného a Went*). Bylo sneseno mnoho důkazů dosvědčujících platnost této teorie (rychlost šíření signálu se shoduje s rychlostí transportu *auxinů*, ohyb lze vyvolat jednostrannou aplikací auxinů po seříznutí špičky, rozdíly v rychlosti růstu obou stran koleoptile jsou komplementární, pomocí biotestů lze zjistit rozdíly v koncentraci auxinů, atd.). Teprve v nedávné době byla její obecná platnost zpochybněna. Použitím moderních analytických

metod pro stanovení fytohormonů nebyly zjištěny významnější rozdíly v koncentraci auxinů v rozdílně osvětlených částech koleoptile - zato byla dokázána přítomnost specifických inhibitorů růstu (např. xanthoxinu, který má podobné účinky jako kyselina abscisová). Tyto nové poznatky však stále ještě nejsou dostatečné k tomu, abychom mohli auxiny zcela vyloučit z role mediátora, neboť bez přítomnosti auxinů k ohybům vůbec nedojde. Je tedy velmi pravděpodobné, že půjde o spolupůsobení několika látek, z nichž některé mohou měnit *citlivost buněk k auxinům*.

Provádíme-li pokusy s mladými výhonky jiných rostlin než jsou trávy, většinou zjišťujeme, že percepce světelného signálu probíhá přímo v místech, která se zakřivují (= oblast dlouhivého růstu buněk), nikoli tedy ve vegetačním vrcholu. Často také nejsou dokazatelné komplementární rozdíly v rychlosti růstu osvětlené a zastíněné části - dochází jen k inhibici růstu na osvětlené straně, což lze tedy vysvětlit *přímou inhibicí růstu* více osvětlených buněk. Je však zajímavé, že pokud dojde k nasycení procesů tvorby inhibitorů zářením (tím, že ozařujeme rostlinu po dostatečně dlouhou dobu ze všech stran), pak při následujícím jednostranném ozáření lze pozorovat komplementární rozdíly v růstu obou stran. Můžeme tedy předpokládat, že i u orgánů reagujících přímou inhibicí růstu osvětlených buněk se může za jistých okolností uplatňovat i mechanismus založený na translokaci specifických inhibitorů či auxinů.

Zvláště složitým případem fototropických pohybů je **diafototropismus**, naklánění listů vzhledem k poloze slunce na obloze v průběhu dne (obvykle s cílem maximalizovat příjem sluneční energie). Listy jsou přitom orientovány kolmo ke směru slunečních paprsků, nikoli tedy souběžně, jak je tomu u běžného fototropismu. Mechanismus pohybů je v tomto případě stejný jako u nyktinastií, tedy reverzibilní změny turgoru v polštářkovitých buňkách na bázi řapíku. Složitá je však percepce a převod signálu. Bylo zjištěno, že směr slunečních paprsků je detekován především buňkami podél hlavních žilek na listové čepeli. V závislosti na směru ozáření produkují tyto buňky signály pro stimulaci či inhibici transportních procesů v polštářcích řapíku. Způsob přenosu signálů není dostatečně znám - je však možná účast auxinů. Navíc při řízení těchto pohybů se podílejí i jisté "programy", odvozené od vnitřních biologických rytmů - naklánění listů do jistých poloh (např. směrem k očekávanému východu slunce) probíhá v pravidelnou hodinu i při umístění rostliny v úplné tmě.

12.3 Gravitropismus

Fotropické pohyby, které jsme si právě popsali, mají význam pouze pro nadzemní orgány. Proto také kořeny ve většině případů na světlo nereagují. Jen výjimečně můžeme jistou reakci zaznamenat, a sice odklon od zdroje záření (negativní fototropismus). Zato pohyby vyvolané a orientované směrem působení gravitace (gravitropické pohyby) nacházíme pravidelně u všech částí rostlin. Je všeobecně známo, že hlavní stonky rostou negativně gravitropicky a primární kořen pozitivně gravitropicky. Ovšem gravitropicky orientován může být i růst některých částí rostlin (např. větví, listů) ve směru kolmém či šikmém na směr působení gravitace.

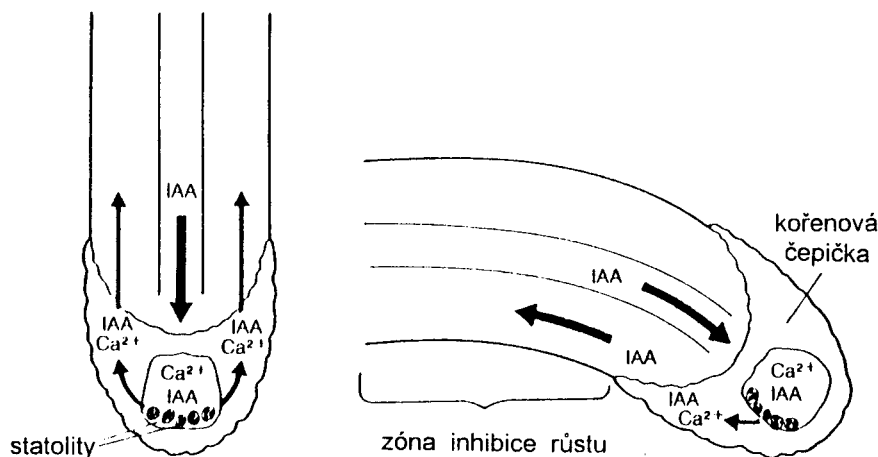
Hlavním modelovým objektem pro výzkum gravitropismu byly tradičně *kořeny*. Již v minulém století byl zjištěn velký význam kořenových špiček pro vnímání gravitace a později se podařilo dokázat, že rozhodující úlohu mají buňky v *kořenové čepičce*, neboť po jejich poškození dojde ke ztrátě gravitropismu. Český vědec Bohumil Němec pak jako první upozornil na nápadně pravidelný výskyt amyloplastů v buňkách kořenové čepičky a na jejich možnou úlohu při gravitropických pohybech. Úloha amyloplastů jako *statolitů* (a to nejen v kořenech) byla skutečně potvrzena mnoha pokusy, při kterých byl škrob různými metodami odstraňován. Při těchto pokusech bylo zároveň zjištěno, že kromě amyloplastů se škrobovými

zrny mohou gravitropickou reakci vyvolat i jiné částice schopné sedimentace v cytosolu, ovšem škrob, vzhledem ke své relativně vysoké specifické hmotnosti, je zvláště výhodný.

Jakým způsobem však sedimentace statolitů vyvolává v buňkách kořenové čepičky podráždění, a jak potom dochází k přenosu tohoto podráždění do další části kořene, ve které dojde k růstovým změnám? Obě otázky spolu úzce souvisejí.

Jedna z dřívějších teorií předpokládala, že v kořenové čepičce je produkována kyselina abscisová, která při vodorovné poloze kořene inhibuje růst buněk na spodní straně, a tím dochází k jeho zakřivení ve směru gravitace. Mnoho nově získaných výsledků však tuto teorii vyvrací (např. inhibitory syntézy ABA ani aplikace ABA v přebytku neovlivňují gravitropickou reakci, přirozená koncentrace ABA v kořenech nepostačuje k výraznější inhibici růstu, atd.)

Nové poznatky dokazují, že inhibice růstu je způsobována s velkou pravděpodobností auxiny, zejména kyselinou indolyloctovou (IAA). Ta proudí parenchymovými buňkami poblíž středu kořene ke kořenové špičce, a z ní se vrací zpět buňkami korového parenchymu. Buňky čepičky proto mohou ovlivnit *nestejnou distribuci IAA* do korových pletiv. Řízení této distribuce zřejmě začíná tlakem statolitů na ty části plazmatických membrán, které leží ve směru působení gravitace. a které pak mění svoji propustnost pro IAA. Významným způsobem se na řízení jednosměrné propustnosti membrán pod vlivem mechanického podráždění podílí cytoskelet. Veškeré procesy spojené se změnou propustnosti membrán nelze zatím uspokojivě popsat, avšak nepochybně významnou úlohu v nich hrají i *ionty vápníku* - při jejich nedostatku gravitropická reakce slábne a po dodání se rychle obnovuje. V průběhu gravitropické stimulace dochází také ke změnám acidity a elektrického potenciálu na povrchu kořene. Ve spodní části kořene se vytváří tak vysoká koncentrace auxinů, která má již inhibiční účinek na růst buněk a kořen se proto zakřivuje směrem dolů.



Obr.53. Velmi zjednodušená představa o gravitropickém ohybu kořene položeného do vodorovné polohy, na jehož řízení se podílí jednostranné odklonění toku kyseliny indolyloctové (IAA) v oblasti kořenové čepičky. Ve svislé poloze je tok IAA rovnoměrný. U kořenů zvýšená koncentrace IAA inhibuje dlouhivý růst buněk.

Gravitropické reakce u *nadzemních částí* rostlin jsou ještě komplikovanější, než u kořenů, i když percepce signálu probíhá obvykle ve stejných místech jako ohyb (nikoli tedy jen ve vegetačním vrcholu). Funkce amyloplastů jako statolitů je shodná s kořeny. Nacházejí se nejčastěji v parenchymových buňkách vnitřní kůry, ve škrobové pochvě okolo cévních svazků, a někdy též v kolenchymové vrstvě pod epidermis.

Položíme-li rostoucí stoněk do vodorovné polohy, sedimentace amyloplastů proběhne asi za dvě minuty a během několika dalších minut můžeme pozorovat počátek gravitropického zakřívování. Spodní část stonku pokračuje v růstu vcelku nezměněnou rychlostí, zato buňky v horní části zcela zastavují růst.

Existuje mnoho důkazů na podporu hypotézy o významné úloze auxinu i v gravitropismu stonků. Vzhledem k menší citlivosti buněk nadzemních částí k auxinům (ve srovnání s kořeny) by jejich nahromadění ve spodní části vodorovně umístěného stonku prakticky vždy vyvolalo stimulaci dlouhivého růstu buněk v této části a následný ohyb stonku směrem vzhůru. Celý mechanismus však bude bohužel složitěji řízen, než jen pouhou translokací auxinů. Rozdíly v jeho koncentraci mezi spodní a horní stranou bývají totiž obvykle velmi malé, i když ale také víme, že bez dostatečného množství auxinu v příslušném orgánu ke gravitropickému ohybu nikdy nedojde. Mezi komplikující skutečnosti patří zjištění, že aplikace IAA v přebytku nemá obvykle rušivý vliv na průběh ohybové reakce. Dále pak pozoruhodné jevy, označované jako "*gravitropická paměť*": je známo, že u gravitačně stimulovaného hypokotylu (= položeného po jistou dobu do vodorovné polohy) k zakřivení nemusí vůbec dojít, pokud má malý obsah auxinu (např. po dekapitaci či po aplikaci inhibitorů syntézy IAA). Gravitropickou reakci ale je možné vyvolat aplikací IAA na takovýto orgán. Co je však zvláště pozoruhodné, že k vyvolání gravitropické reakce (ohybu) dojde i tehdy, jestliže aplikujeme IAA na hypokotyl vrácený již do svislé polohy! Stejně tak můžeme vyvolat opožděnou gravitropickou reakci u intaktního hypokotylu, který byl uložen do vodorovné polohy za nízké teploty (4°C, při které je dlouhivý růst buněk zcela zastaven) a pak ve svislé poloze ohřát. Gravistimulace tedy nemusí nutně měnit koncentraci auxinu, ale spíše *citlivost buněk k jeho působení*. Tato citlivost je dána jak počtem auxinových receptorů v membránách, tak i funkcí navazujících cest vnitrobuněčného přenosu signálu.

12.4 Vnitřní rytmické procesy

Vzhledem k velmi pravidelným cyklickým pohybům naší planety (oběh okolo Slunce a rotace kolem vlastní osy), můžeme pozorovat v přírodě mnoho významných změn s periodou jeden rok či jeden den. Pro rostliny je velmi výhodné synchronizovat průběh některých svých funkcí s pravidelně se opakujícími změnami vnějšího prostředí, zejména pak schopnost *provést fyziologické změny vedoucí k optimální interakci s faktory prostředí ještě dříve než začnou působit* (např. nastavit listy vhodným směrem ještě před východem Slunce, s předstihem začít s tvorbou potřebných proteinů, aktivovat enzymy, atd.). To ovšem nutně předpokládá jistou schopnost **měření času** (označovanou obvykle jako *biologické či fyziologické "hodiny"*) nezávisle na vnějším prostředí.

Existence vnitřní rytmičnosti u rostlin se předpokládala již velmi dávno. První spolehlivé důkazy se však podařilo získat až ve dvacátých letech tohoto století a intenzivní výzkum pokračuje dodnes. Experimenty v tomto směru jsou totiž neobyčejně technicky náročné - už proto, že zajistit zcela konstantní vnější podmínky je prakticky nemožné. V úvahu se totiž musí brát i méně běžné faktory, které mohou mít kolísavý průběh a od jejichž vlivu lze pokusné rostliny obtížně izolovat (elektromagnetické vlny velmi krátkých délek, magnetické pole, toky částic s vysokou energií, aj.).

Většina výsledků které se dosud podařilo získat je fenomenologického typu; analýza celého mechanismu je naprosto nedostatečná. Víme však, že základní mechanismus je velmi podobný u všech živých organismů.

Rytmické procesy u rostlin se mohou lišit *délkou periody* (= trváním jednoho opakujícího se cyklu), *amplitudou* a průběhem jednotlivých *fází* (= stavů v určitých úsecích periody). Nejčastěji se setkáváme s rytmickými procesy s periodou přibližně 24 hodin (= *cirkadiánní rytmy*), které pokračují i po umístění rostlin v trvalé tmě, nebo naopak při trvalém osvětlení.

Patří sem především různé pohyby listů, květů a jejich částí, které pro snadnost pozorování jsou velmi často využívány v pokusech, ale i méně nápadné změny mnoha biochemických procesů (např. aktivace enzymů v uhlíkovém metabolismu CAM). Procesy, jejichž změny mají délku periody jeden rok (např. klíčení semen mnoha druhů), se zkoumají velmi obtížně nejen pro časovou i technickou náročnost, ale i pro jejich možnou interferenci s procesy stárnutí.

Již v počátcích studia cirkadiálních procesů bylo zjištěno, že při dlouhodobé expozici rostlin v prostředí bez jakýchkoli změn je délka vnitřně řízené periody jen zřídka přesně 24 hodin - častěji bývá poněkud delší nebo kratší. Velmi významný byl také poznatek, že uměle navozeným kolísáním záření či teploty (s jinou periodou než tomu bývá v přírodě) lze vyvolat změnu délky periody a *posun fázi vnitřní rytmicity*, měřené v následných pokusech v konstantních podmínkách. Ke změně může dojít někdy už při jednorázovém působení, jindy pod vlivem opakujících se cyklů. Tato možnost "nastavení" biologických hodin je pro rostliny v přírodě neobvykle důležitá pro udržení přesné synchronizace vnitřních procesů s cykličností vnějšího prostředí - ta totiž není obvykle zcela konstantní (např. délka dne se obvykle mění v průběhu roku velmi podstatně!).

V řízených podmínkách můžeme navodit rytmické procesy s delší nebo kratší periodou než 24 hodin. Tyto změny však nejsou trvalého rázu, ale jen dočasným přizpůsobením, které po několika dnech či týdnech po působení navozujícího kolísavého režimu a umístěním pokusných rostlin do stálých (nekolísavých) podmínek opět mizí. K zajímavým výsledkům také vedly pokusy s krátkodobým osvětlením rostlin při umístění v trvalé tmě. Pokud byly osvětleny v té části dne, kdy za normálních okolností (před umístěním do trvalé tmy) bylo světlo, nemělo to na rytmické procesy žádný vliv. Osvětlení v té části dne, kdy dříve bývala tma (tzv. "subjektivní noc") však již vliv mělo, avšak reakce byly závislé na načasování osvětlení. Osvětlení v první polovině „subjektivní noci“ vedlo k prodloužení následného průběhu procesů, avšak osvětlení v její druhé polovině vedlo ke zrychlení procesů. Je zajímavé, že k velmi podobným výsledkům se došlo při experimentech nejen s rostlinami, ale i s některými houbami (*Neurospora* sp., tvorba konidií), s prvoky (*Paramecium*), s hmyzem (*Drosophila*) a s některými dalšími živočichy.

Z vnějších faktorů, které ovlivňují vnitřní rytmy, na prvním místě stojí *záření*. Z dosud zjištěných akčních spekter je zřejmé, že není zapojen pouze jeden typ fotoreceptorů u všech rostlin. Velmi častá je citlivost na modré záření, ale v některých případech je zřejmá i účast fytochromů (v červené části spektra). Vliv teploty je mnohem menší ve srovnání se zářením. *Teplota* ovlivňuje především amplitudu, jen velmi zřídka i délku periody.

Z dosavadních výsledků vyplývá, že u rostlin, stejně tak jako u mnoha jiných organismů, není řízení rytmicity lokalizováno do jediného místa (centra). Různé části rostliny mohou mít do značné míry autonomní projevy rytmicity. Příkladem mohou být polštářkové buňky na bázi listů řídící nyktinastické pohyby či buňky rostlin s fixační cestou CAM, řídící cirkadiální vnitřní rytmicitu aktivity enzymů.

Ústředním problémem při studiu mechanismu biologických hodin je *nalezení základního "oscilátoru"* generujícího základní krok časoměry, tedy pravidelné endogenní impulzy, ze kterých by bylo možné odvodit (a tím i měřit) delší časové intervaly. Již v začátcích podrobného studia vnitřní rytmicity byla totiž opuštěna představa měření času pomocí jednoduchého principu "přesýpacích hodin", tedy postupného rozpadu (či naopak hromadění) určitého metabolitu. Ani samovolný přechod aktivní formy fytochromů do neaktivní při zatemnění rostlin nemůže tuto funkci plnit, protože k němu dochází příliš rychle a navíc rychlost konverze je ovlivňována řadou dalších faktorů.

V současné době se domníváme, že jak u živočichů, tak i u rostlin bude vnitřní rytmicita vázána na periodickou aktivaci a inaktivaci specifických genů pomocí různě složitých regulačních smyček. V jednodušším případě se na příslušném genu pro řízení rytmicity (např. gen *per* u octomilky či gen *frq* u houby *Neurospora crassa*, homologní geny byly nalezeny i u rostlin) vytváří transkripce mRNA pro specifický protein, který vstupuje do jádra a inhibuje prepis svého vlastního genu. Tím klesá množství mRNA a zpomaluje se tvorba inhibičního proteinu, což vede k opětovnému zvýšení tvorby mRNA a příslušného proteinu. Je zřejmé, že popsané cyklické změny se mohou opakovat libovolně dlouho a mohou tudíž sloužit jako "základní oscilátor".

Výzkumy v posledních letech naznačují, že mechanismus oscilačních procesů bude složitější než naznačený příklad. Specifických genů vnitřní časoměry může být totiž v téže buňce více a mezi produkty jejich aktivity může docházet k interakcím. U hmyzu bylo dokonce dokázáno, že i v různých orgánech téhož jedince může být vnitřní rytmicita řízena odlišnými mechanismy.