

Samčí gametofyt

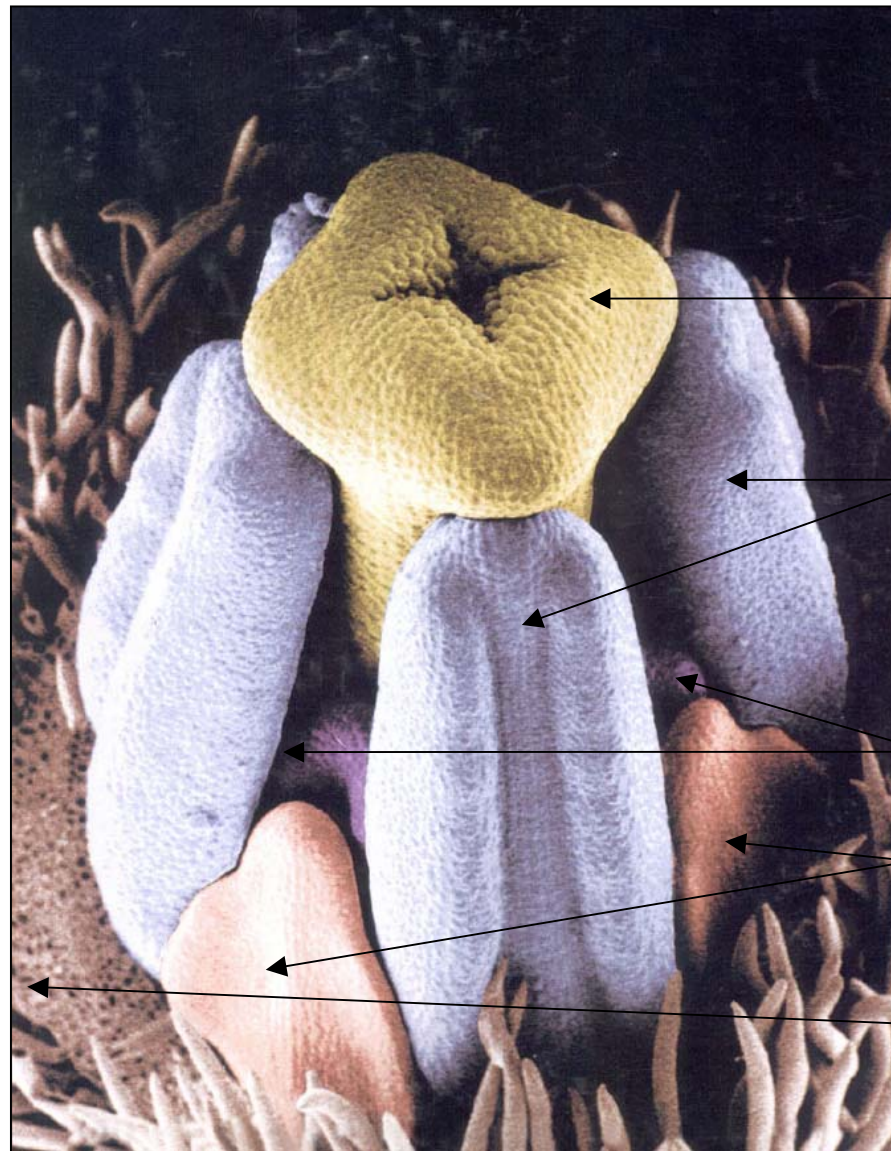
mikrosporogeneze
mikrogametogeneze

Clarkia xantania (Onagraceae)

Am. J. Bot.

<http://www.botany.org/plantimages>

Photo:
C. J. Runions
Cornell University



blizna s čnělkou

větší prašníky

menší prašníky

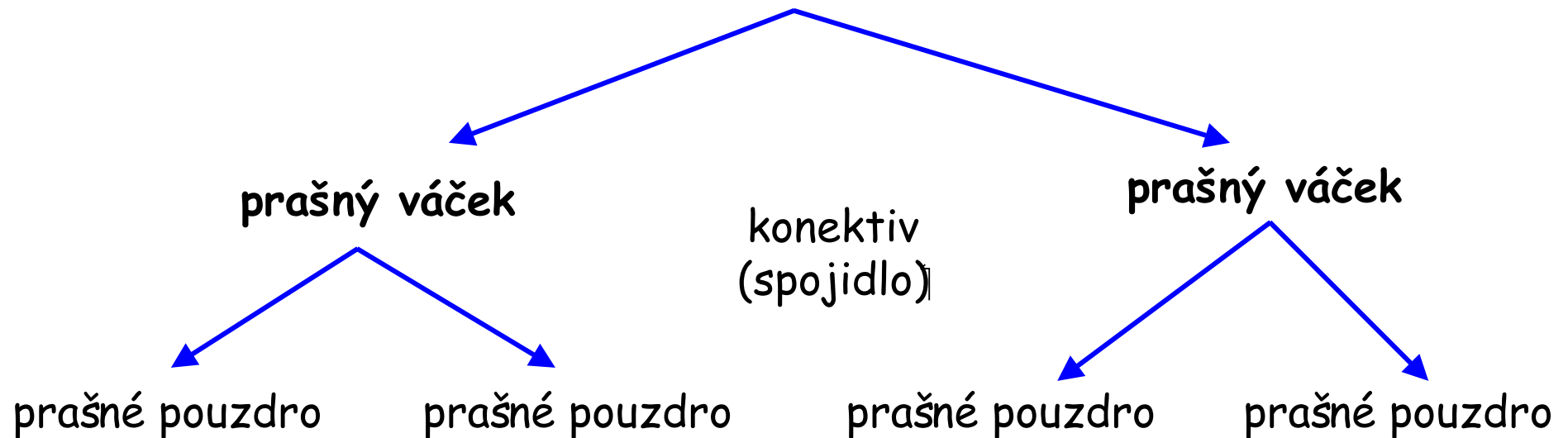
petaly

sepaly s trichomy

SE micrograph of an early floral developmental stage

Samčí rozmnožovací orgán = tyčinka soubor tyčinek = *androecium*

- tyčinka se zakládá jako meristematičtý hrbolek laterálně na vrcholu květního základu
 - z baze → nitka (filamentum)
 - z apexu → prašník (anthera)



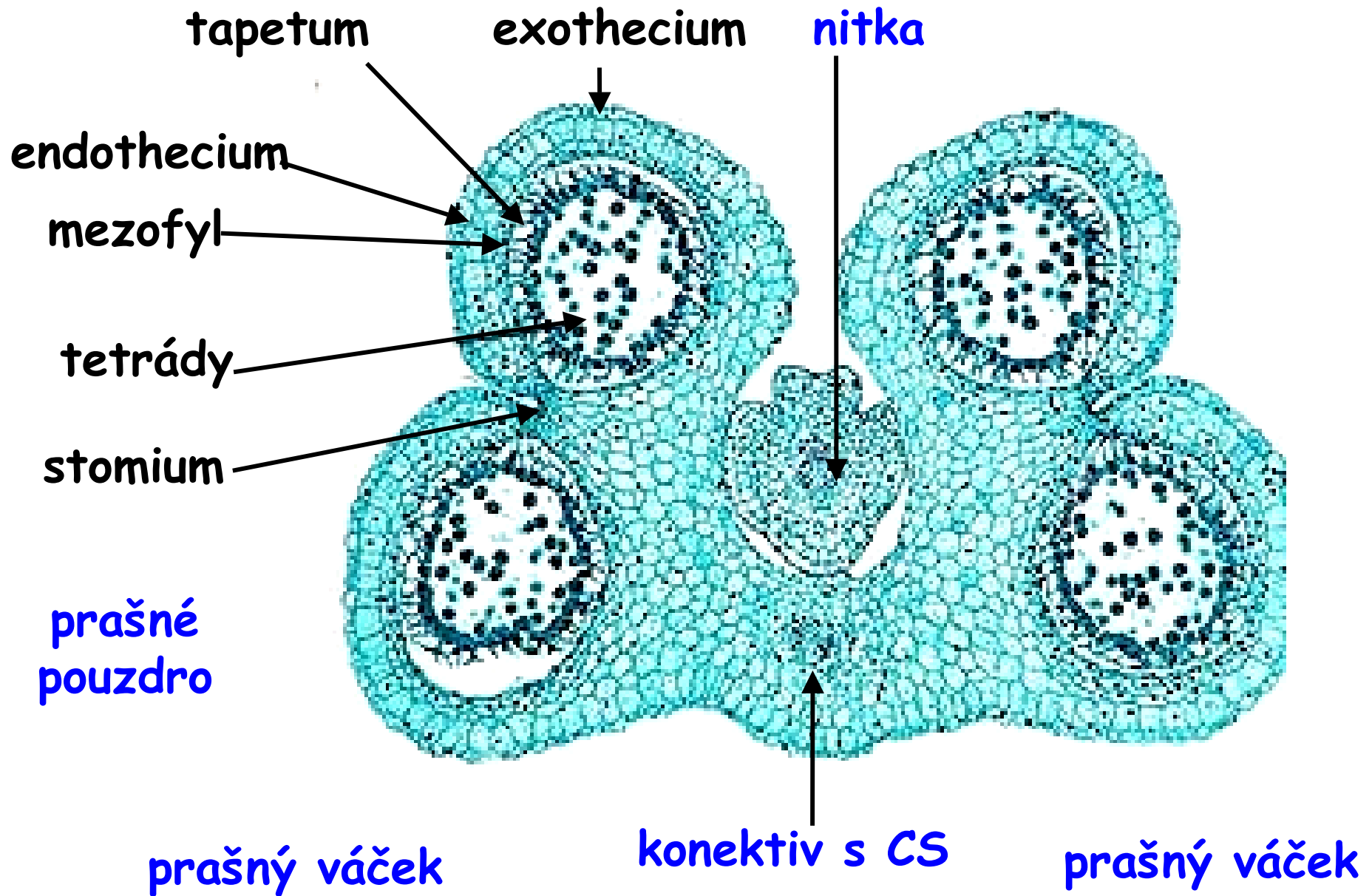
Stavba prašníku

- **exothecium** = pokožková vrstva s kutikulou
stomium, hypostomium
- **endothecium** = subepidermální, vláknitá vrstva
- střední vrstva = **mezofyl**, parenchymatické pletivo
- **tapetum** = výstelka prašného pouzdra
 - žlaznaté (sekretorické)
 - ameboidní = periplazmodium

Vývoj buněk tapeta

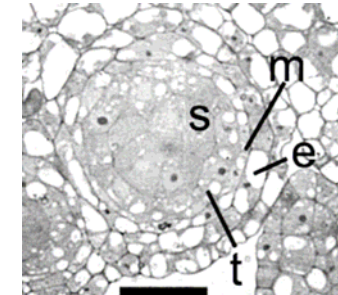
- **vnější a vnitřní tapetum** - má **dvojí původ**
- **předmitotická fáze** - buňky jednojaderné meristematické
- **mitotická fáze** - mitóza bez cytokineze + endomitóza = **2 polyploidní jádra**, zvětšuje se i objem buněk
- **postmitotická fáze** - vesikulární útvary = vysoká syntetická a sekreční aktivita
- programovaná buněčná smrt buněk tapeta

Řez prašníkem lilie

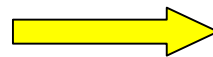


Mikrosporogeneze

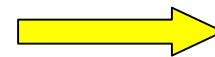
vývoj mikrospor ze sporogenních buněk



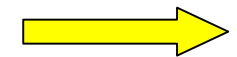
subepidermální buňky
meristem. hrbolku



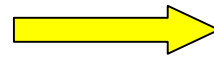
primární
archespor



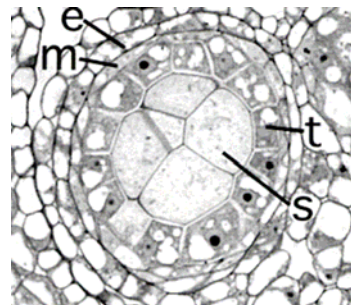
sporogenní
buňky



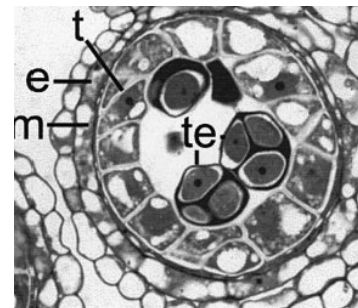
redukční
meiotické
dělení



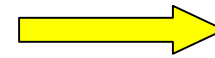
mikrosporocyty
pylové mateřské
buňky (PMC)



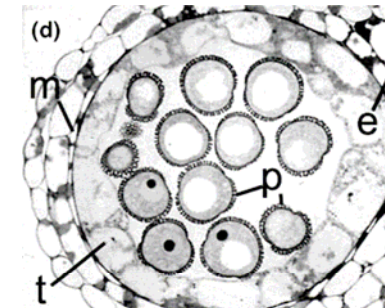
tetrády
mikrospor



kaláza

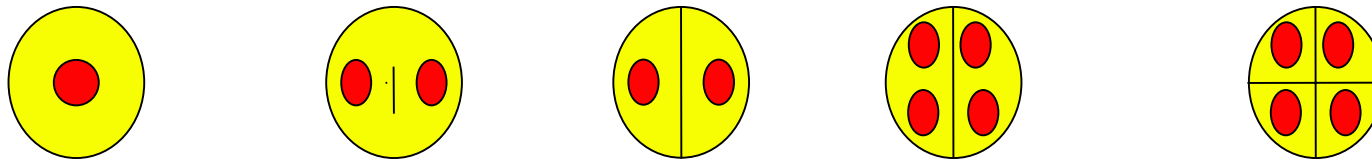


mikrospory

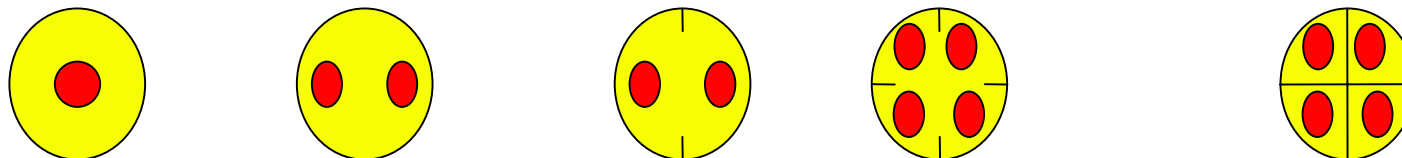


Typy tetrád

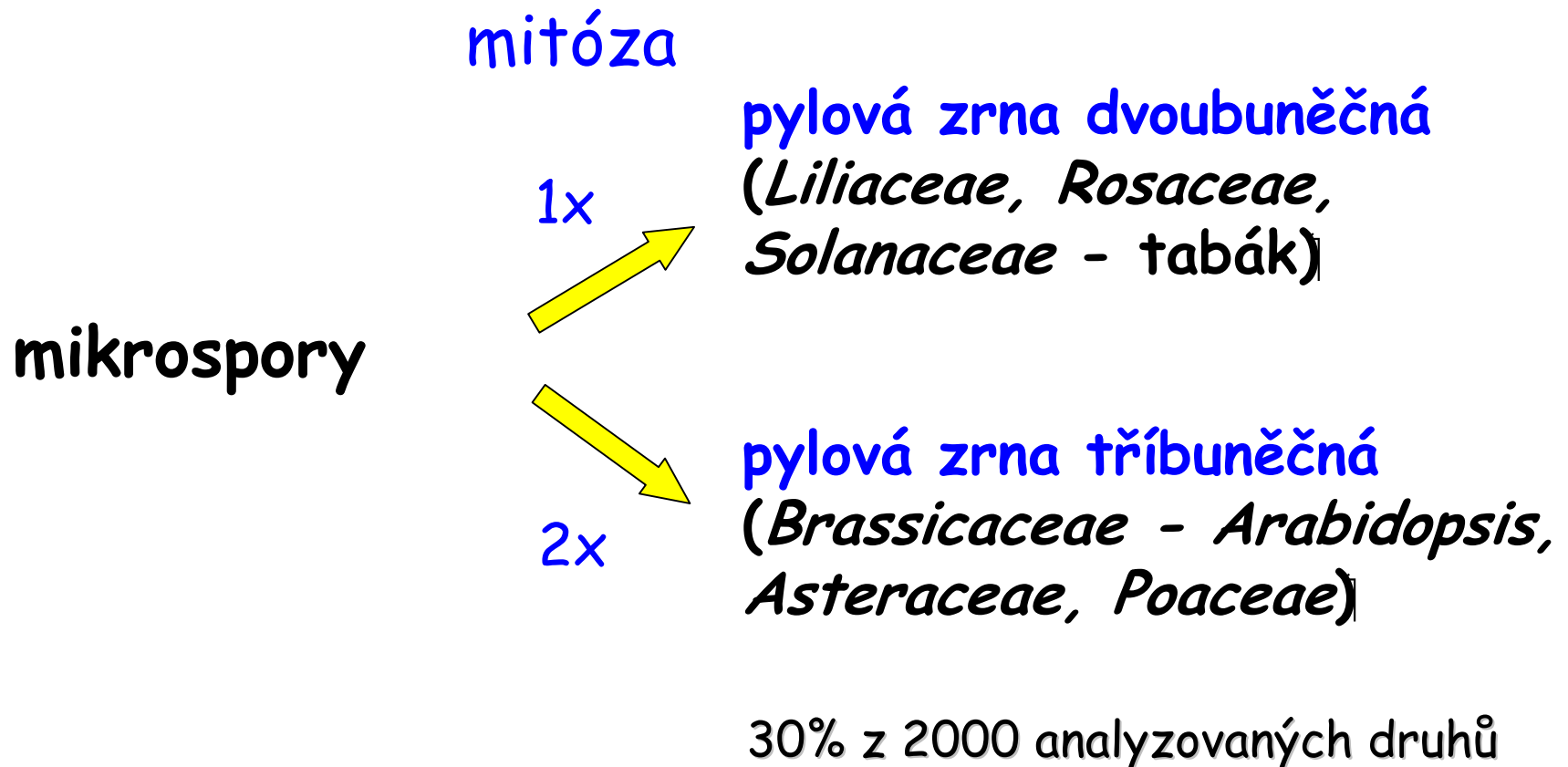
sukcesivní typ - ihned po I. meiotickém dělení vzniká centrifugálně přehrádka (diáda mikrospor) a po II. meiotickém dělení tetráda (častý u **jednoděložných rostlin**)



simultánní typ - po I. meiotickém dělení přehrádka nevzniká, teprve po skončení II. meiotického dělení začíná centripetálně (od periferie dovnitř) tvorba brázd a následně přepážek (typický u **dvouděložných rostlin**)



Mikrogametogeneze = vývoj samčích gamet



Funkce tapeta

- produkce enzymu kalázy (β -D-1,3-glukanáza) rozkládá kalózu a uvolňuje mikrospory z tetrád)
- syntéza prekurzorů exiny
- syntéza a vylučování pylového tmelu (depozice na povrchu pylových zrn)
- syntéza proteinů (depozice ve vnější vrstvě pylových zrn - exině)

Meióza = redukční dělení

I. heterotypické dělení - redukční

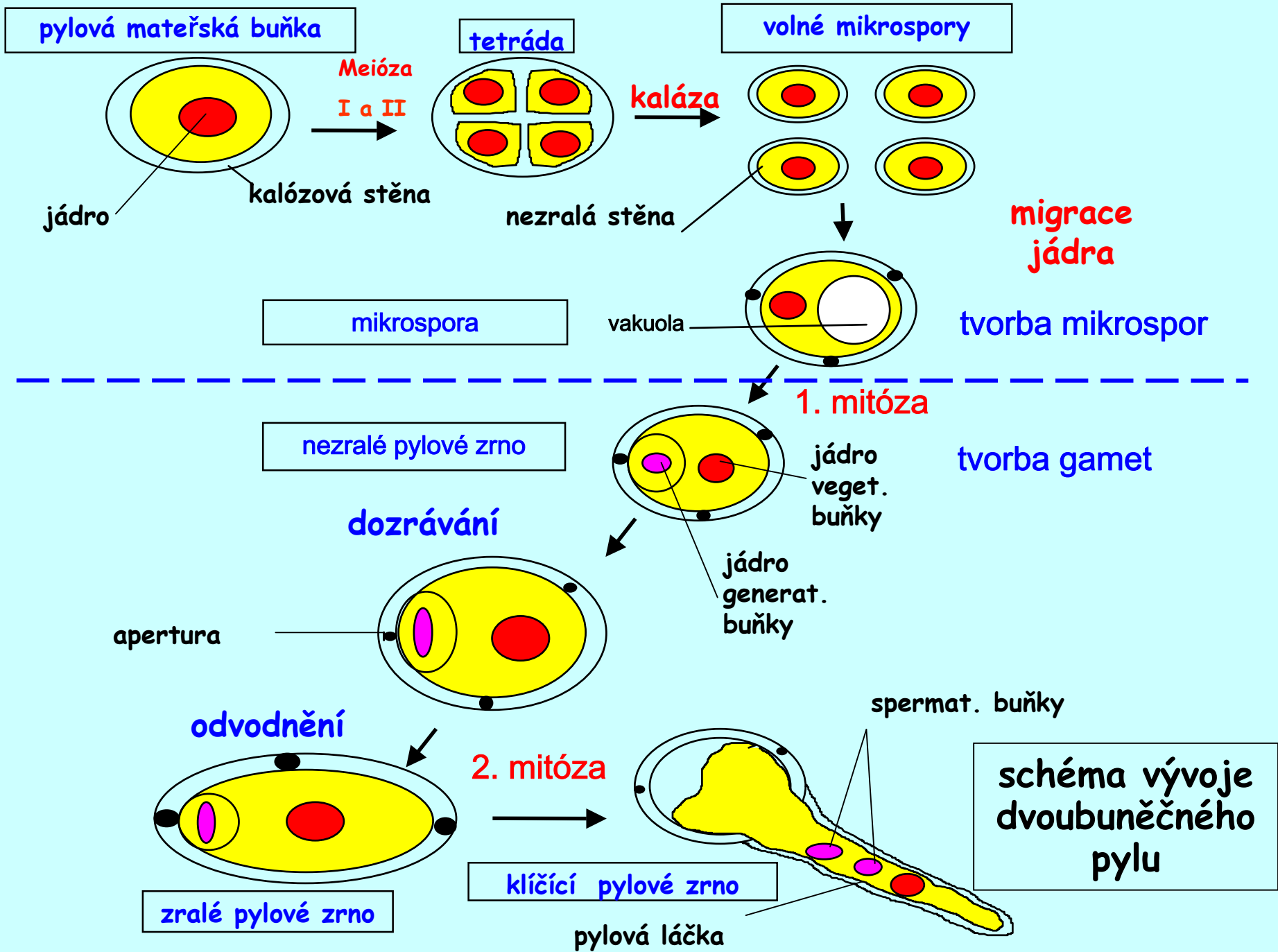
segregace homologních chromosomů

- profáze
 - leptoten
 - zygoten - bivalenty
 - pachyten
 - diploten - chiasmata, CO
 - diakineze
- metafáze
- anafáze
- telofáze

interfáze mezi I. a II. dělením je krátká (nedochází k syntéze DNA)

II. homeotypické dělení = ekvační - dochází k segregaci alel

průběh je shodný s mitózou
profáze II. bezprostředně navazuje na telofázi I.



Sporoderma - stěna pylového zrna

intina = **pektocelulózová** - spojení intiny s okolním prostředím = apertury (póry), někdy i kanálky

exina = **sporopolenin** = velmi rezistentní polymer lipidické povahy

– endexina = hladká lamelární vrstva

– ektexina = strukturovaná:

základní vrstva

bakuly

tektum

pylový tmel - na povrchu exiny: lipidy, proteiny, flavonoidy, aromatické látky

Stavba exiny pylového zrna pelyňku (*Artemisia*)

sporopolenin

ektexina

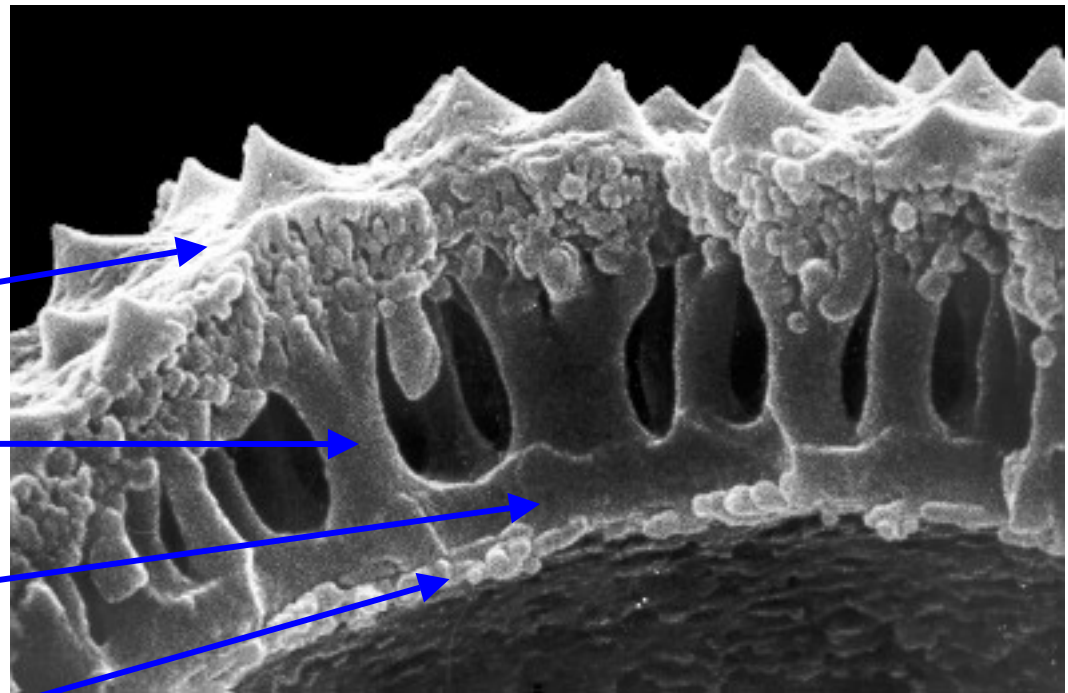
tektum

bakuly

základní vrstva

endexina

lamelární vrstva



Hydratovaná pylová zrna lilie

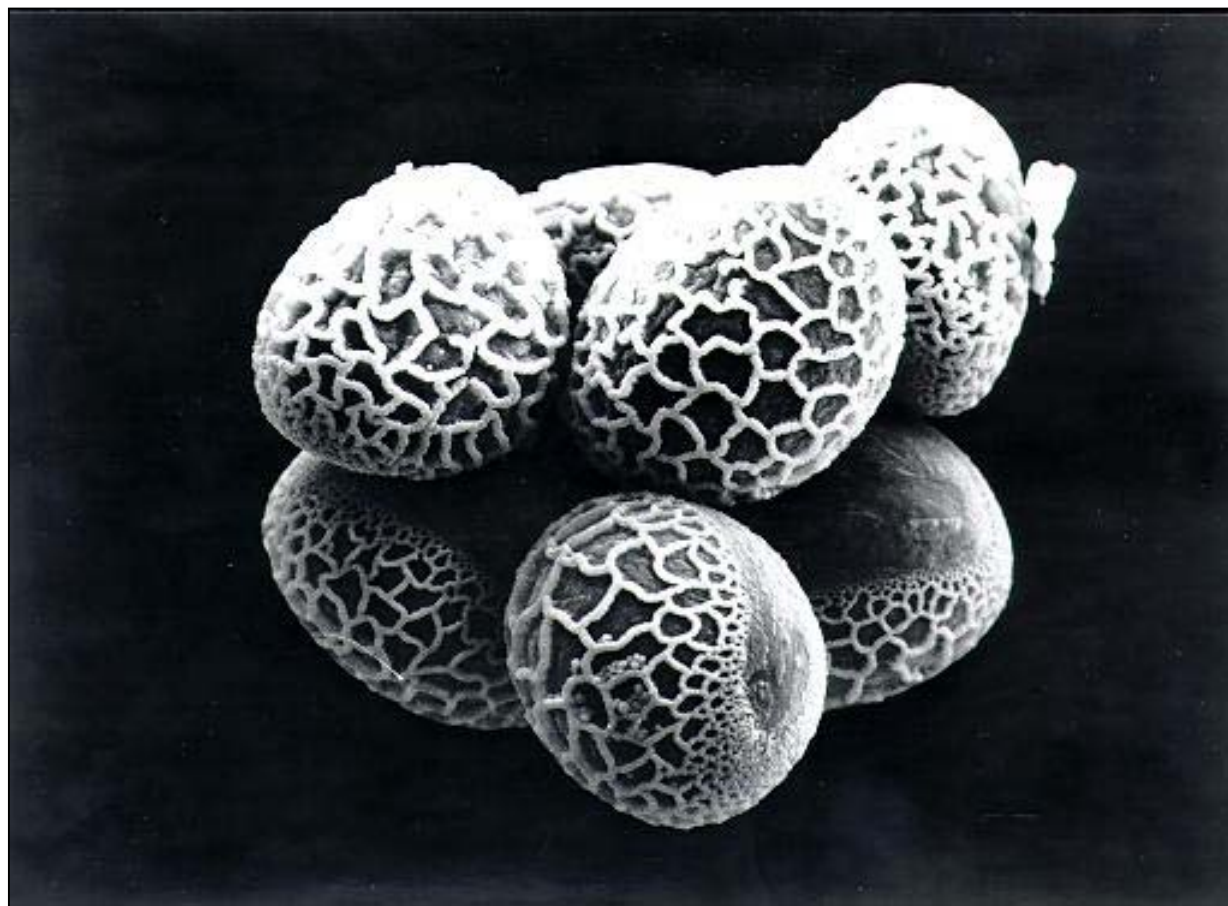


Foto:
G. Obermeyer

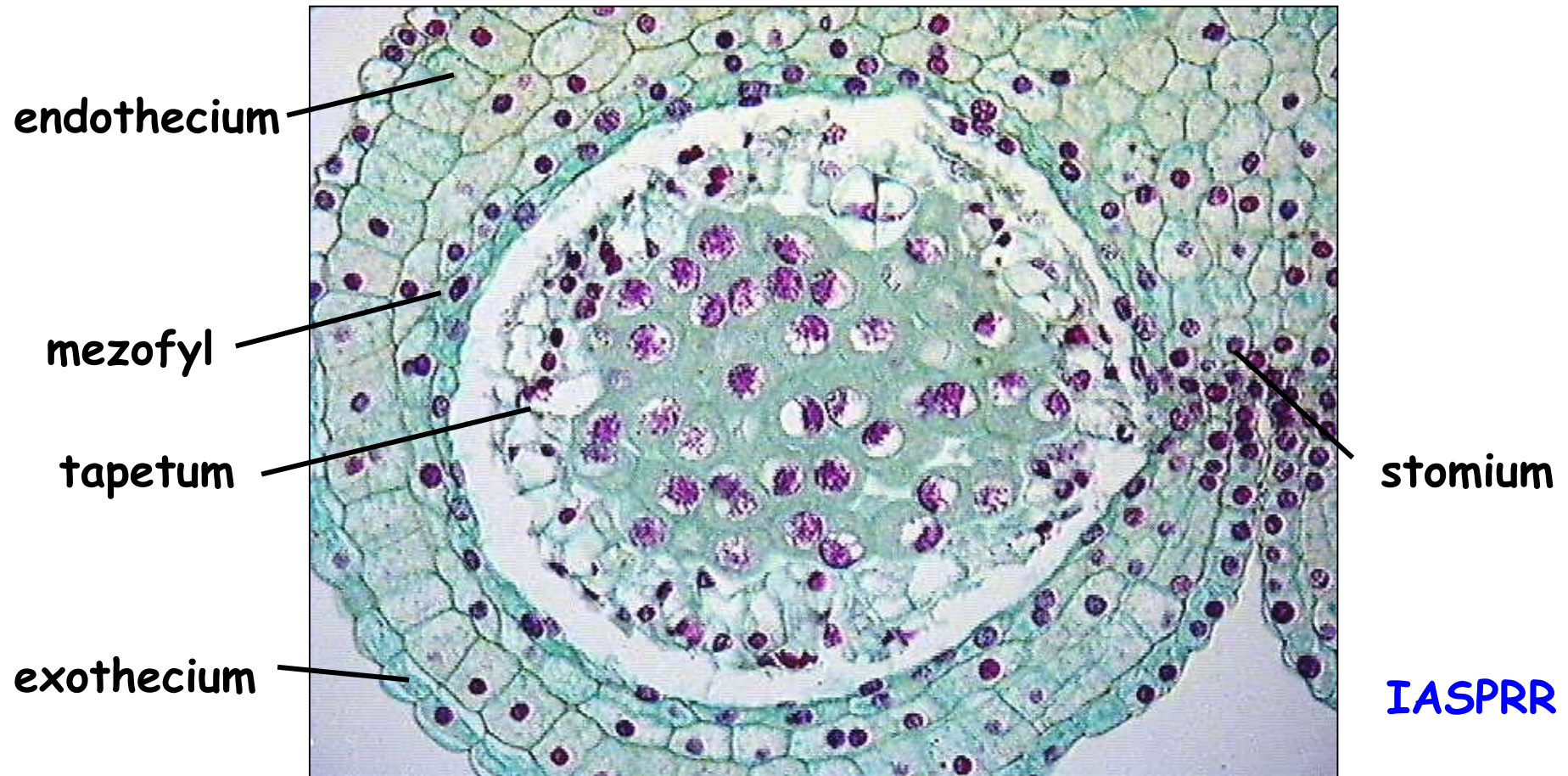
Mikrosporogeneze u *Lilium*

IASPRR

International Society for Sexual Plant Reproduction Research

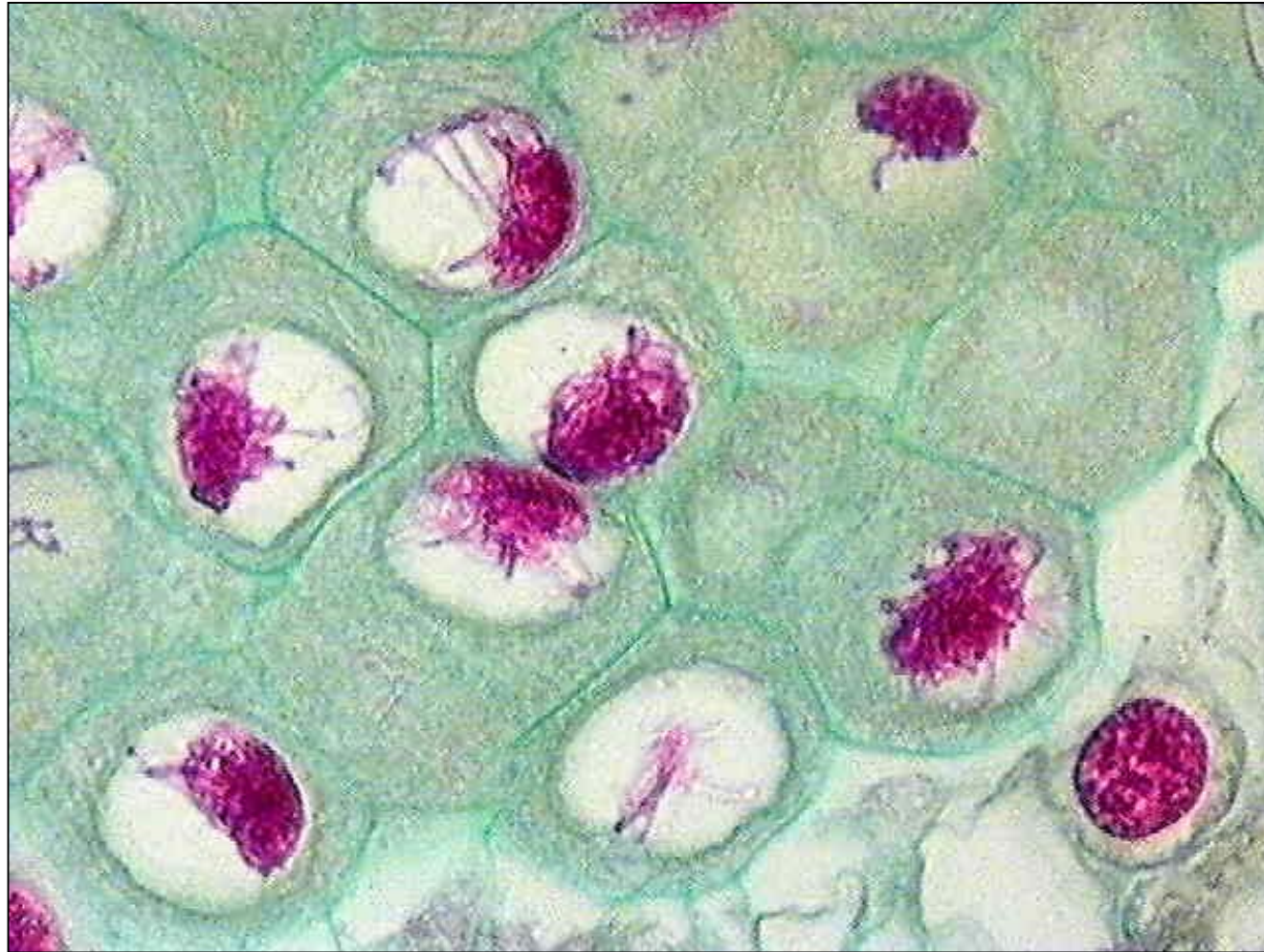
<http://images.iaspr.org/lily/>

Mikrosporocyty v rané profázi I.



většinu profáze I představuje precizní párování homologních chromosomů

Mikrosporocyty v rané profázi I.



IASPRR

detail

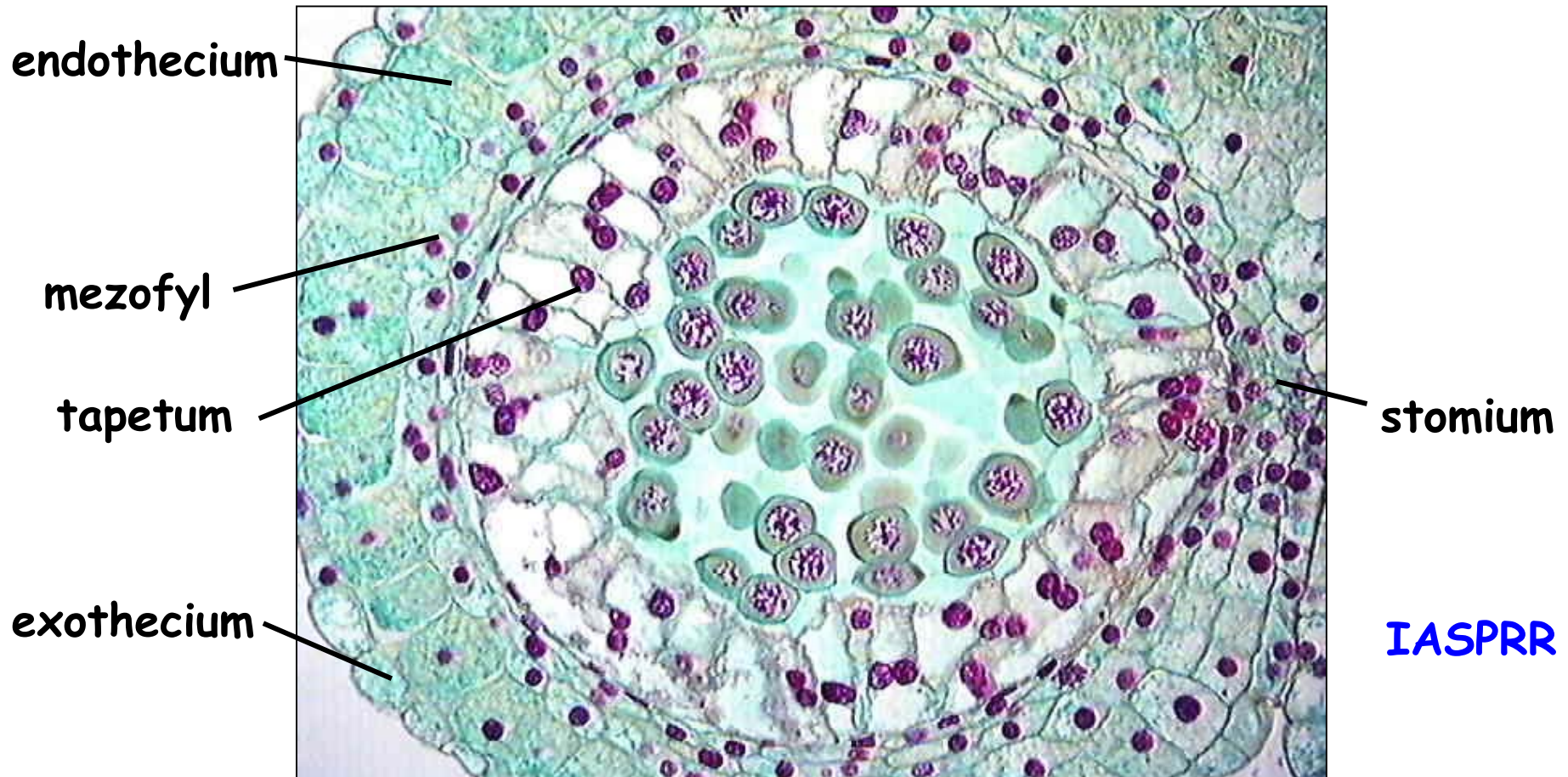
Střed profáze I.



IASPRR

pachytene - chromosomy jsou velmi prodloužené,
spárované homologní chromosomy vyměňují genetický materiál

Pozdní profáze I.



pokračuje kondenzace homologních chromosomů - blíží se diakinese

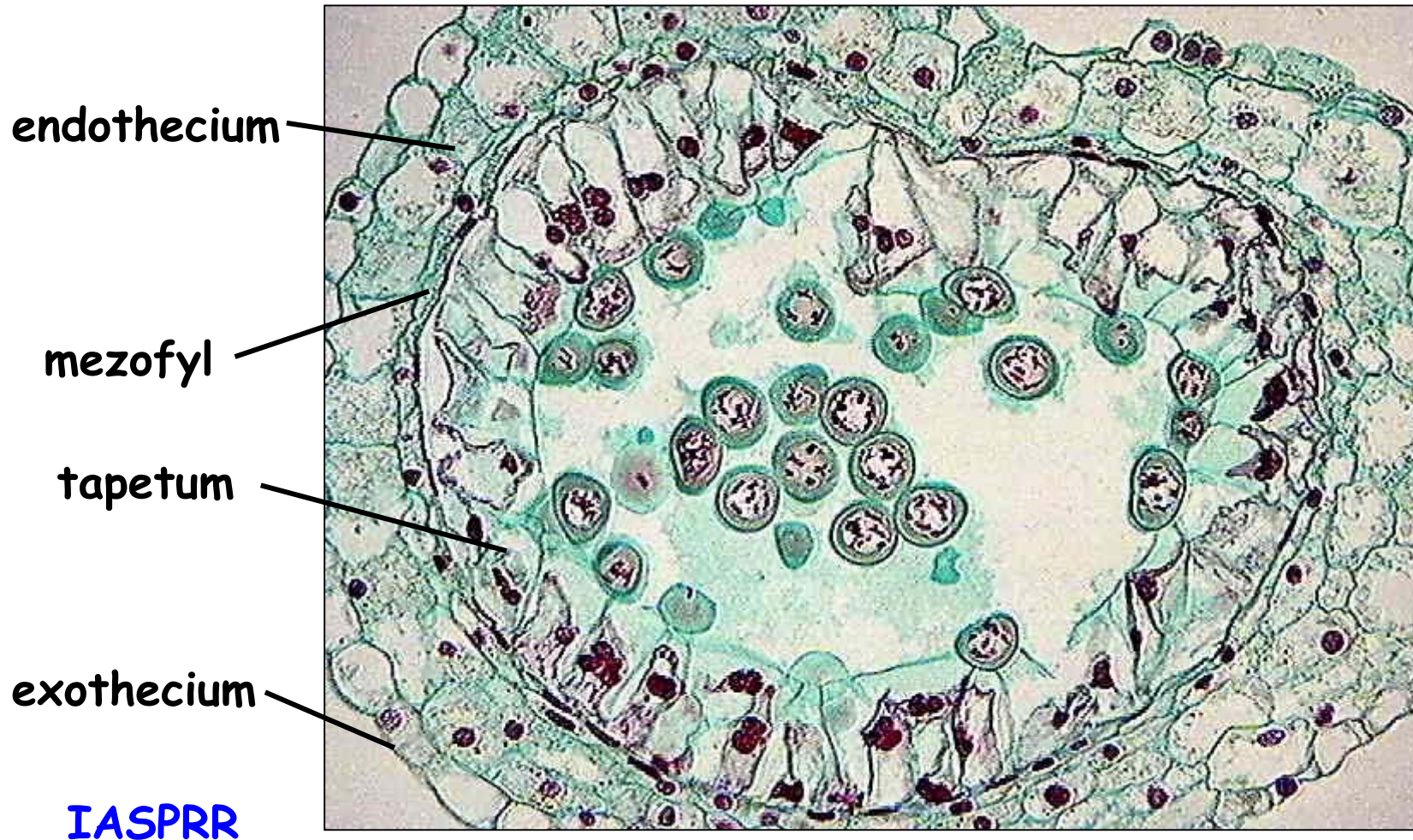
Pozdní profáze I.



IASPRR

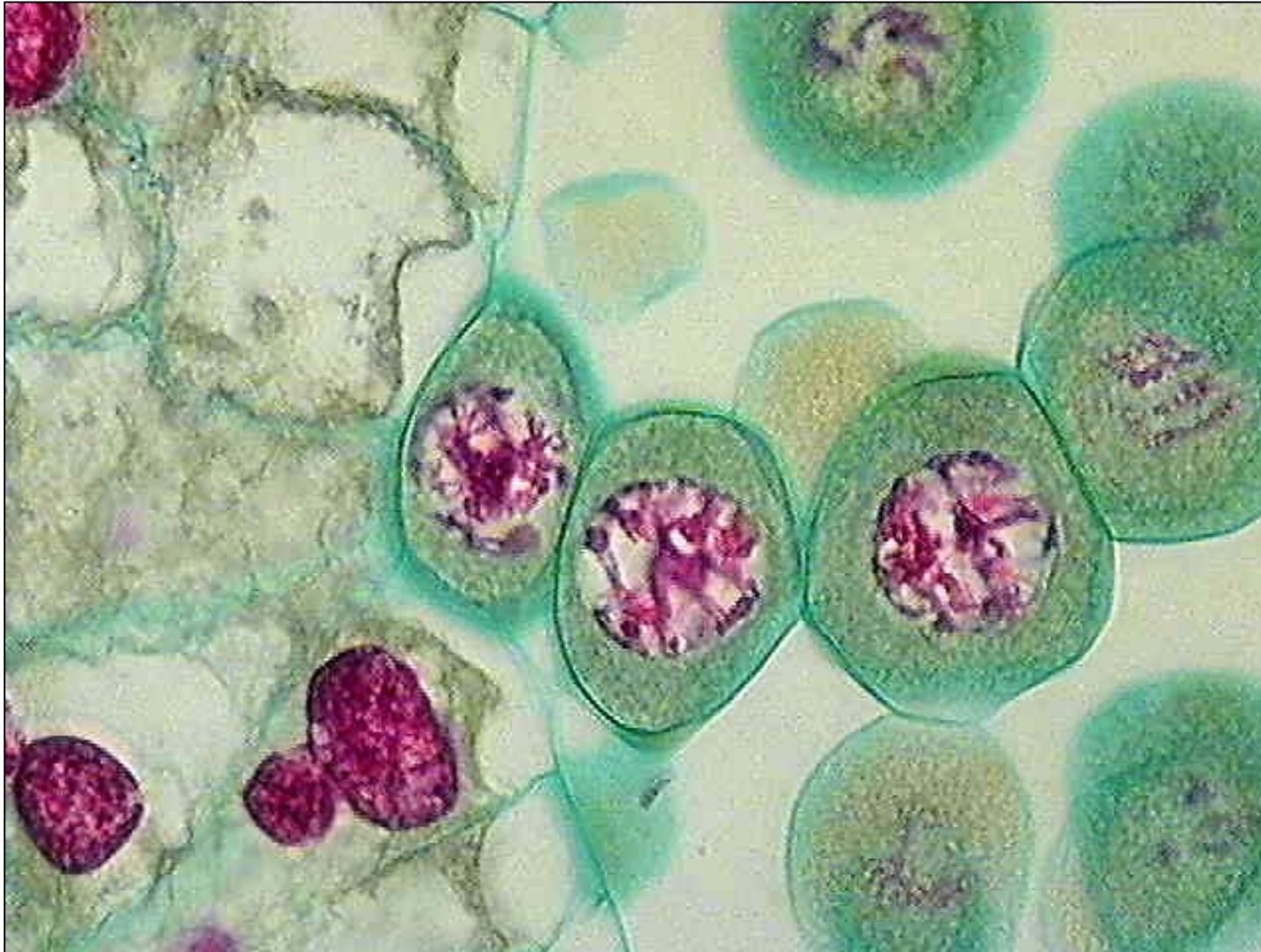
detail předchozího snímku

Diakinesis



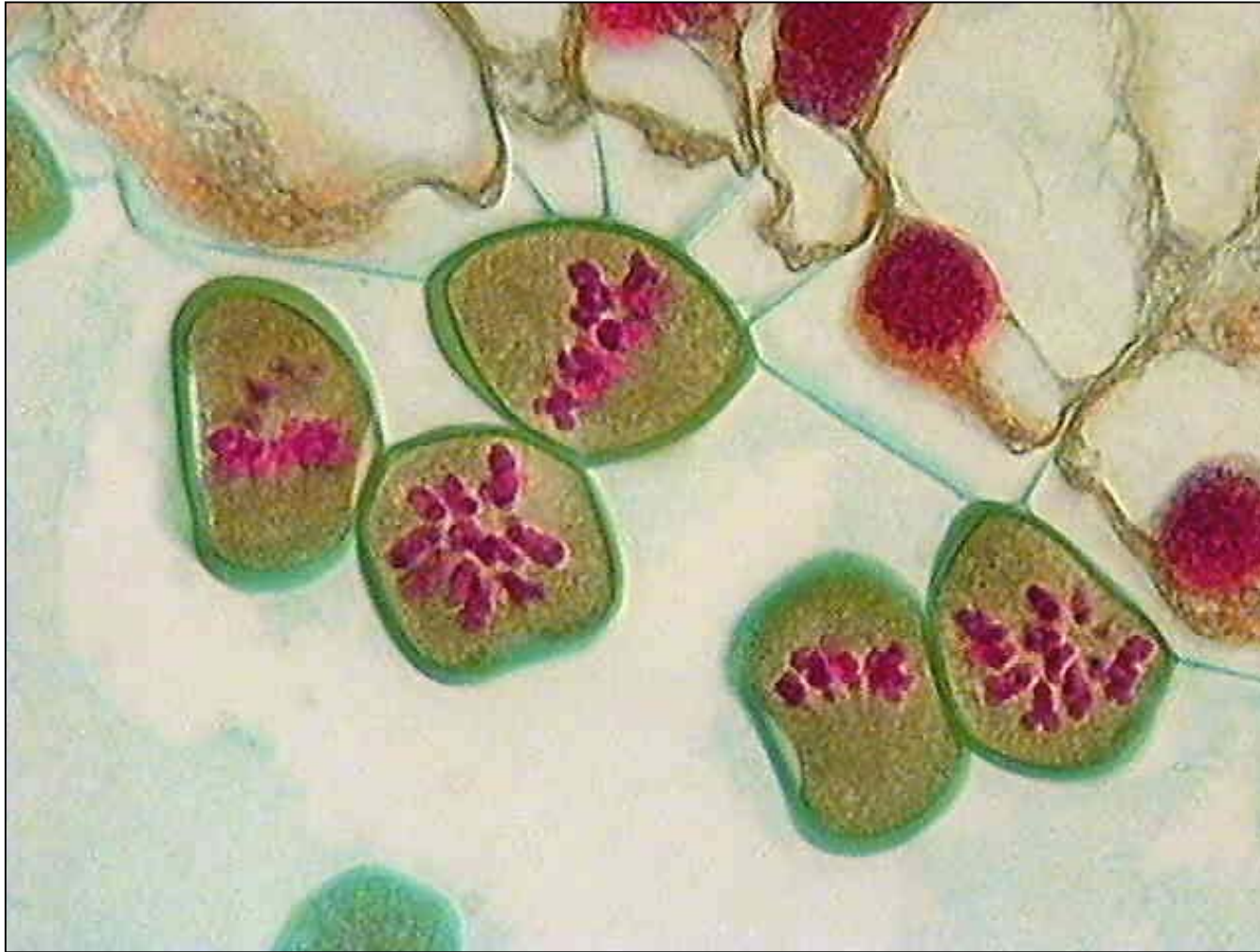
diakineze = poslední stadium profáze I před metafází

Diakinesis



IASPRR

Metafáze I.



IASPRR

metafázní chromosomy

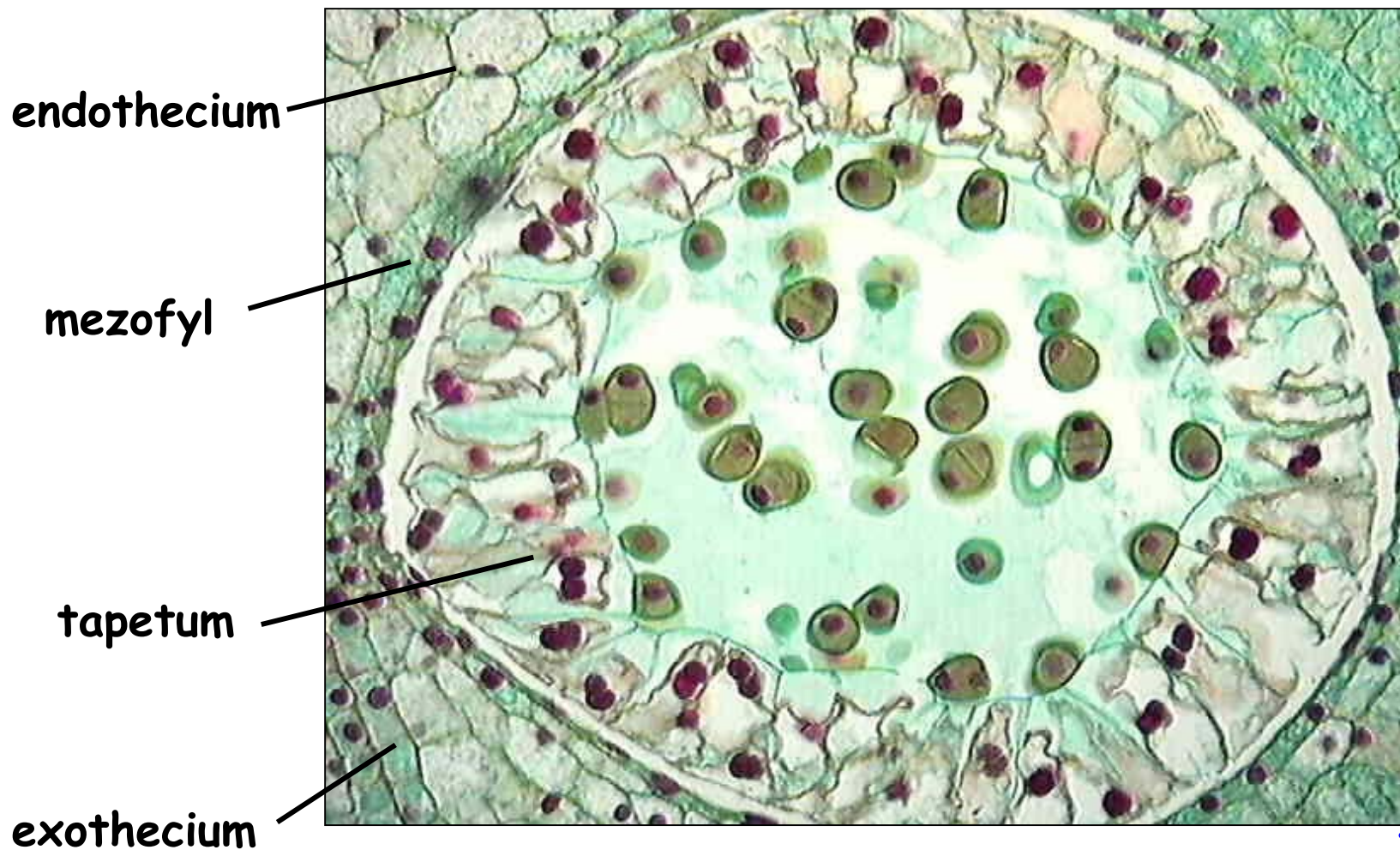
Anafáze I.



IASPRR

homologní chromosomy přemístěné na opačné buněčné póly =
přesné dělení genetického materiálu

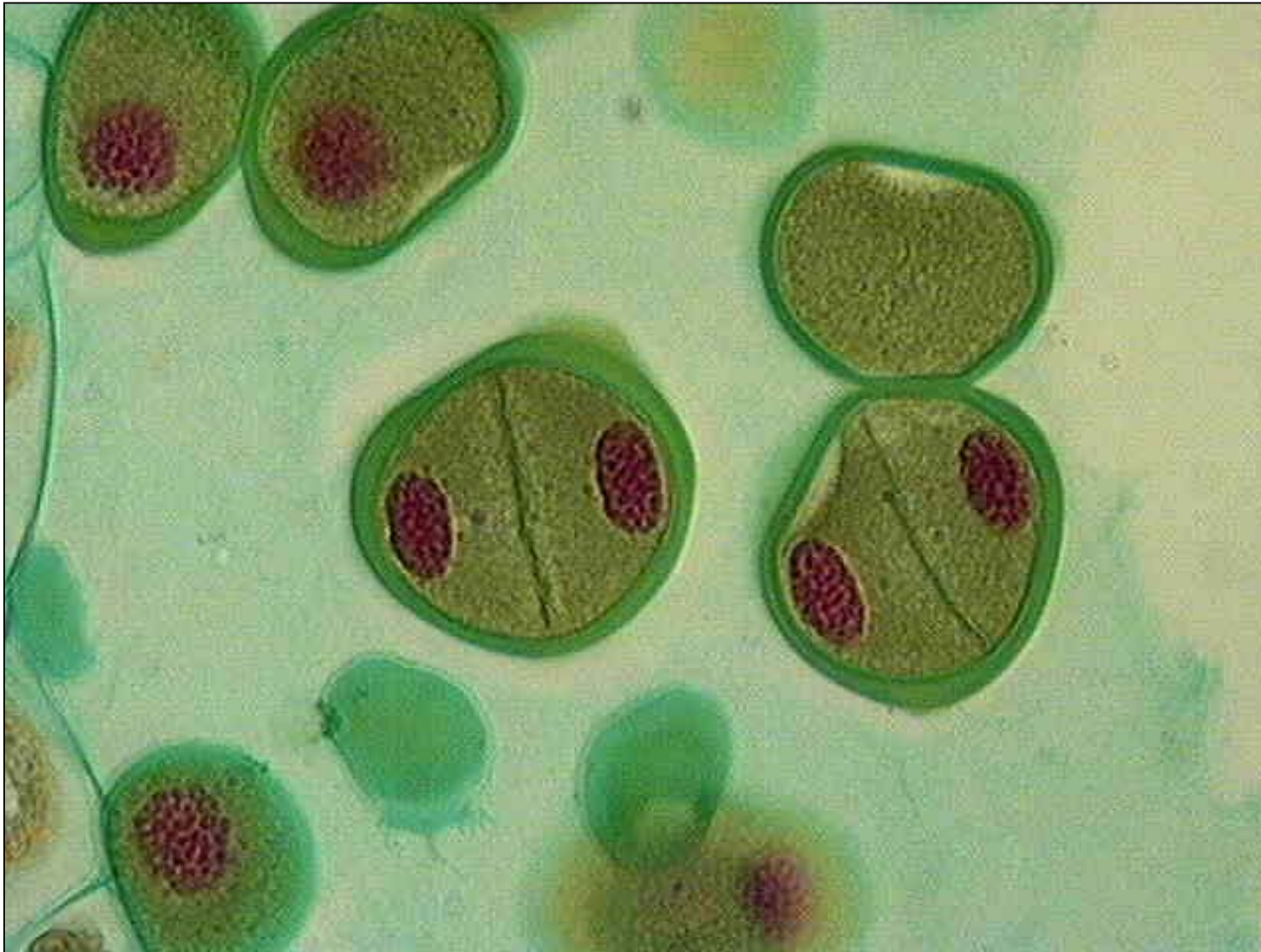
Telofáze I.



IASPRR

výrazná buněčná přepážka se tvoří mezi jádry po I. meiotickém dělení u lilie (**diády**), druhé meiotické dělení probíhá rychle

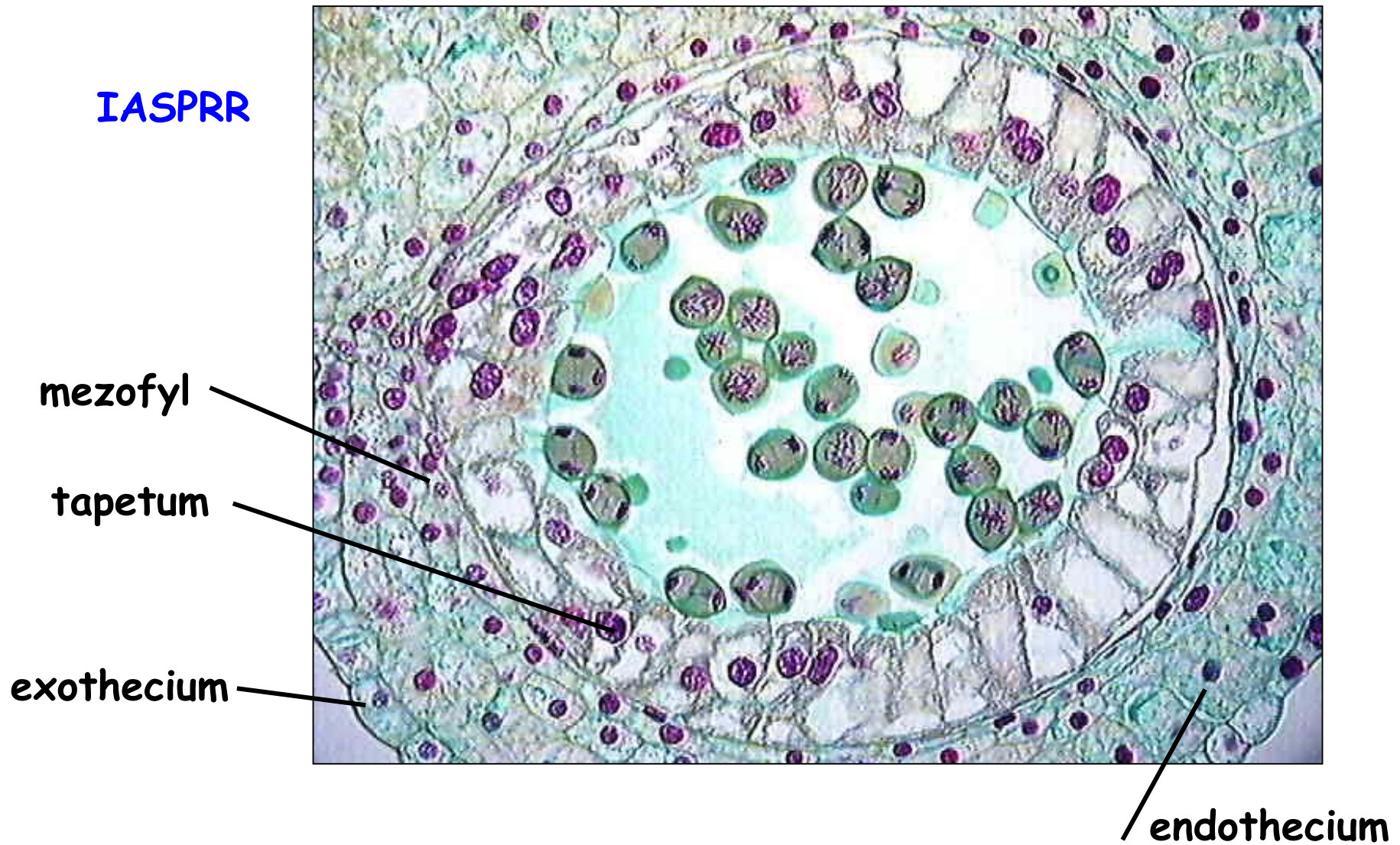
Telofáze I.



diády

IASPRR

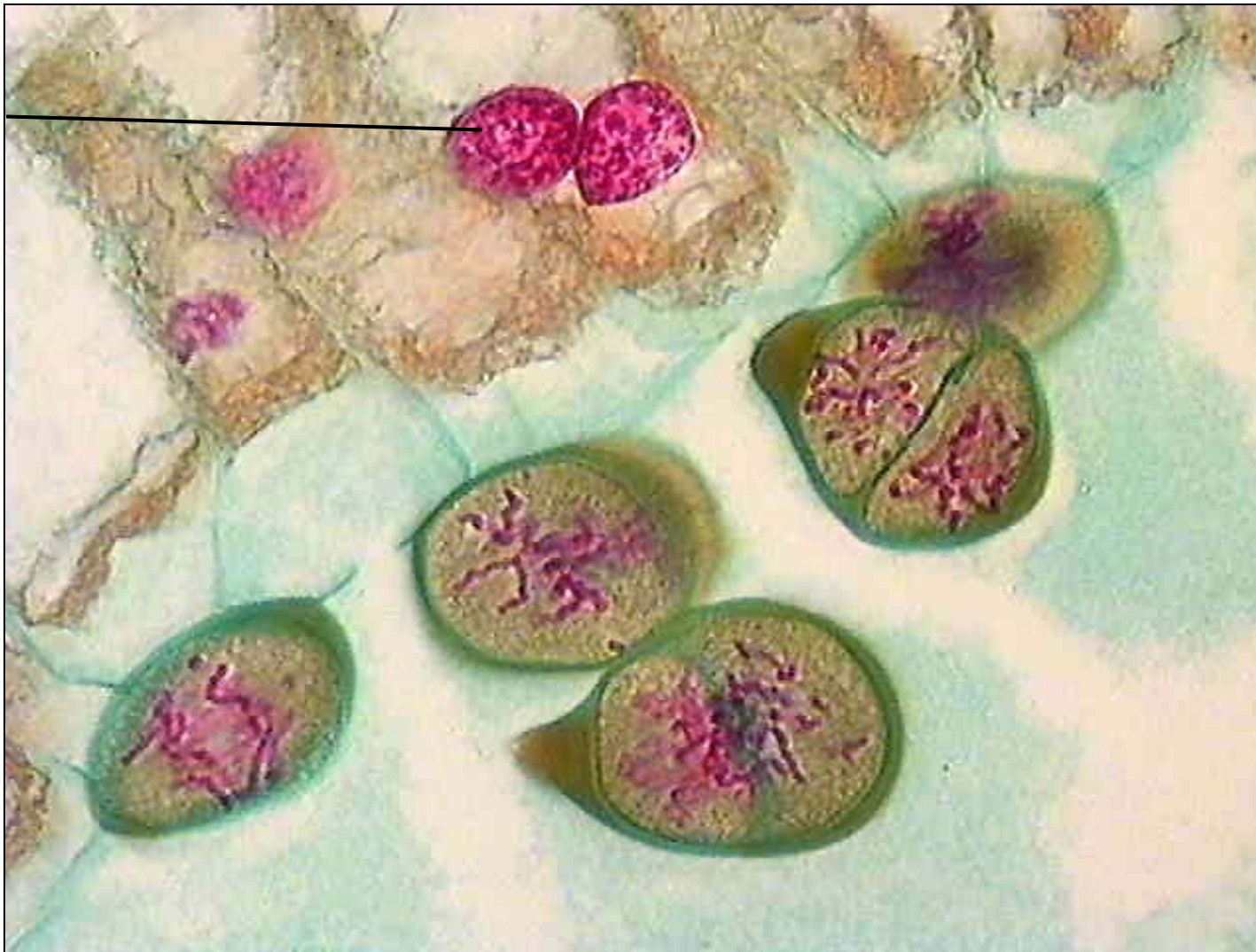
Metafáze II.



separace chromatid během II. meiotického dělení

Metafáze II.

tapetum

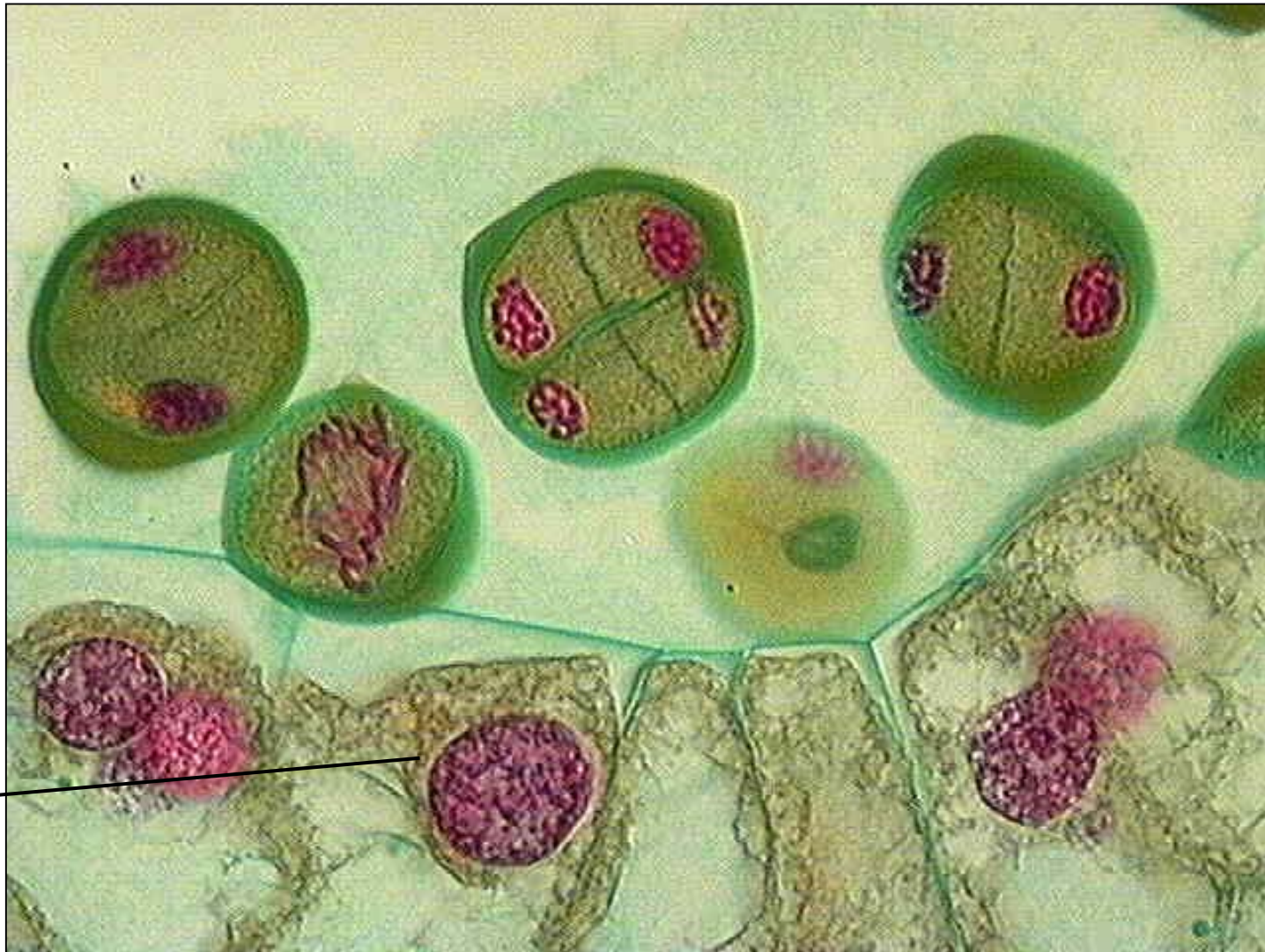


detail

IASPRR

Telofáze II.

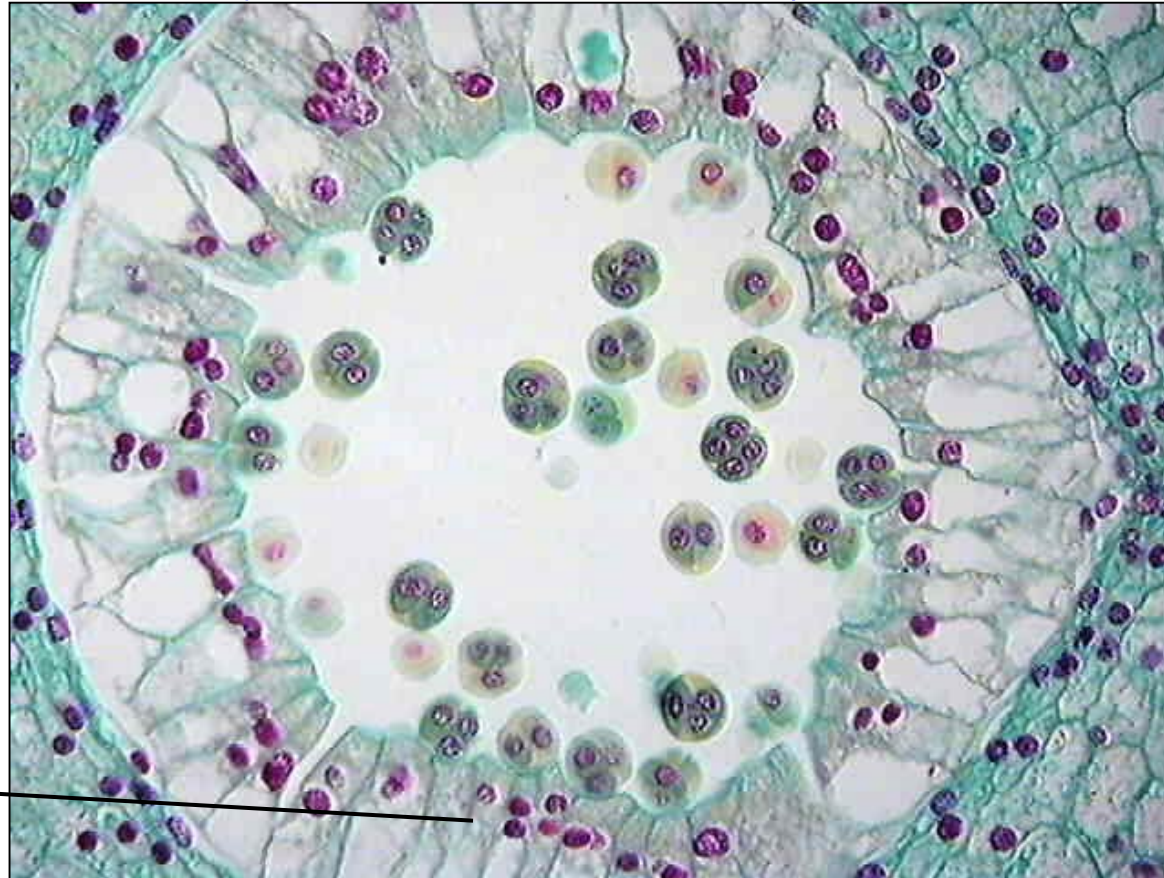
IASPRR



tapetum

Cytokineze tetrád. Separace buněk začíná brzy od stěny mikrosporocytu.

Tetrády v "callose special wall"

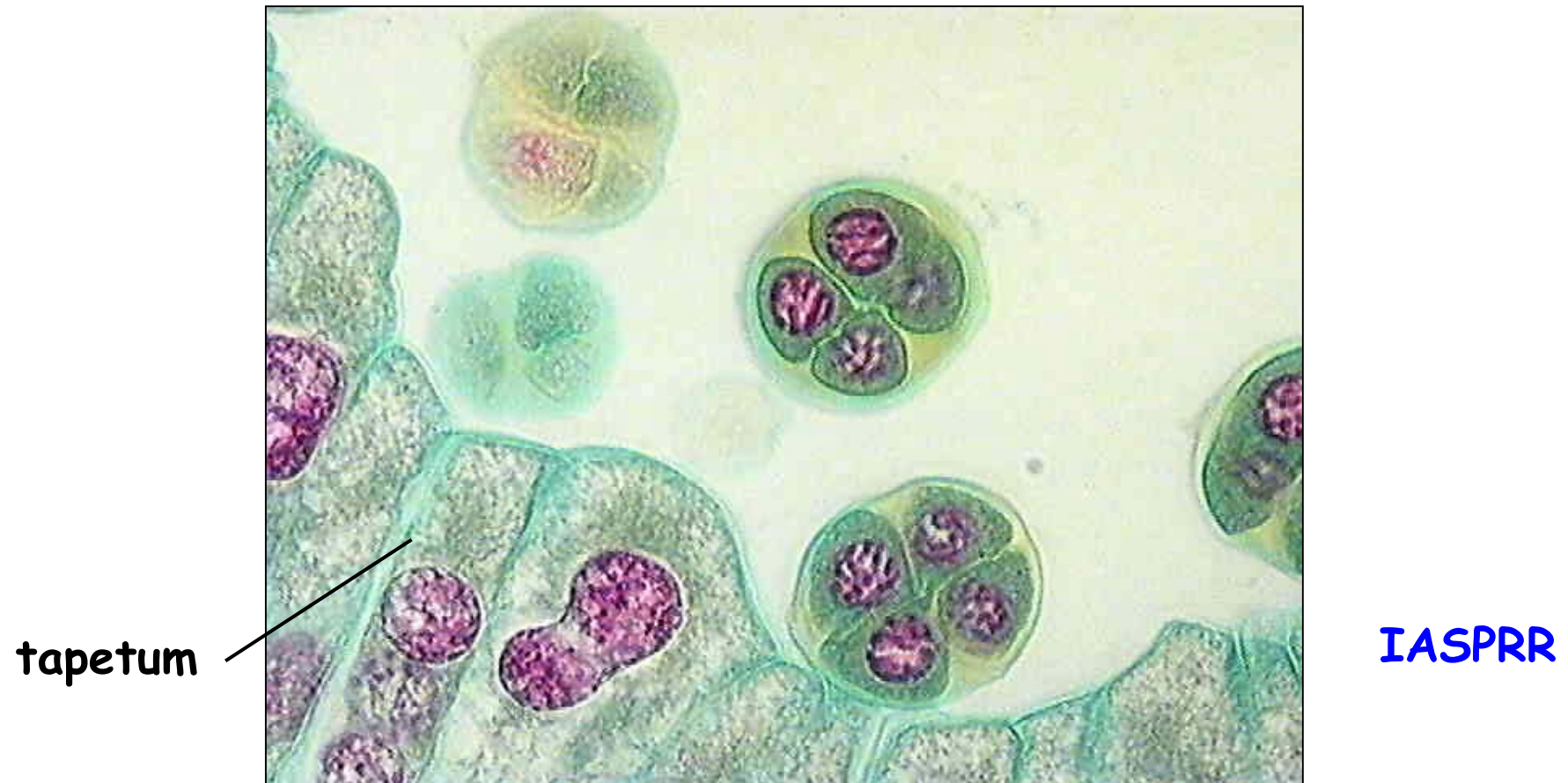


tapetum

IASPRR

Kalóza tvoří obal **tetrád** uvnitř staré stěny mikrosporocytu. Mikrospory se oddělují od stěny mikrosporocytu, zakulacují se a tvoří **primexinu** = prekursor templátu pro pozdější ukládání **exiny**.

Tetrády v "callose special wall"



Kalóza tvoří obal **tetrád** uvnitř staré stěny mikrosporocytu. Mikrospory se oddělují od stěny mikrosporocytu, zakulacují se a tvoří **primexinu** = prekursor templátu pro pozdější ukládání **exiny**.

Tetrády mikrospor



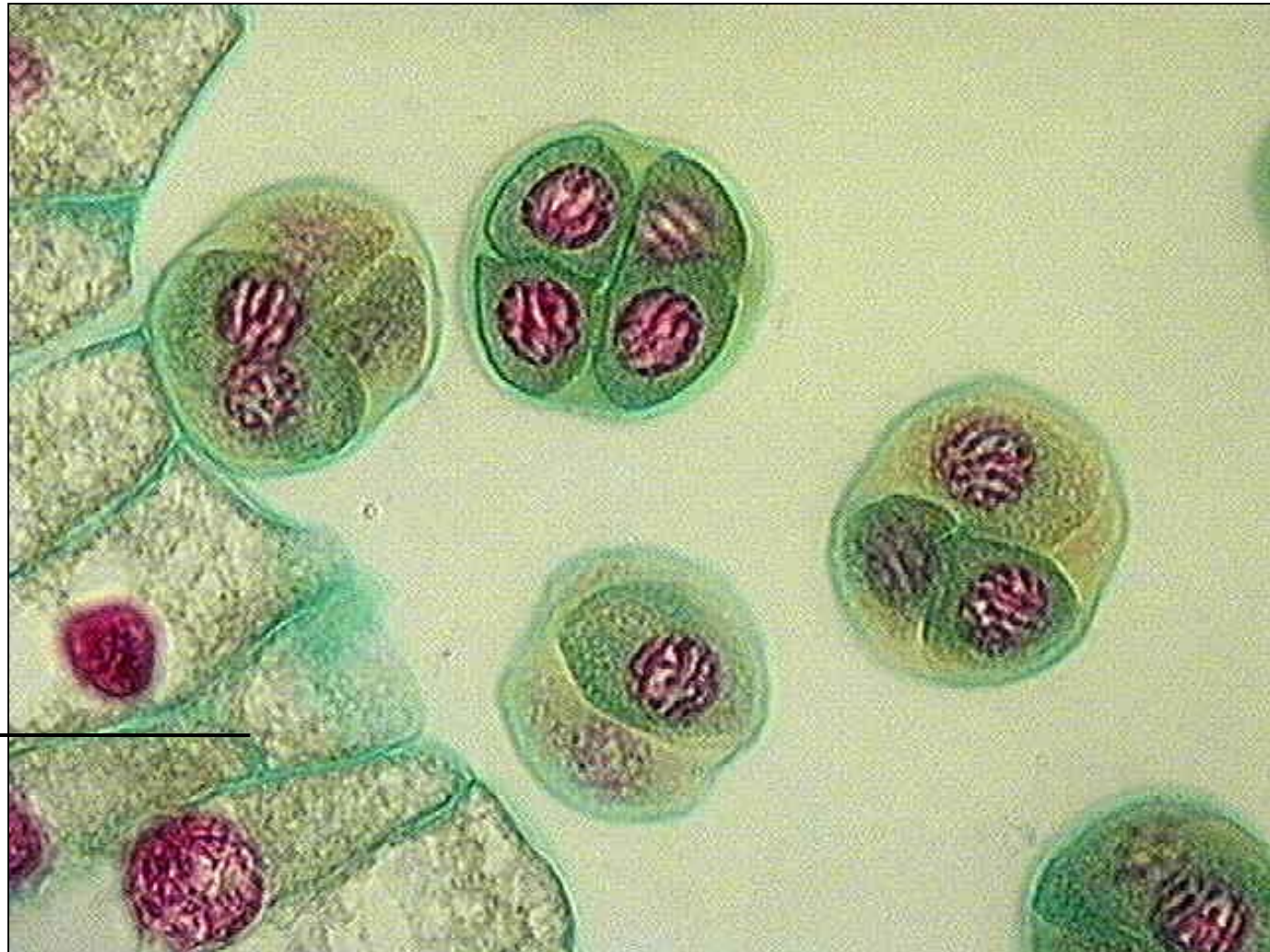
IASPRR

dokončování tvorby **tetrád mikrospor** - jejich prodlužování

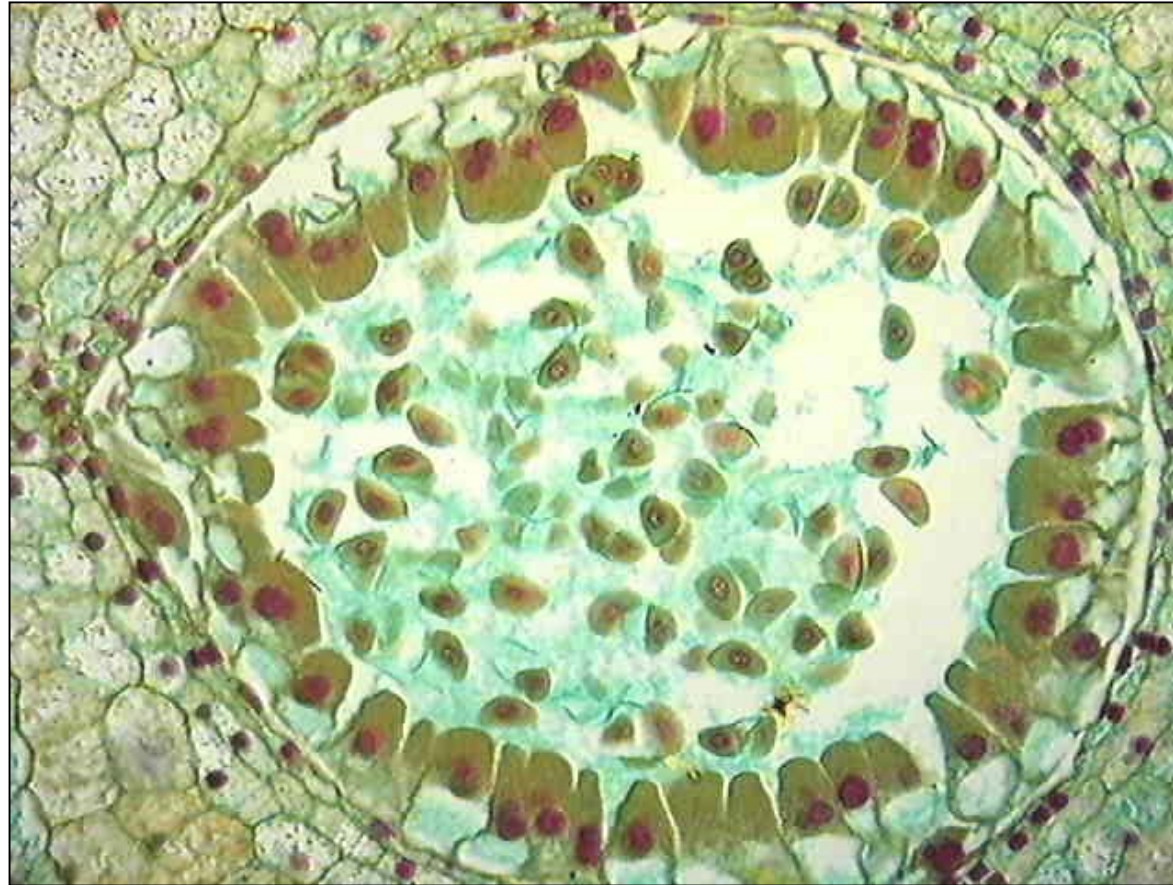
Tetrády mikrospor

IASPRR

tapetum



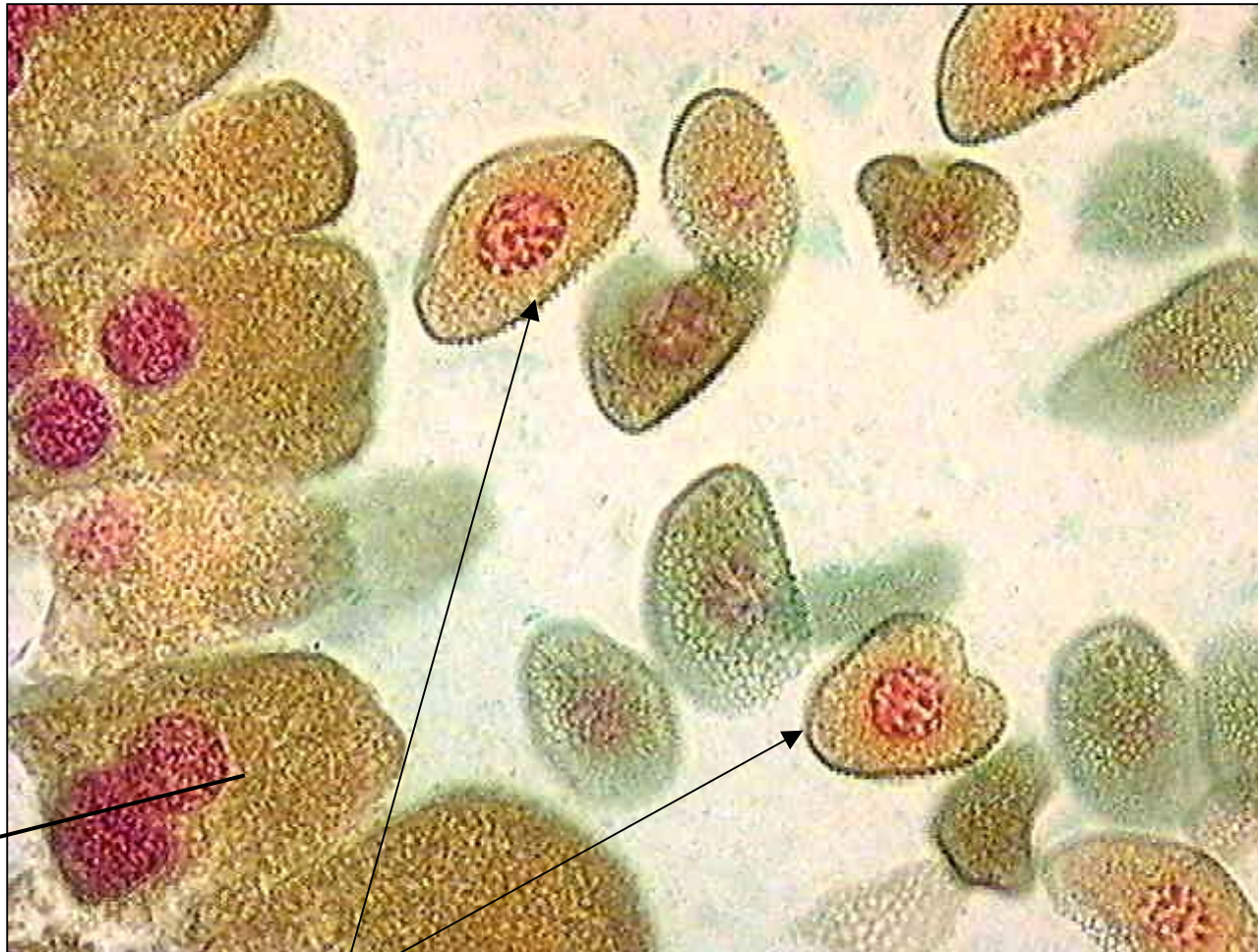
Mikrospory uvolněné z tetrad



IASPRR

mikrospory mají již **exinu** (vnější stěna tvořená sporopoleninem), plní se zásobními materiály a zůstávají po krátké období pružné

Mikrospory uvolněné z tetrad



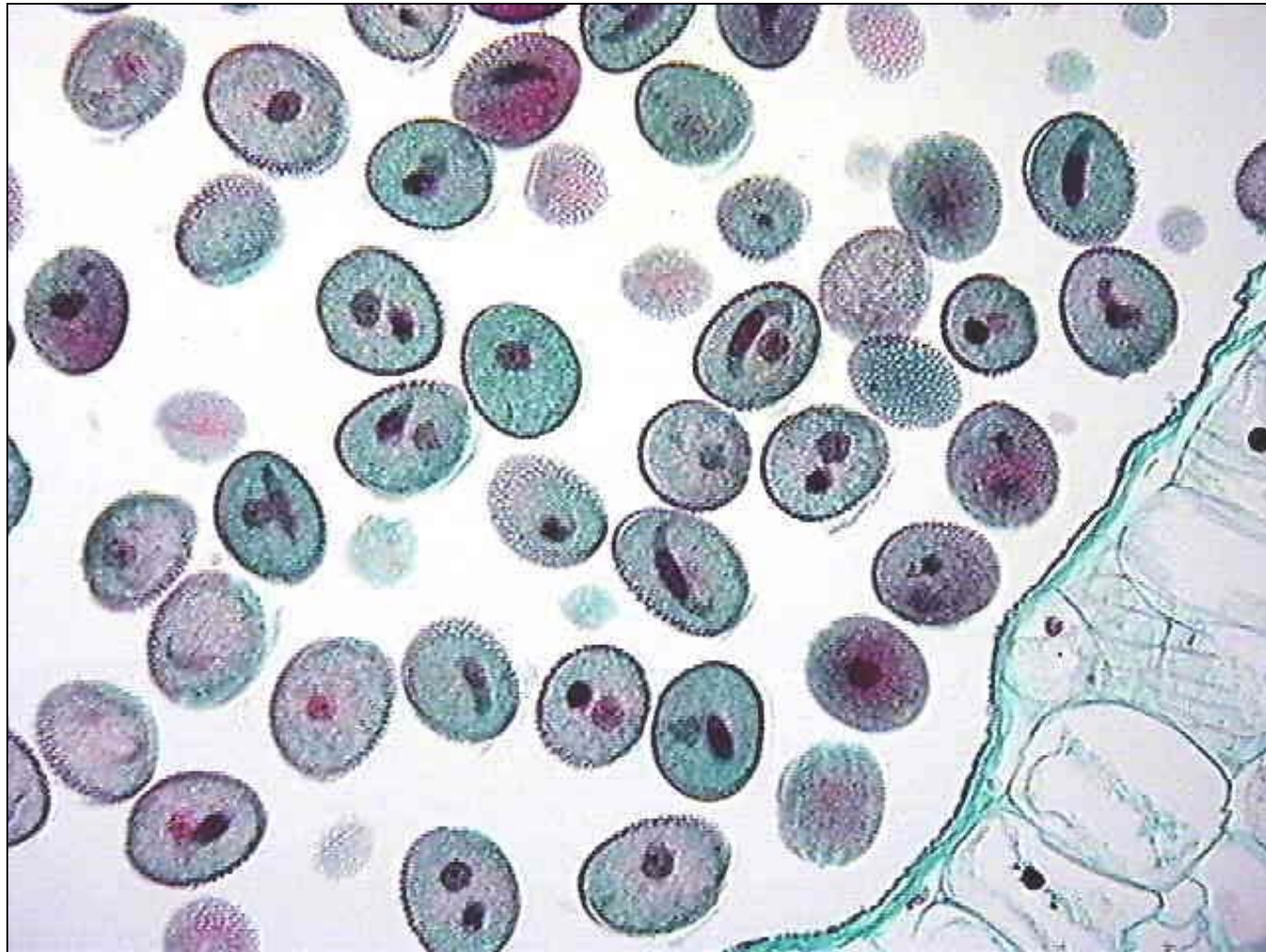
IASPRR

mikrospory mají vytvořenou **exinu** (vnější stěna tvořená sporopoleninem)

Mikrogametogeneze u *Lilium*

IASPRR

Dvoubuněčný pyl



IASPRR

Generativní buňky se tvoří zpočátku v kontaktu s **intinou** (vnitřní vrstva stěny pylu), později se vnoří do cytoplasmy = "a cell within a cell".

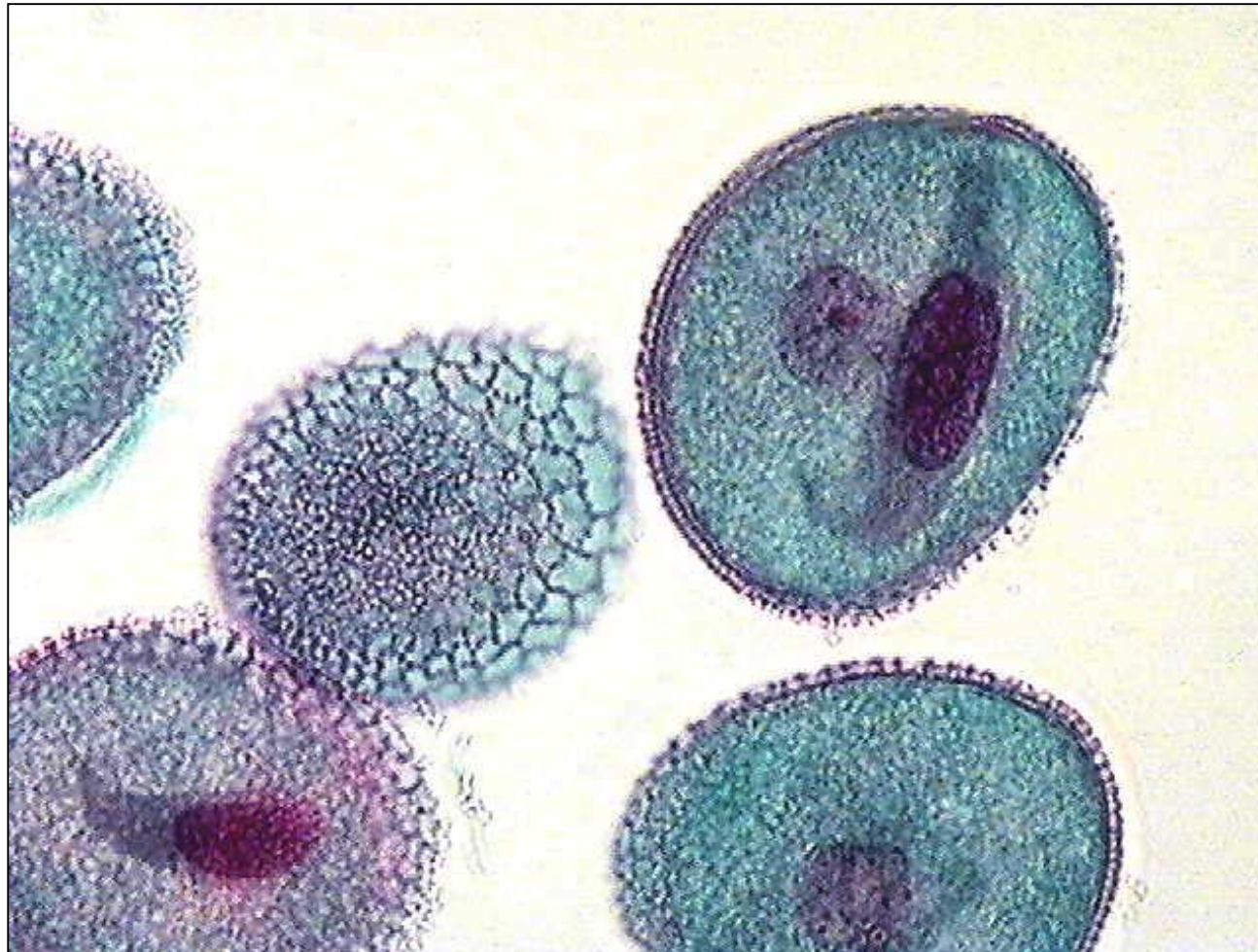
Dvoubuněčný pyl



IASPRR

detail buňky generativní v buňce vegetativní

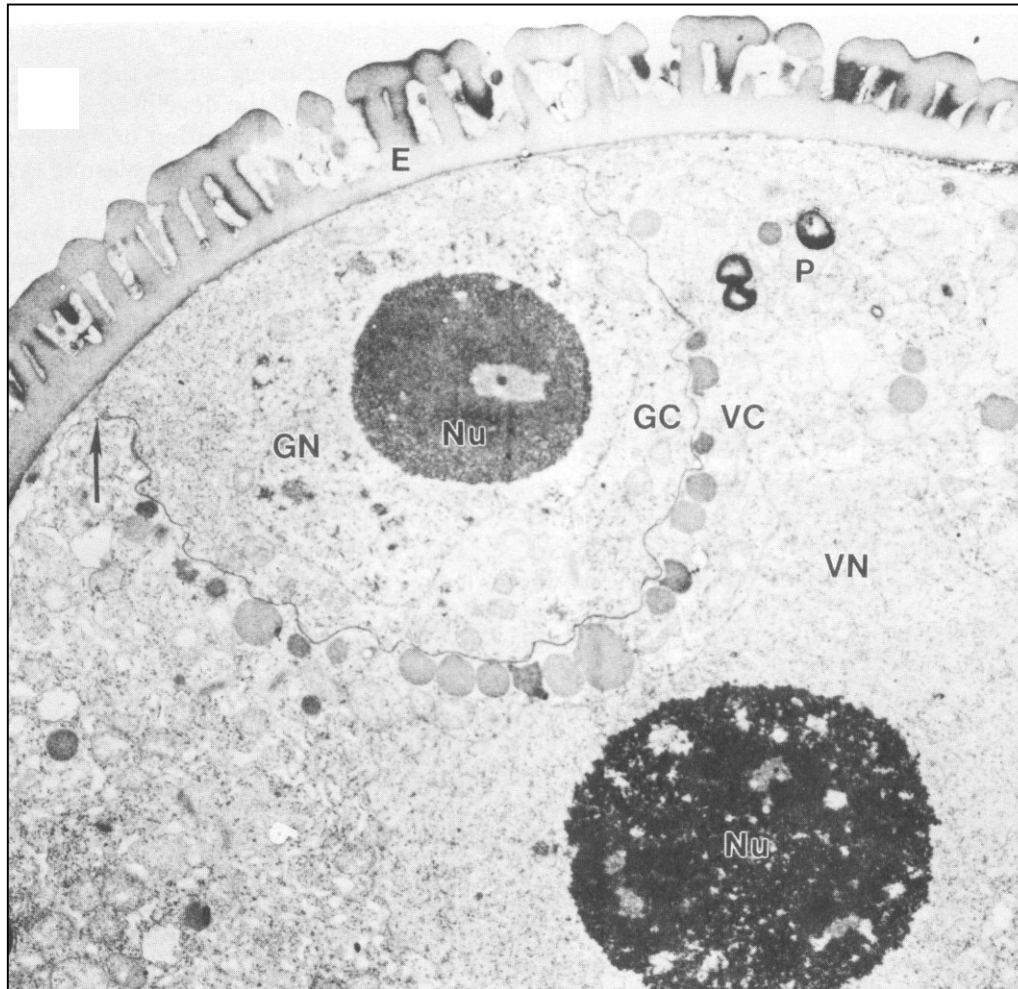
Dvoubuněčný pyl



IASPRR

Tvar generativní buňky často vřetenovitý, buňka je v kontaktu s vegetativním jádrem = "male germ unit" (MGU).
Cytoplazma generativní buňky je hustá - méně vakuol a organel.

TEM pylového zrna pryšce (*Euphorbia*)



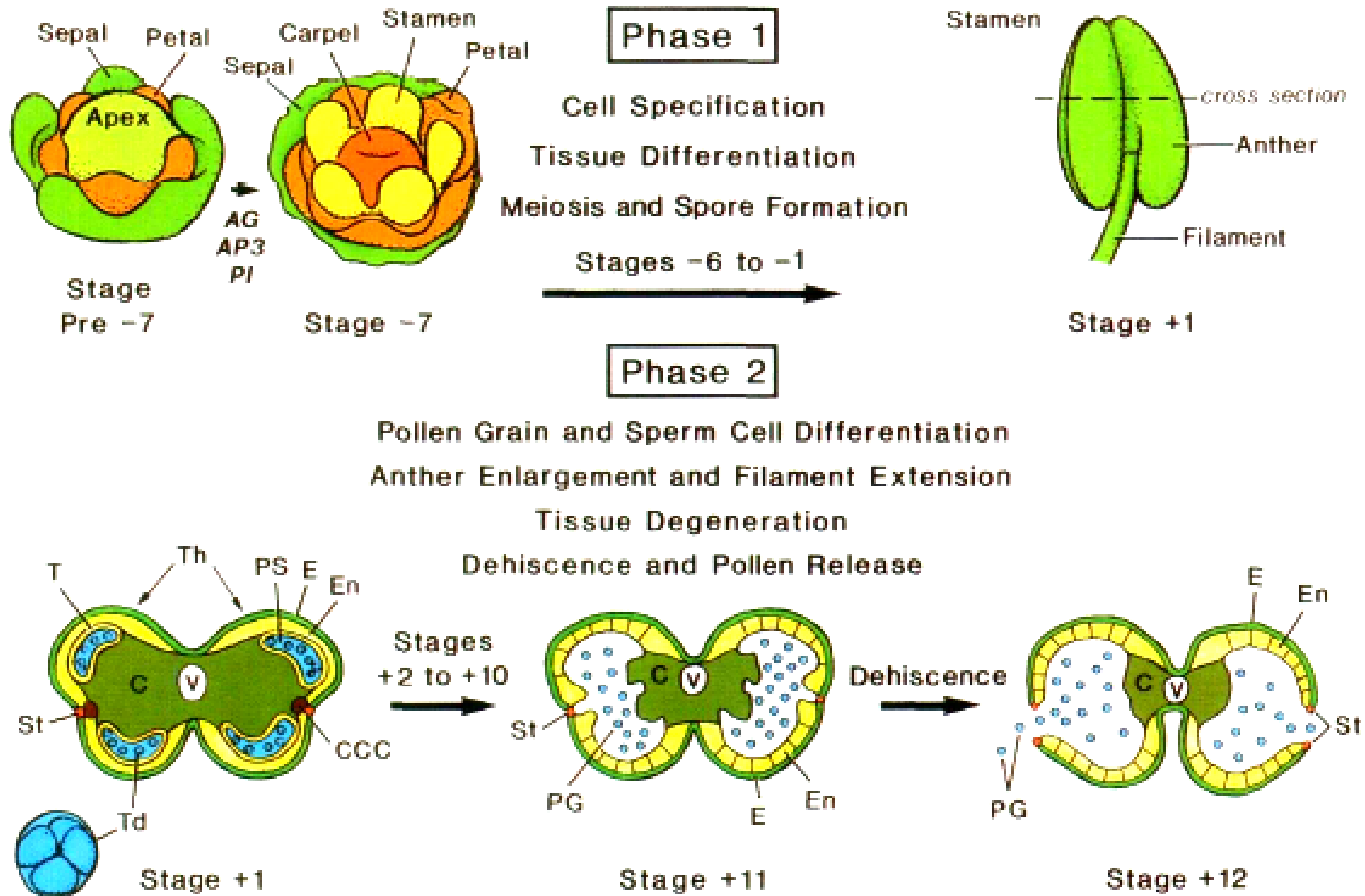
(Cresti *et al.* 1992)

dvoubuněčný pyl:
u 75% studovaných
kvetoucích rostlin

dělení generativní
buňky na 2 buňky
spermatické probíhá
v pylové láčce

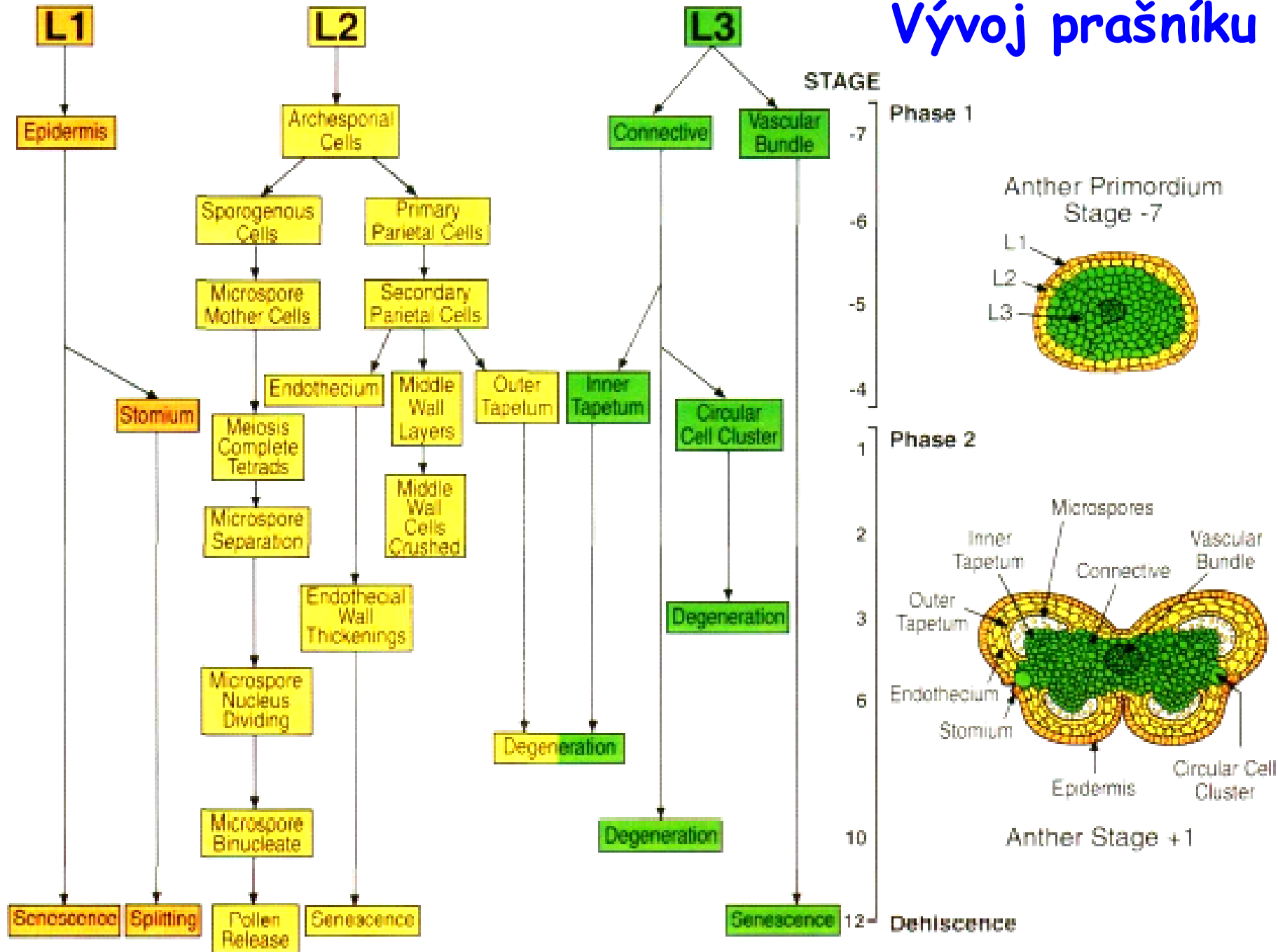
Mikrosporogeneze a mikrogametogeneze u tabáku

Schéma vývoje pylu u tabáku



Goldberg *et al.* 1993

Vývoj prašníku

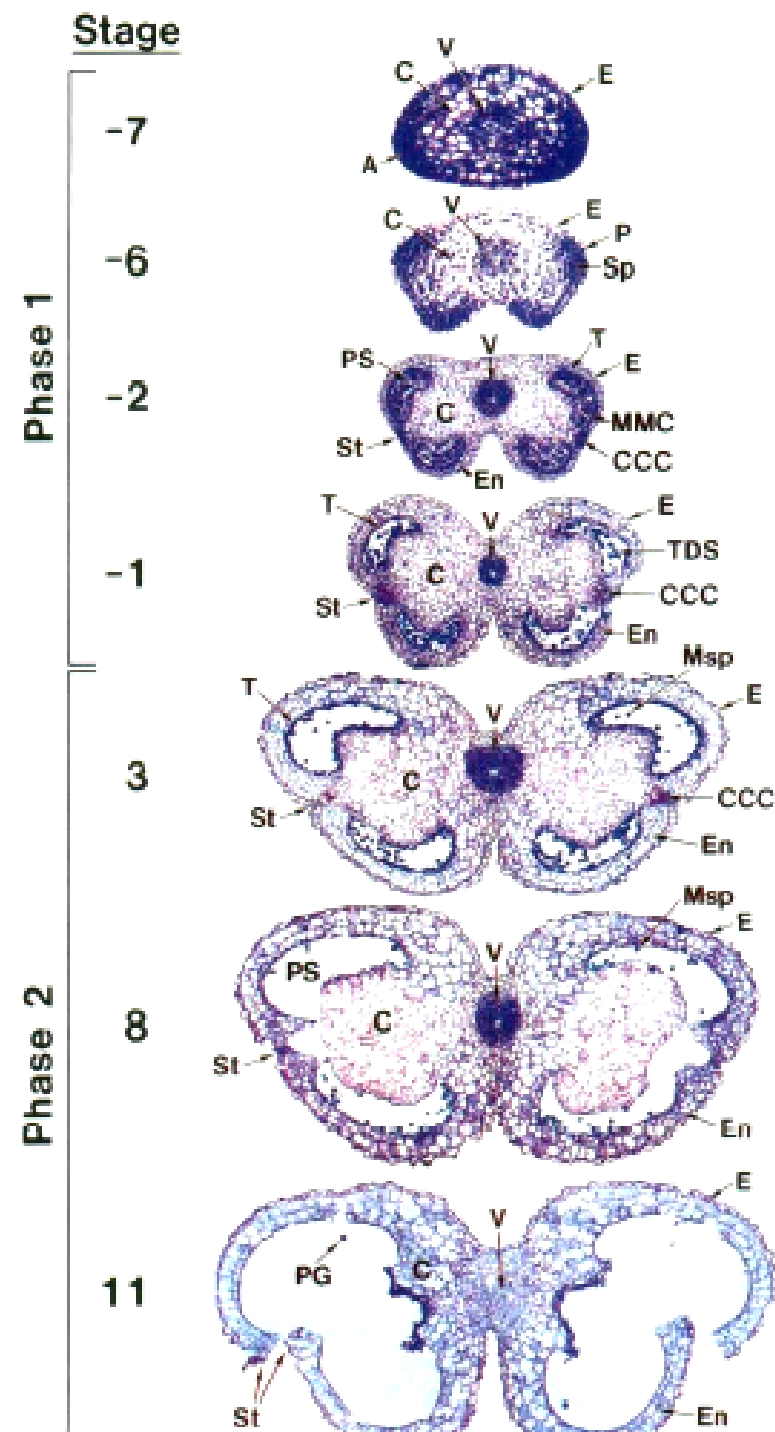


Goldberg et al. 1993

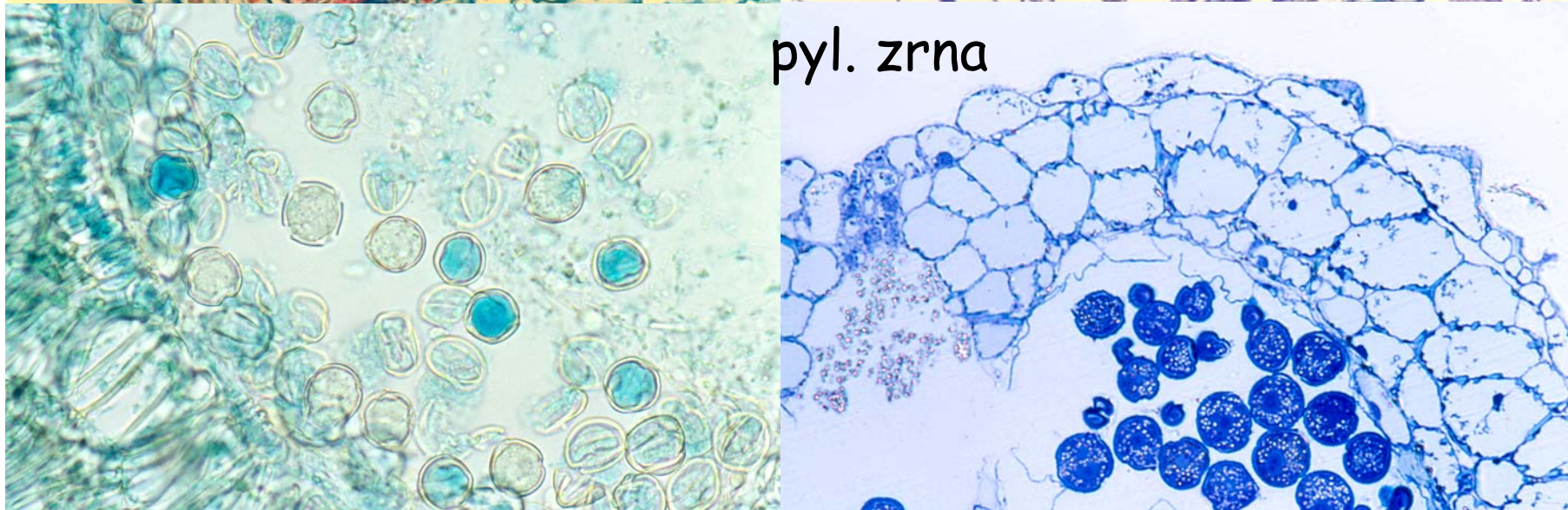
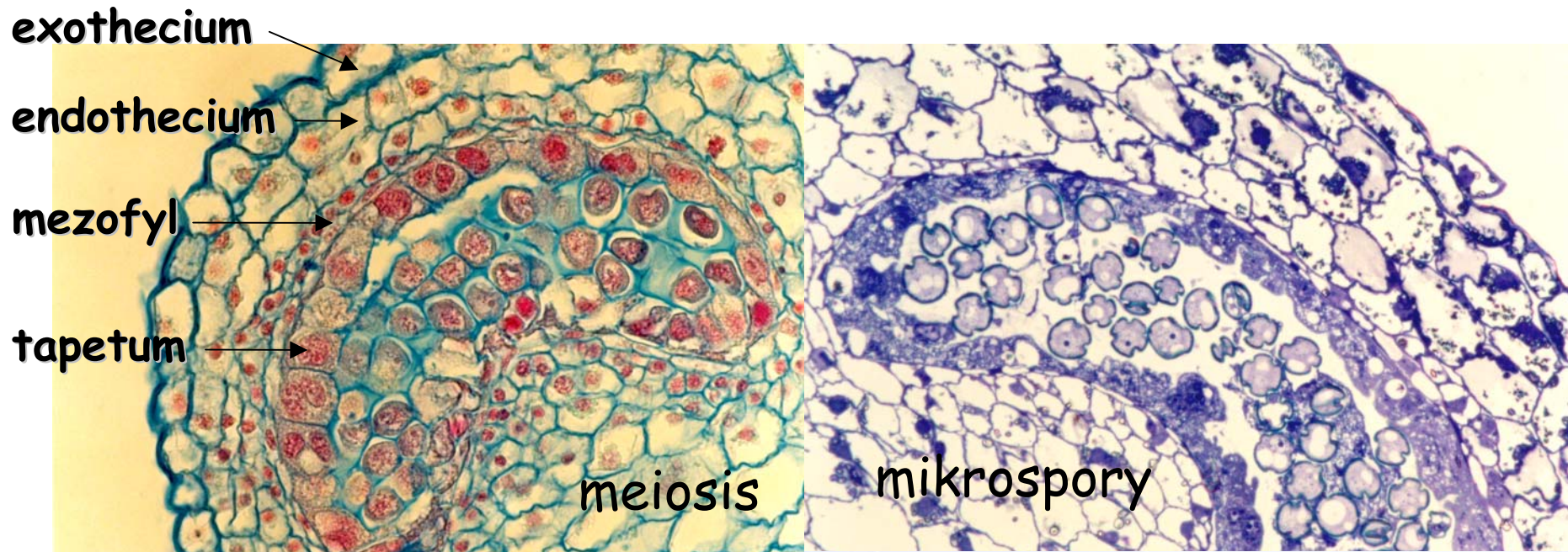
Stadia vývoje prašníku tabáku

Koltunov *et al.* 1990

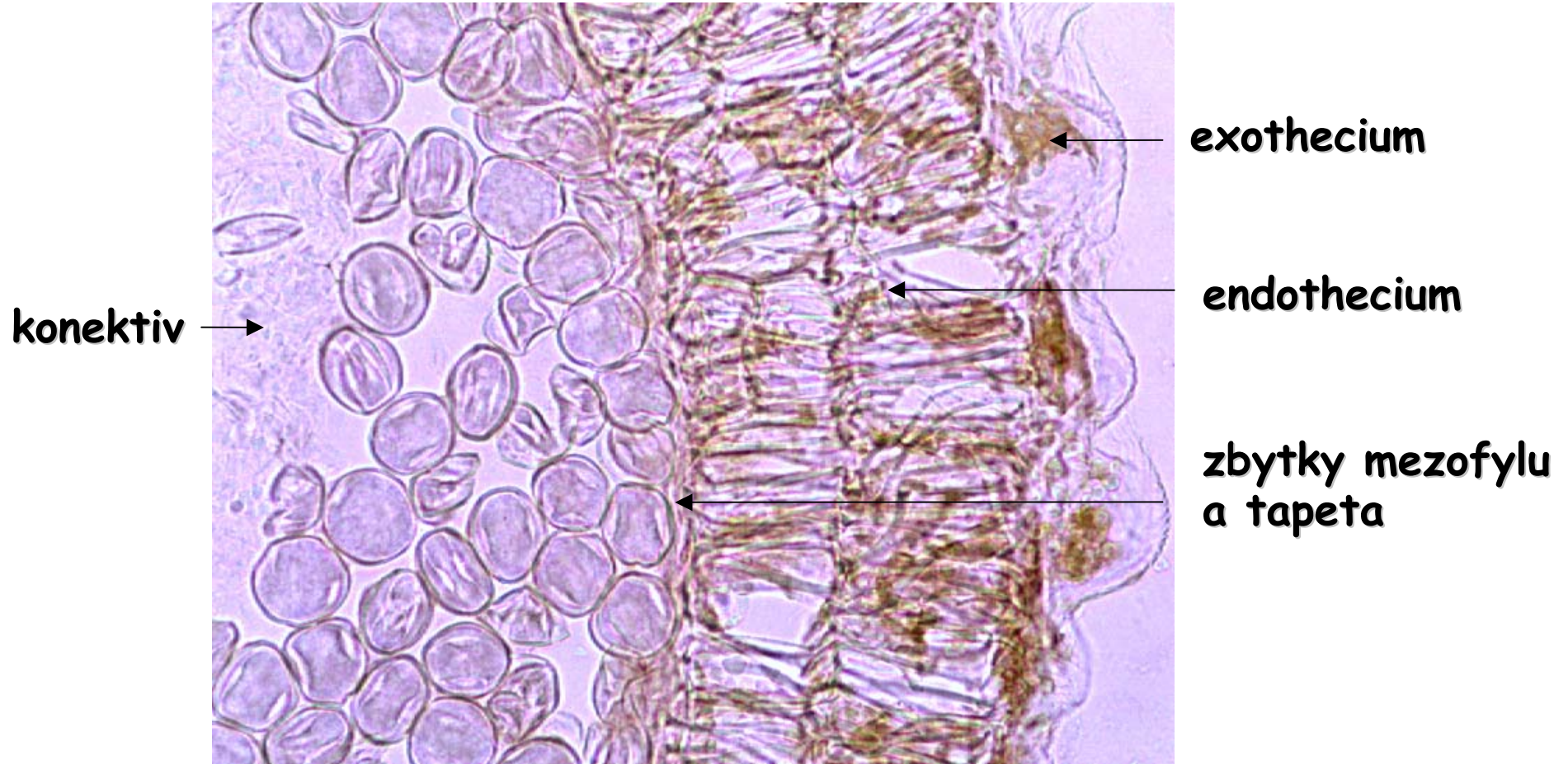
-7	primordia tyčinek	začátek diferenciacce
-6		intenzivní dělení
-2	prašníky pod bliznou	meioza
-1	petaly na úrovni sepalů	tetrády
3	koruna přes kalich	mizí tapetum
8		spojení prašných pouzder
11	koruna zpola otevřená	zralá pyl. zrna
12	otevření květu	otevírání prašníků



Vývoj prašníku tabáku



Nicotiana tabacum L.



kryostatový řez - asi 40 um



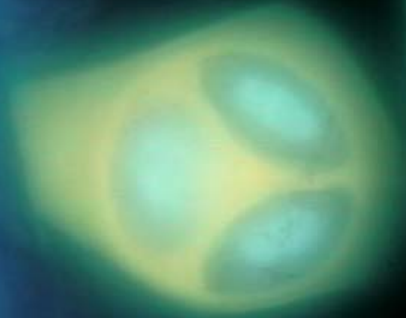
metafáze I.dělení



počátek tvorby tetrád

mikrosporogeneze *Nicotiana tabacum* L.

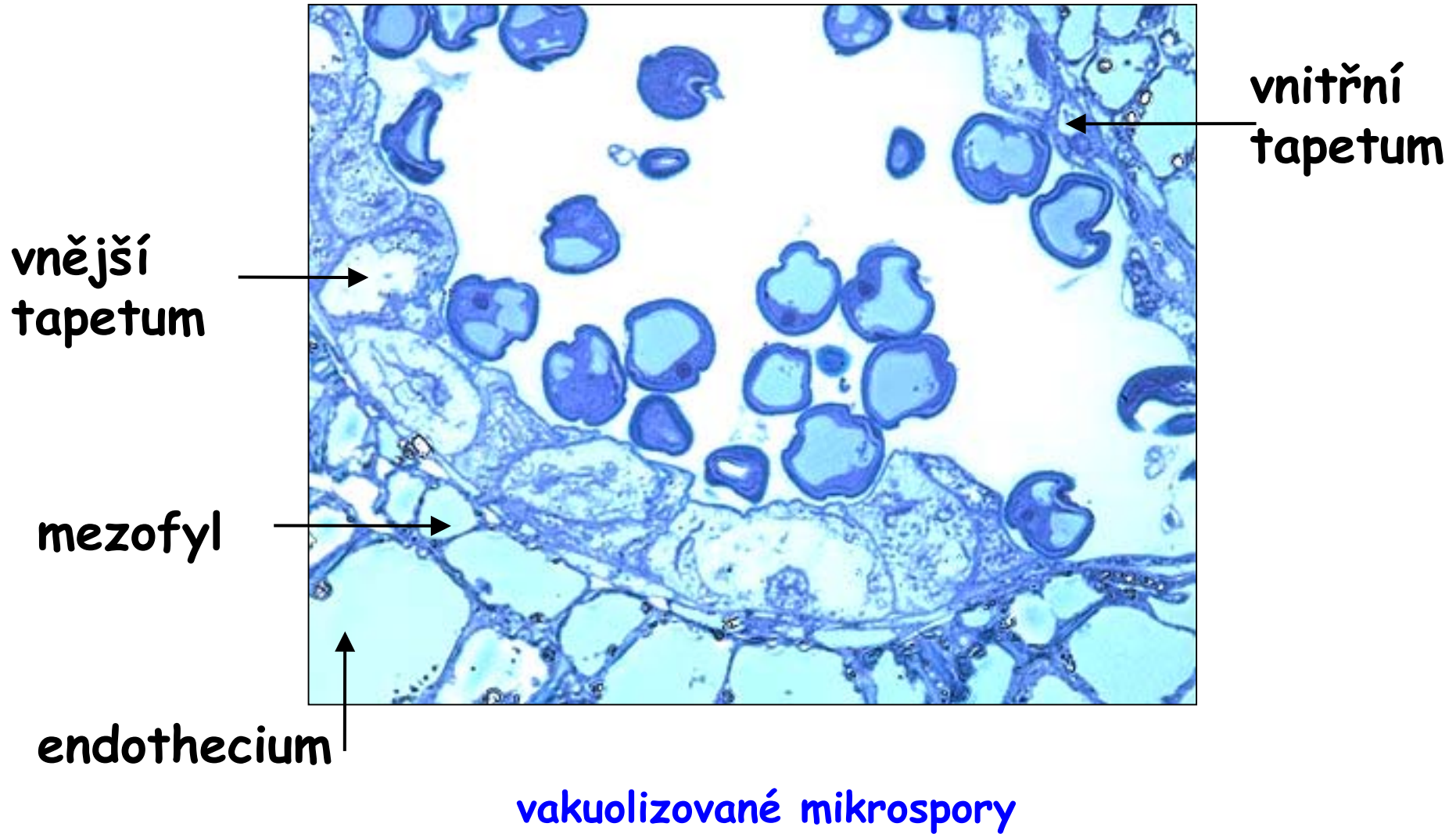
tetrády



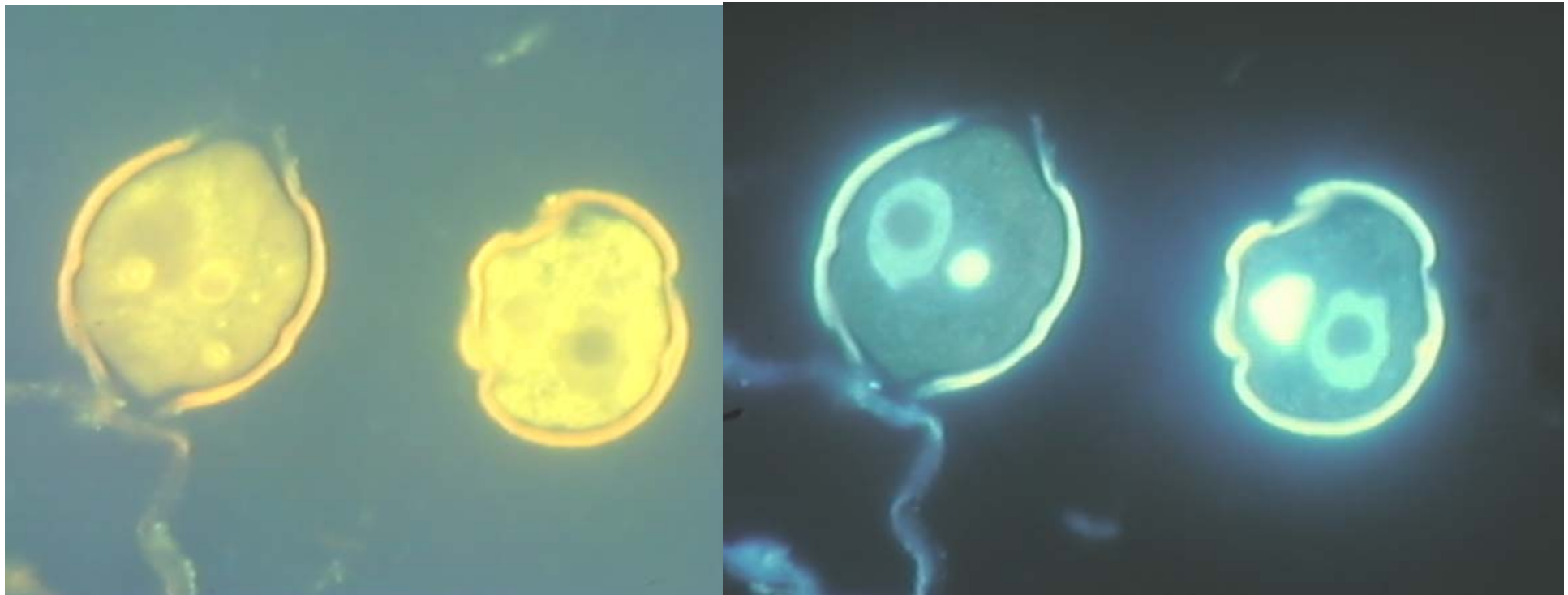
mikrospora se zbytky kalózy



Nicotiana tabacum L. SR1



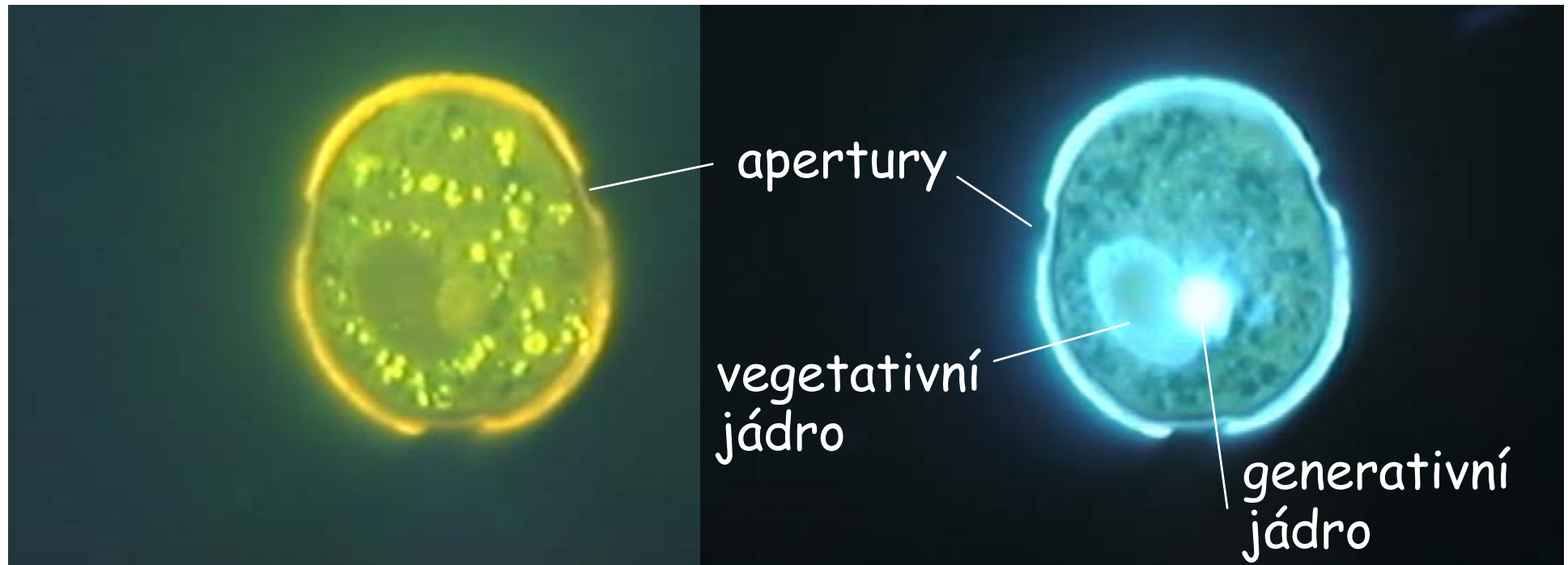
Pylová zrna *Nicotiana tabacum* L.



PEG sections

DAPI

Pylová zrna *Nicotiana tabacum* L.



autofluorescence exiny a plastidů

PEG sections

DAPI, UV

fluorescence DNA,
autofluorescence exiny

Nicotiana tabacum L.

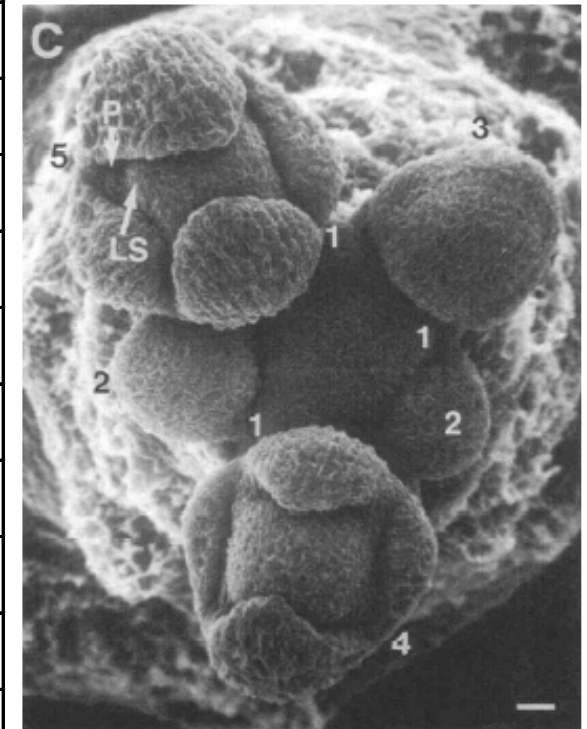


desikovaný pyl
3 (- 4) apertury

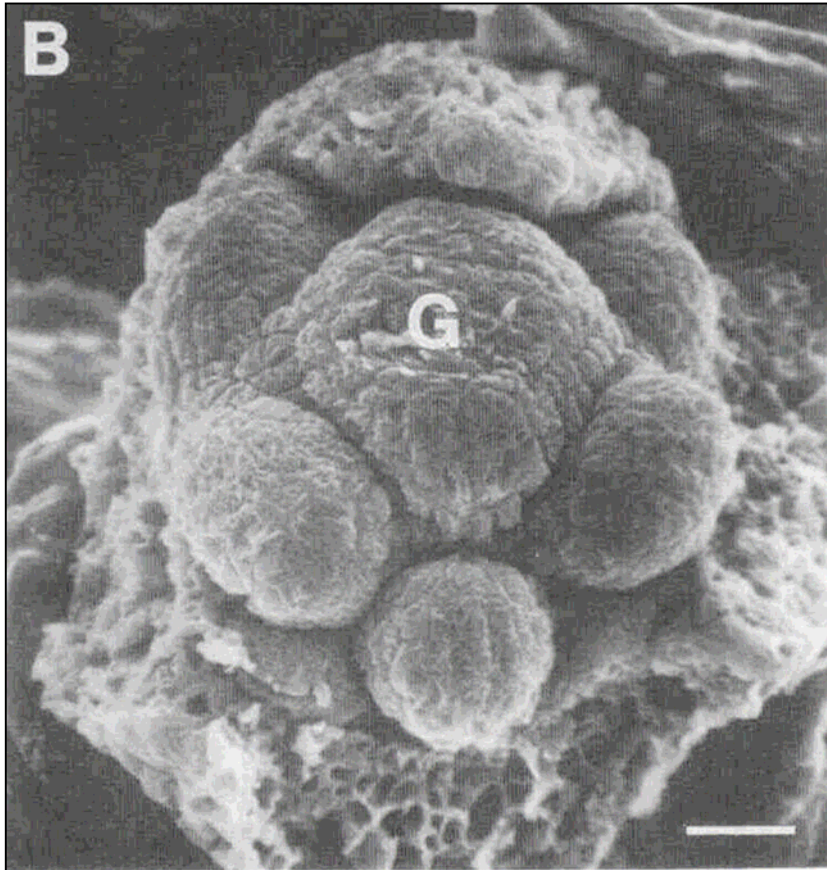
SEM, vysušeno metodou
„critical point dry“, pozlaceno

Přehled stadií vývoje květu u *A. thaliana* (Smyth *et al.* 1990)

Stadium	Charakteristický znak
1	Vznik květního základu
2	Tvorba květního primordia
3	Formace primordií sepalů
4	Sepaly překrývají meristem
5	Vznik primordií petalů a tyčinek
6	Sepaly uzavírají pupen
7	Zakládání nitky u primordií dlouhých tyčinek
8	Diferenciace prašných pouzder
9	Primordia petalů na bázi užší, rychlý růst nahoře
10	Petaly na úrovni krátkých tyčinek
11	Diferenciace bliznových papil
12	Petaly na úrovni dlouhých tyčinek

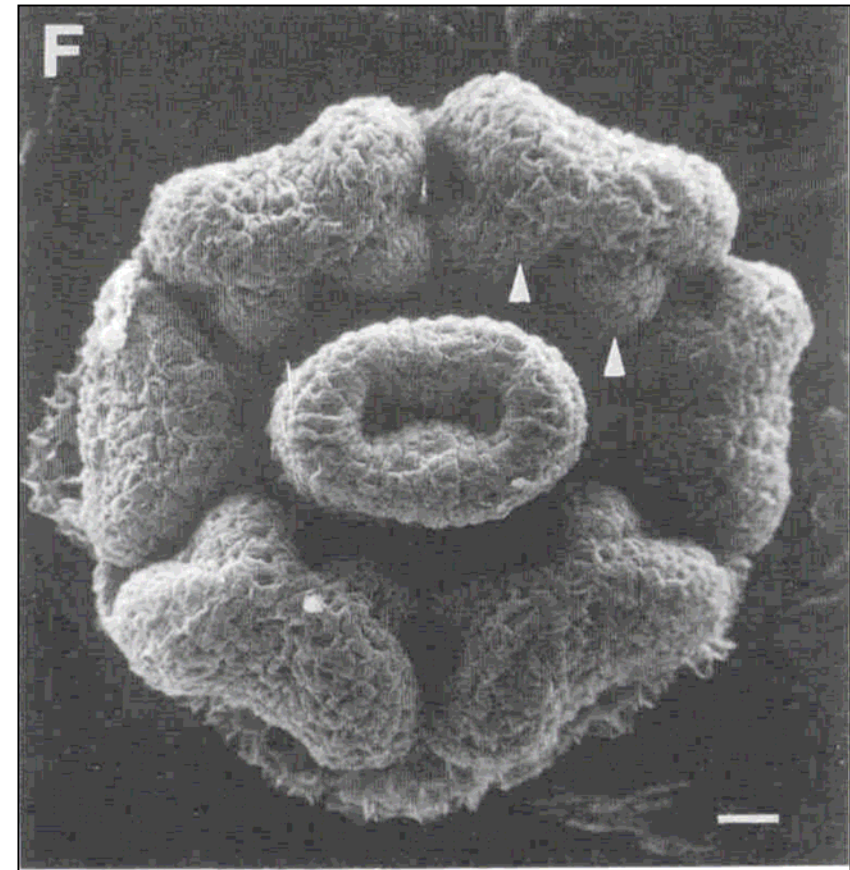


Vývoj květu u *A. thaliana* (Smyth *et al.* 1990)



5. Vznik primordií petalů a tyčinek

The Plant Cell, 2, 755-767, 1990



8. Diferenciace prašných pouzder u dlouhých tyčinek

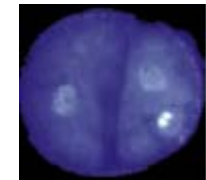
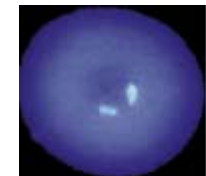
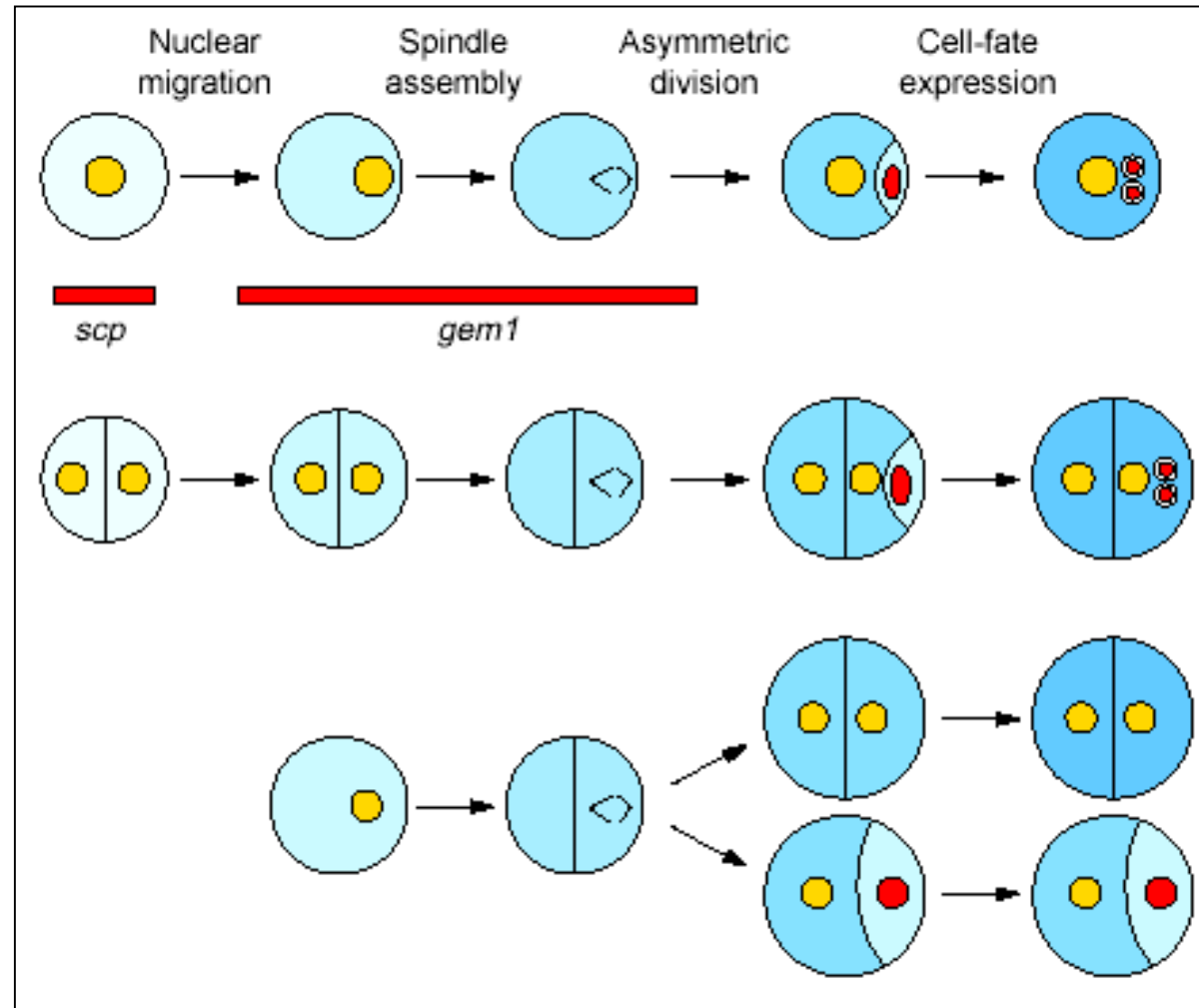
Polarita mikrospor a vývoj pylu *Arabidopsis*

kontrola
(WT)

mutanti:

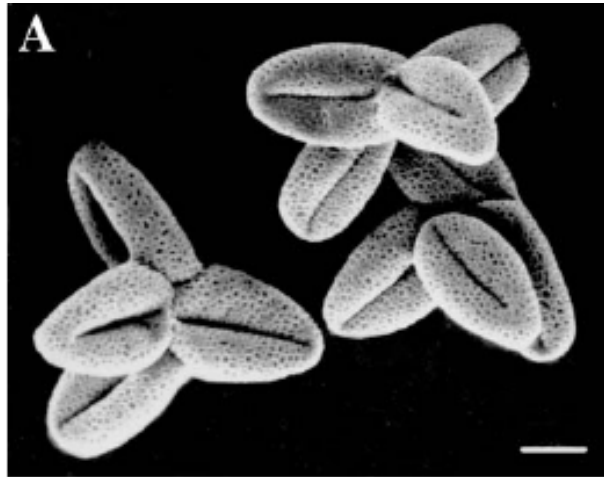
sidecar pollen
scp

gemini
gem1

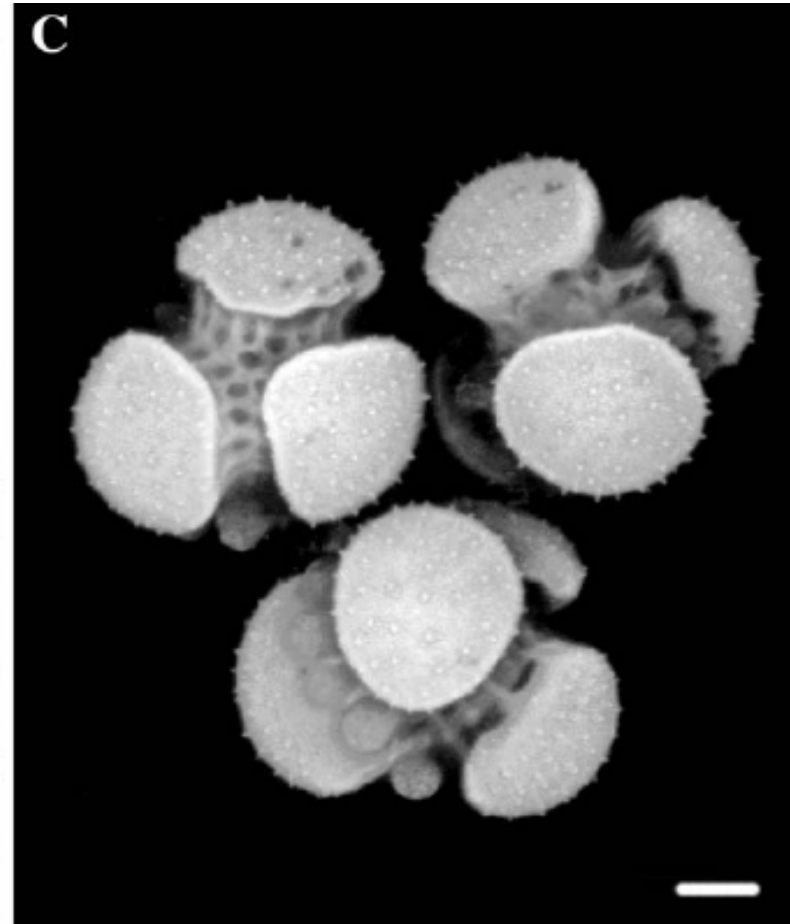
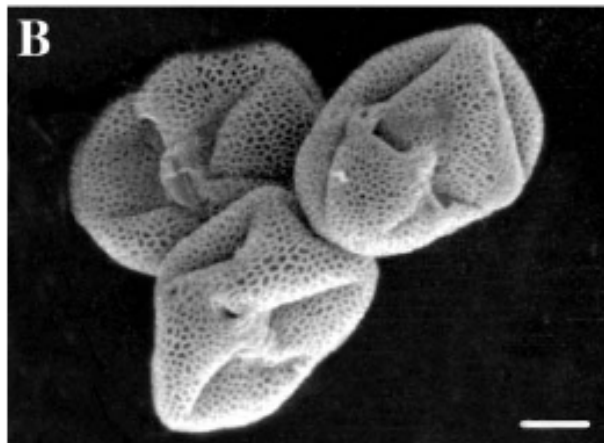


Tetrády pylu

Arabidopsis
mutant
quartet



Arabidopsis
mutant
tes/stud
abnormální
tvar
apertur



přirozené tetrády pylu
Drosera binata

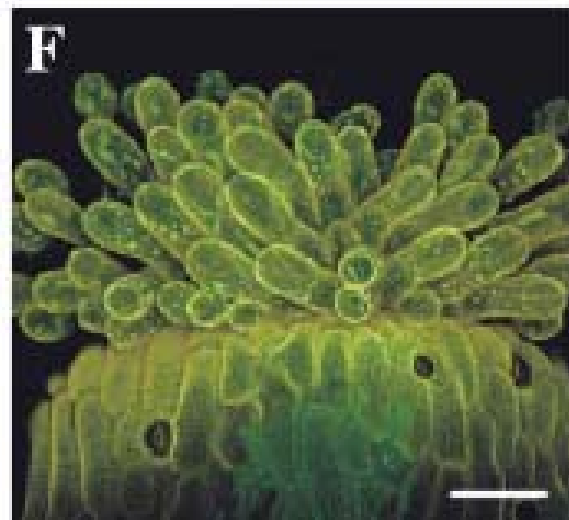
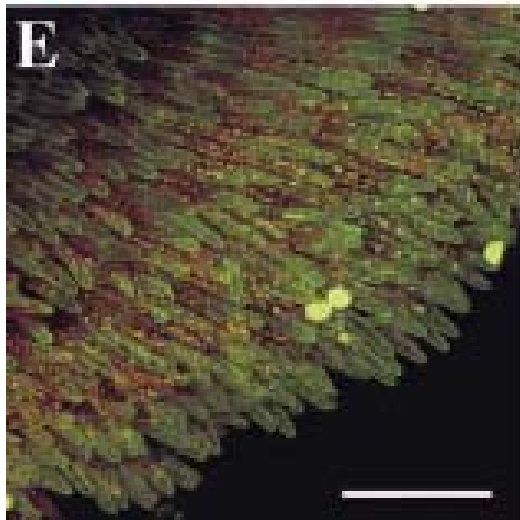
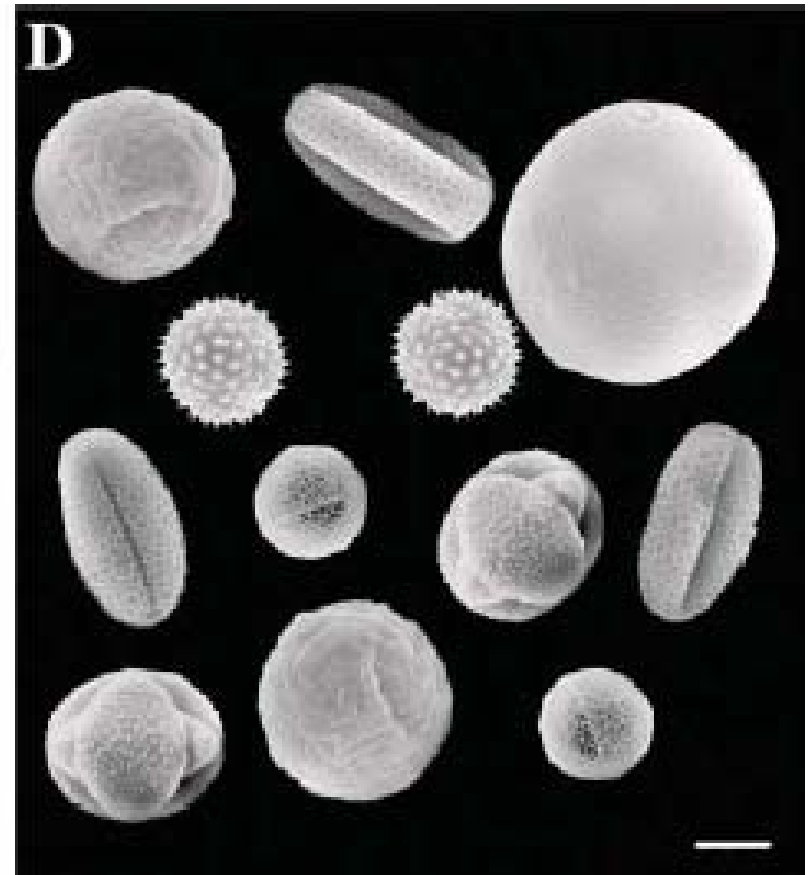
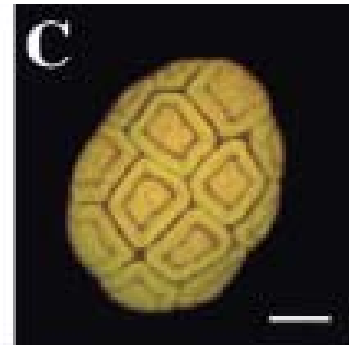
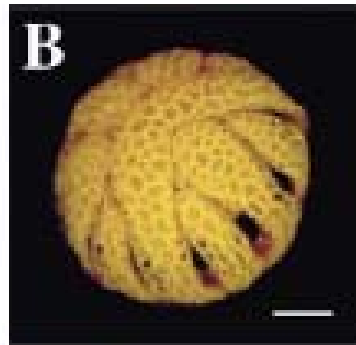
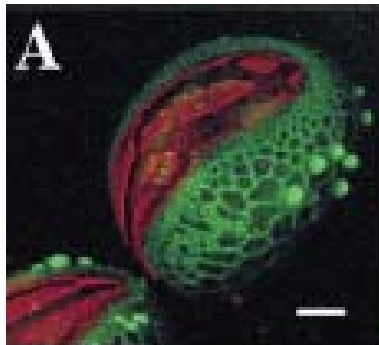
Edlund *et al.* 2004

Variabilita morfologie pylu

Lilium

Passiflora

Accacia - polyady



Torenia

Arabidopsis

Edlund *et al.* 2004

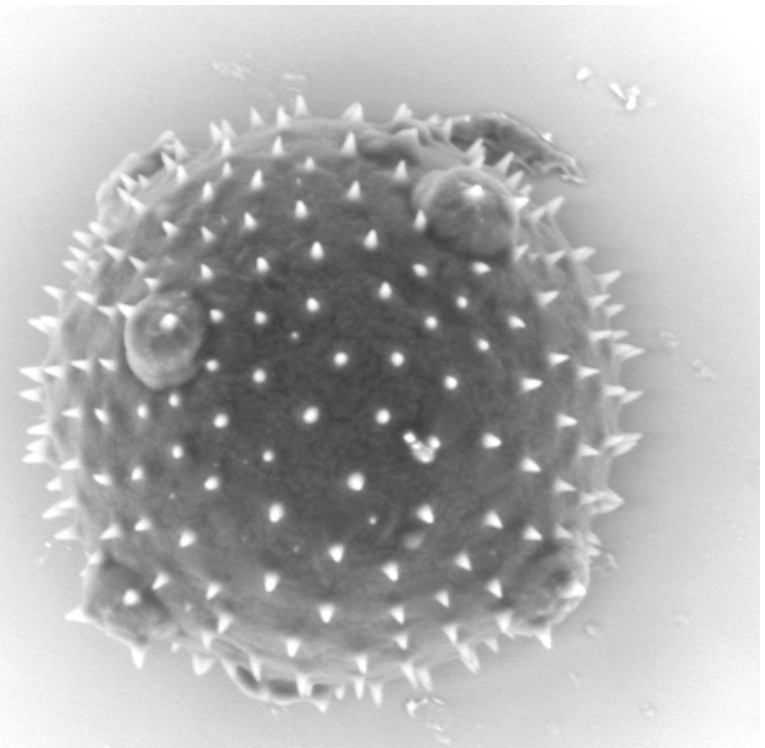
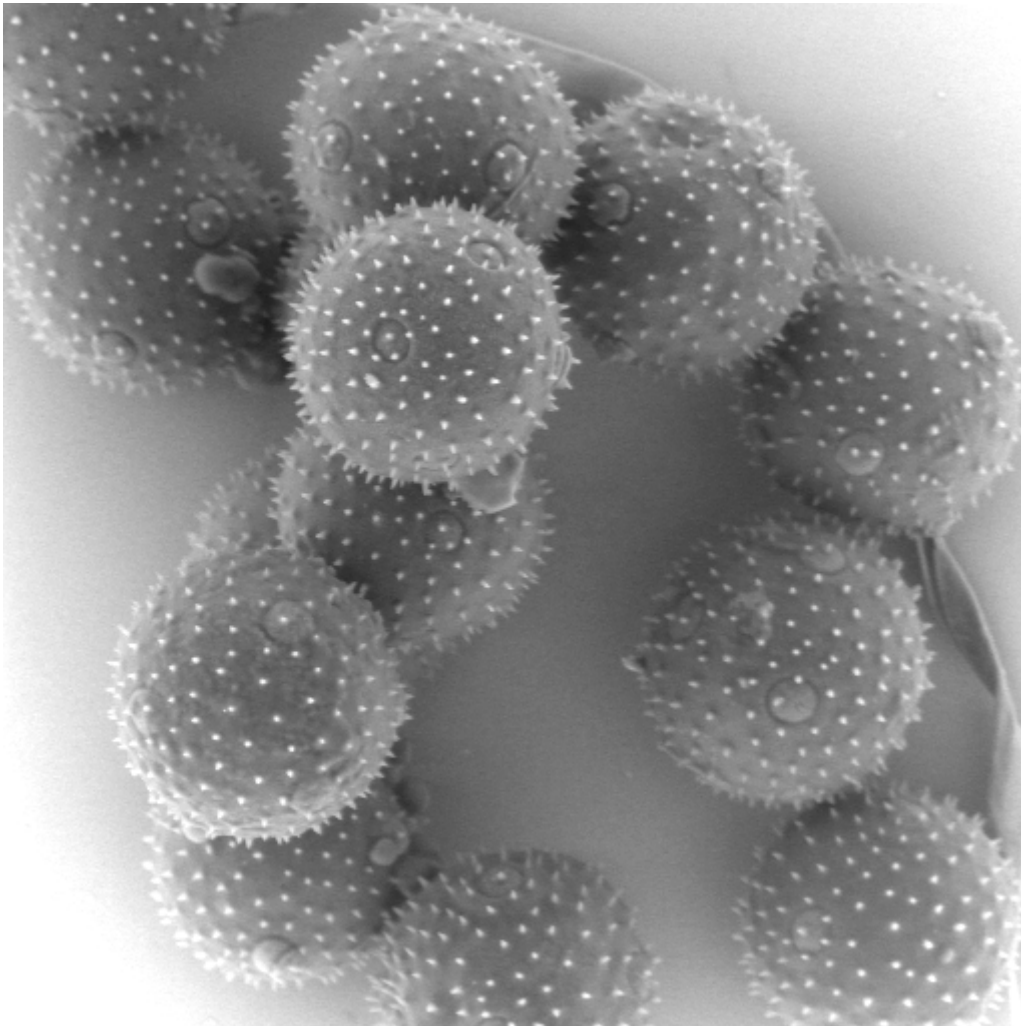
Variabilita velikosti pylových zrn

Taxon	velikost / μm /
<i>Myosotis</i>	2 - 5
anemofilní druhy	asi 60
<i>Malva</i>	150 až 250
<i>Cucurbita</i>	až 250
<i>Zostera marina</i>	2000

variabilita i v rámci jedné rostliny, častá i polymorfie

Stanley *et* Linskens 1974, Unar 1992

Cucurbita pepo L.
AQUASEM



mnoho apertur =
polysyfonické klíčení pylu

Diferenciální barvení pylu

Alexander 1969

- 95% ethanol 10 ml
- malachitová zeleň 10 mg (1 ml 1% rozt. v 95% eth.)
- destilovaná voda 50 ml
- glycerol 25 ml
- fenol 5g
- chloralhydrát 5g
- kyselý fuchsin 50 mg (5 ml 1% vodný roztok)
- oranž G 5 mg (0,5 ml 1% vodný roztok)
- ledová kys. octová 1 - 4 ml

Hodnocení viability pylu

- barvení - často nadhodnocuje životaschopnost pylu
- fluorescenční mikroskopie - aktivita enzymů: esterázy (substrát FDA), peroxidázy (substrát TTC)
- klíčivost pylu *in vitro*
- médium pro klíčení pylu *in vitro* :

Brewbaker - Kwack (1964)	100 ml
H ₃ BO ₃	10mg
Ca(NO ₃) ₂ · 4 H ₂ O	30mg
MgSO ₄ · 7 H ₂ O	20mg
KNO ₃	10mg
+ 10% sacharóza	

nebo 10% sacharóza a 1% agar (nanesení média na podložní sklo)