

Cvičení z fyziologie rostlin

Klíčení

Teoretický úvod

Klíčení začíná růstem kořínku, který po určitou dobu brzdí růst nadzemní části (plumuly). U dvouděložných rostlin rozlišujeme epigeické (asimilační) a hypogeické (zásobní) klíčení.

U jednoděložných rostlin je vytvořen zakrnělý epiblast a za vlastní dělohu je považován tzv. štítek (scutellum). Štítek je důležitý pro čerpání výživných látek z endospermu a pro metabolismus fytohormonů. U trav (jednoděložných), vyrůstá nejprve radikula a teprve později plumula krytá kápoovitým primárním listem - koleoptilí. Dle místa tvorby auxinu, jeho transportu a aktivního působení se rostliny dělí na tzv. klíčící typ ovesný a klíčící typ lupiny s přechodnými formami.

Proces klíčení startuje příjmem vody semenem – hydratací pletiv semene. Dochází ke zvýšení intenzity dýchání. Po dobu asi 24 hod. převažuje anaerobní dýchání. Probouzí se enzymatická činnost a mobilizují se zásobní látky semene, které jsou následně transportovány do zárodku.

Jednou ze zásobních látek endospermu semen je škrob. Škrob slouží jako rezerva energie a uhlíkatých látek pro heterotrofní fázi růstu klíčení rostliny. Při klíčení je škrob enzymaticky štěpen činností amylas na jednodušší, transportovatelné a metabolizovatelné formy cukrů. Tyto amylasy jsou produkovány aleuronovou vrstvou a scutellem embrya.

Jako náhradní substrát amylas můžeme použít škrobagarové plotny. Aktivita amylas je následně prokázána obarvením plotny Lugolovým roztokem.

Zásobní látky semene:

- **Škrob:** na jeho štěpení se podílejí zejména α -amylasy, β -amylasy a maltasy. Syntéza α -amylas souvisí s biosyntézou kyseliny giberelové, která probíhá ve štítku embrya a později v celém embryu. Embryo uvolňuje gibereliny do aleuronové vrstvy endospermu, kde se aktivují geny pro syntézu hydrolytických enzymů. Ty jsou potom transportovány z aleuronové vrstvy do endospermu
- **Tuky:** jsou rozkládány lipázami na mastné kyseliny a glycerol. Mastné kyseliny jsou dále štěpeny na acetyl Co-A, který vstupuje do citrátového cyklu. Glycerol je využit v metabolismu sacharidů.
- **Bílkoviny:** jsou štěpeny proteasami na jednotlivé aminokyseliny, které jsou následně využity k syntéze nových katalytických, strukturních a regulačních proteinů. Jako substrát pro syntézu purinových a pyrimidinových heterocyklů se aminokyseliny podílí na tvorbě dusíkatých bazí a některých fytohormonů.

Praktická část: Amylasa jako exoenzym klíčících rostlin

Rostlinný materiál: klíčící rostliny

Pomůcky: Škrob-agarové plotny, Petriho misky, preparační potřeby

Chemikálie: Lugolův roztok, škrob, agar

Pracovní postup:

1. Příprava škrob-agarové plotny:
 - připravit 10 ml 1% škrobového mazu (škrob suspendovat ve studené vodě a podpořit rozpouštěním zahřátím v mikrovlnné troubě).
 - škrobový maz smíchat s 90 ml 2% roztoku agaru, v mikrovlnné troubě přivést k varu a vylít na Petriho misku. Při okamžitém použití plotny není nutné ji sterilizovat.
2. Skalpelem podélně rozříznout semena a umístit je řeznou plochou na škrobagarovou plotnu.
3. Plotnu po 20 minutách převrstvit zředěným Lugolovým roztokem 1:4.
4. Vizuallyně zhodnotit, zakreslit a vysvětlit pozorování.