Regulacija spiralne filotaksije u cvjetnica

Banić, Elizabeta

Undergraduate thesis / Završni rad

2014

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:559038

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**



Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb







SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

PRIRODOSLOVNO – MATEMATIČKI FAKULTET

BIOLOŠKI ODSJEK

REGULACIJA SPIRALNE FILOTAKSIJE U CVJETNICA

REGULATION OF SPIRAL PHYLLOTAXIS IN FLOWERING PLANTS

ZAVRŠNI SEMINAR

Elizabeta Banić

Preddiplomski studij molekularne biologije

Undergraduate study of molecular biology

Mentor: izv. prof. dr. sc. Dunja Leljak – Levanić

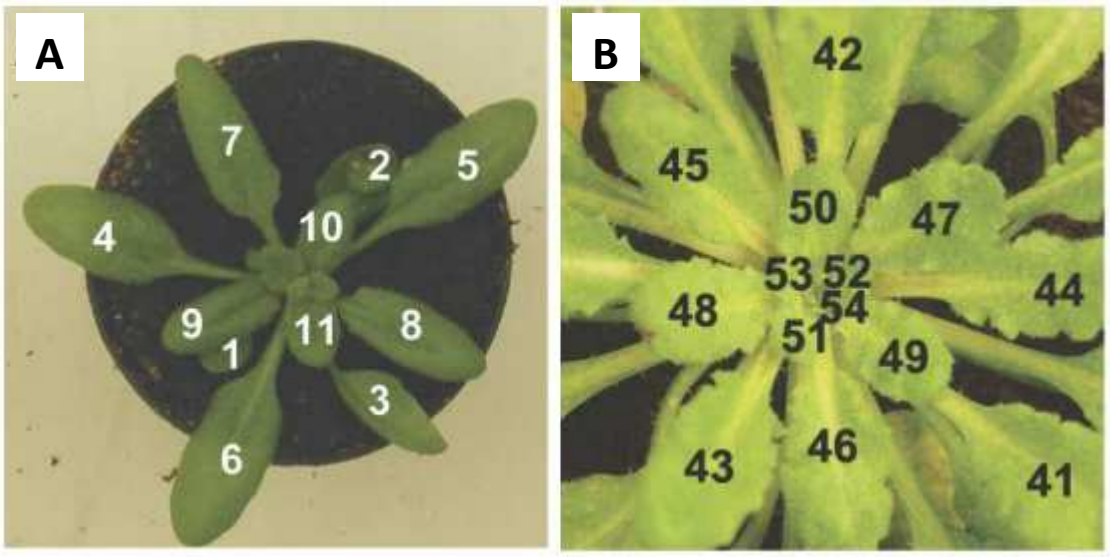
Zagreb, 2014.

Sadržaj

1. Uvod……...……. 1
   1.1. Matematička osnova spiralne filotaksije…….……. 1
   1.2. Teorija raspoloživog prostora i teorija inhibicije – povijesni pregled…… 2
2. Uloga auksina u uspostavi spiralne filotaksije…… 3
   2.1. Biosinteza auksina…….. 3
   2.2. Polarni transport auksina…….…… 5
   2.3. Uloga eksportera auksina PIN1……...…… 6
   2.4. Uloga importera auksina AUX1 i LAX……...……... 8
3. Mehanička uloga stanične stijenke…….……. 9
4. Postmeristemska regulacija filotaksije……...……. 10
5. Zaključak……. 10
6. Literatura…….…… 10
7. Sažetak…… 12
8. Summary……...…….. 13

1. Uvod

Pravilan raspored biljnih organa uzduž stabljike zove se filotaksija. Raspored organa svojstven je vrsti i može se mijenjati kroz različite faze životnog ciklusa. Kod cvjetnica nalazimo više vrsta filotaksije: dvorednu, nasuprotnu, pršljenastu i spiralnu. Među njima je spiralna najraširenija i najneobičnija. Njezin sklad privlačio je još od antike znatiželju mnogih filozofa, botaničara i matematičara i poticao ih da pokušaju objasniti njezinu pravilnost. Mnogim cvjetnicama koje imaju spiralnu filotaksiju pripada i najistraženija cvjetnica, uročnjak, *Arabidopsis thaliana* L. (Slika 1). Upravo je ona, zbog svoje dostupnosti i praktičnosti, poslužila kao model za najveći broj istraživanja koja su nam dala uvid u ovo zanimljivo, ali nedovoljno istraženo područje.



Slika 1: Spiralni raspored listova divljeg tipa *A. thaliana* (A) tijekom kratkog dana i (B) tijekom dugog dana. Mlađi listovi označeni su većim brojevima. Prilagođeno prema Bainbridge i sur. 2008.

1.1. Matematička osnova spiralne filotaksije

Matematička posebnost spiralne filotaksije vezana je uz Fibonaccijev niz. Niz započinje dvjema jedinicama, a svaki idući njegov član zbroj je prethodna dva: 1, 1, 2, 3, 5, 8, 13… Omjer susjednih članova niza teži zlatnom broju, tj. omjeru zlatnog reza $\tau = \frac{\sqrt{5}+1}{2}$, što je približno jednako 1,618. Primijenimo li to na puni krug, dobivamo kut $\frac{360^\circ}{\tau^2} \approx 137^\circ\, 30'28''$ koji je najčešći kut između uzastopnih organa (kut divergencije) u spiralnoj filotaksiji (Adler i sur. 1997). Povezanost Fibonaccijevog niza sa spiralnom filotaksijom prvi je opisao Schimper 1830. (referenca citirana u Adler i sur. 1997), pretpostavivši da se svi najčešći divergencijski kutovi mogu izraziti kao omjer dva susjedna člana Fibonaccijevog niza. Broj okreta oko

stabljike krenuvši od jednog lista do prvog koji se nalazi točno iznad njega, te broj intervala među listovima koji se nalaze na toj putanji bili bi, dakle, Fibonaccijevi brojevi, a njihov omjer dao bi kut divergencije. Pritom je Schimper zanemario činjenicu da se listovi u spiralnoj filotaksiji nikad ne nađu točno jedan iznad drugoga i da kut divergencije zapravo nije racionalan broj. Bravais i Bravais (referenca citirana u Adler i sur. 1997), taj su propust ispravili, a opisali su i druge moguće kutove divergencije, nastale prema nizovima sličnim Fibonaccijevom, koji slijede isto pravilo zbrajanja, ali počinju s drugim brojevima. Kasniji razvoj matematike i informatike, kao i suradnja s biolozima, dovela je do mnogo preciznijih modela filotaksije.

1.2. Teorija raspoloživog prostora i teorija inhibicije – povijesni pregled

Zašto biljke preferiraju spiralnu filotaksiju i čemu im ona služi? Najraširenije objašnjenje je da ona omogućava najekonomičniji raspored listova, tako da budu što bolje osunčani i da im transpiracija bude olakšana, no računalni modeli pokazali su da je bolje rješenje za taj problem pojava dugih i uskih listova. Ipak, rješenje se nazire u samom vegetacijskom vršku, gdje i dolazi do začetka organa: spiralna filotaksija omogućava najefikasnije pakiranje novih organa, tako da se što manje površine izlaže nepovoljnim vanjskim uvjetima. Hofmeister je 1868. Godine objavio da se primordiji pojavljuju na periferiji meristemskog vrška periodično i u najvećem dostupnom prostoru koji dopuštaju prethodni primordiji, i to danas zovemo Hofmeisterovo pravilo (referenca citirana u Adler i sur. 1997). Godine 1878. Schwendener je predložio da je u raspoređivanju primordija ključan kontaktni pritisak koji primordiji vrše na svoje susjede. Njegovu teoriju dopunio je Schoute, pretpostavivši da primordiji luče kemijski inhibitor koji sprječava nastanak novih primordija u blizini starijih te je tako određeno mjesto inicijacije novog primordija (reference citirane u Adler i sur. 1997). Kasnijim eksperimentima vezanim uz uklanjanje primordija i kemijske tretmane na *Lupinus albus* L., Snow i Snow (1937) došli su također do zaključka da se primordij razvija pod utjecajem susjednih primordija, na prvom slobodnom prostoru, što se slaže s prethodim teorijama. Danas se smatra da je kemijska tvar u ulozi ostvarivanja inhibitornog polja zapravo biljni hormon auksin, a polje se ne uspostavlja zbog njegove prisutnosti, već zbog manjka uzrokovanog aktivnim uklanjanjem pomoću polarnog transporta u smjeru postojećih primordija (Traas 2013). Iako računalni modeli (Jönsson i sur. 2006, Smith i sur. 2006) ukazuju da je sam polarni transport auksina dovoljan za uspostavljanje spiralne filotaksije, moguće je da postoji i neki još neotkriveni inhibitor.

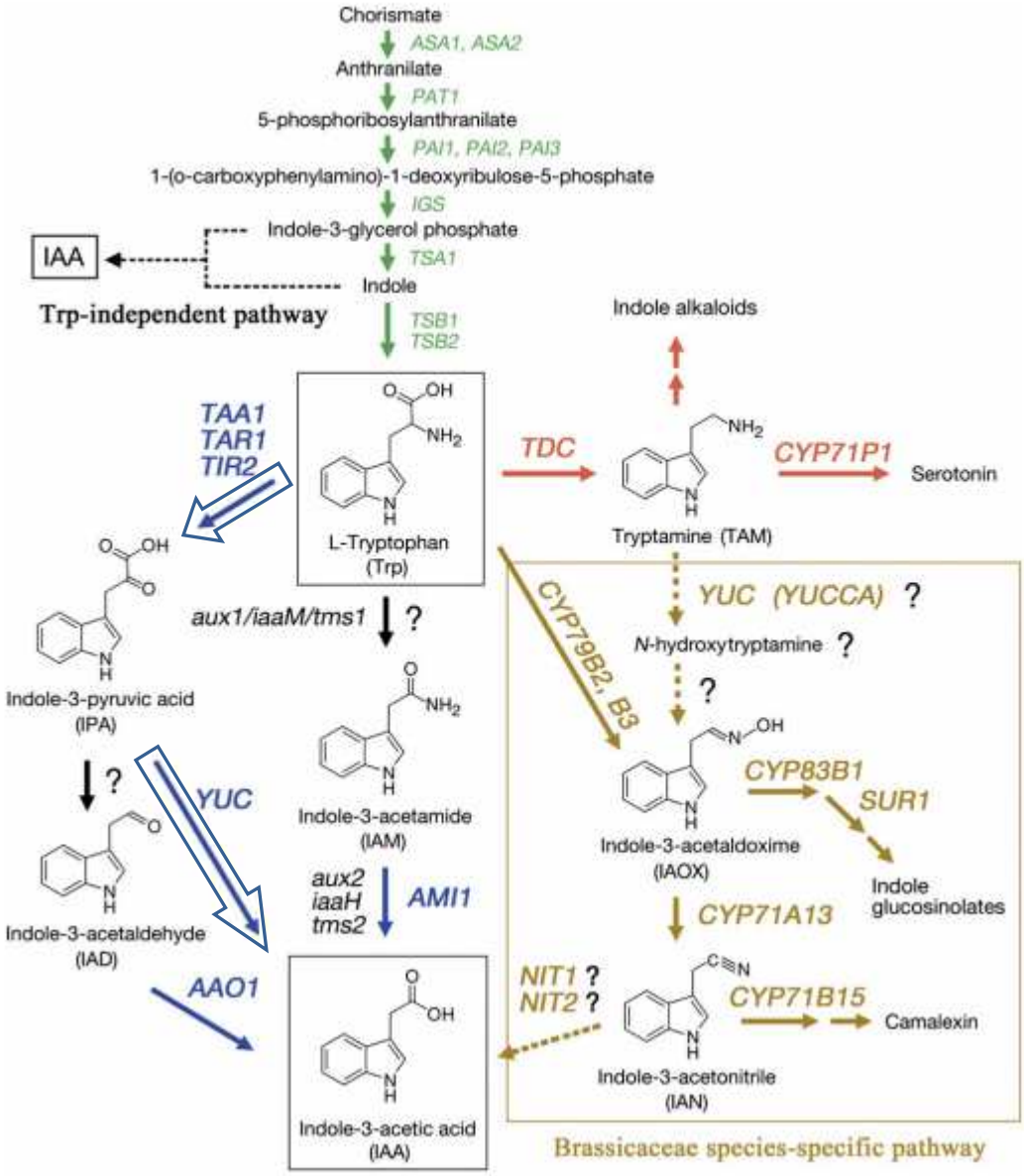
2. Uloga auksina u uspostavi spiralne filotaksije

Auksini su skupina prirodnih biljnih hormona i njihovih sintetskih analoga koji imaju široki učinak na razvojne procese u biljaka. Zajedničko strukturno svojstvo su im aromatski prsten i karboksilna skupina. Najčešći i najistraženiji biljni auksin je indol-3-octena kiselina (IAA) te se naziv uglavnom odnosi na nju, a sintetski auksini koji se najčešće koriste u istraživanjima su 2,4-diklorofenoksioctena kiselina (2,4-D) i 1-naftalenoctena kiselina (NAA). Auksini i njihov koncentracijski gradijent nastao polarnim transportom ključni su za biljnu embriogenezu, održavanje vršnog meristema korijena, elongaciju korijena i hipokotila, apikalnu dominaciju, diferencijaciju vaskularnog tkiva, tropizme, zriobu ploda te za sve vrste organogeneze, što uključuje i filotaksiju (Vieten i sur. 2007).

2.1. Biosinteza auksina

Iako je auksin prvi otkriveni biljni hormon, put biosinteze auksina slabo je poznat. Zbog velike važnosti sinteze auksina za biljke postoji više paralelnih redundantnih putova biosinteze auksina pa je gene i proteine koji u njima sudjeluju teško otkriti. Shema mogućih putova prikazana je na slici 2. Dva glavna predložena puta su put biosinteze ovisan o triptofanu i put biosinteze neovisan o triptofanu. Put biosinteze auksina neovisan o triptofanu slabo je poznat: počinje indolom ili indol-3-glicerolfosfatom, a enzimi i geni u daljnjem putu do IAA nisu utvrđeni. Put biosinteze auksina ovisan o triptofanu započinje u kloroplastu, biosintezom triptofana iz korizmata preko indol-3-glicerolfosfata, u čemu sudjeluju antranilat sintaza kodirana genima *ASA1* i *ASA2*, indol-3-glicerolfosfat sintaza kodirana genom *IGS*, te triptofan sintaza kodirana genima *TSA1* i *TSB1*(Mano i Nemoto 2012). Predložena su 4 puta sinteze auksina ovisna o triptofanu: put indol-3-acetamida (IAM), put indol-3-piruvata (IPA), put triptamina (TAM) i put indol-3-acetaldoksima (IAOx). Put IAM bi mogao biti važan jer su geni slični *AMI1 A. thaliana*, čiji je produkt IAM-hidrolaza ključna u tom putu, nađeni u svim istraženim biljkama (Mano i Nemoto 2012). Put IAOx je specifičan za porodicu Brassicaceae, a u njemu su ključna dva citokrom P450 enzima, CYP79B2 i CYP79B2, koji prevode Trp u IAOx (Zhao i sur. 2002, Sugawara i sur. 2009). Geni i enzimi koji su u ovom metaboličkom putu zaslužni za reakcije od IAOx do IAA nisu utvrđeni. Za postojanje puta biosinteze auksina TAM nema čvrstih dokaza (Mano i Nemoto 2012). Smatralo se da proteini YUCCA1-11(YUC) imaju ključnu ulogu u putu TAM prevodeći TAM u *N*-hidroksitriptamin, no razjašnjeno je da oni zajedno sa proteinom TAA1 čine IPA metabolički put, glavni put biosinteze auksina i jedini u kojemu su svi koraci poznati. Enzim Trp-aminotransferaza,

kodiran genom *TAA1*, katalizira reakciju od Trp do IPA, a enzim sličan flavin monooksigenazi, kodiran genom *YUC2*, reakciju od IPA do IAA (Mashiguchi i sur. 2011).



Slika 2: Pretpostavljeni putovi biosinteze auksina. Zelene strelice označuju put biosinteze triptofana u kloroplastu. Tanke crne strelice označuju Trp-neovisni biosintetski put. Crvene strelice označuju putove sinteze serotonina i indol-alkaloida. Smeđe strelice označuju put specifičan za porodicu Brassicaceae, iscrtkane strelice označuju korake za koje su geni i enzimi slabo poznati. Plave strelice označuju poznate korake u Trp-ovisnom putu biosinteze auksina. Velike plave strelice označuju glavni put biosinteze auksina. Crne strelice označuju korake za koje su geni i enzimi nepoznati. Kosim slovima označeni su geni zaslužni za pojedine korake, a malim slovima označeni su bakterijski geni. Prilagođeno prema Mano i Nemoto 2012.

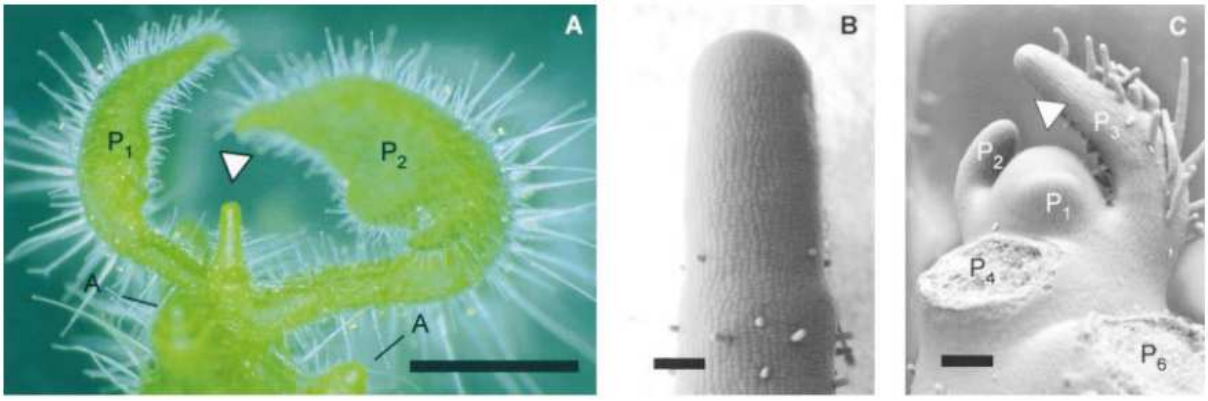
Geni u glavnom putu biosinteze auksina *YUC1 i YUC4* aktivirani su genima *plethora*, *PLT3, PLT5* i *PLT7*. Trostruki mutant *A. thaliana plt3plt5plt7* pokazuje nestabilnost spiralne filotaksije i težnju nasuprotnoj filotaksiji te je smanjena ekspresija *YUC1* i *YUC4* gena i time količina auksina u vršnom meristemu izdanka (SAM). Zbog smanjene količine auksina u SAM-u došlo je i do smanjenja transporta pomoću proteina PIN1, koji je zaslužan za uspostavljanje gradijenta auksina prema površini meristema. Mutanti *yuc1/+ yuc4* pokazuju sličan fenotip *plt3plt5plt7* trostrukim mutantima. Ekspresijom *YUC4* pod STM promotorom (u kupoli meristema) u tim mutantima došlo je do potpunog povrata spiralne filotaksije, ali ekspresijom pod FLT promotorom (u primordijima) nije. To ukazuje na veću važnost sinteze auksina u SAM-u nego u primordijima za uspostavu spiralne filotaksije (Pinon i sur. 2012).

2.2. Polarni transport auksina

Kemiosmotska hipoteza transporta auksina oslanja se na svojstvo auksina da je u kiselim uvjetima stanične stijenke (pH 5,5) prisutan podjednako u svom ioniziranom obliku, IAA^-, i u protoniranom obliku IAAH. Zbog svoje hidrofobnosti samo IAAH može pasivno kroz membranu ući u stanicu, no tamo se zbog bazičnih uvjeta (pH 7) deprotonira i kao IAA^- ostaje zarobljen u stanici. Za daljnji prijenos ovog oblika auksina potrebni su specifični nosači, auksinski transporteri, koji su većinom asimetrično raspoređeni po stanicama i osiguravaju polarni prijenos. U prijenosu auksina sudjeluju transporteri *pin-formed* (PIN), *auxin resistant 1* (AUX1), *like-aux1* (LAX) i *multi-drug-resistant P-glycoprotein* (MDR/PGP). U L1 sloju vršnog meristema lokalizirani su transporteri AUX, LAX1 i PIN1. Transporteri AUX1 i LAX1 raspoređeni su ravnomjerno po membranama stanica, koncentrirajući auksin na površinu meristema, a PIN1 raspoređen je polarno i doprinosi uspostavljanju lokalnih maksimuma auksina (Traas 2013, Bainbridge i sur. 2008).

Kod izdanaka rajčice, *Solanum lycopersicum* L., uzgajanih na podlozi s inhibitorom transportera auksina, *N*-(1-naftil)ftalaminskom kiselinom (NPA), ne dolazi uopće do inicijacije listova te ima iglici sličnu golu stabljiku (Slika 3). Ako se na meristemski vršak takvih biljaka doda egzogeni auksin, dolazi do inicijacije listova. Lisni primordiji razvit će se, radijalno gledano, točno na mjestu gdje je auksin dodan, no gledano u smjeru apikalno-bazalno, primordij će se razviti na određenoj udaljenosti od samog vrha meristema (50 – 100 µm), čak i kada je auksin dodan na vrh meristema ili nešto ispod njegove zone rasta. Kod izdanaka rajčice koji su dugo uzgajani uz inhibitore transportera auksina, a zatim su prebačeni na podloge bez njih, lisni primordiji razvijali su se na sasvim nasumičnim mjestima, što

ukazuje na to da su postojeći listovi potrebni za pravilno smještanje novog lisnog primordija (Reinhardt i sur. 2000).

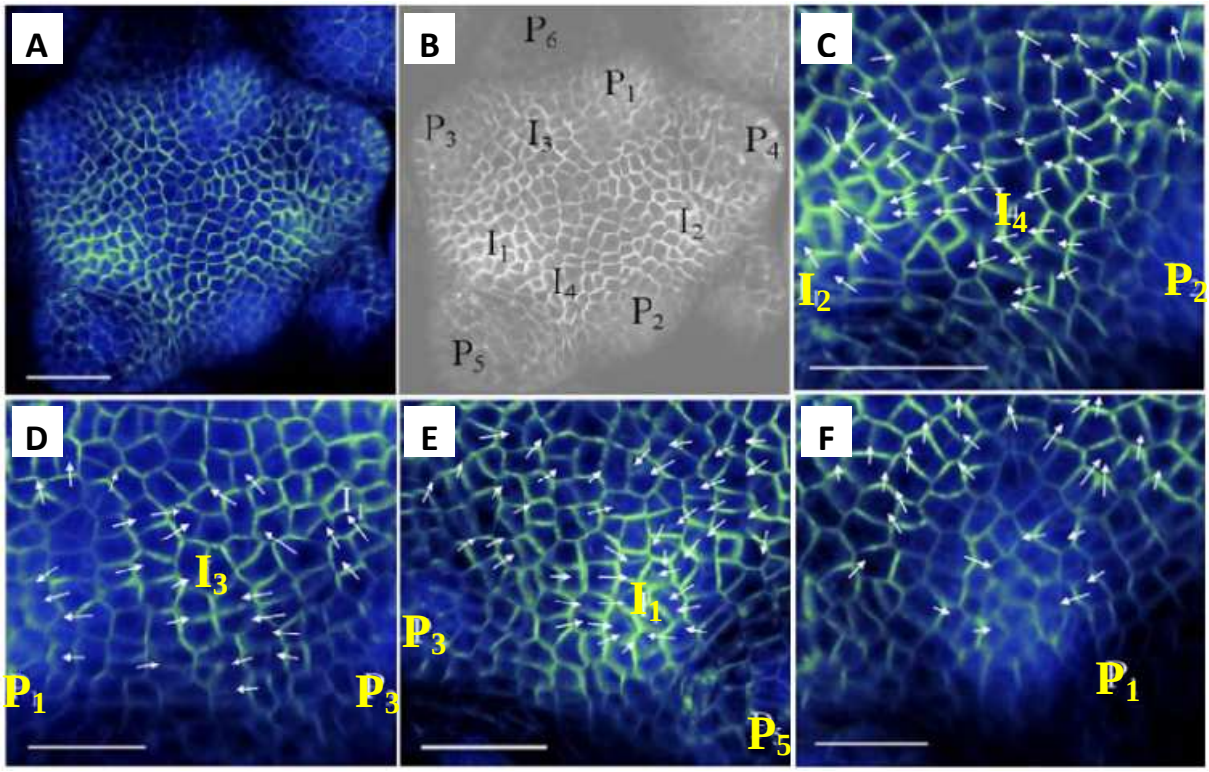


Slika 3. Iglici slična struktura vrška izdanka rajčice nakon tretmana kulture izdanka s NPA (A) zajedno sa postojećim primordijima i aksilarnim pupovima, (B) iglica pod skenirajućim elektronskim mikroskopom, (C) vršni meristem (strelica) netretiranog izdanka s primordijima listova, gdje je P1 najmlađi primordij. Linija u A prikazuje 2 mm, u B i C 100 µm. Prilagođeno prema Reinhardt i sur. 2000.

2.3. Uloga eksportera auksina PIN1

Eksporter auksina PIN1 pozicionira se polarno prema susjednim stanicama s većom koncentracijom auksina te tako osigurava uspostavu maksimuma auksina ključnih za inicijaciju organa u području meristema. Tijekom razvoja primordija mijenja se lokalizacija proteina PIN1, koji se može vizualizirati fuzijom sa zelenim fluorescentnim proteinom (GFP), te se transport auksina usmjerava od starijih primordija prema mjestima inicijacije budućih primordija (Slika 4). Pritom se u graničnim područjima starijih primordija polarni transport auksina razdjeljuje u smjeru mjesta inicijacije novih primordija te prema vršku starijeg primordija (Heisler i sur. 2005).

Poznavajući važnost auksina te svojstvo proteina PIN1 da se polarno pozicionira prema susjednim stanicama s većom koncentracijom auksina, napravljeni su računalni modeli koji opisuju spiralnu, ali i pršljenastu filotaksiju (Jönsson i sur. 2006, Smith i sur. 2006). Modeli su pokazali da je sama pozitivna povratna sprega polarizacije proteina PIN1 dovoljna da se prekine jednolika raspoređenost auksina u meristemu i uspostavi složen, pravilan i stabilan uzorak maksimuma i minimuma auksina koji određuju mjesta inicijacije primordija i njihova inhibitorna polja.



Slika 4. (A-F) Ekspresija i lokalizacija pPIN1::PIN1-GFP u jednom reprezentativnom cvatnom meristemu *A. thaliana*. Korišten je mikroskop Zeiss 510LSM Meta, objektiv 63x, biljka je privremeno bila pod vodom. Trodimenzionalni prikaz izrađen je pomoću programa Zeiss Zeiss LSM software, Amira (Mercury Computer Systems) te pomoću programa za obradu slika razvijenog posebno za tu svrhu (H. Jonsson, M.G.H., B. Shapiro, E.M.M., and E. Mjolsness, neobjavljeni podaci). Plava boja odgovara nižoj, a zelena višoj razini ekspresije pPIN1::PIN1-GFP. (A) Trodimenzionalni prikaz meristema odozgo s lokalizacijom i ekspresijom pPIN1::PIN1-GFP (B) Na slici jednakoj kao u (A) primordiji su označeni slovom P i najmlađi je P_1, a mjesta inicijacije budućih primordija označena su slovom I, pri čemu je I_1 najstarije. (C-F) Povećani prikazi područja oko I_4, I_3 i I_1. Strelice pokazuju smjer polarnog transporta auksina nastalog zbog asimetrične lokalizacije PIN1-GFP. (C) Transport auksina nije usmjeren prema području I_4, već je u tom mladom mjestu inicijacije polarnost transporta auksina usmjerena od područja P_2 prema području I_1. (D) Transport auksina usmjeren je prema području I_3 iz područja susjednih primordija P_1 i P_3. (E) U najstarijem mjestu inicijacije I_1 vidi se najjača ekspresija PIN1-GFP te je prema njemu usmjeren transport auksina iz svih okolnih područja. (F) Oko područja primordija P_1 uočljivo je razdvajanje polarnog transporta auksina prema vrhu primordija i prema središtu meristema. Linija na A prikazuje 30 µm, a na C-F 20 µm. Prilagođeno prema Heisler i sur. 2005.

Mutanti vrste *A. thaliana* kojima nedostaje protein PIN1 (*pin1*), imaju golu, iglici sličnu cvatnu stabljiku na kojoj ne dolazi do inicijacije cvjetnih primordija, što ukazuje na ključnu i nezamjenjivu ulogu proteina PIN1 u inicijaciji i filotaksiji cvjetova. Dodatkom

egzogenog auksina na meristeme takvih izdanaka potiče se razvoj cvjetova. Iako ne dolazi do razvoja cvjetova, učinak mutacije u ranijim razvojnim fazama mnogo je blaži pa biljke *pin1* ipak imaju listove. Frekvencija inicijacije listova je mnogo manja nego kod divljeg tipa, a filotaksija nije spiralna, nego nepravilna, ali ne i nasumična. Listovi uvijek rastu na mjestima najudaljenijim od postojećih listova, poštujući Hofmeisterovo pravilo (Guenot i sur. 2012). Osim proteina PIN1, postoje i drugi proteini PIN lokalizirani polarno na staničnoj membrani, s ulogom u uspostavljanju gradijenta auksina pri razvoju drugih organa, pa je trebalo ustanoviti mogu li oni donekle ublažiti posljedice nedostatka proteina PIN1 kod mutanata *pin1*. Utvrđeno je da PIN2, PIN4 i PIN7 ne pokazuju ektopičnu ekspresiju u meristemu, a PIN3, koji je povremeno pokazuje, ne ublažava igličasti fenotip mutanta *pin1*. Dvostruki mutant u genima YUC1 i YUC4 za sintezu auksina u meristemu, *yuc1yuc4*, također ima lišće, dok trostruki mutant *yuc1yuc4pin1* ne razvija listove. Zato se pretpostavlja da lokalna sinteza auksina u meristemu omogućava rast listova mutanta *pin1*.

2.4. Uloga impotrera auksina AUX1 i LAX

Osim PIN1 transportera koji iznosi auksin iz stanica i raspoređen je asimetrično, transporteri za unos auksina u stanice, proteini AUX1, LAX1 i LAX2 također imaju ulogu u održavanju filotaksije, premda nisu asimetrično raspoređeni. Iako zasebne mutacije u ovim genima nemaju utjecaja na filotaksiju, dvostruki mutant *aux1lax1* pokazuje nepravilnost u filotaksiji i odstupanje od Hofmeisterovog pravila (Bainbridge i sur. 2008). Često dolazi do formiranja nakupina primordija, do nepotpunog razvoja primordija i čak do zastoja u njihovoj inicijaciji. Takav fenotip je pogoršan u trostrukom mutantu *aux1lax1lax2*. Kod *aux1lax* mutanata uzorci maksimuma i minimuma auksina u meristemu izostaju te je auksin raspoređen ravnomjerno. Difuznost je uočena i u lokalizaciji PIN1 proteina, koji su rjeđe i u nepravilnim razmacima uspostavljali žarišta polarnog transporta. Brzim unosom auksina u stanice pomoću importera AUX1 i LAX sprječava se difuzija auksina dopremljenog polarnim transportom u apoplast, čime se povećava učinkovitost polarnog transporta. Proteini AUX1 i LAX1 lokalizirani su u sloju L1, gdje zadržavaju auksin i omogućuju pravilno pozicioniranje proteina PIN1, time i uspostavljanje gradijenta auksina. Protein LAX2 ne pokazuje ekspresiju u području meristema, već u razvijajućoj vaskulaturi primordija, te bi njegova uloga mogla biti u pojačanju utjecanja auksina u primordije i njegovom povlačenju iz okolne zone, učvršćujući tako inhibitorno polje primordija.

3. Mehanička uloga stanične stijenke

Pretpostavlja se da maksimumi auksina u vršnom meristemu utječu na čvrstoću stanične stijenke te njenim omekšavanjem omogućavaju nastanak primordija. Oko 35% stijenke dvosupnica čine pektini, kompleksni polisaharidi bogati galakturonskom kiselinom. Jedan od glavnih polisaharida u sastavu pektina je homogalakturonan (HG) koji se ulaže u staničnu stijenku visoko modificiran metilesterifikacijom. Razina metilesterifikacije pektina utječe na mehanička svojstva stijenke i to na različite načine u različitim dijelovima biljke. U smanjenju metilesterificiranosti HG-a sudjeluju enzimi stanične stijenke, pektin metilesteraze (PME), a njihovu aktivnost reguliraju proteinski inhibitori pektin metilesteraza (PMEI). Svaka od ovih skupina proteina sadrži više od 60 članova pa je jasno da je riječ o vrlo složenom mehanizmu. Utvrđeno je da su kod divljeg tipa *A. thaliana* PME aktivne u mladim primordijima, a dodatak vanjskih PME na meristem dovoljan je da se na tom mjestu inducira razvoj ektopičnog primordija. Pritom se krši uzorak filotaksije i može doći do pojave više od jednog primodrija na istoj strani meristema. Ipak, primordiji se razvijaju samo u perifernoj zoni meristema, što kao i kod rajčica tretiranih auksinom ukazuje na postojanje faktora koji sprječavaju nastanak primordija u kupoli meristema. Poticanje aktivnosti PMEI dovodi do hiper-metilesterifikacije HG i do inhibicije nastanka primordija pa takve biljke imaju igličasti fenotip, sličan onomu *pin1* mutanta (Peaucelle i sur. 2008).

U kontroli ekspresije PME ulogu ima transkripcijski faktor *bellringer* (BLR), jedan od transkripcijskih faktora s homeodomenom u vrste *A. thaliana*, bitan u održavanju meristema, uspostavi filotaksije i razvoju cvijeta. Mutanti *blr-6* imaju nenormalnu filotaksiju jer dolazi do dodatne, ektopične pojave cvjetova, kao i do veće varijabilnosti u filotaksiji normalnih cvjetnih primordija (Peaucelle i sur. 2011). Ti mutanti pokazuju ektopičnu ekspresiju gena *PME5* u kupoli meristema i manju razinu metilesterifikacije HG-a nego divlji tip, koji ima eksprimiran *PME5* samo u mladim primordijima. Utvrđeno je da je aktivnost *PME5* promotora u meristemu jednaka kod *blr-6* mutanta i kod divljeg tipa, što navodi na zaključak da BLR protein negativno regulira transkripciju gena *PME5* u meristemu divljeg tipa (Peaucelle i sur. 2011). Ovi rezultati potvrđuju važnost mehanike stanične stijenke za indukciju organa te pokazuju da je modifikacija pektina nužna i dovoljna za formiranje primordija, ali i da utječe na filotaksiju. Još nije poznato je li aktivnost proteina PME pod utjecajem auksina ni na koji način promjene u strukturi stanične stijenke utječu na lokalizaciju proteina PIN1 i na transport auksina unutar meristema.

4. Postmeristemska regulacija filotaksije

Istraživanja filotaksije s razlogom su se fokusirala na vršni meristem, ali i dugo zanemarivana stabljika ima ulogu. Uzorak filotaksije na potpuno odrasloj stabljici reguliran je, osim organogenezom u vršnom meristemu, i kasnijim uzorcima rasta stabljike te se uzorak uspostavljen aktivnošću SAM-a mora održavati. Za to su bitni *cup-shaped cotyledon2* (CUC2) gen i mikroRNA miR164 kojoj su mete transkripti gena *CUC1* i *CUC2*. Ovi produkti imaju ulogu u održavanju uske granice između meristema i organa. Iako je filotaksija u vrste *A. thaliana* precizno određena u SAM-u, uočena je varijabilnost filotaksije na razvijenoj stabljici kod divljeg tipa. Mutant CUC2g-m4, koji ima gen *CUC2* otporan na miR164 pokazuje mnogo veću varijabilnost filotaksije na stabljici nego divlji tip, kao i velika odstupanja u duljini internodija, iako mu se meristemska filotaksija ne razlikuje od divljeg tipa. Kod takvih biljaka uočena je ektopična ekspresija gena *CUC2* u internodijima, izvan granice s meristemom. Molekule mRNA CUC2 se moraju biti na vrijeme uklonjene iz stanica internodija pomoću miR164 da bi uzorak filotaksije ostao stabilan (Peaucelle i sur. 2007).

5. Zaključak

Uspostavljanje maksimuma auksina samoodrživim polarnim transportom pomoću proteina PIN1 ključan je i najbolje istražen aspekt regulacije spiralne filotaksije. Mnoga pitanja još su uvijek ostala nerazjašnjena, kao pitanje biosinteze i porijekla auksina te signalnog puta kojim on utječe na lokalizaciju svojih transportera. Promjena svojstava stanične stijenke uslijed pojave gradijenta auksina, kao i utjecaj takvih promjena na održavanje tog gradijenta nije još sasvim razjašnjena. Nedavno je uočena važnost održavanja filotaksije i nakon njenog uspostavljanja u meristemu te je to zasad najmanje poznati aspekt filotaksije. Unaprjeđenje računalnih modela pomoću novih saznanja vezanih uz transport auksina i mehaniku stanične stijenke dovest će do boljeg razumijevanja filotaksije, kao i proširenje istraživanja na veći broj biljnih vrsta.

6. Literatura:

Adler, I., Barabe, D. and Jean, R. V. (1997). A history of the study of phyllotaxis. Ann. Bot.80, 231-244.

Bainbridge, K., Guyomarc'h, S., Bayer, E., Swarup, R., Bennett, M., Mandel, T. and Kuhlemeier, C. (2008). Auxin influx carriers stabilize phyllotactic patterning. Genes Dev. 22, 810-823

Guenot, B., Bayer, E., Kierzkowski, D., Smith, R. S., Mandel, T., Zádníková, P., Benková, E., and Kuhlemeier, C. (2012). PIN1-Independent Leaf Initiation in Arabidopsis. Plant Physiol. 159.

Heisler, M. G., Ohno, C., Das, P., Sieber, P., Reddy, G. V., Long, J. A., Meyerowitz, E. M. (2005). Patterns of Auxin Transport and Gene Expression during Primordium Development Revealed by Live Imaging of the ArabidopsisInflorescence Meristem. Curr. Biol. 15, 1899-1911.

Jönsson, H., Heisler, M. G., Shapiro, B. E., Meyerowitz, E. M. and Mjolsness, E. (2006). An auxin-driven polarized transport model for phyllotaxis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103, 1633-1638

Mano, Y., Nemoto, K. (2012). The pathway of auxin biosynthesis in plants. J. Exp. Bot. 63, 2853-2872.

Mashiguchi, K., Tanaka, K., Sakai, T. et al. (2011). The main auxin biosynthesis pathway inArabidopsis. Proc. Natl. Acad. Sci.USA 108, 18512-18517.

Peaucelle, A., Morin, H., Traas, J. and Laufs, P. (2007). Plants expressing a miR164-resistant CUC2 gene reveal the importance of post-meristematic maintenance of phyllotaxy in Arabidopsis. Development 134, 1045-1050.

Peaucelle, A., Louvet, R., Johansen, J. N., Hofte, H., Laufs, P., Pelloux, J. and Mouille, G. (2008). Arabidopsis phyllotaxis is controlled by the methylesterification status of cell-wall pectins. Curr. Biol. 18, 1943-1948

Peaucelle, A., Louvet, R., Johansen, J. N., Salsac, F., Morin, H., Fournet, F., Belcram, K., Gillet, F., Höfte, H., Laufs, P. et al. (2011). The transcription factor BELLRINGER modulates phyllotaxis by regulating the expression of a pectin methylesterase in Arabidopsis. Development 138, 4733-4741.

Pinon,V., Prasad, K., Grigg, S. P., Sanchez-Perez, G. F. and Scheres, B. (2013). Local auxin biosynthesis regulation by PLETHORA transcription factors controls phyllotaxis in Arabidopsis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 110, 1107-1112.

Reinhardt, D., Mandel, T. and Kuhlemeier, C. (2000). Auxin regulates the initiation and radial position of plant lateral organs. Plant Cell 12, 507-518.

Smith, R. S., Guyomarc'h, S., Mandel, T., Reinhardt, D., Kuhlemeier, C. and Prusinkiewicz, P. (2006). A plausible model of phyllotaxis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103, 1301-1306.

Snow, M., Snow, R. (1937). Auxin and leaf formation. The New Phytol. 36

Sugawara, S., Hishiyama, S., Jikumaru, Y., Atsushi Hanada, A., Nishimura, T., Koshiba, T., Zhaod, Y., Kamiya, Y. and Kasahara, H. (2009). Biochemical analyses of indole-3-acetaldoximedependent auxin biosynthesis in Arabidopsis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 106, 5430-5435.

Traas, J. (2013). Phyllotaxis. Development 140, 249-253

Vieten, A., Sauer, M., Brewer, P. B. and Friml, J. (2007). Molecular and cellular aspects of auxin-transport-mediated development. Trends Plant Sci.12, 160-168.

Zhao Y., Hull, A. K., Gupta, N. R., Goss, K. A., Alonso, J., Ecker, J. R., Normanly, J., Chory, J., Celenza, J. L. (2002). Trp-dependent auxin biosynthesis in Arabidopsis: involvement of cytochrome P450s CYP79B2 and CYP79B3. Genes Dev. 16, 3100-3112.

7. Sažetak

Pravilan raspored biljnih organa oko stabljike, zvan filotaksija, stoljećima fascinira biologe i matematičare. Kao model za istraživanja filotaksije najčešće se koristi modelna vrsta *A. thaliana*. Filotaksija je prvenstveno određena uzorkom maksimuma auksina u vanjskom sloju vršnog meristema izdanka, koji određuje položaj lisnih i cvjetnih primordija. Maksimumi auksina određuju mjesto inicijacije primodrija, a okolni minimumi auksina djeluju kao inhibitorna polja, sprječavajući inicijaciju primordija. Za uspostavu gradijenta auksina dovoljna je pozitivna povratna sprega auksina i njegovog polarno raspoređenog eksportera PIN1. Simetrično raspoređeni importeri auksina, AUX1 i LAX, potrebni su za stabilizaciju uzorka, koncentrirajući auksin na površinu meristema. Sinteza auksina u području meristema regulirana je transkripcijskim faktorima *plethora*. Regulacija aktivnost pektin metilesteraza i njihovih inhibitora ima ulogu u promjeni mehanike stanične stijenke, što utječe i na filotaksiju. Definiranje granica meristema pomoću CUC2 i miR164 potrebno je za postmeristemsko održavanje filotaksije u odrasloj stabljici.

8. Summary

Regular positioning of plant organs around stem, called phyllotaxis, has fascinated both biologists and mathematicians for centuries. Model species *A. thaliana* is most used as model for phyllotaxis research. Phillotaxis is determined most importantly by pattern of auxin maxima in outer layer of shoot apical meristem, which positions leaf or flower primordia. Auxin maxima define the location of primordia initiation, and surrounding auxin minima act as inhibitory fields, preventing primordia initiation. Feedback loop between auxin and its polar exporter PIN1 is sufficient to establish auxin gradients. Symmetrically distributed auxin influx carriers AUX1 and LAX are needed to stabilize this pattern, concentrating auxin on meristem surface. Synthesis of auxin in meristem is regulated by plethora transcription factors. Regulating activities of pectin methyl-esterases and their inhibitors plays a role in modulating cell wall mechanics, which influences phyllotaxsis. Defining meristem boundary by CUC2 and miR164 is needed for post-meristematic maintaining of phyllotaxis in fully grown stem.