

Univerzita Palackého v Olomouci

Bakalářská práce

Olomouc 2021

Zuzana Horáčková

Univerzita Palackého v Olomouci
Přírodovědecká fakulta
Katedra buněčné biologie a genetiky



**Úloha fotomorfogenních transkripčních
faktorů v toleranci rostlin *Arabidopsis*
k zasolení**

Bakalářská práce

Zuzana Horáčková

Studijní program: Biologie
Studijní obor: Molekulární a buněčná
biologie Forma studia: Prezenční

Olomouc 2021

Vedoucí práce: prof. RNDr. Martin Fellner, Ph.D.

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Akademický rok: 2019/2020

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Zuzana HORÁČKOVÁ
Osobní číslo: R18644
Studijní program: B1501 Biologie
Studijní obor: Molekulární a buněčná biologie
Téma práce: Úloha fotomorfogenních transkripčních faktorů v toleranci rostlin *Arabidopsis* k zasolení
Zadávající katedra: Katedra buněčné biologie a genetiky

Zásady pro vypracování

1. Seznámení se s tématem bakalářské práce

Studentka se důkladně seznámí s náplní projektu bakalářské práce tak, aby byla schopna definovat základní cíle bakalářské práce, přístupy a metody, které bude při práci používat.

2. Shromáždění nejnovějších literárních zdrojů vztahujících se k tématu bakalářské práce a jejich zpracování

Zásadním zdrojem literatury, které si studentka musí prostudovat, jsou odborné články, a to především literatura týkající se problematiky klíčení semen a růstu rostlin vlivem světla, světelných signálních drah a odpovědí rostlin na abiotické stresy. Tyto práce pak budou sloužit jako další zdroje literatury.

3. Časová organizace a plán experimentů

Časová organizace experimentální práce vychází z plánu práce, který má studentka k dispozici od svého školitele.

4. Vlastní experimentální práce a dílčí analýzy výsledků

Studentka bude provádět experimenty podle plánu práce. Bude studovat klíčení semen a růst rostlin fotomorfogenních mutantů *laf1*, *hfr1-201* a *HFR1RNAi/laf1* u *Arabidopsis thaliana* na zvolených koncentracích NaCl a v závislosti na světelných podmínkách.

5. Konečné zpracování výsledků

O každém experimentu bude studentka provádět záznamy do pracovního deníku a vypracuje protokol. Výsledky každého experimentu zpracuje do dílčích grafů a společně s vedoucím učiní z výsledků závěry. Všechny výsledky pak studentka postupně zpracuje do konečné výstižné podoby, aby byly připraveny k zakomponování do bakalářské práce.

6. Kompletace bakalářské práce

Se zpracováním bakalářské práce začne studentka s dostatečným předstihem, tedy nejpozději půl roku před plánovanou obhajobou bakalářské práce. Dílčí verze bakalářské práce bude diskutovat s vedoucím bakalářské práce.

Rozsah pracovní zprávy:

Rozsah grafických prací:

Forma zpracování bakalářské práce: tištěná

Seznam doporučené literatury:

Taiz L., Zeiger E. (2010) Plant Physiology, 5th ed.

Taiz L et al. (2015) Plant Physiology and Development, 6th ed.

Jones R et al. (2013) The Molecular Life of Plants, 1st ed.

Buchanan BB et al. (2015) Biochemistry and Molecular Biology of Plants, 2nd ed.

Buchanan BB et al. (2010) Biochemistry and Molecular Biology of Plants, 1st ed

Odborné články v mezinárodních vědeckých časopisech týkající se problematiky bakalářské práce a podle doporučení vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: prof. RNDr. Martin Fellner, Ph.D.
Laboratoř růstových regulátorů

Datum zadání bakalářské práce: 20. dubna 2020
Termín odevzdání bakalářské práce: 31. července 2021

L.S.

doc. RNDr. Martin Kubala, Ph.D.
děkan


prof. RNDr. Zdeněk Dvořák, DrSc.
vedoucí katedry

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
KATEDRA BUNĚČNÉ BIOLOGIE A GENETIKY
Šlechtitelů 27, 783 71 Olomouc – Holice
tel.: +420 585 634 901

-2-

Bibliografická identifikace

Jméno a příjmení autora	Zuzana Horáčková
Název práce	Úloha fotomorfogenních transkripčních faktorů v toleranci rostlin <i>Arabidopsis</i> k zasolení
Typ práce	Bakalářská
Pracoviště	Katedra buněčné biologie a genetiky
Vedoucí práce	prof. RNDr. Martin Fellner, Ph.D.
Rok obhajoby práce	2021
Souhrn	<p>Bakalářská práce se zaměřuje na problematiku tolerance rostlin k zasolení v závislosti na světelném záření. V teoretické části byly zpracovány dosavadní poznatky o vlivu světla na vývoj rostlin, o zasolení a o vlivu světla na schopnost rostlin tolerovat abiotický stres, neboť salinita půdy je aktuálním globálním problémem, který postihuje nemalé procento zemědělské půdy napříč všemi kontinenty.</p> <p>Je známo, že některé mechanismy umožňující toleranci solného stresu jsou ovlivňovány světlem. Proto byl v experimentální části zkoumán vliv fotomorfogenních transkripčních faktorů LAF1 a HFR1 na schopnost rostlin tolerovat stres zasolením v závislosti na světelných podmínkách prostředí (tma, modré světlo, červené světlo). Na základě fyziologických experimentů byla vyhodnocena jejich možná úloha v toleranci růstu rostlin <i>Arabidopsis</i> k zasolení. Experimenty k bakalářské práci byly prováděny v Laboratoři růstových regulátorů Univerzity Palackého v Olomouci a Ústavu experimentální botaniky AV ČR ve Skupině molekulární fyziologie.</p>
Klíčová slova	abiotický stres, NaCl, <i>Arabidopsis thaliana</i> , fotomorfogeneze, modré světlo, červené světlo, LAF1, HFR1
Počet stran	46
Počet příloh	0
Jazyk	Český

Bibliographical identification

Author's first name and surname	Zuzana Horáčková
Title of thesis	Role of photomorphogenic transcription factors in tolerance of <i>Arabidopsis</i> plants to salinity
Type of thesis	Bachelor
Department	Department of Cell Biology and Genetics
Supervisor	prof. RNDr. Martin Fellner, Ph.D.
The year of presentation	2021
Summary	<p>The bachelor's thesis is focused on the issue of plant tolerance to salinity depending on light radiation. The theoretical part summarizes the knowledge about the influence of light on plant development, salinization and the influence of light on the ability to tolerate abiotic stress, because soil salinity is a current global problem that affects a significant percentage of agricultural land across all continents.</p> <p>It is known that some mechanisms allowing tolerance of salt stress are affected by light. Therefore, possible influence of photomorphogenic transcription factors LAF1 and HFR1 on the ability of plants to tolerate salinity stress depending on ambient light conditions (darkness, blue light, red light) was examined in the experimental part. Based on these physiological experiments, their role in the tolerance of <i>Arabidopsis</i> plant growth to salinity was evaluated.</p> <p>The experiments for the bachelor's thesis were performed in the Laboratory of Growth Regulators of Palacký University in Olomouc and the Institute of Experimental Botany of the Czech Academy of Science in the Group of Molecular Physiology.</p>
Keywords	abiotic stress, NaCl, <i>Arabidopsis thaliana</i> , photomorphogenesis, blue light, red light, LAF1, HFR1
Number of pages	46
Number of appendices	0
Language	Czech

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem předkládanou bakalářskou práci vypracovala samostatně pod vedením prof. RNDr. Martina Fellnera, Ph.D. za použití uvedených literárních zdrojů.

V Olomouci dne

Podpis

Poděkování

Mé poděkování patří prof. RNDr. Martinu Fellnerovi, Ph.D. za odborné vedení bakalářské práce, cenné rady a za čas a trpělivost, kterou mi věnoval při řešení a konečném zpracování bakalářské práce. Dále bych chtěla poděkovat celému týmu Laboratoře molekulární fyziologie, zvláště pak Ing. Veronice Krbečkové, Ph.D., Mgr. Tereze Miksteinové a Bc. Janě Glogarové, za příjemné pracovní prostředí a za pomoc při práci v laboratoři.

Obsah

1. Úvod	1
2. Cíle práce	2
3. Literární přehled	3
3.1. Vliv světla na vývoj rostlin	3
3.1.1. Vliv světla na fenotypovou plasticitu	3
3.1.2. Světelné spektrum a vliv významných složek na vývoj rostlin	4
3.1.2.1. Absorpce a účinky červeného světla	4
3.1.2.2. Absorpce a účinky modrého světla	5
3.1.3. Signální kaskáda přenosu světelného signálu	6
3.1.3.1. Transkripční faktory LAF1 a HFR1	8
3.2. Abiotický stres	9
3.2.1. Salinita	9
3.2.1.1. Důsledky stresu zasolením	10
3.2.1.2. Redukce stresu zasolením	11
3.3. Vliv světla na schopnost rostlin tolerovat stres zasolením	12
3.3.1. Tolerance sucha v souvislosti se světelným zářením	14
4. Materiál a metody	15
4.1. Rostlinný materiál	15
4.2. Použité chemikálie a roztoky	15
4.3. Použité přístroje a zařízení	15
4.4. Použité experimentální a vyhodnocovací postupy	16
4.4.1. Navážení a stratifikace semen	16
4.4.2. Příprava MS média	16
4.4.3. Výsev semen na MS médium	16
4.4.4. Transfer semen na MS médium s NaCl	17
4.4.5. Vyhodnocení experimentu a zpracování výsledků	18
5. Výsledky	20
5.1. Studium délky hypokotylů	20
5.1.1. Mutant <i>laf1</i>	20

5.1.2.	Mutant <i>hfr-1-201</i>	23
5.1.3.	Dvojitý mutant <i>HFR1RNAi/laf1</i>	25
5.2.	Studium délky kořenů	27
5.2.1.	Mutant <i>laf1</i>	27
5.2.2.	Mutant <i>hfr-1-201</i>	30
5.2.3.	Dvojitý mutant <i>HFR1RNAi/laf1</i>	32
6.	Diskuse	34
7.	Závěr	38
8.	Seznam literatury	39

Seznam zkratek a symbolů

<i>7B-1</i>	Pylově sterilní mutant rajčete jedlého (<i>Solanum lycopersicum</i> L.)
ABA	Kyselina abscisová (ABscisic Acid)
AKT1	Vysoce selektivní draselný kanál v plazmatické membráně
AtNHX1	Sodno protonový antiporter ve vakuole
B	Modré světlo (Blue light)
Col	<i>Arabidopsis thaliana</i> (L.) Heynh. ekotyp Columbia
COP1	Ubiquitinační E3 ligáza (CONstitutive Photomorphogenic protein 1)
CRY	Krytochrom (CRYptochrome)
D	Tma (Dark)
FR	Dlouhovlnné červené světlo (Far-Red light)
HFR1	Fotomorfogenní transkripční faktor (Long Hypokotyl in Far-Red 1)
<i>hfr1</i>	Recesivní mutant v genu <i>hfr1</i>
<i>HFR1RNAi/laf1</i>	Recesivní dvojitý mutant v genech <i>laf1</i> a <i>hfr1</i>
HY5	Fotomorfogenní transkripční faktor (elongated HYpocotyl 5)
LAF1	Fotomorfogenní transkripční faktor (Long After Far-red light 1)
<i>laf1</i>	Recesivní mutant v genu <i>laf1</i>
LEA protein	Late Embryogenesis Abundant protein
<i>Ler</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i> (L.) Heynh. ekotyp Landsberg <i>erecta</i>
LIP1	Malá GTPasa (Light Insensitive Period 1)
miRNA	microRNA
MS medium	Murashige & Skoog kultivační medium
PHOT	Fototropin (PHOTotropin)
PHY	Fytochrom (PHYtochrome)
PIF	Faktory interagující s fytochromy (Phytochrome Interacting Factor)
PIP	Aquaporiny (Plasma membrane Intrincis Protein)
R	Červené světlo (Red light)
ROS	Reaktivní formy kyslíku (Reactive Oxygen Species)
SOS protein	Salt Overly Sensitive protein
SPA	Supresor fytochromu A (Supressor of Phytochrome A)
STO protein	Salt Tolerance protein
WT	Divoký typ (Wild Type)

Seznam obrázků

Obrázek 1: Interakce HY5 a COP1 v závislosti na světelných podmínkách (světlo/tma)

Obrázek 2: Interakce LAF1 a HFR1 s COP1 v závislosti na světelných podmínkách (tma/FR)

Obrázek 3: Délka hypokotylů rostlin *Arabidopsis thaliana* ekotypu Landsberg *erecta* při různém stupni solného stresu (0, 50, 100 a 150 mmol l⁻¹ NaCl) v závislosti na světelných podmínkách (D/B/R).

Obrázek 4: Délka hypokotylů rostlin *Arabidopsis thaliana* mutanta *laf1* při různém stupni solného stresu (0, 50, 100 a 150 mmol l⁻¹ NaCl) v závislosti na světelných podmínkách (D/B/R).

Obrázek 5: Porovnání inhibice prodlužování hypokotylů rostlin *Arabidopsis thaliana* ekotypu Landsberg *erecta* a mutanta *laf1* při různém stupni solného stresu (0, 50, 100 a 150 mmol l⁻¹ NaCl) v závislosti na světelných podmínkách (D/B/R).

Obrázek 6: Délka hypokotylů rostlin *Arabidopsis thaliana* ekotypu Columbia při různém stupni solného stresu (0, 50, 100 a 150 mmol l⁻¹ NaCl) v závislosti na světelných podmínkách (D/B/R).

Obrázek 7: Délka hypokotylů rostlin *Arabidopsis thaliana* mutanta *hfr1* při různém stupni solného stresu (0, 50, 100 a 150 mmol l⁻¹ NaCl) v závislosti na světelných podmínkách (D/B/R).

Obrázek 8: Porovnání inhibice prodlužování hypokotylů rostlin *Arabidopsis thaliana* ekotypu Columbia a mutanta *hfr1* při různém stupni solného stresu (0, 50, 100 a 150 mmol l⁻¹ NaCl) v závislosti na světelných podmínkách (D/B/R).

Obrázek 9: Délka hypokotylů rostlin *Arabidopsis thaliana* mutanta *HFR1RNAi/laf1* při různém stupni solného stresu (0, 50, 100 a 150 mmol l⁻¹ NaCl) v závislosti na světelných podmínkách (D/B/R).

Obrázek 10: Porovnání inhibice prodlužování hypokotylů rostlin *Arabidopsis thaliana* ekotypu Landsberg *erecta* a mutanta *HFR1RNAi/laf1* při různém stupni solného stresu (0, 50, 100 a 150 mmol l⁻¹ NaCl) v závislosti na světelných podmínkách (D/B/R).

Obrázek 11: Délka kořenů rostlin *Arabidopsis thaliana* ekotypu Landsberg *erecta* při různém stupni solného stresu (0, 50, 100 a 150 mmol l⁻¹ NaCl) v závislosti na světelných podmínkách (D/B/R).

Obrázek 12: Délka kořenů rostlin *Arabidopsis thaliana* mutanta *laf1* při různém stupni solného stresu (0, 50, 100 a 150 mmol l⁻¹ NaCl) v závislosti na světelných podmínkách (D/B/R).

Obrázek 13: Porovnání inhibice prodlužování kořenů rostlin *Arabidopsis thaliana* ekotypu Landsberg *erecta* a mutanta *laf1* při různém stupni solného stresu (0, 50, 100 a 150 mmol l⁻¹ NaCl) v závislosti na světelných podmínkách (D/B/R).

Obrázek 14: Délka kořenů rostlin *Arabidopsis thaliana* ekotypu Columbia při různém stupni solného stresu (0, 50, 100 a 150 mmol l⁻¹ NaCl) v závislosti na světelných podmínkách (D/B/R).

Obrázek 15: Délka kořenů rostlin *Arabidopsis thaliana* mutanta *hfr1* při různém stupni solného stresu (0, 50, 100 a 150 mmol l⁻¹ NaCl) v závislosti na světelných podmínkách (D/B/R).

Obrázek 16: Porovnání inhibice prodlužování kořenů rostlin *Arabidopsis thaliana* ekotypu Columbia a mutanta *hfr1* při různém stupni solného stresu (0, 50, 100 a 150 mmol l⁻¹ NaCl) v závislosti na světelných podmínkách (D/B/R).

Obrázek 17: Délka kořenů rostlin *Arabidopsis thaliana* mutanta *HFR1RNAi/laf1* při různém stupni solného stresu (0, 50, 100 a 150 mmol l⁻¹ NaCl) v závislosti na světelných podmínkách (D/B/R).

Obrázek 18: Porovnání inhibice prodlužování kořenů rostlin *Arabidopsis thaliana* ekotypu Landsberg *erecta* a mutanta *HFR1RNAi/laf1* při různém stupni solného stresu (0, 50, 100 a 150 mmol l⁻¹ NaCl) v závislosti na světelných podmínkách (D/B/R).

Seznam tabulek

Tabulka 1: Objem zásobního roztoku NaCl o koncentraci 5 mol l^{-1} potřebný pro přípravu 120 ml MS média s obsahem NaCl o koncentraci 0, 50, 100 a 150 mmol l^{-1}

1. Úvod

Světlo je pro rostliny primárním zdrojem energie pro fotosyntézu a současně moduluje genovou expresi. U modelové rostliny *Arabidopsis thaliana* bylo prokázáno, že exprese až 20 % všech genů se liší před a po deetiologizaci rostlin. S deetiologizací je úzce spjat proces fotomorfogeneze, který rostlinám umožňuje rychlou adaptaci na světelné podmínky.

V souvislosti s fotomorfogenezí jsou důležité zejména následující složky kaskády přenosu světelného signálu: fotoreceptory, transkripční faktory a centrální integrátory. Červené světlo je absorbováno specializovanými fotoreceptory zvanými fytochromy, modré světlo pak kryptochromy, fototropiny a částečně i fytochromy. Hlavním transkripčním faktorem a zároveň pozitivním regulátorem fotomorfogeneze je HY5. A centrální integrátor představuje zejména COP1, který působí jako represor fotomorfogeneze.

Mimo HY5 však existují další fotomorfogenní transkripční faktory jako například LAF1 a HFR1. Stejně jako HY5 tyto faktory zprostředkovávají signalizaci světla z fytochromů a ve tmě jsou degradovány E3 ligázou COP1. Naopak při působení světelného záření jsou tyto faktory volné a mohou se účastnit transkripce.

Rostliny jsou neustále ovlivňovány podmínkami prostředí, kterým se musí přizpůsobovat. V případě dlouhodobě nepříznivých podmínek mluvíme o tzv. abiotickém stresu. Do této skupiny jsou řazeny rozličné faktory, které negativně ovlivňují prospívání rostlin jako například vodní, solný nebo světelný stres. Salinita vody a následně i půdy je jedním z významných problémů hospodářství dnešní doby, způsobený zvýšenou koncentrací iontů (zejména Na^+ a Cl^-). Nejčastěji k těmto jevům dochází v pobřežních lokalitách, ale můžeme se s nimi setkat i ve vnitrozemí, kde dochází ke vzniku zasolení hlavně činností člověka (špatným hnojením, splachy silničních posypů, zavlažováním vodou s vysokým obsahem solí atd.).

V posledních letech je zaznamenáno zvýšené úsilí vědců o objevení interakcí mezi světelnou signalizací a schopností rostlin efektivněji zvládat stresové podmínky. Porozumění molekulárním mechanismům propojujícím světelné dráhy se schopností rostlin tolerovat abiotické stresy je klíčové pro budoucí zefektivnění zemědělství. Znalost těchto souvislostí by umožnila zvýšit produkci biomasy a výnosy hospodářských plodin zlepšením účinnosti fotosyntézy a redukcí vodních ztrát.

Tato bakalářská práce byla vypracována v rámci pracovní skupiny molekulární fyziologie prof. RNDr. Martina Fellnera, Ph.D v Laboratoři růstových regulátorů, která je společným pracovištěm Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci a Ústavu experimentální botaniky Akademie věd České republiky.

2. Cíle práce

Cílem této práce bylo vypracování literární rešerše shrnující dosavadní znalosti o studované problematice – vliv světla na vývoj rostlin, salinita a odpovědi rostlin na stres způsobený zasolením v souvislosti se světlem.

Pomocí genetického přístupu spočívajícího v analýze mutantů *Arabidopsis thaliana* a na základě fyziologických pokusů bylo cílem experimentální části přinést informace o možném zapojení fotomorfogenních transkripčních faktorů LAF1 a HFR1 v toleranci rostlin ke stresu způsobenému zasolením.

3. Literární přehled

3.1. Vliv světla na vývoj rostlin

Světlo je pro rostliny zdrojem energie pro růst a vývoj a s tím souvisí i jeho zásadní úloha při fotosyntéze. Se světlem jsou spjaty mnohé fyziologické procesy jako klíčení, deetiolizace, abscise, otevírání a zavírání stomat, senescence a také procesy závislé na cirkadiánním cyklu (Burgie *et al.*, 2014). Mimo to umožňuje světelné záření rostlinám kontrolovat elongaci hypokotylů a stimuluje vývoj listů a v nich umístěných chloroplastů. Řízení těchto fyziologických procesů světlem zajišťují fotoreceptory (Kraepiel *et Miginiac*, 1994; Shinomura *et al.*, 1994; Li *et al.*, 2011). Rostliny dokážou monitorovat světelné podmínky (kvalitu, intenzitu, doby ozáření a směr světla) a neustále se těmto podmínkám přizpůsobují. U modelové rostliny *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. je světlo detekováno prostřednictvím následujících fotoreceptorů:

- a. Fytochromy (PHYA–PHYE) vnímající primárně červené světlo a dlouhovlnné červené světlo.
- b. Kryptochromy (CRY1–CRY3) detekující hlavně modré světlo a UV-A světlo.
- c. Fototropiny (PHOT1 a PHOT2).
- d. Receptory pro UV-B (UVR8).
- e. Fotoreceptory cirkadiánního rytmu (ZEITLUPE).

(Sullivan *et Deng*, 2003; Kong *et Okajima*, 2016).

3.1.1. Vliv světla na fenotypovou plasticitu

Podle kultivačních podmínek pěstování krytosemenných rostlin v závislosti na světelných podmínkách rozlišujeme dvě vývojové dráhy. S první z nich se setkáváme u semen klíčících ve tmě, která se vyvíjí prostřednictvím strategie zvané skotomorfogeneze. Takové sazenice mají dlouhé hypokotyly, neexpandované dělohy a jsou téměř bez pigmentace. Při kultivaci ve tmě vyvíjí tzv. apikální háček (Stacey *et al.*, 1999; Chory 2010). Druhou možnost pozorujeme po vystavení klíčících semen světlu, čímž dojde ke spouštění procesu deetiolizace vedoucí k vývojovým změnám, jako je inhibice elongace hypokotylů, stimulace tvorby kotyledonů, syntéza chlorofylu a vývoj chloroplastů. Tyto vývojové změny lze označit jako fotomorfogenezi – morfologické změny rostliny jakožto adaptace na světelné záření (Koornneef *et al.*, 1980, 1991; Khurana *et al.*, 1998).

Během krátké doby, obvykle několika hodin, dojde k zásadním vývojovým a metabolickým změnám, díky kterým rostlina dokáže absorbovat fotony a využívat jejich energie pro syntézu nezbytných látek jako jsou cukry, proteiny nebo lipidy (Taiz *et Zeiger.*, 2010).

3.1.2. Světelné spektrum a vliv významných složek na vývoj rostlin

V review publikovaném v roce 2021 vědeckým týmem Shafiq *et al.* se dozvídáme o vlivu významných částí světelného spektra na fotosyntézu u hospodářsky významných plodin. Světlo ovlivňuje vývoj rostlin a jejich fotosyntetického aparátu prostřednictvím dvou složek. První z nich je kvalita světla, která odpovídá vlnové délce, tedy barvě světla. Druhou složkou je pak intenzita světla (Li *et al.*, 2014; He *et al.*, 2018). Světelná energie získaná rostlinami touto cestou je využívána pro fotosyntézu. Chlorofyly jsou schopny pohlcovat energii zejména v oblasti červeného světla. Nejsou však schopny absorbovat energii dlouhovlnného červeného světla (Holmes *et al.*, 1997; Walters, 2005).

Nejvýznamnějšími částmi světelného spektra ovlivňující fotomorfogenezi a fotosyntézu jsou červené (R, 610–700 nm) a modré světlo (B, 425–490 nm). S výrazně menším vlivem se pak můžeme setkat i v případě zeleného (520–560 nm) a dlouhovlnného červeného světla (FR, 700–750 nm) (Pettai *et al.*, 2005; Chang *et al.*, 2016).

3.1.2.1. Absorpce a účinky červeného světla

Červené světlo R (red light) a dlouhovlnné červené světlo FR (far-red light) se uplatňují ve všech fázích vegetativního i generativního vývoje rostliny. Tato část světelného spektra je absorbována prostřednictvím fotoreceptorů zvaných fytochromy, které se patrně nacházejí ve všech rostlinných buňkách (Clack *et al.*, 1994; Casal *et al.*, 1998).

Fytochromy jsou proteinové pigmenty, které se vyznačují schopností absorbovat červené světlo a jejich existence je pro rostlinu klíčová zejména pro zahájení a regulaci vývoje (klíčení, deetiolizace, kvetení a stárnutí rostliny) (Sun *et al.*, 2017). Z biochemického hlediska jsou fytochromy charakterizovány jako modré proteinové komplexy složené z chromoforu a apoproteinu o molekulové hmotnosti 120 až 130 kDa (Somers *et al.*, 1998; Sharrock *et al.*, 1989). Tyto pigmenty jsou schopné absorbovat jednak R, tak i FR prostřednictvím tetrapyrrolového chromoforu. Podle toho, jaké vlnové délky červeného světla fytochrom absorbuje, lze rozlišit 2 formy: Pr absorbující červené světlo a Pfr absorbující dlouhovlnné červené světlo. Na začátku je každý fytochrom syntetizován v neaktivní Pr formě, který je později absorpcí červeného světelného záření fotoizomerizován do biologicky aktivní Pfr formy (Rockwell *et al.*, 2006; Kircher *et al.*, 2002; Wang, 2005). Během této světlem indukované transformace dochází ke změně konformace proteinové části fytochromu, což následně způsobuje změnu exprese genů prostřednictvím transkripčních faktorů, jako jsou PIF a další (Leivar *et al.*, 2014).

U modelové rostliny *Arabidopsis thaliana* existuje 5 typů fytochromů (phyA–phyE). Podle jejich fotosenzitivní aktivity jsou navíc ještě rozděleny do 2 skupin. Do skupiny I je zařazen

phyA, který umožňuje signalizaci FR. Významnou vlastností phyA je jeho fotolabilita. Skupina II zahrnuje fytochromy B, C, D a E (Clack *et al.*, 1994; Oyama *et al.*, 1997), které jsou naopak na světle stabilní. Tyto fytochromy hrají roli téměř po celou dobu životního cyklu rostlin a absorbují především R. Kromě toho jsou fytochromy A a B označovány za regulátory transkripce – ovlivňují zejména geny pro syntézu chlorofylu a nebo b a transkripci některých strukturních genů (Smith, 2000; Hennig *et al.* 2001, Klose *et al.*, 2015).

Poměr mezi Pr a Pfr umožňuje rostlinám získávat informaci o kvalitě a intenzitě světelného záření. Činnost fytochromu A převládá zatlumeného světla, zatímco fytochromy B a C jsou aktivní za plného světla (Legris *et al.*, 2019). Fyziologickými pokusy bylo zjištěno, že fytochromy A a B u rostlin kultivovaných ve tmě se nachází v cytosolu a při deetiolicace je zprostředkován jejich transport do jádra buňky (Nagy *et Schäfer.*, 2000).

Absorpce FR je umožněna prostřednictvím fytochromů v konformaci Pfr (Shinomura *et al.*, 1996; Rockwell *et al.*, 2006). Je prokázáno, že FR vyvolává jaderný transport phyA, zatímco transport ostatních fytochromů je působením FR světlem inhibován. (Nagy *et Schäfer*, 2000; 2002). Při vysoké hustotě sadby rostlin dochází k tomu, že se v nižších patrech porostu snižuje poměr R:FR z toho důvodu, že na rozdíl od R je FR listy málo pohlcováno a listy prochází. V nižších patrech má rostlina tedy informaci, že je ve stínu a dochází k potlačování expanze listu, a naopak se zesiluje prodlužování rostliny. Redukce růstu listů vede k redukci vývoje kořenového systému a má to tedy negativní dopad na výnosy celé rostliny. Menší kořenový systém způsobí snížení příjmu živin, zvýšení citlivosti rostliny vůči suchu a ovlivní plasticitu kořenového systému (Pierik *et Testerink*, 2014).

3.1.2.2. Absorpce a účinky modrého světla

Modré světlo (B – blue light) je rostlinami využíváno pro identifikaci dávky a směru světelného toku. Rostliny umí tento signál překládat do elektrických, metabolických, genetických a fyziologických procesů, kterými jsou například fototropismus, otevírání a zavírání průduchů, raná inhibice prodlužování, pohyb a syntéza chloroplastů, pohyb jádra a regulace genové exprese. Modré světlo u rostlin také ovlivňuje osmoregulaci, degradaci škrobu a biosyntézu malátu, čímž moduluje pohyb stomat. Tato část světelného spektra je u rostlin pohlcována pomocí speciálních fotoreceptorů – kryptochromů a fototropinů (Taiz *et Zeiger.*, 2010).

U *Arabidopsis thaliana* jsou známy kryptotypy spjaté s interakcí s modrým a UV-A světlem: CRY1 a CRY2. Oba tyto proteinové pigmenty jsou akumulovány v jádře, přičemž kryptochrom 1 je více zastoupený typ (Lin *et al.*, 1995). CRY1 se uplatňuje zejména při deetiolicaci a CRY2 podporuje kvetení (Wang *et al.*, 2018). Modré světlo detekované prostřednictvím těchto kryptochromů způsobuje změny genové exprese u cca 10 až 20 % genů

(Ma *et al.*, 2001). Kryptochromy vnímají světlo prostřednictvím chromoforů. Tyto chromofory absorbují fotony a využívají získanou energii ke konformačním změnám proteinů. Hlavní signální molekulou je flavin adenin dinukleotid (FAD) a uvažuje se i kyselině 5,10-methylentetrahydrofolové (MTHF). Změna sekundární, terciální (případně i kvartérní) struktury je způsobená fotooxidací FAD a slouží pro zahájení světlem indukované signální změny, jako je třeba fotooligomerace (Liu *et al.*, 2010).

Další možností absorpce modrého světla rostlinami jsou fototropiny – PHOTs obsahující LOV doménu (Light Oxygen Voltage) (Gallagher *et al.*, 1988). Tyto receptory řídí činnost takzvaných tropických pohybů, které umožňují rostlině se vhodně orientovat vzhledem ke zdroji světla. Mimo pohybu rostlinných pletiv zprostředkovávají také subcelulární pohyb chloroplastů umožňující rostlinám efektivnější absorpci světla (Christie *et al.*, 1998).

3.1.3. Signální kaskáda přenosu světelného signálu

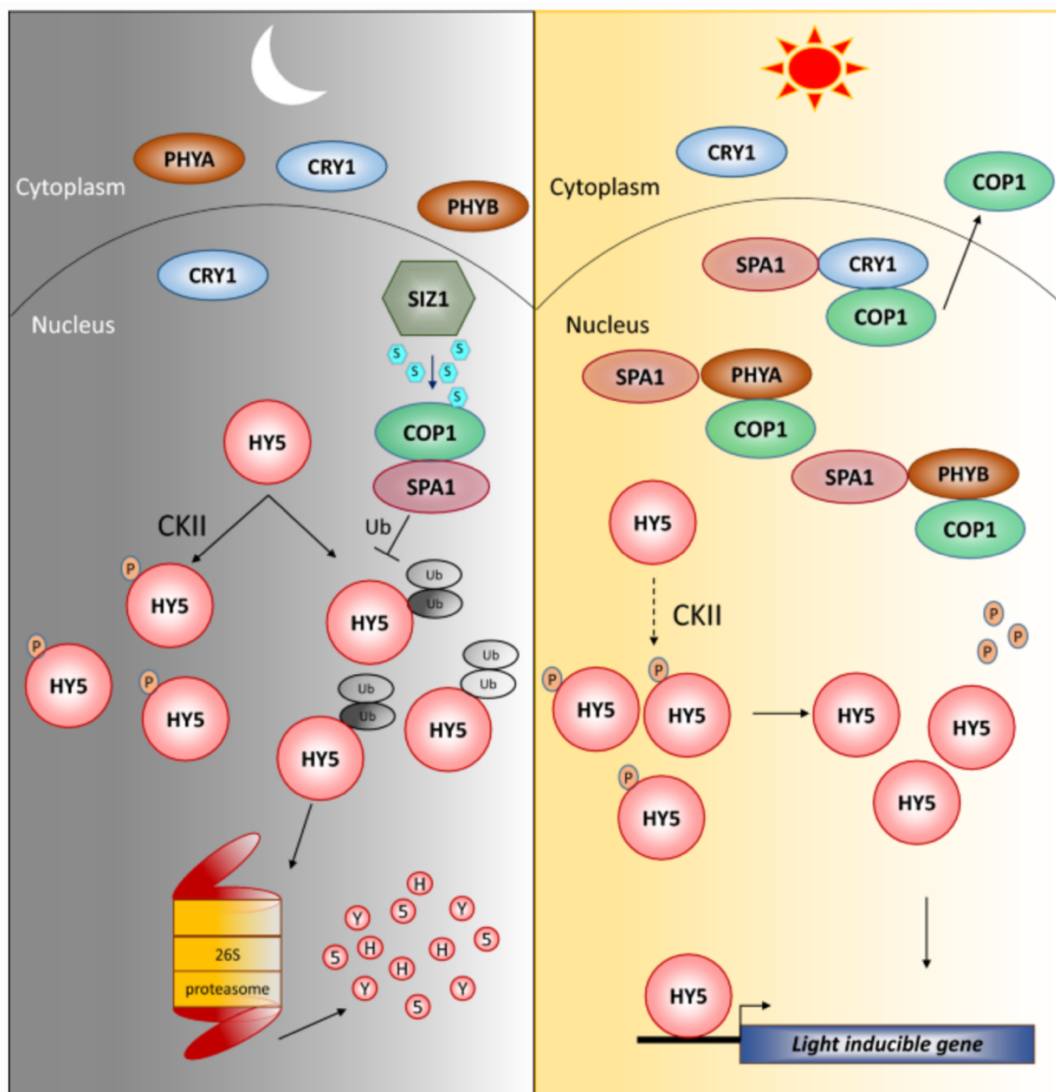
Světlo jakožto zdroj energie zahajuje kaskádu přenosu světelného signálu. První složkou této kaskády jsou fotoreceptory následované časnými signálními faktory, centrálními integrátory a konče efekty (Chory, 2010). Po zachycení signálu světla fotoreceptorem je informace přenesena do časných signalizačních faktorů. Příklady těchto faktorů jsou: PIFs (Phytochrome Interacting Factors), LAF1 (Long After Far-red 1) a HFR1 (long Hypokotyl in Far-Red 1), které přinášejí signál na efekty (v interakci s FHY1 – Far-red elongated HYpocotyl 1) a působí jako pozitivní regulační transkripční faktory fytochromu PHYA (Soh *et al.*, 2000; Jang *et al.*, 2013) a zároveň jsou všechny výše uvedené transkripční faktory substrátem pro COP1 E3 ligázu (Seo *et al.*, 2003; Saijo *et al.*, 2003; Jang *et al.*, 2005; Yang *et al.*, 2009).

Centrálními integrátory jsou proteiny COP (COnstitutive Photomorphogenic Protein), DET (De-ETiolated) a FUS. COP1 je ubiquitin E3 ligáza, která ve spojení se SPA proteiny vytváří represor fotomorfogeneze závislý na tmě. Svou činností způsobují degradaci transkripčních faktorů, čímž zabraňují spuštění fotomorfogeneze ve tmě (Saijo *et al.*, 2003). COP1 kooperuje také s PHYA, PHYB a CRY1 (Wang *et al.*, 2001; Yang *et al.*, 2001) a může způsobit jejich degradaci či omezit jejich počet (Shalitin *et al.*, 2002). COP1 je součástí proteinového komplexu s SPA (Suppressor of PhyA), jehož činností v komplexu je regulace aktivity E3 ubiquitinu (Podolec *et al.*, 2018). Celkový proteinový komplex je tedy složen ze dvou COP1 a dvou SPA proteinů (Han *et al.*, 2020).

HY5 (elongated HYpocotyl 5) je efektem u *Arabidopsis*, kde působí jako pozitivní regulátor fotomorfogeneze. Jakožto bZIP transkripční faktor se váže na promotory téměř 4000 genů, což mu umožňuje provádět celou řadu změn v genové expresi (Oyama *et al.*, 1997; Khurana *et al.*, 1998; Osterlund *et al.*, 2000). HY5 interaguje s COP1 – negativním regulátorem

fotomorfogeneze. Vzájemnou větší či menší kooperací zvyšují fenotypovou plasticitu rostlin. Oboustrannou interakcí mohou regulovat celou světelnou kaskádu od fotoreceptorů až po konečné efekторы a kontrolují procesy od fotomorfogeneze sazenic, přes kořenovou architekturu a kvetení, až po hormonální a stresovou signalizaci (Zhang *et al.*, 2011; Huang *et al.*, 2012; Jiang *et al.*, 2012).

Při skotomorfogenezi je COP1 směřován do jádra, kde degraduje transkripční faktor HY5 prostřednictvím ubiquitinace E3 ubiquitin ligázou. Degradace HY5 je navíc podporována také SIZ a fosforylovanými PIFs, které zvyšuje trans-ubiquitinační aktivitu COP1 (Bhatnagar *et al.*, 2020). HY5 značené ubiquitinem pak podléhá degradaci v proteasomu 26S (Shin *et al.*, 2016). Při fotomorfogenezi je naopak HY5 volně dostupný pro iniciaci transkripce, protože není komplexem COP1 ubiquitinovaný. Komplex COP1/SPA1 je v jádře inaktivovaný vazbou s CRY1, PHYA a PHYB a míří ven z jádra (Bhatnagar *et al.*, 2020).



Obrázek 1: Interakce HY5 a COP1v závislosti na světelných podmínkách (světlo/tma)
Převzato z: Bhatnagar *et al.*, 2020.

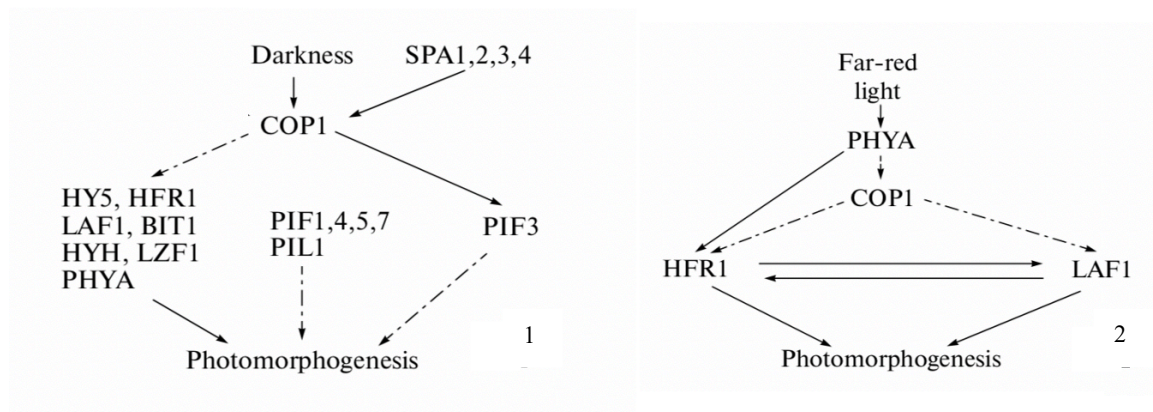
Studie genomu *Arabidopsis thaliana* provedená Ma *et al.*, 2001 prokázala, že až 20 % všech genů vykazuje rozdílnou expresi při kultivaci ve tmě a na světle. Tyto geny kódují mimo jiné také transkripční faktory, které působí jako pomocné proteiny a podílejí se na regulaci transkripční sítě (transkription network) zprostředkované světlem (Tepperman *et al.*, 2001).

Typickou ukázkou represe fotomorfogeneze prostřednictvím COP1 je pokus provedený vědeckým týmem Oyama *et al.*, 1997, který ukázal, že mutace genu *HY5* u *Arabidopsis thaliana* při kultivaci na světle vykazuje dlouhé protáhlé hypokotyly jinak typické pro etiolované sazenice. U tohoto mutantu však dochází k defektům laterálního kořenového systému, slábnutí kořenů a akumulaci chlorofylu a antokyanů (Holm *et al.*, 2002).

3.1.3.1. Transkripční faktory LAF1 a HFR1

Protein COP1 se ve tmě nezaměřuje pouze na degradaci HY5, ale i na degradaci dalších pozitivních regulátorů fotomorfogeneze jako jsou LAF1, HFR1 a HYH (Xu *et al.*, 2015). LAF1 je transkripční faktor, který se řadí do rodiny R2R3-MYB. Svou aktivitou ovlivňuje zprostředkování odpovědi na signály z fytochromu A. Mutant *laf1* vykazuje prodloužený hypokotyl a nízkou hladinu antokyanů (Ballesteros *et al.*, 2001; Seo *et al.*, 2003). HFR1 je taktéž pozitivní transkripční faktor bHLH podporující signalizaci dlouhovlnného červeného světla prostřednictvím PHYA. Mutanti *hfr1* stejně jako *laf1* vykazují prodloužené hypokotyly, avšak na hladinu antokyanů nemá tato mutace žádný efekt (Fairchild *et al.*, 2000; Soh *et al.*, 2000; Yang *et al.*, 2005). Existuje také vzájemná interakce mezi LAF1 a HFR1, která brání jejich ubiquitinaci E3 ligázou a zároveň společně zprostředkovávají silnější odpověď na signály pocházející z PHYA (Jang *et al.*, 2007).

Analýza, provedená v roce 2013 Jangem *et al.*, poskytla bližší pochopení vztahu mezi HY5 a transkripčními faktory LAF1 a HFR1. Bylo zjištěno, že LAF1 i HFR1 přenášejí signál z fytochromu A a interagují s HY5, avšak nikoli s jeho homologem HYH. Trojití mutanti *hy5-hfr1-laf1* s poruchou signální dráhy phyA jsou hyposenzitivní vůči FR a vykazují znaky jinak typické pro etiolovaný růst sazenic jako je dlouhý hypokotyl a nedostatek pigmentace (Jang *et al.*, 2007, Yang *et al.*, 2009). Dvojití mutanti *hfr1-laf1* vykazují kratší délku hypokotylů než trojití mutanti *hy5-hfr1-laf1*, ale stále delší než sigle-mutanti *hfr1* a *laf1* a WT, což pravděpodobně znamená, že tyto transkripční faktory fungují z části nezávisle na sobě a zároveň se jejich funkce částečně překrývají pravděpodobně díky heterodimerizaci (Jang *et al.*, 2007; 2013).



Obrázek 2: Interakce LAF1 a HFR1 s COP1 v závislosti na světelných podmínkách (tma/FR)

1 – Ve tmě jsou transkripční faktory degradovány prostřednictvím COP1. COP1 aktivuje PIF, které potlačují fotomorfogenezi.

2 – Při působení FR dochází k interakci mezi LAF1 a HFR1 a aktivaci fotomorfogeneze.

Převzato z: Smirnova *et al.*, 2011

3.2. Abiotický stres

Rostliny se musí neustále přizpůsobovat podmínkám prostředí, ve kterém se nacházejí. Změny okolního prostředí působící na rostliny mají za následek morfologické či fyziologické adaptace zapříčiněné změnami na transkripční či translační úrovni (Brinker *et al.*, 2010; Sablok *et al.*, 2017).

Stresové podmínky můžeme rozdělit do dvou skupin: biotické (stres způsobený interakcí rostliny s živým organismem) a abiotické (vyvolané jinak než kontaktem rostliny s patogenem). Abiotické stresy jsou způsobené zejména následujícími faktory: vodní stres, výrazné změny teploty a světla, přebytek nebo naopak nedostatek živin, těžké kovy, UV záření a neposlední řadě také salinita půdy (Byrt *et al.*, 2018). Všechny tyto faktory mohou představovat negativní vliv na fyziologický růst a výnos rostlin, pokud jsou jejich hodnoty vychýleny z rovnováhy (Taiz *et Zeiger.*, 2010). To představuje problém především v souvislosti se zemědělstvím, protože u pěstovaných plodin se usiluje o největší možné množství vyprodukované biomasy (Epstein *et al.*, 1980).

3.2.1. Salinita

Salinita je typ abiotického stresu způsobený zvýšenou koncentrací iontů, které se za normálních podmínek v půdě vyskytují, avšak v minimální koncentraci, typicky Na^+ a Cl^- . Kromě iontů sodíku a chlóru mohou ale salinitu způsobovat i jiné ionty, jako například Ca^{2+} , Mg^{2+} nebo

SO_4^{2-} , dále prvky jako N a P a mikroelementy (As, Cd, Ni, Zn, Se) (Epstein *et* Bloom, 2005). Salinita půdy může být také charakterizována jako koncentrace NaCl v půdě vyšší než 40 mM NaCl, která indukuje osmotický tlak 0,2 MPa (Munns *et* Tester, 2008).

Slanost půdy je v některých oblastech přirozeným jevem, ke kterému dochází hlavně v pobřežních lokalitách, ale objevuje se i ve vnitrozemí. Případy vzniku a rozšiřování salinity mohou být způsobeny záplavami mořskou vodou nebo jejím průsakem, zvětráváním hornin a minerálů, či rozšiřováním slaného písku větrem. Mimo přirozený vznik salinity může být vyšší koncentrace solí v půdě způsobená také činností člověka. Mezi hlavní zdroje zasolení půdy lidskou aktivitou patří nesprávné hnojení, špatné hospodaření s vodou, splachy silničních posypů, nebo zavlažování polí vodou s vyšším obsahem solí (Ahmad *et al.*, 2013). Se zasolením se dle údajů FAO potýkáme na více než 800 milionech hektarech půdy (tj. asi 6,5 % z celkového světového půdy), přičemž nejhorší situace v souvislosti se zasolením je zaznamenána v oblasti severovýchodní Číny (Rozema *et* Flowers, 2008).

Rostliny, které jsou adaptované na vyšší obsah solí v půdě, jsou označovány jako halofyty. Halofytní rostliny jsou schopné snášet koncentrace vyšší než 200 mM NaCl a patří mezi ně například *Atriplex*, *Vesicaria*, *Populus euphratica* či *Thellungiella halophila*. Většina rostlin je však mnohem méně tolerantní ke stresu zasolením. Takové rostliny pak zvládají maximální koncentrace NaCl v řádech jednotek až desítek mM a jsou řazeny mezi nehalofyty neboli glykofyty (Flowers *et al.*, 2010; Ali *et al.*, 2017).

3.2.1.1. Důsledky stresu zasolením

Důsledky stresu zasolením mohou být rozděleny na primární a sekundární efekty. Mezi primární efekty patří: osmotický stres způsobený nedostatkem vody a iontový stres zapříčinění zvýšeným množstvím solí v půdě. Jako sekundární efekty pak označujeme oxidativní stres, tvorbu kyslíkových radikálů ROS, degradace lipidových membrán, proteinů a nukleových kyselin vedoucí k vývojovým změnám metabolismu i fyzického vzhledu rostlin. Při dlouhodobém působení stresu mohou být takové změny pro rostliny fatální a mohou zapříčinit až buněčnou smrt (Hasegawa *et al.*, 2000; Zhu, 2002).

Při nejčastější příčině zasolení, tedy zvýšené koncentraci NaCl, dochází k porušení rovnováhy iontů v buňkách. Akumulování Na^+ v rostlinných kořenových buňkách způsobuje vytlačování kationtů Ca^{2+} z jejich vazebných míst a tím je narušován proces primárního růstu a síťování pektinů v kořenech (Byrt *et al.*, 2018). Nadbytek sodných iontů způsobuje také změnu permeability plazmatické membrány, narušuje iontovou homeostázu a v neposlední řadě vytlačuje esenciální iont K^+ . Anionty chloru zase se akumulují v chloroplastech a tím inhibují proces fotosyntézy (Taiz *et* Zeiger., 2010; Munns *et* Tester, 2008).

Stres způsobený vysokou koncentrací iontů vyvolává také osmotický stres, který se projevuje nízkým vodním potenciálem v půdě, a tím i snížením osmotického potenciálu v kořenech rostlin. Kvůli tomu dochází k narušení transportu vody tělem rostliny (Taiz *et Zeiger*, 2010). Nedostatek vody v rostlinných buňkách pak způsobuje celou řadu fyziologických změn. Jednou z nich je zvýšená tvorba kořenového systému. U listů naopak dochází vlivem osmotického stresu k inhibici růstu, a dokonce i snížení počtu listů (Munns, 2002).

3.2.1.2. Redukce stresu zasolením

V případě zasolení půdy jsou kořeny rostlin schopné eliminovat přebytečný příjem solí prostřednictvím tzv. Caspariho proužků. Caspariho proužky jsou specializované impregnované membrány nacházející se v kořenech, kde brání průchodu iontů apoplastickou cestou. Díky nutnosti iontů přejít do symplastické cesty se znesnadní jejich průchod do xylému k transpiračnímu proudu a omezí se tak jejich šíření do nadzemních částí rostlin (Chen *et al.*, 2011).

Pro schopnost rostlin redukovat solný stres je nejprve důležité jeho rozpoznání. K zaznamenání nadbytku Na^+ rostlinám slouží tzv. proteiny SOS (Salt Overly Sensitive). SOS dráha se nachází v plazmatické membráně, kde působí jako Na^+/H^+ antiporter a vytlačuje Na^+ ven z buněk (Zhu, 2002; Shi *et al.*, 2002). Dále existují také transportéry, které umožňují přenos sodných iontů z cytosolu do vakuoly. Takovým transportérem je AtNHX1, který zprostředkovává kompartmentaci Na^+ do vakuoly, a naopak vytlačuje ionty H^+ z vakuoly ven. Do tohoto řetězce jsou zapojeny také Ca^{2+} , jež podporují činnost AKT1, které přednostně transportují K^+ do cytosolu, a tím jsou sníženy důsledky zasolení na rostlinné buňky (Taiz *et Zeiger.*, 2010). Tento mechanismus byl nalezen u glykofytů i halofytů (Vera-Estrella *et al.*, 2005).

Jednou z prvních reakcí rostlin v přítomnosti vyššího obsahu solí je produkce antioxidantních látek, které mají za úkol zneškodnit vzniklé ROS a podpořit tvorbu sekundárních metabolitů. Nejčastěji se jedná o látky fenolické podporující biosyntézu isoorientinu, orientinu, vitexinu či rutinu (Lim *et al.*, 2012; Pappalardo *et al.*, 2020). Důležitá pro buňky listové epidermy je biosyntéza antokyanů, které pomáhají snižovat osmotický potenciál solí v těchto buňkách (Chalker-Scott, 2002).

Dalším mechanismem, kterým rostliny reagují na osmotický a iontový stres je změna genové exprese. Jedním z genových produktů indukovaných osmotickým stresem jsou tzv. LEA proteiny (Goyal *et al.*, 2005). Tyto proteiny působí jako molekulární chaperony ochraňující proteiny před agregací, která jim vlivem dehydratace buněk hrozí (Yang *et al.*, 2020).

Naopak protein PSRP2, též nalezený u rostliny *Arabidopsis thaliana*, negativně ovlivňuje klíčivost a růst sazenic v médiu s vysokým obsahem solí (Xu *et al.*, 2013).

Stresové podmínky, kterým jsou mnohdy rostliny vystavené, mohou být redukovány také prostřednictvím fytohormonů. Typickým příkladem rostlinného hormonu produkovaného při boji se suchem, zasolením nebo chladem je kyselina abscisová (ABA) (Nambara *et Marion-Poll*, 2005). ABA je isoprenoidní signální molekula, která je zodpovědná za celou řadu procesů od uzavírání stomat, přes fyziologickou adaptaci až k regulaci exprese některých genů (Sah *et al.*, 2016). ABA též stimuluje tvorbu rozpustných látek napomáhajících rostlinám udržovat osmotický tlak nezbytný pro zajištění příjmu vody a chrání důležité proteiny a membrány (Hasegawa, 2013).

Vědci také popsali důležitou roli tzv. malých RNA v boji s abiotickými stresy, a to především některých mikroRNA (miRNA) (Tang *et al.*, 2003). MiRNA jsou malé okolo 21- až 26-nukleotidů dlouhé nekódující molekuly RNA, vyskytující se ve většině eukaryotních buněk. Hlavní funkcí těchto molekul u rostlin je regulace exprese mRNA (Kooter *et al.*, 1999). Ve studii Omidvar *et al.*, 2015 autoři naznačili roli konkrétních miRNA (miR156, miR166, miR472, miR482 a miR#D) v časných reakcích na stres způsobený NaCl, manitolem a ABA u mutanta *7B-1*.

3.3. Vliv světla na schopnost rostlin tolerovat stres zasolením

Souvislost mezi schopností tolerovat stres zasolením a účinky světelného záření byly pozorovány u mutantní rostliny *7B-1* rajčete (*Solanum lycopersicum* L.). Jedná se o mutanta vyznačujícího se samčí pylovou sterilitou, u kterého byla zjištěna zvýšená odolnost vůči vysokým koncentracím solí (jako jsou NaCl, Na₂SO₄, KCl a K₂SO₄), mannitolu a polyethylenglykolu v porovnání s odpovídajícím kontrolním genotypem (cultivar Rutgers). Tuto schopnost tolerance abiotických faktorů mutanta *7B-1* lze potlačit fluridonem či inhibicí biosyntézy kyseliny abscisové ABA, a proto je vyšší odolnost tohoto mutanta dávána do souvislosti se zvýšeným obsahem endogenní ABA v semenech. Obecně lze říct, že mutanty s vyšším obsahem ABA v semenech jsou tolerantnější k většině abiotických stresů (Koornneef *et al.*, 1982; Fellner *et Sawhney*, 2001).

Při pokusech s mutantem *7B-1* a WT byla sledována jejich citlivost k zasolení vlivem NaCl. Z výsledků studie vyplývá, že světlo zesiluje inhibiční účinek na klíčivost semen při současném působení abiotických stresů tím, že reguluje biosyntézu ABA (Fellner *et Sawhney*, 2001; Fellner *et al.*, 2001). V další studii provedené s mutantem *7B-1* byl pozorován vliv B na jejich klíčivost. Bylo prokázáno, že B snižuje schopnost rostlin rajčete klíčit a prodlužovat hypokotyly při absenci i za přítomnosti osmotického stresu (Fellner *et Sawhney*, 2002; Shimazaki *et al.*, 2007).

Vlivem světla dochází ke změnám regulujícím hladiny hormonů (auxinů, giberelinů, cytokininů, brasinosteroidů, kyseliny abscisové a ethylenu), které jsou více či méně zapojené do schopnosti rostlin tolerovat abiotické stresy (Kraepiel *et* Miginiac, 1994). Například hypokotyly mutanta *7B-1* vykazují zvýšenou hladinu endogenní ABA a zároveň relativně nízkou koncentraci giberelinů, auxinů i cytokininů, avšak přesto jsou jejich hypokotyly delší než hypokotyly WT, a to především na B (Fellner *et* Sawhney., 2002). Zvýšení hladiny ABA v důsledku zasolení vede k inhibici exprese BSK5. Tato BR-signální kináza blokuje tvorbu komplexu BES1-PIF4, který by za normálních podmínek (bez zvýšené koncentrace solí) podporoval prodloužení a růst rostlin vyvolané účinek FR (Hayes *et al.*, 2019).

Mezi otázky výzkumu patří i to, zda změna poměru mezi R a FR ovlivňuje schopnost rostlin tolerovat stres zasolením. Vědecké studie potvrzují hypotézu, že nižší hodnota poměru R:FR pozitivně ovlivňuje schopnost tolerovat abiotický stres (Cao *et al.*, 2018; Courbier *et* Pierik, 2019).

Při reakcích rostlin na biotické i abiotické stresy mají prokázány účinek HY5 a COP1. HY5 pomáhá redukovat následky stresu, tím že aktivuje obranné reakce v červeném světle. Tento R-indukovaný proces označujeme jako EDS1 (Enhanced Disease Susceptibility 1). Dále se také HY5 váže na promotory genů WRKY zapojené do obranných reakcí rostlin (Lee *et al.*, 2007; Rushton *et al.*, 2010; Gangappa *et* Botto 2016; Bhatnagar *et al.*, 2020).

Komplex HY5-COP1 působí jako antagonist a vůči inhibici klíčení semen v zasolených půdách. Vlivem zasolení však dochází ke stabilizaci HY5 a akumulaci COP1 v cytosolu, z čehož Yu *et al.*, 2016 vyvodili, že COP1 působí jako negativní regulátor klíčivosti semen za přítomnosti solí. Dále bylo zjištěno, že COP1 negativně ovlivňuje hladiny SIZ1 a E3 modifikátoru a snižuje tak schopnost rostlin reagovat na stresové podmínky (Kim *et al.*, 2016).

Vlivem zasolení prostředí dokáže HY5 zprostředkovat biosyntézu prolinu, čímž přispívá k aktivaci P5CS1 a PDH1 (Kovács *et al.* 2019). Proto mutant *cop1-4* vykazoval vysokou hladinu prolinu v listech v normálně zavlažované i suché půdě (Moazzam-Jazi *et al.*, 2018).

V review D'Amico-Damião *et* Carvalho, 2018 se dozvídáme o transgenních liniích *TaCRY1* a *TaCRY2* (z *Triticum aestivum*). Obě tyto linie *Arabidopsis* overexprimující fotoreceptory CRY1 nebo CRY2 vykazují zvýšenou citlivost na solný stres oproti kontrolním rostlinám (Xu *et al.*, 2009). Přecitlivělost na solný stres rovněž vykazuje i transgenní linie *SbCRY1* (Sharma *et al.*, 2014).

Jedním z faktorů související se světlem i zasolením je malá GTPáza LIP1 (Light Insensitive Period 1) nalezená u *Arabidopsis thaliana* (Kevei *et al.*, 2007). U LIP1 bylo prokázáno, že se podílí na zprostředkování fotomorfogeneze řízené fytochromem B, je složkou signální kaskády pro R i B a současně je nutná pro toleranci vůči zasolení (Terecskei *et al.*, 2013).

Dalším mechanismem tolerance zasolení ovlivněným světelnou signalizací jsou STO proteiny (Salt Tolerance protein), které jsou součástí B-boxu (typu Zn-finger). V souvislosti s nimi bylo prokázáno, že působí jako negativní regulátory fotomorfogeneze (při B, R i FR) a zároveň pozitivní regulátory tolerance solí. Při studiu *sto*-T-DNA mutantů se však žádná výrazná změna tolerance zasolení neprokázala (Datta *et al.*, 2007; Indorf *et al.*, 2007).

3.3.1. Tolerance sucha v souvislosti se světelným zářením

Protože půdní salinita způsobuje do jisté míry také osmotický stres, rozhodla jsem se zde zařadit také mechanismy tolerance abiotického stresu způsobeného nedostatkem vody. Světlem řízené mechanismy tolerance tohoto abiotického stresu byly shrnuty v review Roeber *et al.*, 2021. Jak již bylo výše řečeno, jedním z nejdůležitějších mechanismů zvládnutí sucha rostlinami představuje kyselina abscisová. ABA a její signální kaskáda je zapojena do celé řady regulačních procesů, přes regulaci exprese činností transkripčních faktorů, až k regulaci otevírání a zavírání průduchů (Outlaw, 2003; Kim *et al.*, 2012). Je známo, že ABA potlačuje signalizaci modrého světla, které by za normálních podmínek iniciovalo otevření průduchů (Marten *et al.*, 2007; Inoue *et al.*, 2017).

Otevírání stomat je indukováno reakcí na B i R. Červené světlo otevírá průduchy prostřednictvím fotosyntézy, zatímco fototropiny pro B indukují signál pro jejich otevření aktivací H⁺-ATPasové pumpy v plazmatické membráně (Shimazaki *et al.*, 2007; Mott *et al.*, 2008; Kinoshita *et al.*, 2003).

Osmotickou nerovnováhu indukovanou zasolením, suchem nebo chladem v rostlinných buňkách pomáhají ustavovat aquaporiny PIP. Tyto proteiny plazmatické membrány napomáhají k udržování turgoru a lepšímu vodnímu hospodaření. V kontextu s vlivem B bylo u mutantu *7B-1* prokázána snížená exprese *PIP* genů a tím částečná minimalizace vodní ztráty (Lian *et al.*, 2004; Balarynová *et al.*, 2018).

V souvislosti s otevíráním průduchů byl prokázán účinek CRY1, který kooperuje s COP1 při otevírání průduchů na modrém světle. Ze studie mutantů *cry1* a *cry2 Arabidopsis thaliana* pak vyplývá, že tyto mutanti jsou schopni lépe tolerovat stres způsobený suchem než divoký typ WT. Mutant s potlačenou expresí CRY1 vykazuje sníženou ztrátu vody vlivem omezení otevírání průduchů vlivem B a patrně i sníženou hustotu průduchů (Mao *et al.*, 2005; D'Amico-Damião *et al.*, 2021). Dalšími pokusy s *Arabidopsis* bylo zjištěno, že mutant *phyB* je citlivější vůči suchu než WT (González *et al.*, 2012). PhyB totiž za normálních podmínek urychluje uzavírání průduchů a tím omezuje ztrátu vody (Boccalandro *et al.*, 2009).

4. Materiál a metody

4.1. Rostlinný materiál

Pro fyziologickou studii úlohy fotomorfogenních transkripčních faktorů HFR1 a LAF1 v toleranci rostlin k zasolení byla použita následující semena rostlin *Arabidopsis*:

- *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. ekotypu Landsberg *erecta* (Ler).
- *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. ekotypu Columbia (Col).
- Recesivní single-gene mutant *laf1* (T-DNA insertion) odvozený od ekotypu Landsberg *erecta* (Ler).
- Recesivní single-gene mutant *hfr1-201* (T-DNA insertion) odvozený od ekotypu Columbia (Col).
- Recesivní dvojitý (double gene) mutant *HFR1RNAi/laf1* odvozený od ekotypu Landsberg *erecta* (Ler).

Semena mutantů byla laskavě poskytnuta Nam-Hai Chua (The Rockefeller University, New York, USA)

4.2. Použité chemikálie a roztoky

- Murashige & Skoog médium (MS médium, Basal salt mixture) (Duchefa Biochemie, The Netherlands, kat. č. M0221.0050) (Murashige and Skoog, 1962)
- Sacharosa
- Morpholinoethanesulfonic acid (MES)
- Phyto agar (Duchefa Biochemie, The Netherlands, kat. č. P1003.1000)
- Roztok KOH o koncentraci 1 mol l⁻¹
- Roztok NaCl o koncentraci 5 mol l⁻¹
- Zředěný roztok přípravku Savo (NaClO, obsah aktivního chloru 1,4 %) pro sterilizaci semen
- 70% a 96% ethanol pro sterilizaci pracovní plochy a pomůcek
- Sterilní deionizovaná voda

4.3. Použité přístroje a zařízení

- Laminární flowbox (Horizontal Laminar Airflow Clean Bench, Thermo Scientific)
- Automatizovaná kultivační komora se zdrojem modrého světla (Microclima 1000E, Snijders Scientific, Nizozemsko); zdrojem modrého světla byly trubice Philips TLD-36 W/18-Blue (Philips USA) s maximální ozářeností 10 μmol m⁻²s⁻¹ při 440 nm

- Automatizovaná kultivační komora se zdrojem červeného světla (Microclima 1000E, Snijders Scientific, Nizozemsko); Zdrojem červeného světla byla trubice Philips TLD-36 W/15-Red (Philips, USA) s maximální ozářeností $10 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ při 660 nm
- Analytické váhy (A&D, GH-200 EC)
- Předvážky (A&D EJ-120)
- pH metr (WTW, Sigma-Aldrich)
- Magnetická míchačka (ARE, VELP Scientifica)
- Mikrovlnná trouba (CM 1099, Samsung)
- Parní autokláv
- Lednice

4.4. Použité experimentální a vyhodnocovací postupy

4.4.1. Navážení a stratifikace semen

Pro každý experiment bylo na analytických vahách naváženo 6 mg semen experimentálních genotypů a přeneseno do 1,5 ml mikrozkušavky. Do mikrozkušavek se semeny byl přidán 1 ml sterilní deionizované vody. Takto připravená semena v označených mikrozkušavkách byla protřepána a stratifikována ve tmě v lednici (+4 °C) po dobu 3 dnů.

4.4.2. Příprava MS média

Do 3l Erlenmeyerovy baňky byl přidán přibližně 1 l deionizované vody a baňka byla umístěna na magnetickou míchačku. Na předvážkách bylo naváženo a za stálého míchání postupně přidáno a rozpuštěno 20 g sacharózy a 8,6 g MS média. Na analytických vahách bylo naváženo 390,4 mg MES, které bylo rovněž přidáno do roztoku v Erlenmeyerově baňce. Poté byl objem v baňce doplněn do 2 l deionizovanou vodou a pH roztoku bylo upraveno na hodnotu 6,1 pomocí KOH o koncentraci 1 mol l^{-1} . Dále bylo do pěti 0,5l termoláhví na předvážkách naváženo do každé láhve 2,8 g agaru a pomocí odměrného válce přidáno 400 ml připraveného roztoku MS média. Termoláhve byly uzavřeny, jejich víčko bylo obaleno alobalem a přelepeno autoklávovací páskou. Médium bylo sterilizováno v parním autoklávu. Popsané sterilizované termoláhve s médiem byly skladovány v lednici. Před použitím byl odstraněn alobal, povoleno víčko termoláhve a předpřipravené MS médium bylo rozehráno v mikrovlnné troubě nastavené na střední ohřev po dobu přibližně 5 minut.

4.4.3. Výsev semen na MS médium

Po 3 dnech byla od stratifikovaných semen odpipetována voda a byla provedena povrchová sterilizace semen přidáním 1 ml 1,4% roztoku Sava po dobu 30 minut. Mezitím bylo rozehraté

MS médium pomocí sterilní 50ml plastové centrifugační zkumavky rozlito do 12 Petriho misek (20 ml MS média do každé misky). Po uplynutí 30minutové doby sterilizace semen byl roztok Sava odpipetován a semena byla šestkrát promyta sterilní deionizovanou vodou. Takto připravená semena byla pomocí automatické pipety (2-20 μ l) se seříznutou špičkou vyseta na povrch ztuhlého MS média (cca. 50 semen na misku). Všechny tyto kroky byly provedeny za sterilních podmínek v laminárním flowboxu se semeny mutantů (6 Petriho misek) i kontrolních genotypů (6 Petriho misek). Popsané misky byly oblepeny dvěma vrstvami fixační pásky Softpore (Batist Medical, a.s., Česká republika), zabaleny do alobalu a semena byla kultivována v růstové komoře po dobu 3 dnů při teplotě 23 °C.

4.4.4. Transfer semen na MS médium s NaCl

Byla připravena koncentrační řada MS média s přídavkem NaCl o koncentracích 0, 50, 100, 150 mmol l^{-1} . Do sterilní Erlenmeyerovy baňky bylo pomocí sterilní 50ml plastové centrifugační zkumavky přeneseno 120 ml rozeřátého MS média. Pomocí automatické pipety byl do Erlenmeyerovy baňky přidán požadovaný objem zásobního roztoku NaCl o koncentraci 5 mol l^{-1} a směs byla ihned promíchána. Takto připravené MS médium s obsahem NaCl bylo opět pomocí sterilní 50ml plastové centrifugační zkumavky rozlito do 6 Petriho misek (20 ml MS média do každé misky). Postup byl opakován pro další sadu 6 misek o vyšší koncentraci NaCl. Příprava MS média s obsahem NaCl byla provedena za sterilních podmínek v laminárním flowboxu

Tabulka 1: Objem zásobního roztoku NaCl o koncentraci 5 mol l^{-1} potřebný pro přípravu 120 ml MS média s obsahem NaCl o koncentraci 0, 50, 100 a 150 mmol l^{-1}

Požadovaná koncentrace NaCl v MS médiu [mmol l^{-1}]	Objem zásobního roztoku NaCl [ml]
0	0
50	1,2
100	2,4
150	3,6

Semena vysetá před 3 dny na základním MS médiu byla přenesena na připravené MS médium s obsahem NaCl pomocí měkké pinzety tak, že bylo dodrženo shodné spektrum velikosti rostlin. V ideálním případě byly transferovány 2–3 malé, 3 střední a 2–3 velké klíče

rostliny *Arabidopsis*. Transfer byl proveden za sterilních podmínek v laminárním flowboxu stejným způsobem s rostlinami mutantů (3 Petriho misky od každé koncentrace, celkem 12 misek) i s rostlinami kontrolních genotypů (3 Petriho misky od každé koncentrace, celkem 12 misek). Popsané misky byly oblepeny dvěma vrstvami fixační pásky Softpore. Jedna sada misek (0, 50, 100 a 150 mmol l⁻¹) byla zabalena do alobalu a umístěna do kultivační komory (D – dark). Druhá sada semen byla kultivována v růstové komoře se zdrojem modrého světla (B) a poslední sada v růstové komoře se zdrojem červeného světla (R). Semenačky byly kultivovány po dobu 7 dní při teplotě 23 °C.

4.4.5. Vyhodnocení experimentu a zpracování výsledků

Po 7denní kultivaci transferovaných rostlin *Arabidopsis thaliana* na MS médiu s NaCl ve tmě, na modrém a červeném světle (D/B/R) byla provedena měření délky kořenů a hypokotylů každé rostliny a výsledky měření byly zaznamenávány do tabulek. Měření bylo provedeno na tmavém pozadí pomocí pravítka. Pomocí programu Microsoft Excel pak byly vypočítány průměrné hodnoty délek kořenů a hypokotylů při jednotlivých koncentracích NaCl v závislosti na světelných podmínkách. Experimenty s jednotlivými mutanty a jejich kontrolními genotypy byly provedeny vždy ve třech opakováních, které byly rovněž zprůměrovány, byla u nich stanovena směrodatná odchylka, střední chyba průměru a procento inhibice. Z těchto výsledků byly následně učiněny závěry a zhotoveny grafy.

Vzorec pro výpočet směrodatná odchylky:

$$s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

V našem případě byla použita funkce Microsoft Excel – SMODCH.VÝBĚR.

Vzorec pro výpočet střední chyby průměru:

$$SE = \frac{s}{\sqrt{o}}$$

s ... směrodatná odchylka daných hodnot

o ... počet hodnot, které jsou průměrovány

Vzorec pro výpočet procenta inhibice:

$$\% \text{ inhibice} = \frac{\bar{l}_0 - \bar{l}_x}{\bar{l}_0} \cdot 100 [\%]$$

\bar{l}_0 ... průměrná délka kořene (hypokotylu) při koncentraci NaCl 0 mmol l⁻¹

\bar{l}_x ... průměrná délka kořene (hypokotylu) při koncentraci NaCl u níž chceme zjistit procento inhibice

5. Výsledky

V podmínkách *in vitro* byly provedeny fyziologické studie růstu rostlin *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. pro stanovení úlohy transkripčních faktorů LAF1 a HFR1 v toleranci rostlin k zasolení. Pro tyto experimenty byly použity mutantní rostliny *laf1*, *hfr1-201* a dvojitý mutant *HFR1RNAi/laf1 Arabidopsis*. Po 7denní kultivaci rostlin v prostředí obsahující NaCl (koncentrace 50, 100 a 150 mmol l⁻¹) v závislosti na světelných podmínkách (D/B/R) bylo provedeno měření délek hypokotylů a kořenů.

Následující výsledky studií jsou rozdělené do 2 částí zaměřujících se zvláště na prodlužování hypokotylů a kořenů. Z průměrných délek hypokotylů (případně kořenů) po 3 opakováních byla vypočtena průměrná délka hypokotylů za daných podmínek, standardní chyba průměru a procento inhibice.

Semena *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. ekotypu Landsberg *erecta* (*Ler*) byla použita jako kontrolní genotyp jak pro mutantu *laf1*, tak i pro dvojitého mutantu *HFR1RNAi/laf1*. Proto byly naměřené hodnoty kořenů i hypokotylů pro tento WT zprůměrovány a bylo s nimi zacházeno jako s kontrolním genotypem pro oba mutanty, které z něho byly odvozeny.

5.1. Studium délky hypokotylů

Fyziologické studie sledující růst hypokotylů rostlin *Arabidopsis thaliana*, konkrétně ekotypu Landsberg *erecta* (*Ler*) a z něho odvozeného recesivního single-gene mutantu *laf1*, v závislosti na světelných podmínkách (D/B/R) a koncentracích NaCl (0, 50, 100, 150 mmol l⁻¹ NaCl) sloužily pro stanovení role proteinu LAF1 v toleranci růstu hypokotylů ke stresu zasolením.

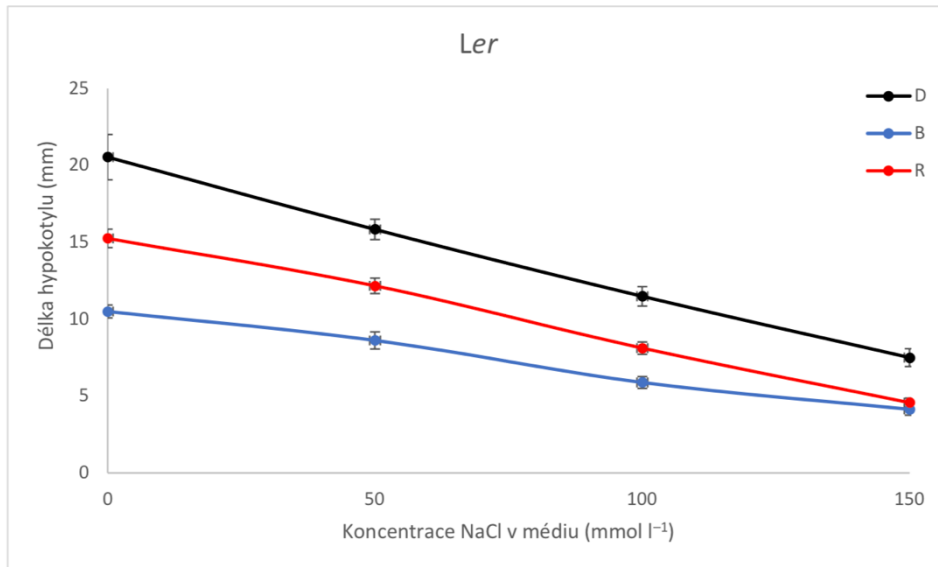
Stejně experimenty byly provedeny u rostlin *Arabidopsis thaliana* ekotypu Columbia (*Col*) a z něho odvozeného recesivního single-gene mutantu *hfr1-201* za účelem prokázání nebo vyloučení úlohy proteinu HFR1 v toleranci hypokotylů ke stresu zasolením.

Pro informaci o možné funkční interakci proteinů LAF1 a HFR1 v růstu hypokotylů vystavených stresu zasolení byly provedeny tytéž experimenty i s recesivním double-gene mutantem *HFR1RNAi/laf1*.

5.1.1. Mutant *laf1*

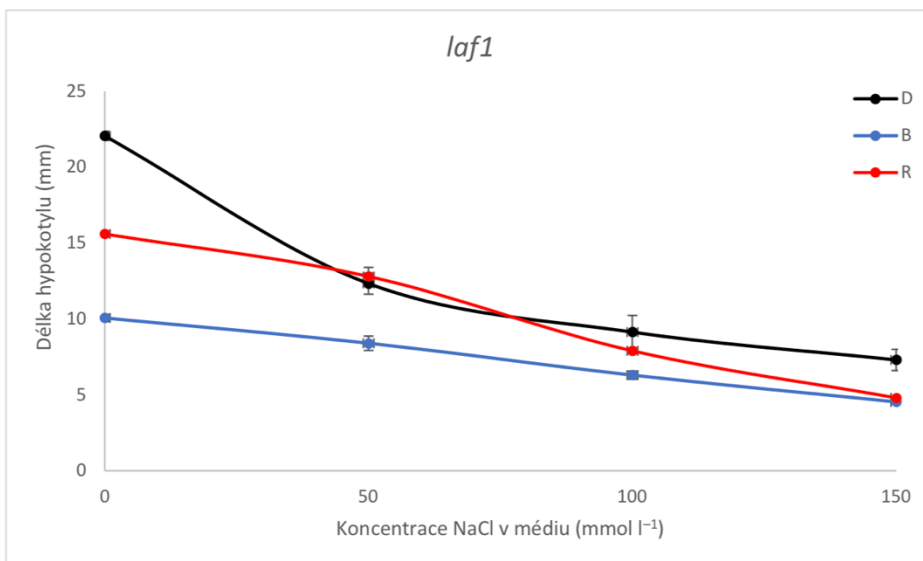
Na obrázku 3 je názorně vidět, že prodlužování hypokotylů WT (tedy ekotypu *Ler*) bylo inhibováno světlem (B i R). Na médiu bez přítomnosti NaCl dosahují etiolované hypokotyly průměrné délky 20,5 mm, zatímco účinkem světla dochází k fotomorfogenezi, která vede k inhibici růstu hypokotylů. V případě R byla průměrná délka hypokotylů rostlin *Ler* 15,3 mm, při B pak pouze 10,5 mm. Této skutečnosti odpovídá i fakt, že B má kratší vlnovou délku

a tím pádem vyšší energii než R – inhibice růstu hypokotylů je tím pádem silnější. Stejný světelný inhibiční účinek jako v případě *Ler* můžeme pozorovat i u rostlin mutanta *laf1* (Obrázek 4).



Obrázek 3: Délka hypokotylů rostlin *Arabidopsis thaliana* ekotypu *Landsberg erecta* při různém stupni solného stresu (0, 50, 100 a 150 mmol l⁻¹ NaCl) v závislosti na světelných podmínkách (D/B/R).

Hodnoty vynesené do grafu představují průměrnou délku hypokotylu ± SE získanou ze tří nezávislých experimentů.

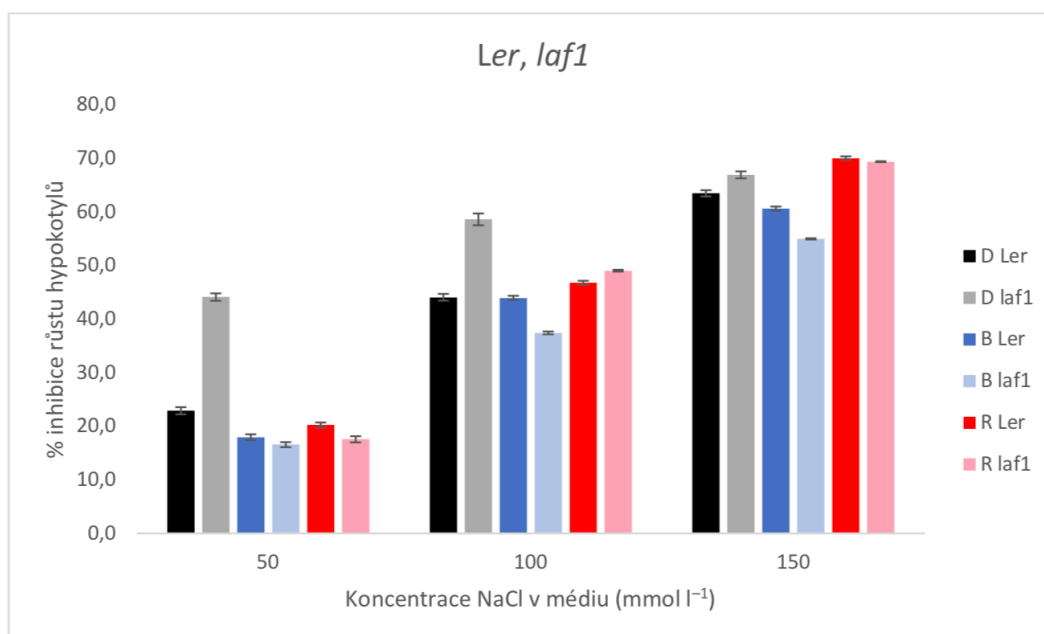


Obrázek 4: Délka hypokotylů rostlin *Arabidopsis thaliana* mutanta *laf1* při různém stupni solného stresu (0, 50, 100 a 150 mmol l⁻¹ NaCl) v závislosti na světelných podmínkách (D/B/R).

Hodnoty vynesené do grafu představují průměrnou délku hypokotylu ± SE získanou ze tří nezávislých experimentů.

U kontrolních rostlin *Ler* nebyl pozorován výraznější vliv světla na snížení nebo naopak zvýšení citlivosti hypokotylů k zasolení. V případě single-gene mutanta *laf1* bylo zjištěno, že toleranci k zasolení zvyšuje jak B, tak i R. Zejména při koncentraci NaCl 50 mmol l⁻¹ je inhibice růstu hypokotylů v D 44,1 %, u B i R byla zaznamenána inhibice pouze okolo 17 %. Také při koncentraci 100 mmol l⁻¹ NaCl v médiu dosahovala inhibice růstu hypokotylů téměř 59 %, zatímco při R to bylo 49 % a při B pak 37,4 %. Při vyšší koncentraci, tedy 150 mmol l⁻¹ už tento účinek zvyšování tolerance k zasolení v případě R nezaznamenáváme, ale u rostlin kultivovaných při B je stále patrný (Obrázek 5).

Po porovnání hodnot procentuální inhibice růstu hypokotylů vlivem NaCl kontrolních rostlin *Ler* s mutanty (*laf1*) v obrázku 5 je patrné, že za námi testovaných podmínek se mutant chová podobně jako WT v podmínkách B i R. Ovšem při kultivaci ve tmě (D) vede mutace *laf1* ke zvýšení citlivosti k zasolení.

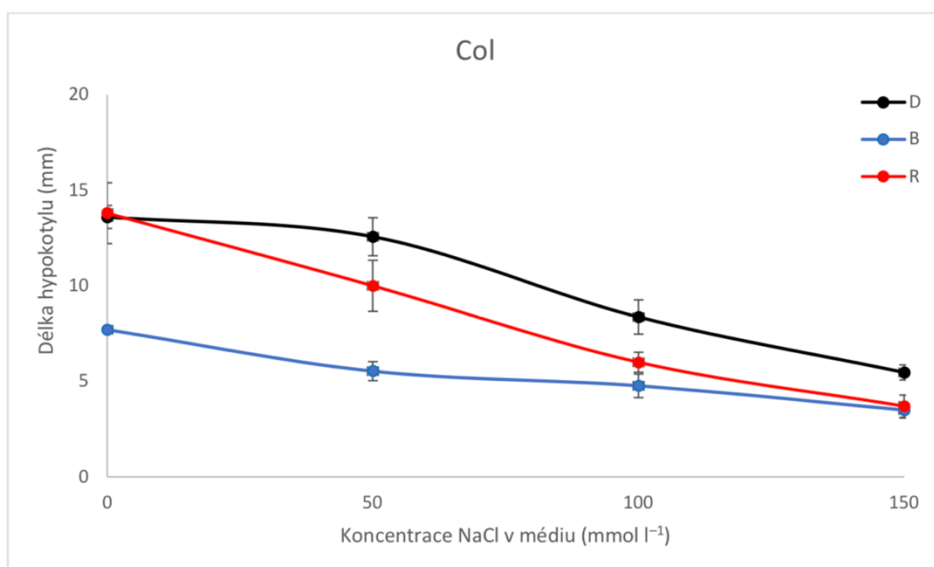


Obrázek 5: Porovnání inhibice prodloužení hypokotylů rostlin *Arabidopsis thaliana* ekotypu Landsberg *erecta* a mutanta *laf1* při různém stupni solného stresu (0, 50, 100 a 150 mmol l⁻¹ NaCl) v závislosti na světelných podmínkách (D/B/R).

Hodnoty vynesené do grafu představují procentuální inhibici růstu hypokotylů ± SE získanou ze tří nezávislých experimentů.

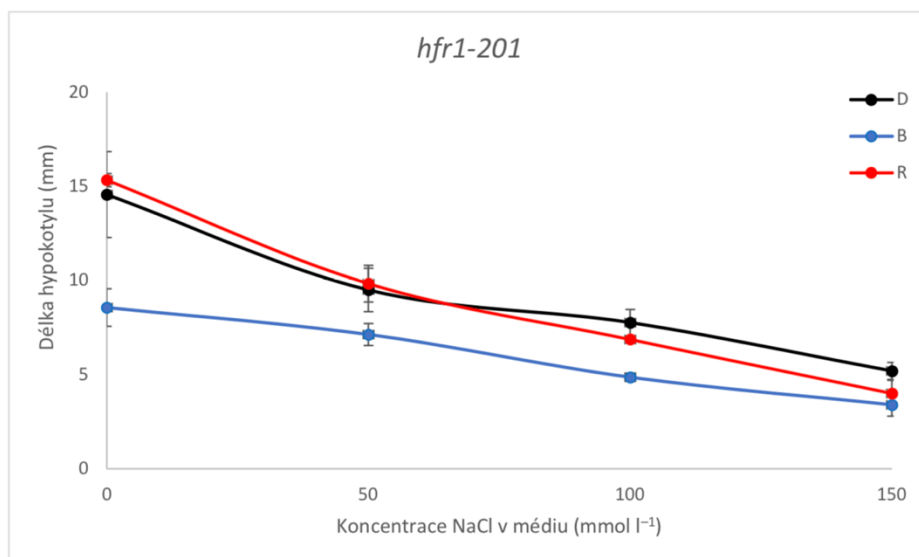
5.1.2. Mutant *hfr1-201*

V obrázku 6 jsou vyneseny průměrné hodnoty délek hypokotylů kontrolních rostlin ekotypu Col a v obrázku 7 pak ty samé hodnoty pro mutantní rostliny *hfr1*. Z hodnot grafů při nulové koncentraci NaCl je patrné, že hypokotyly Col i *hfr1* jsou kratší pouze při kultivaci v B, kdežto rostliny obou genotypů kultivované na R vykazovaly podobnou délku hypokotylů jako rostliny rostoucí ve tmě.



Obrázek 6: Délka hypokotylů rostlin *Arabidopsis thaliana* ekotypu Columbia při různém stupni solného stresu (0, 50, 100 a 150 mmol l⁻¹ NaCl) v závislosti na světelných podmínkách (D/B/R).

Hodnoty vynesené do grafu představují průměrnou délku hypokotylu ± SE získanou ze tří nezávislých experimentů.



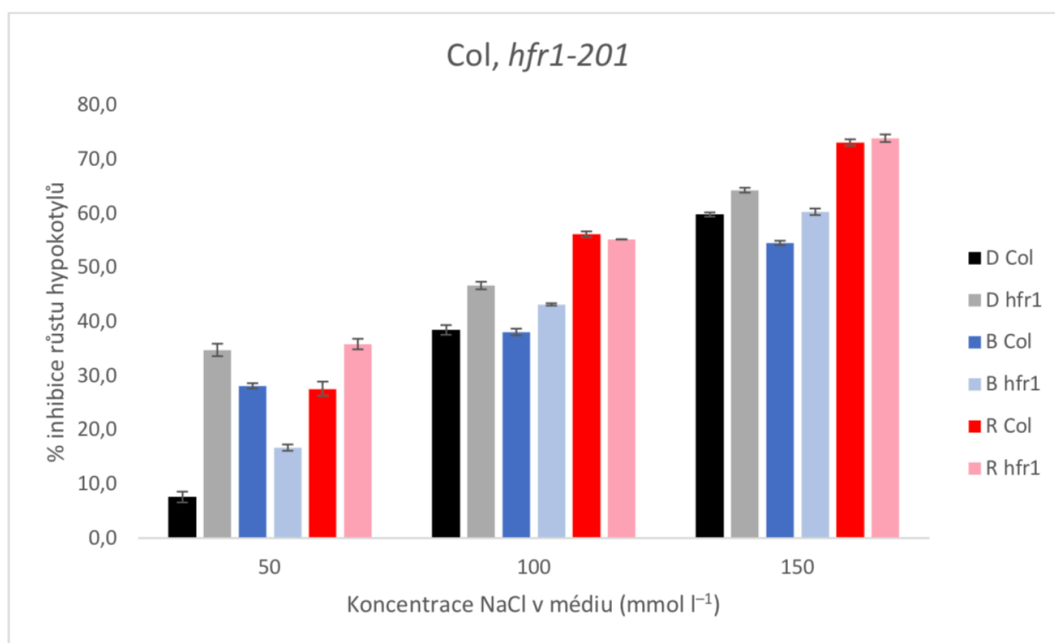
Obrázek 7: Délka hypokotylů rostlin *Arabidopsis thaliana* mutantu *hfr1* při různém stupni solného stresu (0, 50, 100 a 150 mmol l⁻¹ NaCl) v závislosti na světelných podmínkách (D/B/R).

Hodnoty vynesené do grafu představují průměrnou délku hypokotylu ± SE získanou ze tří nezávislých experimentů.

U kontrolních rostlin Col bylo pozorováno, že B zvyšuje citlivost hypokotylů k zasolení při koncentraci NaCl 50 mmol l⁻¹, kdežto nemělo vliv na citlivost při vyšších koncentracích NaCl. Červené světlo rovněž zvyšovalo citlivost hypokotylů k NaCl, a to výrazně i v případě vyšších koncentrací NaCl (Obrázek 8).

U mutantních rostlin *hfr1* bylo naopak zjištěno, že B zvyšuje toleranci rostlin k zasolení, a to výrazně pouze k nejnižší testované koncentraci 50 mmol l⁻¹. Zatímco ve tmě NaCl inhiboval růst hypokotylů *hfr1* zhruba z 35 %, na B to bylo pouze 17 %. Výsledky rovněž ukázaly, že R nemělo na citlivost hypokotylů k NaCl žádný výrazný vliv (Obrázek 8).

Po porovnání hodnot procentuální inhibice růstu hypokotylů vlivem NaCl kontrolních rostlin (Col) s mutanty (*hfr1-201*) v obrázku 8 je patrné, že za námi testovaných podmínek ukazují etiolované hypokotyly *hfr1* výrazně vyšší citlivost k NaCl při nejnižší testované koncentraci NaCl, zatímco při vyšších koncentracích ukazují podobnou citlivost k zasolení jako kontrolní ekotyp Col. Naproti tomu při kultivaci v B nebo R ukazovaly podobnou růstovou odpověď k zasolení jako Col.

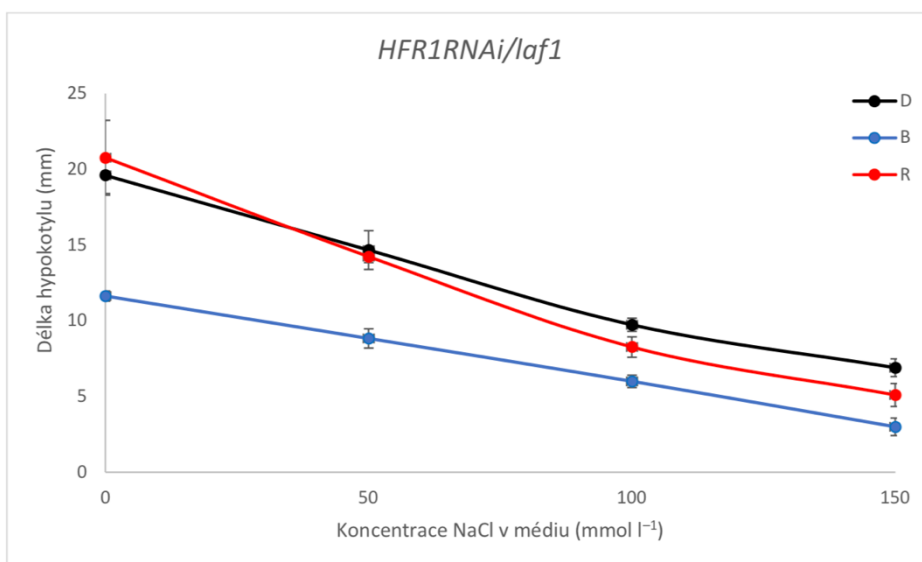


Obrázek 8: Porovnání inhibice prodloužení hypokotylů rostlin *Arabidopsis thaliana* ekotypu Columbia a mutanta *hfr1* při různém stupni solného stresu (0, 50, 100 a 150 mmol l⁻¹ NaCl) v závislosti na světelných podmínkách (D/B/R).

Hodnoty vnesené do grafu představují procentuální inhibici růstu hypokotylů ± SE získanou ze tří nezávislých experimentů.

5.1.3. Dvojitý mutant *HFR1RNAi/laf1*

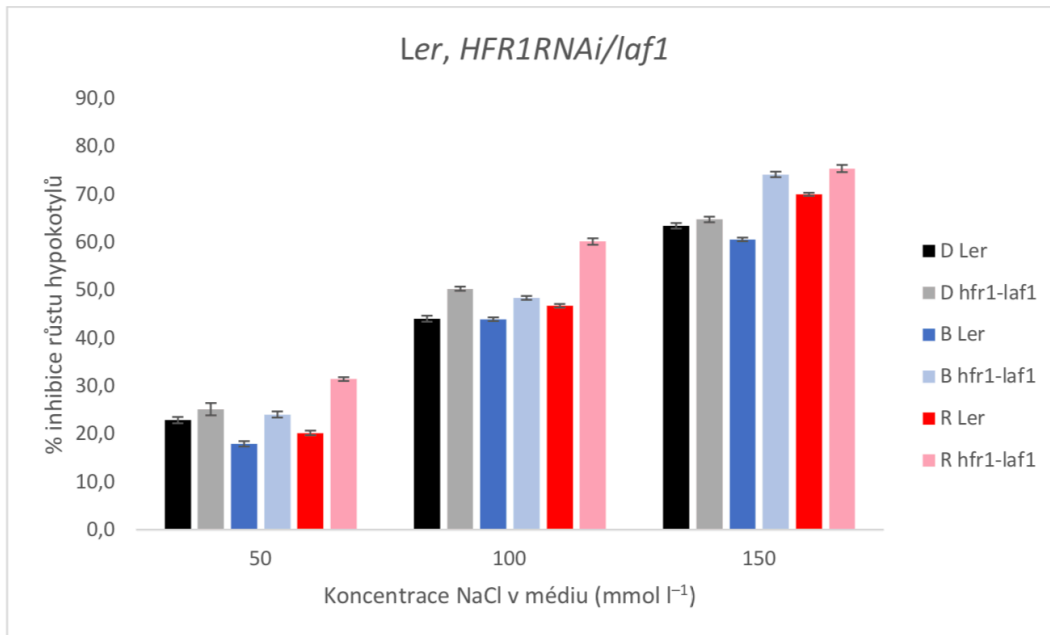
Výsledky růstu hypocotylů ekotypu *Ler* byly již okomentovány a vyhodnoceny v kapitole 5.1.1. Mutant *laf1* (Obrázek 3). V obrázku 9 jsou vyneseny průměrné délky hypocotylů rostlin *HFR1RNAi/laf1*, z nichž je patrné, že růst hypocotylů při nulové koncentraci solí je inhibován pouze účinkem B. Inhibiční účinky R na prodloužení hypocotylů jsou potlačeny mutací, která narušuje signální dráhu tohoto záření.



Obrázek 9: Délka hypocotylů rostlin *Arabidopsis thaliana* mutanta *HFR1RNAi/laf1* při různém stupni solného stresu (0, 50, 100 a 150 mmol l⁻¹ NaCl) v závislosti na světelných podmínkách (D/B/R). Hodnoty vynesené do grafu představují průměrnou délku hypocotylu ± SE získanou ze tří nezávislých experimentů.

U dvojitého mutanta *HFR1RNAi/laf1* nebyl prokázán výrazný vliv modrého či červeného světla na schopnost tolerovat stres zasolením (Obrázek 10).

Po porovnání procentuální inhibice růstu hypocotylů u kontrolní rostliny *Ler* a mutanta *HFR1RNAi/laf1* v obrázku 10 je patrné, že za námi testovaných podmínek hypocotyly dvojitého mutanta reagovaly k zasolení podobně jako hypocotyly *Ler*.



Obrázek 10: Porovnání inhibice prodlužování hypocotylů rostlin *Arabidopsis thaliana* ekotypu Landsberg *erecta* a mutanta *HFR1RNAi/laf1* při různém stupni solného stresu (0, 50, 100 a 150 mmol l⁻¹ NaCl) v závislosti na světelných podmínkách (D/B/R).

Hodnoty vynesené do grafu představují procentuální inhibici růstu hypocotylů ± SE získanou ze tří nezávislých experimentů.

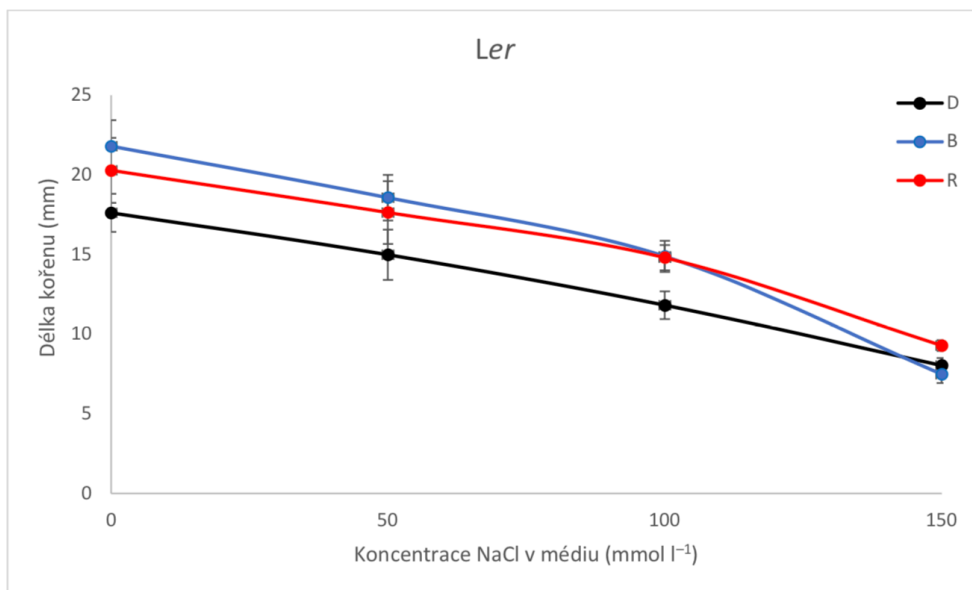
5.2. Studium délky kořenů

Fyziologické studie růstu kořenů rostlin *Arabidopsis thaliana* v závislosti na světelných podmínkách (D/B/R) a koncentracích NaCl (0, 50, 100, 150 mmol l⁻¹ NaCl) proběhly souběžně v rámci jednoho experimentu i s měřením délky hypokotylů.

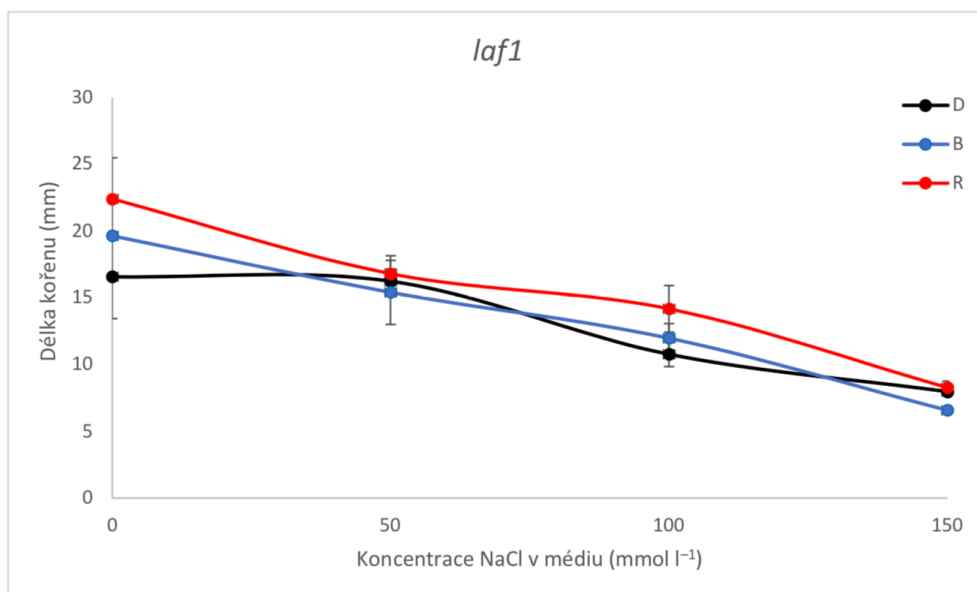
Experimenty pro stanovení role proteinů LAF1, HFR1 a jejich vzájemné interakce v souvislosti s tolerancí rostlin k zasolení proběhly rovněž s následujícími WT a mutanty: ekotyp *Ler* a z něho odvozený recesivní single-gene mutant *laf1* pro stanovení role proteinu LAF1. Dále pak ekotyp Columbia (*Col*) a z něho odvozený recesivní single-gene mutant *hfr1-201* pro stanovení role proteinu HFR1 a nakonec recesivní dvojitý mutant *HFR1RNAi/laf1* pro prokázání nebo vyloučení souvislosti vzájemné interakce proteinů LAF1 a HFR1 se schopností kořenů tolerovat solný stres.

5.2.1. Mutant *laf1*

Z průměrných hodnot naměřených délek kořenů WT – *Ler* (viz obrázek 11) je zřejmé, že prodlužování kořenů v médiu bez obsahu solí (0 mmol l⁻¹ NaCl) je mírně podporováno působením světla (B i R). Ten samý trend můžeme pozorovat u mutantu *laf1* (Obrázek 12) odvozeného právě od ekotypu *Ler*. V případě *Ler* byly zaznamenány nejvyšší průměrné hodnoty délky kořene, konkrétně 21,8 mm, při kultivaci rostlin v B. U mutantních rostlin *laf1* pak při kultivaci v R a to 22,4 mm. V obou těchto případech však byla zaznamenána relativně vysoká variabilita, kdy se při nulových koncentracích NaCl standardní chyba průměru pohybovala od 1,2 až do 3,1.



Obrázek 11: Délka kořenů rostlin *Arabidopsis thaliana* ekotypu *Landsberg erecta* při různém stupni solného stresu (0, 50, 100 a 150 mmol l⁻¹ NaCl) v závislosti na světelných podmínkách (D/B/R). Hodnoty vynesené do grafu představují průměrnou délku kořenů ± SE získanou ze tří nezávislých experimentů.

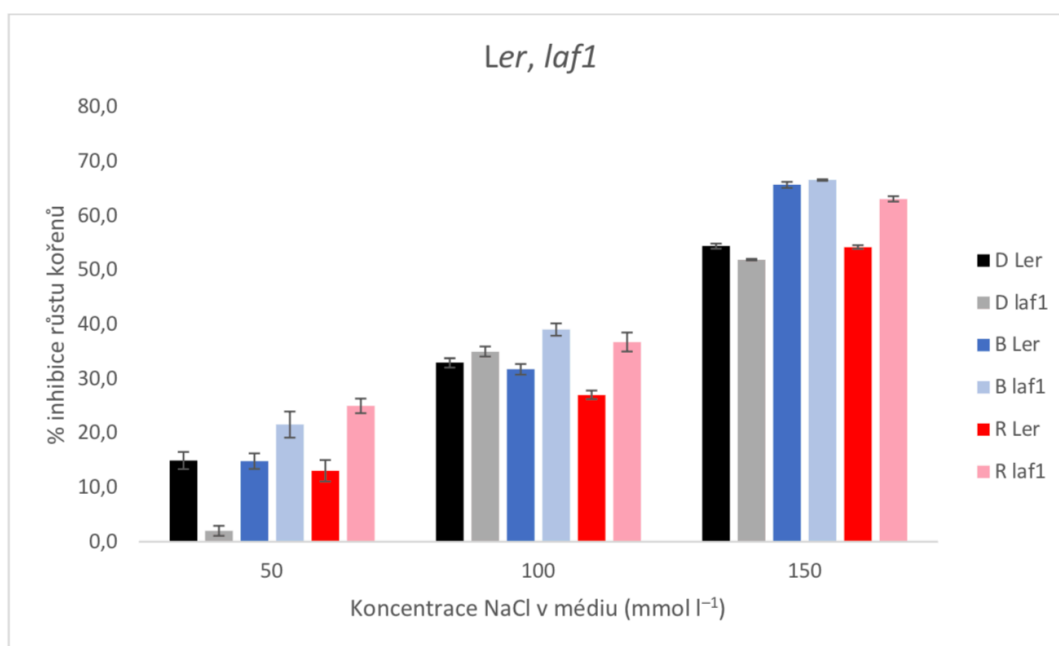


Obrázek 12: Délka kořenů rostlin *Arabidopsis thaliana* mutanta *laf1* při různém stupni solného stresu (0, 50, 100 a 150 mmol l⁻¹ NaCl) v závislosti na světelných podmínkách (D/B/R). Hodnoty vynesené do grafu představují průměrnou délku kořenů ± SE získanou ze tří nezávislých experimentů.

Podobně jako růst hypokotylů byl i růst kořenů výrazně inhibován zasolením, a to u obou genotypů a za všech testovaných podmínek. U kontrolních rostlin *Ler* nebyl pozorován výrazný vliv světla na snížení nebo naopak zvýšení citlivosti kořenů k zasolení (Obrázek 13).

Kořeny mutantů *laf1* vykazují ve tmě velice nízkou citlivost k zasolení, a to zejména při koncentraci NaCl 50 mmol l⁻¹. Ve tmě (D) bylo prodlužování kořenů inhibováno oproti nulové koncentraci NaCl pouze ze 2 %. Při kultivaci na B to však bylo 21,6 % a při R hodnota inhibice dosahovala 25,0 %. Podobný inhibiční účinek světla se pak opakuje při koncentraci 150 mmol l⁻¹ (Obrázek 13).

Po porovnání hodnot procentuální inhibice růstu kořenů vlivem NaCl kontrolních rostlin *Ler* s mutantem *laf1* v obrázku 13 je patrné, že za námi testovaných podmínek mutace *laf1* způsobuje zvýšení citlivosti rostlin k zasolení ve světle (B i R), a to především při koncentraci NaCl 50 mmol l⁻¹. Rozdíl v inhibici ve tmě při této koncentraci je však opět spjat s vlivem vysoké variability délek kořene.

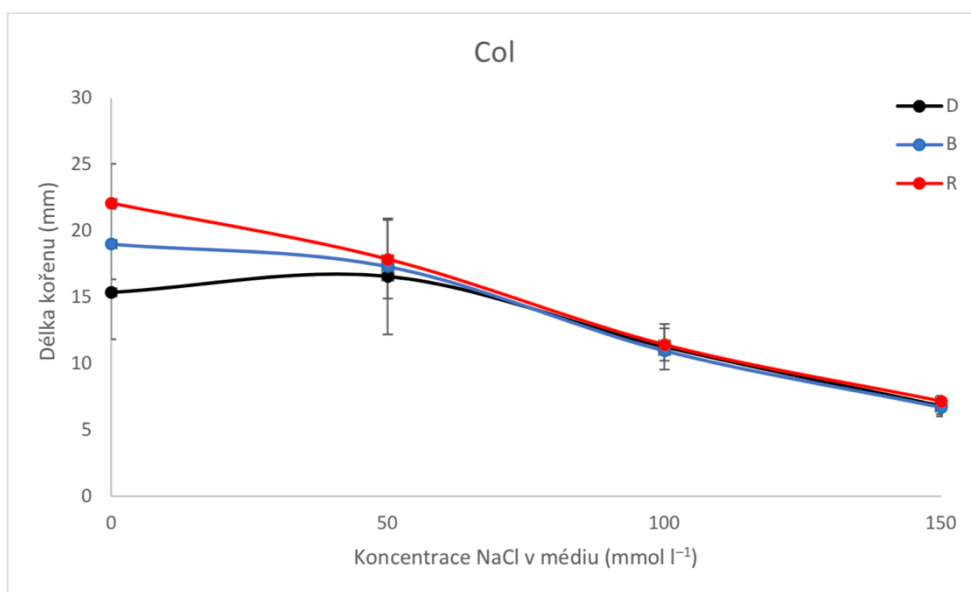


Obrázek 13: Porovnání inhibice prodlužování kořenů rostlin *Arabidopsis thaliana* ekotypu Landsberg *erecta* a mutantu *laf1* při různém stupni solného stresu (0, 50, 100 a 150 mmol l⁻¹ NaCl) v závislosti na světelných podmínkách (D/B/R).

Hodnoty vynesené do grafu představují procentuální inhibici růstu kořenů ± SE získanou ze tří nezávislých experimentů.

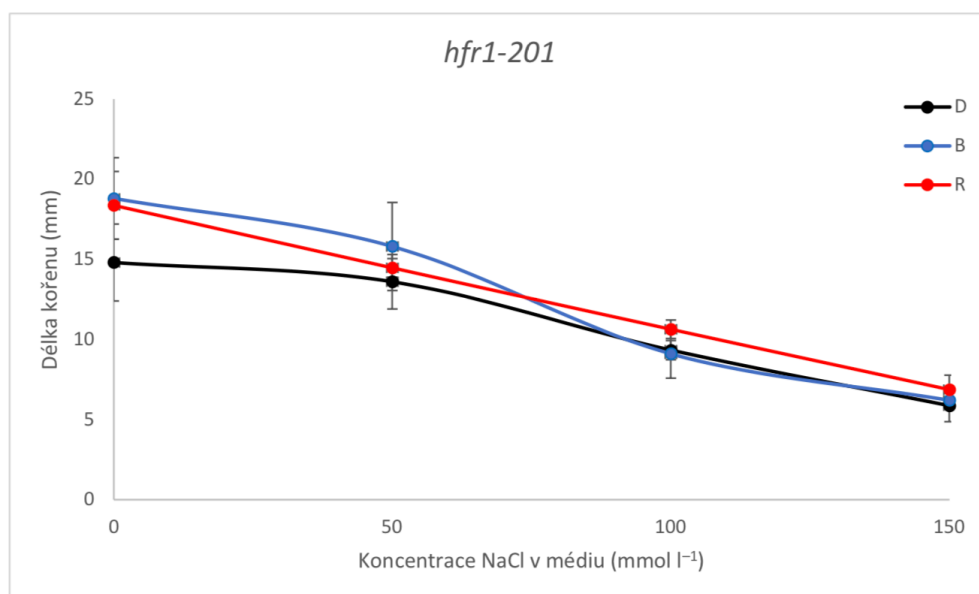
5.2.2. Mutant *hfr1-201*

Na obrázku 14 jsou zachyceny průměrné hodnoty délek kořenů Col a na obrázku 15 pak hodnoty pro mutantní rostliny *hfr1*. Při nulové koncentraci NaCl v médiu byla v obou případech (Col i *hfr1*) zaznamenána poměrně vysoká míra variability naměřených hodnot. I přesto lze obecně konstatovat, že světlo (B i R) umožňuje takto kultivovaným rostlinám více prodlužovat kořeny než při kultivaci ve tmě.



Obrázek 14: Délka kořenů rostlin *Arabidopsis thaliana* ekotypu Columbia při různém stupni solného stresu (0, 50, 100 a 150 mmol l⁻¹ NaCl) v závislosti na světelných podmínkách (D/B/R).

Hodnoty vynesené do grafu představují průměrnou délku kořenů ± SE získanou ze tří nezávislých experimentů.



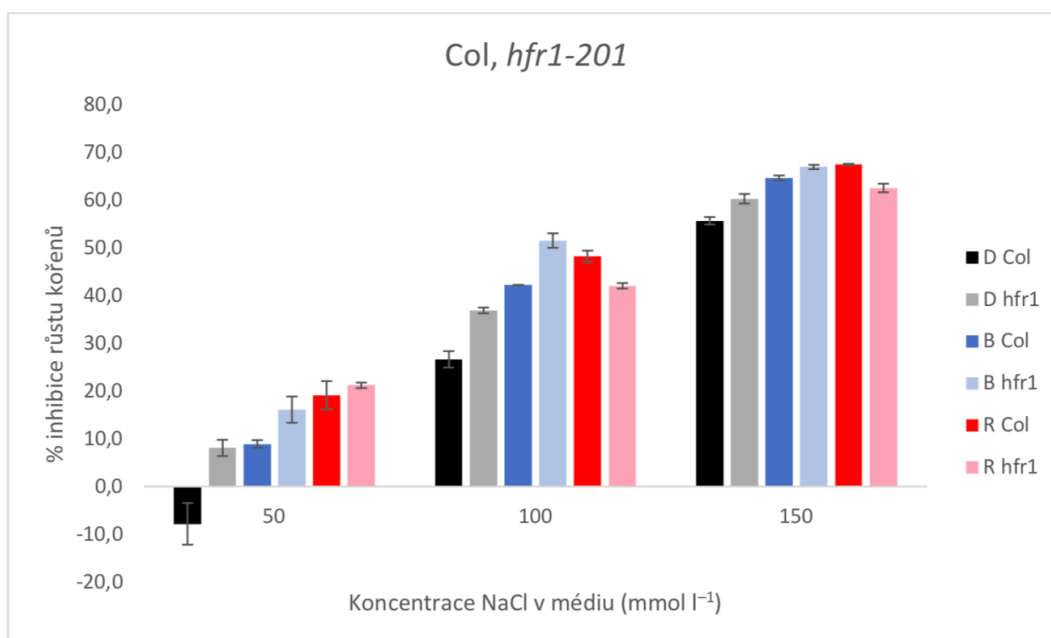
Obrázek 15: Délka kořenů rostlin *Arabidopsis thaliana* mutantu *hfr1* při různém stupni solného stresu (0, 50, 100 a 150 mmol l⁻¹ NaCl) v závislosti na světelných podmínkách (D/B/R).

Hodnoty vynesené do grafu představují průměrnou délku kořenů ± SE získanou ze tří nezávislých experimentů.

U kontrolních rostlin Col bylo pozorováno, že světlo snižuje toleranci rostlin k zasolení, přičemž největší inhibice růstu kořenů vlivem zasolení byla zaznamenána v důsledku působení R. Rozdíl inhibice kořenů při koncentraci 50 mmol l⁻¹ při kultivaci rostlin v D oproti R činil 27,0 %. Při koncentraci NaCl 100 mmol l⁻¹ pak byla inhibice prodlužování kořenů Col v R oproti inhibici v D o 21,6 % vyšší. Vliv B i R na citlivost k NaCl byl zřetelný i v případě koncentrace 150 mmol l⁻¹ (Obrázek 16).

Zatímco u Col byla tolerance k zasolení snížena B i R, v případě mutantu *hfr1* je to pouze B, které toleranci výrazně snižuje. Při koncentraci NaCl (100 mmol l⁻¹) v médiu byla vypočítaná inhibice v D 36,9 %, v R 42,1 % a u B dokonce 51,6 %. (Obrázek 16).

Po porovnání hodnot procentuální inhibice růstu kořenů vlivem NaCl kontrolních rostlin (Col) s mutanty (*hfr1-201*) v obrázku 16 je patrné, že za námi testovaných podmínek mutant vykazoval podobnou citlivost k zasolení jako kořeny Col.

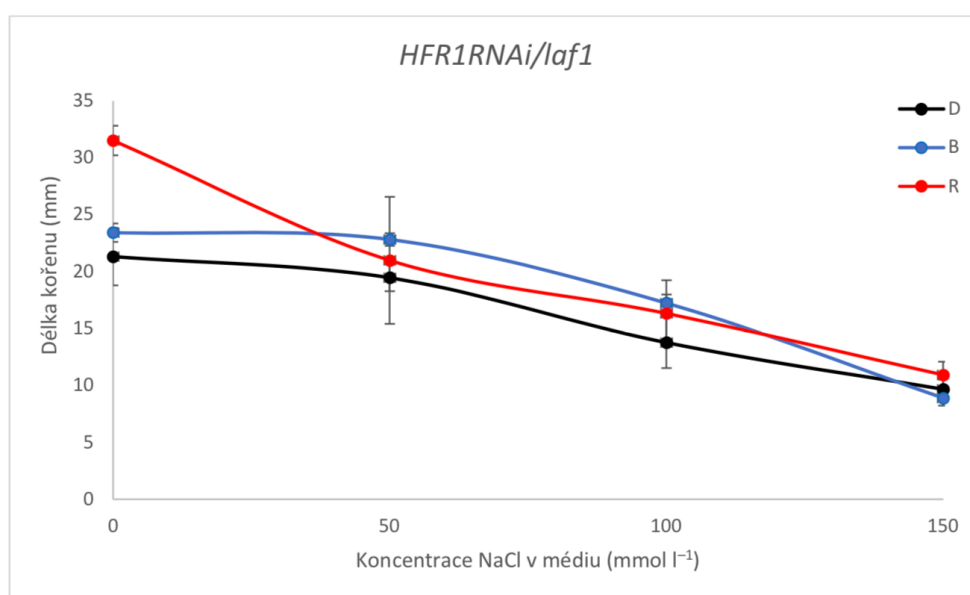


Obrázek 16: Porovnání inhibice prodlužování kořenů rostlin *Arabidopsis thaliana* ekotypu Columbia a mutantu *hfr1* při různém stupni solného stresu (0, 50, 100 a 150 mmol l⁻¹ NaCl) v závislosti na světelných podmínkách (D/B/R).

Hodnoty vnesené do grafu představují procentuální inhibici růstu kořenů ± SE získanou ze tří nezávislých experimentů.

5.2.3. Dvojitý mutant *HFR1RNAi/laf1*

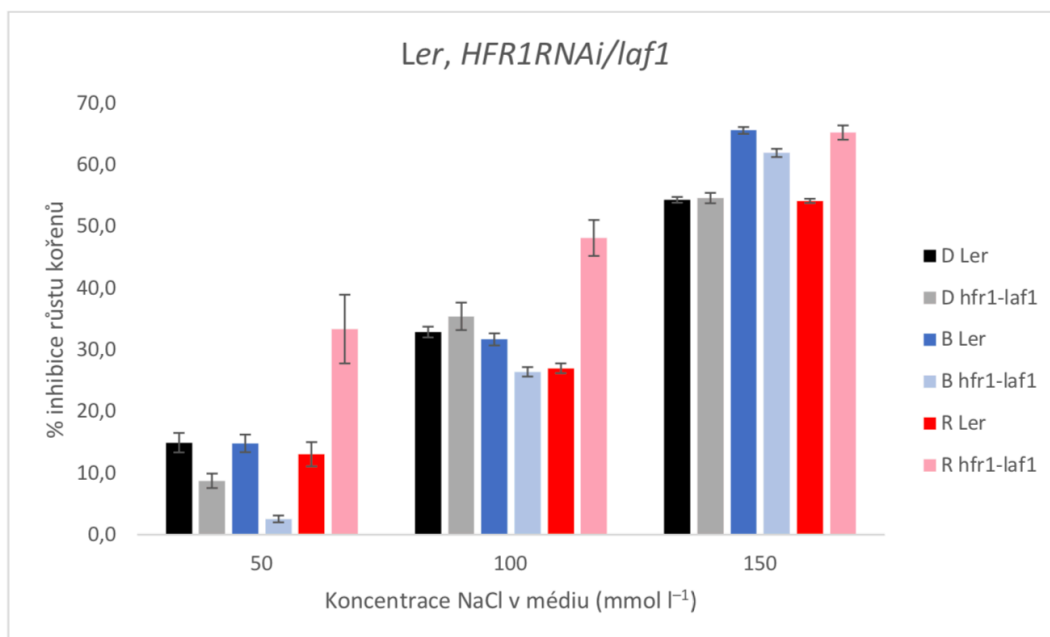
Výsledky růstu kořenů ekotypu *Ler* byly již okomentovány a vyhodnoceny v kapitole 5.2.1. Mutant *laf1*. Na obrázku 17 jsou vyneseny průměrné délky kořenů mutantních rostlin *HFR1RNAi/laf1*. U dvojitého mutantu je při nulové koncentraci NaCl zaznamenáno výrazné zvýšení průměrné hodnoty prodlužování kořenů při kultivaci v R. V prostředí R dosahovaly kořeny mutantu průměrné délky 31,5 mm, zatímco v B a D to bylo pouze 23,4 mm a 21,3 mm. V tomto případě je zřejmé, že kořeny rostlin mutantů *HFR1RNAi/laf1* jsou při nulové koncentraci solí a zároveň při kultivaci v R hypersenzitivní vůči tomuto záření.



Obrázek 17: Délka kořenů rostlin *Arabidopsis thaliana* mutantu *HFR1RNAi/laf1* při různém stupni solného stresu (0, 50, 100 a 150 mmol l⁻¹ NaCl) v závislosti na světelných podmínkách (D/B/R). Hodnoty vynesené do grafu představují průměrnou délku kořenů ± SE získanou ze tří nezávislých experimentů.

U dvojitého mutantu *HFR1RNAi/laf1* byl zjištěn výrazný vliv R na zvýšení citlivosti k zasolení. Tento jev je patrný zejména při koncentracích NaCl 50 mmol l⁻¹ a 100 mmol l⁻¹ (Obrázek 18).

Po porovnání procentuální inhibice růstu kořenů u kontrolní rostliny *Ler* a double-gene mutantu *HFR1RNAi/laf1* v obrázku 18 je patrné, že za námi testovaných podmínek mutant vykazuje zvýšenou citlivost k zasolení při kultivaci rostlin v R.



Obrázek 18: Porovnání inhibice prodlužování kořenů rostlin *Arabidopsis thaliana* ekotypu Landsberg *erecta* a mutanta *HFR1RNAi/laf1* při různém stupni solného stresu (0, 50, 100 a 150 mmol l⁻¹ NaCl) v závislosti na světelných podmínkách (D/B/R).

Hodnoty vynesené do grafu představují procentuální inhibici růstu kořenů ± SE získanou ze tří nezávislých experimentů.

6. Diskuse

Tato bakalářská práce se zabývá úlohou fotomorfogenních transkripčních faktorů v toleranci rostlin *Arabidopsis* k zasolení. U transkripčního faktoru HY5 již byla schopnost zvyšování tolerance vůči stresu způsobenému zasolením prokázána, a zároveň bylo objeveno, že je tato schopnost podmíněna působením červeného světla (Lee *et al.*, 2007). Cílem této práce bylo prokázat nebo vyloučit obdobnou schopnost redukce citlivosti k salinitě u dalších transkripčních faktorů – LAF1 a HFR1.

Při nulových koncentracích NaCl v médiu bylo možné porovnat průměrnou délku hypokotylů při různých světelných podmínkách (tma, modré světlo, červené světlo). Ve všech případech dosahovaly hypokotyly nejkratší délky při kultivaci rostlin na modrém světle. Jak již bylo řečeno, světlo způsobuje fotomorfogenní inhibici prodlužování hypokotylů, přičemž u modrého světla byla zaznamenána silnější inhibice elongace než v případě červeného světla, i když celková ozáření rostlin modrým či červeným světlem byla stejná. Modré světlo má totiž kratší vlnovou délku, tím pádem vyšší energii a způsobuje silnější fotomorfogenezi než červené světlo o stejné intenzitě. Reakce k modrému světle je rovněž silnější z toho důvodu, že modré světlo je vnímáno kromě receptorů pro modré světlo i receptory pro světlo červené, tedy fytochromy. Opačně, receptory pro modré světlo jsou k červenému světle téměř necitlivé (Voitsekhovskaja, 2019).

U všech rostlin kultivovaných ve tmě byly naplněny předpoklady skotomorfogeneze, tedy vývoj dlouhých hypokotylů, neexpandovaných děloh a nedostatku pigmentů. Po deetiologizaci červeným nebo modrým světlem byl spuštěn proces fotomorfogeneze a rostliny vykazovaly kratší hypokotyly vlivem světelné inhibice prodlužování a vyvinuté kotyledony s pigmentací (Koornneef *et al.*, 1980, 1991; Stacey *et al.*, 1999).

Na základě pokusů s mutanty *hy5* provedených v roce 2002 vědci Holm *et al.*, bylo zjištěno, že mutace tohoto genu má za následek dlouhé protáhlé hypokotyly jinak typické pro etiolované sazenice. Mimo to byly u těchto mutantních rostlin zaznamenány defekty kořenů, jako je jejich slábnutí a akumulace antokyanů. Na rozdíl od vědců Seo *et al.*, 2003 a Yang *et al.*, 2005 v našem případě nebyly zaznamenány prodloužené hypokotyly u mutantů *laf1* ani u hypokotylů rostlin *hfr1-201*. Rovněž nebyly pozorovány žádné defekty kořenů, ani akumulace antokyanů. Absence delších hypokotylů u fotomorfogenních mutantů *laf1* a *hfr1-201* na červeném a modrém světle v našich experimentech byla pravděpodobně způsobena tím, že před vystavením stresu zasolením klíčila semena nejprve ve tmě a až po vyklíčení byly rostliny přeneseny na médium s NaCl a přeneseny na světlo.

Vědeckým týmem Jang *et al.*, 2007 byla navržena možnost, že existence vzájemné interakce mezi LAF1 a HFR1 brání ubiquitinaci těchto faktorů E3 ligázou a zároveň společně

zprostředkovávají silnější odpověď na signály pocházející z fytochromu A. Stejně se chovaly i námi studované kontrolní rostliny *Ler*, které měly proteiny LAF1 i HFR1 funkční v porovnání s dvojitými mutanty *HFR1RNAi/laf1* v obou těchto genech. Hypokotyly kontrolních rostlin *Ler* dosahovaly při kultivaci v červeném světle délky 15,3 mm, zatímco hypokotyly *HFR1RNAi/laf1* dosahovaly délky 20,8 mm. Důsledkem mutace došlo k poruše signalizace červeného světla prostřednictvím fytochromů a u sazenic tohoto dvojitého mutanta tak byla potlačena fotomorfogeneze v červeném světle.

Pomocí genetického přístupu spočívajícího v analýze mutantů *laf1* a *hfr1-201 Arabidopsis thaliana* a na základě výsledků fyziologických pokusů bylo učiněno několik závěrů. Analýza růstu mutantu *laf1* za přítomnosti NaCl vedla k závěru, že funkční protein LAF1 může zvyšovat toleranci hypokotylů vůči stresu způsobenému zasolením, a zároveň je tato jeho schopnost redukována světlem. U kořenů byla schopnost funkčního proteinu LAF1 zvyšovat toleranci vůči solnému stresu rovněž prokázána, ale na rozdíl od tolerance hypokotylů byla v případě kořenů podmíněna působením světla. Je zajímavé, že při koncentraci NaCl v médiu 50 mmol l⁻¹ se ukázalo, že funkční protein LAF1 pravděpodobně zvyšoval citlivost kořenů k zasolení ve tmě. To naznačuje, že funkce transkripčního faktoru LAF1 může být ovlivňována nejen světelnými podmínkami, ale i intenzitou stresového působení.

Dalším zkoumaným fotomorfogenním transkripčním faktorem byl HFR1. Stejně jako u LAF1 bylo i u proteinu HFR1 prokázáno zapojení do tolerance rostlin k zasolení. Na základě získaných výsledků se zdá, že funkční protein HFR1 zvyšuje toleranci hypokotylů ke stresu způsobenému zasolením a tato jeho schopnost je redukována modrým světlem, kde naopak HFR1 snižuje toleranci k zasolení. Důležité je zdůraznit, že tyto závěry jsou aplikovatelné pouze při nižší intenzitě zasolení. Studium růstu kořenů v podmínkách solného stresu v závislosti na světelných podmínkách ovšem neprokázalo zapojení funkčního proteinu HFR1 v toleranci kořenů ke stresu zasolením.

Studie růstu hypokotylů dvojitých mutantů *HFR1RNAi/laf1* za přítomnosti NaCl ukázaly, že při současném vypnutí obou transkripčních faktorů se hypokotyly dvojitého mutanta vyznačovaly podobnou citlivostí k NaCl jako hypokotyly kontrolního ekotypu *Ler*. Je tedy možné, že při současném vypnutí LAF1 a HFR1 může být funkce těchto transkripčních faktorů nejspíš zastoupena jinými faktory, např. HY5. Tuto domněnku by bylo potřeba doplnit pokusy s mutanty *hy5* a odpovídajícími kontrolními genotypy.

Při experimentech sledující prodlužování kořenů naopak výsledky naznačují, že funkční proteiny LAF1 a HFR1 společně zvyšují specificky na R toleranci kořenů k zasolení. Tento výsledek koresponduje se zjištěním, že kořeny dvojitého mutanta *HFR1RNAi/laf1* vykazovaly

při nulové koncentraci solí hypersenzitivitu vůči červenému světlu, což se týče stimulace prodlužování.

Výsledky růstových experimentů s mutanty *laf1* a *hfr1-201* uskutečněných v této bakalářské práci naznačují, že transkripční faktory LAF1 a HFR1 jsou zapojeny do mechanismu tolerance hypokotylů k solnému stresu. Je však zajímavé, že schopnost těchto faktorů snížit citlivost rostlinných hypokotylů k zasolení se projevuje jen ve tmě, zatímco je redukována či mizí na světle. Tento jev by bylo možno vysvětlit následovně. Ve tmě jsou transkripční faktory v jádře degradovány COP1. Z toho důvodu se jejich část vyskytuje pouze v cytoplazmě. Je tedy možné, že ve tmě LAF1 i HFR1 ovlivňují (aktivují) plazmamembránovou či tonoplastovou protonovou pumpu nebo Na^+/H^+ antiporty, čímž dochází ke zvýšení tolerance k zasolení. Je rovněž možné, že oba transkripční faktory snižují nebo blokují aktivitu sodíkových kanálů na plazmatické membráně, čímž se sníží transport Na^+ do buňky. Při ozáření rostliny se naopak LAF1 a HFR1 akumulují v jádře, protože nejsou degradovány COP1, a jejich množství v cytoplazmě se snižuje. Tím klesá i tolerance hypokotylů k zasolení.

Výsledky práce rovněž naznačují, že na rozdíl od HFR1, transkripční faktor LAF1 je zapojen i v toleranci kořenů k zasolení. Je zajímavé, že ve tmě LAF1 snižuje toleranci k zasolení, kdežto na modrém, a především na červeném světle toleranci zvyšuje. Protože analýza dvojitého mutanta ukázala, že kořeny mutanta vykazují zvýšenou citlivost k zasolení specificky na červeném světle, lze se domnívat, že v toleranci kořene k zasolení je LAF1 funkčně nadřazen faktoru HFR1. O mechanismech světelné signalizace v kořenech je toho známo zatím relativně málo (van Gelderen *et al.*, 2018), proto i možné vysvětlení zapojení fotomorfogenních transkripčních faktorů v toleranci kořenů *Arabidopsis* k zasolení je momentálně komplikované.

V článcích Jang *et al.*, 2007 a 2013 byly publikovány výsledky studií s jednoduchými, dvojími a trojími mutanty *Arabidopsis* v genech *hy5*, *laf1* a *hfr1*. Ukázalo se, že jednotliví mutanti vykazují kratší délku hypokotylů, než dvojími mutanti *laf1-hfr1* a ti mají zase kratší hypokotyly než trojími mutanti *hy5-hfr1-laf1*. Nabízí se otázka, zda tato trojice transkripčních faktorů má obdobný vliv i na toleranci rostlin k zasolení. Tuto hypotézu by však bylo nutné potvrdit další sérií pokusů s trojím mutantem *hy5-hfr1-laf1* při zvolených koncentracích NaCl a při různých světelných podmínkách kultivace jako tomu bylo u dosavadních testovaných genotypů.

Na základě výsledků pokusů provedených v experimentální části bylo prokázáno zapojení transkripčních faktorů LAF1 a HFR1 do tolerance rostlinných hypokotylů k zasolení a současně byl učiněn závěr, že je tato schopnost inhibována světlem. Pro komplexní pochopení úlohy a mechanismu transkripčních faktorů v toleranci solného stresu by bylo vhodné provést obdobné pokusy i s dalšími mutanty s defekty ve fotomorfogenních transkripčních faktorech

a případně i s vícenásobnými mutanty. Pro potvrzení našich výsledků by bylo nutno provést podobné experimenty s transgenními rostlinami, které transkripční faktory LAF1, HFR1 či HY5 overexprimují.

7. Závěr

Bakalářská práce se zabývala problematikou tolerance rostlin k zasolení v závislosti na světelných podmínkách. V teoretické části byla zpracována literární rešerše zabývající se vlivem světla na vývoj rostlin, abiotickým stresem – salinitou a v poslední řadě pak vlivem světla na schopnost rostlin tolerovat stres zasolením.

V experimentální části byly provedeny *in vitro* fyziologické experimenty růstu mutantních a kontrolních rostlin *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. pro stanovení úlohy transkripčních faktorů LAF1 a HFR1 v toleranci rostlin k zasolení. Obecně lze říct, že bylo prokázáno, že tyto transkripční faktory jsou zapojeny do tolerance rostlin vůči stresu způsobenému zasolením a současně je tato jejich schopnost ovlivňována světelnými podmínkami kultivace. Světelný účinek na změnu citlivosti se však u jednotlivých rostlinných orgánů liší.

Z výsledků experimentů provedených v rámci této bakalářské práce vyplývá, že schopnost transkripčních faktorů LAF1 a HFR1 zvyšovat toleranci k zasolení je u rostlinných hypokotylů snižována světlem. Při studiu růstu kořenů bylo zapojení do tolerance stresu způsobeného zasolením zjištěno pouze u funkčního proteinu LAF1. Tento transkripční faktor umožňuje zvyšovat rostlinným kořenům toleranci vůči solnému stresu na světle, zatímco ve tmě citlivost kořenů k zasolení naopak zvyšuje. Výsledky bakalářské práce tak mohou sloužit jako odrazový můstek pro další experimenty, a to na molekulární úrovni.

8. Seznam literatury

- Ahmad, P., Azooz, M. M. & Prasad, M. N. V. (2013) *Salt stress in plants: signalling, omics and adaptations*. New York: Springer.
- Ali, S., Rizwan, M., Qayyum, M. F., Ok, Y. S., Ibrahim, M., Riaz, M., Arif, M. S., Hafeez, F., Al-Wabel, M. I., & Shahzad, A. N. (2017). Biochar soil amendment on alleviation of drought and salt stress in plants: a critical review. *Environmental science and pollution research international*, 24(14), 12700–12712.
- Balarynová, J., Danihlík, J., & Fellner, M. (2018). Changes in plasma membrane aquaporin gene expression under osmotic stress and blue light in tomato. *Acta physiologica plantarum*, 40(2), 1-8.
- Ballesteros, M. L., Bolle, C., Lois, L. M., Moore, J. M., Vielle-Calzada, J. P., Grossniklaus, U., & Chua, N. H. (2001). LAF1, a MYB transcription activator for phytochrome A signaling. *Genes & development*, 15(19), 2613–2625.
- Bhatnagar, A., Singh, S., Khurana, J.P. & Burman, N. (2020). HY5-COP1: the central module of light signaling pathway. *Journal of plant biochemistry and biotechnology*, 29, 590–610.
- Boccalandro, H. E., Rugnone, M. L., Moreno, J. E., Ploschuk, E. L., Serna, L., Yanovsky, M. J., & Casal, J. J. (2009). Phytochrome B enhances photosynthesis at the expense of water-use efficiency in Arabidopsis. *Plant physiology*, 150(2), 1083–1092.
- Brinker, M., Brosché, M., Vinocur, B., Abo-Ogiala, A., Fayyaz, P., Janz, D., Ottow, E. A., Cullmann, A. D., Saborowski, J., Kangasjärvi, J., Altman, A., & Polle, A. (2010). Linking the salt transcriptome with physiological responses of a salt-resistant *Populus* species as a strategy to identify genes important for stress acclimation. *Plant physiology*, 154(4), 1697–1709.
- Burgie, E. S., Bussell, A. N., Walker, J. M., Dubiel, K., & Vierstra, R. D. (2014). Crystal structure of the photosensing module from a red/far-red light-absorbing plant phytochrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(28), 10179–10184.
- Byrt, C. S., Munns, R., Burton, R. A., Gilliham, M., & Wege, S. (2018). Root cell wall solutions for crop plants in saline soils. *Plant science: an international journal of experimental plant biology*, 269, 47–55.
- Cao, K., Yu, J., Xu, D., Ai, K., Bao, E., & Zou, Z. (2018). Exposure to lower red to far-red light ratios improve tomato tolerance to salt stress. *BMC plant biology*, 18(1), 92.
- Casal, J. J., Sánchez, R. A. & Botto J. F. (1998) Modes of action of phytochromes. *Journal of experimental botany*, Vol. 49, 127–138.
- Chalker-Scott, L. (2002). Do anthocyanins function as osmoregulators in leaf tissues?. *Advances in botanical research*, vol. 37, 103–127.
- Chang, S. X., Li, C. X., Yao, X. Y., Chen, S., Jiao, X. L., Liu, X. Y., Xu, Z. G. & Guan, R. Z. (2016). Morphological, photosynthetic, and physiological responses of rapeseed leaf to different combinations of red and blue lights at the rosette stage. *Frontiers in plant science*, 7, 1144.
- Chen, S., Cui, X., Chen, Y., Gu, C., Miao, H., Gao, H., Chen, F., Liu, Z., Guan, Z., & Fang, W. (2011). CgDREBa transgenic chrysanthemum confers drought and salinity tolerance. *Environmental and experimental botany*, 74, 255-260.
- Chory J. (2010). Light signal transduction: an infinite spectrum of possibilities. *The Plant journal: for cell and molecular biology*, 61(6), 982–991.
- Christie, J. M., Reymond, P., Powell, G. K., Bernasconi, P., Raibekas, A. A., Liscum, E., & Briggs, W. R. (1998). Arabidopsis NPH1: a flavoprotein with the properties of a photoreceptor for phototropism. *Science (New York, N.Y.)*, 282(5394), 1698–1701.

- Clack, T., Mathews, S., & Sharrock, R. A.** (1994). The phytochrome apoprotein family in *Arabidopsis* is encoded by five genes: the sequences and expression of PHYD and PHYE. *Plant molecular biology*, 25(3), 413–427.
- Courbier, S., & Pierik, R.** (2019). Canopy light quality modulates stress responses in plants. *iScience*, 22, 441–452.
- D'Amico-Damião, V., & Carvalho, R. F.** (2018). Cryptochrome-related abiotic stress responses in plants. *Frontiers in plant science*, 9, 1897.
- D'Amico-Damião, V., Dodd, I. C., Oliveira, R., Lúcio, J., Rossatto, D. R., & Carvalho, R. F.** (2021). Cryptochrome 1a of tomato mediates long-distance signaling of soil water deficit. *Plant science: an international journal of experimental plant biology*, 303, 110763.
- Datta, S., Hettiarachchi, C., Johansson, H., & Holm, M.** (2007). SALT TOLERANCE HOMOLOG2, a B-box protein in *Arabidopsis* that activates transcription and positively regulates light-mediated development. *The Plant cell*, 19(10), 3242–3255.
- Epstein, E., & Bloom, A. J.** (2005). Mineral nutrition of plants: principles and perspectives. 2nd edition, Sunderland, Mass. Sinauer Associates.
- Epstein, E., Norlyn, J. D., Rush, D. W., Kingsbury, R. W., Kelley, D. B., Cunningham, G. A., & Wrona, A. F.** (1980). Saline culture of crops: a genetic approach. *Science (New York, N.Y.)*, 210(4468), 399–404.
- Fairchild, C. D., Schumaker, M. A., & Quail, P. H.** (2000). HFR1 encodes an atypical bHLH protein that acts in phytochrome A signal transduction. *Genes & development*, 14(18), 2377–2391.
- FAO Global network on integrated soil management for sustainable use of salt-affected soils.** Food and agriculture organization of the United Nations. Land and plant nutrition management service, Rome. (online) Navštíveno: 21.3.2021. Dostupné z: <http://www.fao.org/soils-portal/soil-management/management-of-some-problem-soils/salt-affected-soils/more-information-on-salt-affected-soils/en/>
- Fellner, M., & Sawhney, V. K.** (2001). Seed germination in a tomato male-sterile mutant is resistant to osmotic, salt and low-temperature stresses. *Theoretical and applied genetics*, 102(2-3), 215-221.
- Fellner, M., & Sawhney, V. K.** (2002). The 7B-1 mutant in tomato shows blue-light-specific resistance to osmotic stress and abscisic acid. *Planta*, 214(5), 675–682.
- Fellner, M., Zhang, R., Pharis, R. P., & Sawhney, V. K.** (2001). Reduced de-etiolation of hypocotyl growth in a tomato mutant is associated with hypersensitivity to, and high endogenous levels of, abscisic acid. *Journal of experimental botany*, 52(357), 725-738.
- Flowers, T. J., Gaur, P. M., Gowda, C. L., Krishnamurthy, L., Samineni, S., Siddique, K. H., Turner, N. C., Vadez, V., Varshney, R. K., & Colmer, T. D.** (2010). Salt sensitivity in chickpea. *Plant, cell & environment*, 33(4), 490–509.
- Gallagher, S., Short, T. W., Ray, P. M., Pratt, L. H., & Briggs, W. R.** (1988). Light-mediated changes in two proteins found associated with plasma membrane fractions from pea stem sections. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 85(21), 8003–8007.
- Gangappa, S. N., & Botto, J. F.** (2016). The Multifaceted roles of HY5 in plant growth and development. *Molecular plant*, 9(10), 1353–1365.
- González, C. V., Ibarra, S. E., Piccoli, P. N., Botto, J. F., & Boccalandro, H. E.** (2012). Phytochrome B increases drought tolerance by enhancing ABA sensitivity in *Arabidopsis thaliana*. *Plant, cell & environment*, 35(11), 1958–1968.

- Goyal, K., Walton, L. J., & Tunnacliffe, A.** (2005). LEA proteins prevent protein aggregation due to water stress. *The Biochemical journal*, 388(1), 151–157.
- Han, X., Huang, X., & Deng, X. W.** (2020). The Photomorphogenic central repressor COP1: Conservation and functional diversification during evolution. *Plant Communications*, 100044.
- Hasegawa, P. M.** (2013). Sodium (Na⁺) homeostasis and salt tolerance of plants. *Environmental and experimental botany*, 92, 19–31.
- Hasegawa, P. M., Bressan, R. A., Zhu, J. K., & Bohnert, H. J.** (2000). Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual review of plant physiology and plant molecular biology*, 51, 463–499.
- Hayes, S., Pantazopoulou, C. K., van Gelderen, K., Reinen, E., Tween, A. L., Sharma, A., de Vries, M., Prat, S., Schuurink, R. C., Testerink, C., & Pierik, R.** (2019). Soil salinity limits plant shade avoidance. *Current biology*, 29(10), 1669–1676.e4.
- He, M., He, C. Q., & Ding, N. Z.** (2018). Abiotic stresses: General defenses of land plants and chances for engineering multistress tolerance. *Frontiers in plant science*, 9, 1771.
- Hennig, L., Poppe, C., Sweere, U., Martin, A., & Schäfer, E.** (2001). Negative interference of endogenous phytochrome B with phytochrome A function in Arabidopsis. *Plant physiology*, 125(2), 1036–1044.
- Holm, M., Ma, L. G., Qu, L. J., & Deng, X. W.** (2002). Two interacting bZIP proteins are direct targets of COP1-mediated control of light-dependent gene expression in Arabidopsis. *Genes & development*, 16(10), 1247–1259.
- Holmes, M. G. & Smith, H.** (1997). The function of phytochrome in the natural environment – IV. light quality and plant development. *Photochemistry and photobiology*, 25, 551–557.
- Huang, X., Ouyang, X., Yang, P., Lau, O. S., Li, G., Li, J., Chen, H., & Deng, X. W.** (2012). Arabidopsis FHY3 and HY5 positively mediate induction of COP1 transcription in response to photomorphogenic UV-B light. *The Plant cell*, 24(11), 4590–4606.
- Indorf, M., Cordero, J., Neuhaus, G., & Rodríguez-Franco, M.** (2007). Salt tolerance (STO), a stress-related protein, has a major role in light signalling. *The Plant journal: for cell and molecular biology*, 51(4), 563–574.
- Inoue, S. I., & Kinoshita, T.** (2017). Blue light regulation of stomatal opening and the plasma membrane H⁺-ATPase. *Plant physiology*, 174(2), 531–538.
- Jang, I. C., Henriques, R., & Chua, N. H.** (2013). Three transcription factors, HFR1, LAF1 and HY5, regulate largely independent signaling pathways downstream of phytochrome A. *Plant & cell physiology*, 54(6), 907–916.
- Jang, I. C., Yang, J. Y., Seo, H. S., & Chua, N. H.** (2005). HFR1 is targeted by COP1 E3 ligase for post-translational proteolysis during phytochrome A signaling. *Genes & development*, 19(5), 593–602.
- Jang, I. C., Yang, S. W., Yang, J. Y., & Chua, N. H.** (2007). Independent and interdependent functions of LAF1 and HFR1 in phytochrome A signaling. *Genes & development*, 21(16), 2100–2111.
- Jiang, L., Wang, Y., Li, Q. F., Björn, L. O., He, J. X., & Li, S. S.** (2012). Arabidopsis STO/BBX24 negatively regulates UV-B signaling by interacting with COP1 and repressing HY5 transcriptional activity. *Cell research*, 22(6), 1046–1057.
- Kevei, E., Gyula, P., Fehér, B., Tóth, R., Viczián, A., Kircher, S., Rea, D., Dorjgotov, D., Schäfer, E., Millar, A. J., Kozma-Bognár, L., & Nagy, F.** (2007). Arabidopsis thaliana circadian clock is regulated by the small GTPase LIP1. *Current biology*, 17(17), 1456–1464.

- Khurana, J.P.; Kochhar, A. & Tyagi, A.K.** (1998). Photosensory perception and signal transduction in higher plants--molecular genetic analysis. *Critical reviews in plant sciences*, 465–539.
- Kim, J. Y., Jang, I. C., & Seo, H. S.** (2016). COP1 Controls abiotic stress responses by modulating AtSIZ1 function through its E3 ubiquitin ligase activity. *Frontiers in plant science*, 7, 1182.
- Kim, S. J., Ryu, M. Y., & Kim, W. T.** (2012). Suppression of Arabidopsis RING-DUF1117 E3 ubiquitin ligases, AtRDUF1 and AtRDUF2, reduces tolerance to ABA-mediated drought stress. *Biochemical and biophysical research communications*, 420(1), 141–147.
- Kinoshita, T., Emi, T., Tominaga, M., Sakamoto, K., Shigenaga, A., Doi, M., & Shimazaki, K.** (2003). Blue-light- and phosphorylation-dependent binding of a 14-3-3 protein to phototropins in stomatal guard cells of broad bean. *Plant physiology*, 133(4), 1453–1463.
- Kircher, S., Gil, P., Kozma-Bognár, L., Fejes, E., Speth, V., Husselstein-Muller, T., Bauer, D., Adám, E., Schäfer, E., & Nagy, F.** (2002). Nucleocytoplasmic partitioning of the plant photoreceptors phytochrome A, B, C, D, and E is regulated differentially by light and exhibits a diurnal rhythm. *The Plant cell*, 14(7), 1541–1555.
- Klose, C., Viczián, A., Kircher, S., Schäfer, E., & Nagy, F.** (2015). Molecular mechanisms for mediating light-dependent nucleocytoplasmic partitioning of phytochrome photoreceptors. *The New phytologist*, 206(3), 965–971.
- Kong, S. G., & Okajima, K.** (2016). Diverse photoreceptors and light responses in plants. *Journal of plant research*, 129(2), 111–114.
- Koornneef, M., Hanhart, C. J., & van der Veen, J. H.** (1991). A genetic and physiological analysis of late flowering mutants in Arabidopsis thaliana. *Molecular & general genetics*, 229(1), 57–66.
- Koornneef, M., Jorna, M. L., Brinkhorst-van der Swan, D. L., & Karssen, C. M.** (1982). The isolation of abscisic acid (ABA) deficient mutants by selection of induced revertants in non-germinating gibberellin sensitive lines of Arabidopsis thaliana (L.) heynh. *Theoretical and applied genetics. Theoretische und angewandte Genetik*, 61(4), 385–393.
- Koornneef, M., Rolff, E. & Spruit, C. J. P.** (1980). Genetic control of light-inhibited hypocotyl elongation in Arabidopsis thaliana (L.) Heynh. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*, 147–160
- Kooter, J. M., Matzke, M. A., & Meyer, P.** (1999). Listening to the silent genes: transgene silencing, gene regulation and pathogen control. *Trends in plant science*, 4(9), 340-347.
- Kovács, H., Aleksza, D., Baba, A. I., Hajdu, A., Király, A. M., Zsigmond, L., Tóth, S. Z., Kozma-Bognár, L., & Szabados, L.** (2019). Light control of salt-induced proline accumulation is mediated by ELONGATED HYPOCOTYL 5 in Arabidopsis. *Frontiers in plant science*, 10, 1584.
- Kraepiel, Y. & Miginiac, E.** (1994). Photomorphogenesis and phytohormones. *Plant, cell and environment*, 20, 807-812
- Lee, J., He, K., Stolc, V., Lee, H., Figueroa, P., Gao, Y., Tongprasit, W., Zhao, H., Lee, I., & Deng, X. W.** (2007). Analysis of transcription factor HY5 genomic binding sites revealed its hierarchical role in light regulation of development. *The Plant cell*, 19(3), 731–749.
- Legris, M., Ince, Y. Ç., & Fankhauser, C.** (2019). Molecular mechanisms underlying phytochrome-controlled morphogenesis in plants. *Nature communications*, 10(1), 5219.
- Leivar, P. & Monte, E.** (2014). PIFs: systems integrators in plant development. *The Plant cell*, 26(1), 56–78.
- Li, J., Li, G., Wang, H., & Wang Deng, X.** (2011). Phytochrome signaling mechanisms. *The Arabidopsis book*, 9, e0148.

- Li, T., Heuvelink, E., Dueck, T. A., Janse, J., Gort, G., & Marcelis, L. F.** (2014). Enhancement of crop photosynthesis by diffuse light: quantifying the contributing factors. *Annals of botany*, *114*(1), 145–156.
- Lian, H. L., Yu, X., Ye, Q., Ding, X., Kitagawa, Y., Kwak, S. S., Su, W. A., & Tang, Z. C.** (2004). The role of aquaporin RWC3 in drought avoidance in rice. *Plant & cell physiology*, *45*(4), 481–489.
- Lim, J. H., Park, K. J., Kim, B. K., Jeong, J. W., & Kim, H. J.** (2012). Effect of salinity stress on phenolic compounds and carotenoids in buckwheat (*Fagopyrum esculentum* M.) sprout. *Food chemistry*, *135*(3), 1065–1070.
- Lin, C., Ahmad, M., Gordon, D., & Cashmore, A. R.** (1995). Expression of an Arabidopsis cryptochrome gene in transgenic tobacco results in hypersensitivity to blue, UV-A, and green light. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *92*(18), 8423–8427.
- Liu, B., Liu, H., Zhong, D., & Lin, C.** (2010). Searching for a photocycle of the cryptochrome photoreceptors. *Current opinion in plant biology*, *13*(5), 578–586.
- Ma, L., Li, J., Qu, L., Hager, J., Chen, Z., Zhao, H., & Deng, X. W.** (2001). Light control of Arabidopsis development entails coordinated regulation of genome expression and cellular pathways. *The Plant cell*, *13*(12), 2589–2607.
- Mao, J., Zhang, Y. C., Sang, Y., Li, Q. H., & Yang, H. Q.** (2005). A role for Arabidopsis cryptochromes and COP1 in the regulation of stomatal opening. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *102*(34), 12270–12275.
- Marten, H., Hedrich, R., & Roelfsema, M. R.** (2007). Blue light inhibits guard cell plasma membrane anion channels in a phototropin-dependent manner. *The Plant journal: for cell and molecular biology*, *50*(1), 29–39.
- Moazzam-Jazi, M., Ghasemi, S., Seyed, S. M., & Niknam, V.** (2018). COP1 plays a prominent role in drought stress tolerance in Arabidopsis and Pea. *Plant physiology and biochemistry*, *130*, 678–691.
- Mott, K. A., Sibbersen, E. D., & Shope, J. C.** (2008). The role of the mesophyll in stomatal responses to light and CO₂. *Plant, cell and environment*, *31*(9), 1299–1306.
- Munns, R.** (2002). Salinity, growth and phytohormones. In *Salinity: environment, plants, molecules* (pp. 271-290). Springer, Dordrecht.
- Munns, R., & Tester, M.** (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual review of plant biology*, *59*, 651–681.
- Murashige, T., & Skoog, F.** (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, *15*(3), 473-497.
- Nagy, F., & Schäfer, E.** (2000). Nuclear and cytosolic events of light-induced, phytochrome-regulated signaling in higher plants. *The EMBO journal*, *19*(2), 157–163.
- Nagy, F., & Schäfer, E.** (2002). Phytochromes control photomorphogenesis by differentially regulated, interacting signaling pathways in higher plants. *Annual review of plant biology*, *53*, 329–355.
- Nambara, E., & Marion-Poll, A.** (2005). Abscisic acid biosynthesis and catabolism. *Annual review of plant biology*, *56*, 165–185.
- Omidvar, V., Mohorianu, I., Dalmay, T., & Fellner, M.** (2015). MicroRNA regulation of abiotic stress response in 7B-1 male-sterile tomato mutant. *The plant genome*, *8*(3), plantgenome2015-02.
- Osterlund, M. T., Hardtke, C. S., Wei, N., & Deng, X. W.** (2000). Targeted destabilization of HY5 during light-regulated development of Arabidopsis. *Nature*, *405*(6785), 462–466.

- Outlaw, Jr, W. H.** (2003). Integration of cellular and physiological functions of guard cells. *Critical Reviews in plant sciences*, 22(6), 503-529.
- Oyama, T., Shimura, Y., & Okada, K.** (1997). The Arabidopsis HY5 gene encodes a bZIP protein that regulates stimulus-induced development of root and hypocotyl. *Genes & development*, 11(22), 2983-2995.
- Pappalardo, H. D., Toscano, V., Puglia, G. D., Genovese, C., & Raccuia, S. A.** (2020). *Cynara cardunculus* L. as a multipurpose crop for plant secondary metabolites production in marginal stressed lands. *Frontiers in plant science*, 11, 240.
- Pettai, H., Oja, V., Freiberg, A., & Laisk, A.** (2005). Photosynthetic activity of far-red light in green plants. *Biochimica et biophysica acta*, 1708(3), 311-321.
- Pierik, R., & Testerink, C.** (2014). The art of being flexible: how to escape from shade, salt, and drought. *Plant physiology*, 166(1), 5-22.
- Podolec, R., & Ulm, R.** (2018). Photoreceptor-mediated regulation of the COP1/SPA E3 ubiquitin ligase. *Current opinion in plant biology*, 45(Pt A), 18-25.
- Rockwell, N. C., Su, Y. S., & Lagarias, J. C.** (2006). Phytochrome structure and signaling mechanisms. *Annual review of plant biology*, 57, 837-858.
- Roeber, V. M., Bajaj, I., Rohde, M., Schmülling, T., & Cortleven, A.** (2021). Light acts as a stressor and influences abiotic and biotic stress responses in plants. *Plant, cell & environment*, 44(3), 645-664.
- Rozema, J., & Flowers, T.** (2008). Ecology. Crops for a salinized world. *Science (New York, N.Y.)*, 322(5907), 1478-1480.
- Rushton, P. J., Somssich, I. E., Ringler, P., & Shen, Q. J.** (2010). WRKY transcription factors. *Trends in plant science*, 15(5), 247-258.
- Sablok, G., Powell, J. J., & Kazan, K.** (2017). Emerging roles and landscape of translating mRNAs in plants. *Frontiers in plant science*, 8, 1443.
- Sah, S. K., Reddy, K. R., & Li, J.** (2016). Abscisic acid and abiotic stress tolerance in crop plants. *Frontiers in plant science*, 7, 571.
- Saijo, Y., Sullivan, J. A., Wang, H., Yang, J., Shen, Y., Rubio, V., Ma, L., Hoecker, U., & Deng, X. W.** (2003). The COP1-SPA1 interaction defines a critical step in phytochrome A-mediated regulation of HY5 activity. *Genes & development*, 17(21), 2642-2647.
- Seo, H. S., Yang, J. Y., Ishikawa, M., Bolle, C., Ballesteros, M. L., & Chua, N. H.** (2003). LAF1 ubiquitination by COP1 controls photomorphogenesis and is stimulated by SPA1. *Nature*, 423(6943), 995-999.
- Shafiq, I., Hussain, S., Raza, M. A., Iqbal, N., Asghar, M. A., Ali Raza, Fan, Y. F., Mumtaz, M., Shoaib, M., Ansar, M., Manaf, A., Yang, W. Y., Yang, F.** (2021). Crop photosynthetic response to light quality and light intensity. *Journal of integrative agriculture*, 4-23.
- Shalitin, D., Yang, H., Mockler, T. C., Maymon, M., Guo, H., Whitelam, G. C., & Lin, C.** (2002). Regulation of Arabidopsis cryptochrome 2 by blue light dependent phosphorylation. *Nature*, 417(6890), 763-767.
- Sharma, P., Chatterjee, M., Burman, N., & Khurana, J. P.** (2014). Cryptochrome 1 regulates growth and development in Brassica through alteration in the expression of genes involved in light, phytohormone and stress signalling. *Plant, cell & environment*, 37(4), 961-977.
- Sharrock, R. A. & Quail, P. H.** (1989). Novel phytochrome sequences in *Arabidopsis thaliana*: structure, evolution, and differential expression of a plant regulatory photoreceptor family. *Genes devel* 3, 1745-1757).

- Shi, H., Quintero, F. J., Pardo, J. M., & Zhu, J. K.** (2002). The putative plasma membrane Na⁽⁺⁾/H⁽⁺⁾ antiporter SOS1 controls long-distance Na⁽⁺⁾ transport in plants. *The Plant cell*, 14(2), 465–477.
- Shimazaki, K., Doi, M., Assmann, S. M., & Kinoshita, T.** (2007). Light regulation of stomatal movement. *Annual review of plant biology*, 58, 219–247.
- Shin, A. Y., Han, Y. J., Baek, A., Ahn, T., Kim, S. Y., Nguyen, T. S., Son, M., Lee, K. W., Shen, Y., Song, P. S., & Kim, J. I.** (2016). Evidence that phytochrome functions as a protein kinase in plant light signalling. *Nature communications*, 7, 11545.
- Shinomura, T., Nagatani, A., Chory, J., & Furuya, M.** (1994). The induction of seed germination in *Arabidopsis thaliana* is regulated principally by phytochrome B and secondarily by phytochrome A. *Plant physiology*, 104(2), 363–371.
- Shinomura, T., Nagatani, A., Hanzawa, H., Kubota, M., Watanabe, M., & Furuya, M.** (1996). Action spectra for phytochrome A- and B-specific photoinduction of seed germination in *Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(15), 8129–8133.
- Smirnova, O. G., Stepanenko I. L., Shumnyi V. K.** (2011). The role of the COP1, SPA, and PIF proteins in plant photomorphogenesis. *Biology bulletin reviews*, vol. 1, 314–3245.
- Smith, H.** (2000). Phytochromes and light signal perception by plants--an emerging synthesis. *Nature*, 407(6804), 585–591.
- Soh, M. S., Kim, Y. M., Han, S. J., & Song, P. S.** (2000). REP1, a basic helix-loop-helix protein, is required for a branch pathway of phytochrome A signaling in *Arabidopsis*. *The Plant cell*, 12(11), 2061–2074.
- Somers, D. E., Devlin, P. F., & Kay, S. A.** (1998). Phytochromes and cryptochromes in the entrainment of the *Arabidopsis* circadian clock. *Science (New York, N.Y.)*, 282(5393), 1488–1490.
- Stacey, M. G., Hicks, S. N., & von Arnim, A. G.** (1999). Discrete domains mediate the light-responsive nuclear and cytoplasmic localization of *Arabidopsis* COP1. *The Plant cell*, 11(3), 349–364.
- Sullivan, J. A., & Deng, X. W.** (2003). From seed to seed: the role of photoreceptors in *Arabidopsis* development. *Developmental biology*, 260(2), 289–297.
- Sun, W., Hui Xu, X., Lu, X., Xie, L., Bai, B., Zheng, C., Sun, H., He, Y., & Xie, X. Z.** (2017). The Rice phytochrome genes, PHYA and PHYB, have synergistic effects on anther development and pollen viability. *Scientific reports*, 7(1), 6439.
- Taiz, L. & Zeiger, E.** (2010). *Plant physiology*, 5th edition, Sinauer Associates Inc., Sunderland, 782 p.
- Tang, G., Reinhart, B. J., Bartel, D. P., & Zamore, P. D.** (2003). A biochemical framework for RNA silencing in plants. *Genes & development*, 17(1), 49–63.
- Tepperman, J. M., Zhu, T., Chang, H. S., Wang, X., & Quail, P. H.** (2001). Multiple transcription-factor genes are early targets of phytochrome A signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(16), 9437–9442.
- Terecskei, K., Tóth, R., Gyula, P., Kevei, E., Bindics, J., Coupland, G., Nagy, F., & Kozma-Bognár, L.** (2013). The circadian clock-associated small GTPase LIGHT INSENSITIVE PERIOD1 suppresses light-controlled endoreplication and affects tolerance to salt stress in *Arabidopsis*. *Plant physiology*, 161(1), 278–290.
- van Gelderen, K., Kang, C., & Pierik, R.** (2018). Light signaling, root development, and plasticity. *Plant physiology*, 176(2), 1049–1060.

- Vera-Estrella, R., Barkla, B. J., García-Ramírez, L., & Pantoja, O.** (2005). Salt stress in *Thellungiella halophila* activates Na⁺ transport mechanisms required for salinity tolerance. *Plant physiology*, 139(3), 1507–1517.
- Voitsekhovskaja, O. V.** (2019). Phytochromes and other (photo) receptors of information in plants. *Russian Journal of Plant Physiology*, 66(3), 351–364.
- Walters R. G.** (2005). Towards an understanding of photosynthetic acclimation. *Journal of experimental botany*, 56(411), 435–447.
- Wang H.** (2005). Signaling mechanisms of higher plant photoreceptors: a structure-function perspective. *Current topics in developmental biology*, 68, 227–261.
- Wang, H., Ma, L. G., Li, J. M., Zhao, H. Y., & Deng, X. W.** (2001). Direct interaction of Arabidopsis cryptochromes with COP1 in light control development. *Science (New York, N.Y.)*, 294(5540), 154–158.
- Wang, Q., Zuo, Z., Wang, X., Liu, Q., Gu, L., Oka, Y., & Lin, C.** (2018). Beyond the photocycle-how cryptochromes regulate photoresponses in plants?. *Current opinion in plant biology*, 45(Pt A), 120–126.
- Xu, P., Xiang, Y., Zhu, H., Xu, H., Zhang, Z., Zhang, C., Zhang, L., & Ma, Z.** (2009). Wheat cryptochromes: subcellular localization and involvement in photomorphogenesis and osmotic stress responses. *Plant physiology*, 149(2), 760–774.
- Xu, T., Lee, K., Gu, L., Kim, J. I., & Kang, H.** (2013). Functional characterization of a plastid-specific ribosomal protein PSRP2 in Arabidopsis thaliana under abiotic stress conditions. *Plant physiology and biochemistry*, 73, 405–411.
- Xu, X., Paik, I., Zhu, L., & Huq, E.** (2015). Illuminating progress in phytochrome-mediated light signaling pathways. *Trends in plant science*, 20(10), 641–650.
- Yang, H. Q., Tang, R. H., & Cashmore, A. R.** (2001). The signaling mechanism of Arabidopsis CRY1 involves direct interaction with COP1. *The Plant cell*, 13(12), 2573–2587.
- Yang, J., Lin, R., Sullivan, J., Hoecker, U., Liu, B., Xu, L., Deng, X. W., & Wang, H.** (2005). Light regulates COP1-mediated degradation of HFR1, a transcription factor essential for light signaling in Arabidopsis. *The Plant cell*, 17(3), 804–821.
- Yang, Q. L., H. Lu, Q. Zhou, H. T. Xie, J. Y. Li, Y. Du, Z. Y. Chen, S. C. Han, H. P. Zhao, & Zhao, H. X.** (2020). Analysis of LEA protein family members in *Lepidium apetalum* seeds and the expression of LaLEA1 in seedlings in response to abiotic stresses. *Biologia plantarum*, 64, 211–219.
- Yang, S. W., Jang, I. C., Henriques, R., & Chua, N. H.** (2009). FAR-RED ELONGATED HYPOCOTYL1 and FHY1-LIKE associate with the Arabidopsis transcription factors LAF1 and HFR1 to transmit phytochrome A signals for inhibition of hypocotyl elongation. *The Plant cell*, 21(5), 1341–1359.
- Yu, Y., Wang, J., Shi, H., Gu, J., Dong, J., Deng, X. W., & Huang, R.** (2016). Salt stress and ethylene antagonistically regulate nucleocytoplasmic partitioning of COP1 to control seed germination. *Plant physiology*, 170(4), 2340–2350.
- Zhang, Y., Zheng, S., Liu, Z., Wang, L., & Bi, Y.** (2011). Both HY5 and HYH are necessary regulators for low temperature-induced anthocyanin accumulation in Arabidopsis seedlings. *Journal of plant physiology*, 168(4), 367–374.
- Zhu J. K.** (2002). Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annual review of plant biology*, 53, 247–273.