



UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Laboratoř růstových regulátorů

Interakce modrého světla a auxinu v růstu rostlin

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

| | |
|-------------------------|--|
| Autor: | Adriana Hlavačková |
| Studijní program: | R13158 Experimentální biologie |
| Studijní obor: | Experimentální biologie |
| Forma studia: | Prezenční |
| Vedoucí práce: | Prof. RNDr. Martin Fellner, Ph.D. |
| Termín odevzdání práce: | 2017 |

Bibliografická identifikace

| | |
|-------------------------|---|
| Jméno a příjmení autora | Adriana Hlavačková |
| Název práce | Interakce modrého světla a auxinu v růstu rostlin |
| Typ práce | Bakalářská |
| Pracoviště | Laboratoř růstových regulátorů |
| Vedoucí práce | Prof. RNDr. Martin Fellner, Ph.D. |
| Rok obhajoby práce | 2017 |
| Abstrakt | Úvodní část bakalářské práce je zaměřena na charakteristiku rostlinných hormonů auxinů a jejich interakci se signálními drahami světla v prodlužovacím růstu rostlin. V praktické části je studován vliv auxinů NAA, IAA a 2,4-D na prodlužovací růst kořene a hypokotylu experimentálních genotypů rajčete cv. Rutgers a mutanta <i>7B-1</i> v podmínkách <i>in vitro</i> , a to v závislosti na světelných podmínkách, konkrétně ve tmě, na modrém a červeném světle. |
| Klíčová slova | Auxin, červené světlo, hypokotyl, IAA, kořen, modré světlo, mutant, NAA, růst, 2,4-D, 7B-1 |
| Počet stran | 62 |
| Počet příloh | 0 |
| Jazyk | Český |

Bibliographical identification

| | |
|---------------------------------|---|
| Author's first name and surname | Adriana Hlavačková |
| Title of thesis | Cross-talk of blue light and auxin in plant growth |
| Type of thesis | Bachelor |
| Department | Laboratory of Growth Regulators |
| Supervisor | Prof. RNDr. Martin Fellner, Ph.D. |
| The year of presentation | 2017 |
| Abstract | <p>The theoretical part of this bachelor thesis is focused on characterization of plant hormones auxins and their interaction with light signaling during elongation growth of plants. Experimental part of the thesis is focused on study of the effects of auxins NAA, IAA a 2,4-D on elongation growth of root and hypocotyl of tomato experimental genotypes cv. Rutgers and mutant <i>7B-1</i> in conditions <i>in vitro</i> in dependence on light conditions, namely the dark, blue and red light.</p> |
| Keywords | Auxin, blue light, growth, hypocotyl, IAA, mutant, NAA, red light, root, 2,4-D, 7B-1 |
| Number of pages | 62 |
| Number of appendices | 0 |
| Language | Czech |

„Prohlašuji, že jsem předloženou bakalářskou práci vypracovala samostatně pod vedením Prof. RNDr. Martina Fellnera, Ph.D., za použití citované literatury.“

V Olomouci dne 27. 4 2017

Ráda bych poděkovala Skupině molekulární fyziologie, především Prof. RNDr. Martinu Fellnerovi, Ph.D., za cenné rady při vypracování této bakalářské práce.

OBSAH

| | |
|---|----|
| SEZNAM ZKRATEK..... | 7 |
| 1. ÚVOD A CÍLE PRÁCE | 9 |
| 2. SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY | 10 |
| 2.1. Rostlinné hormony auxiny | 10 |
| 2.2. Transport auxinu | 11 |
| 2.3. Auxinem-indukované prodlužování | 12 |
| 2.4. Fotomorfogeneze, fotoreceptory a přenos světelného signálu | 13 |
| 2.5. Interakce světelných a hormonálních signálních drah v průběhu prodlužovacích procesů | 16 |
| 2.5.1. Světlo ovlivňuje hladinu endogenního auxinu a tím reguluje prodlužování hypokotyly | 16 |
| 2.5.2. Prodlužování hypokotyly v důsledku světelné regulace polárního transportu auxinu | 17 |
| 2.5.3. Signalizační prvky sdílené světlem a auxinem během prodlužování | 21 |
| 3. MATERIÁL A METODY | 26 |
| 3.1. Rostlinný materiál | 26 |
| 3.2. Roztoky a chemikálie | 26 |
| 3.3. Přístrojová technika a pomůcky | 26 |
| 3.4. Příprava média | 27 |
| 3.5. Klíčení semen | 27 |
| 3.6. Růst rostlin na médiu s auxinem | 28 |
| 3.7. Měření délky rostlin | 28 |
| 4. VÝSLEDKY | 30 |
| 4.1. Růstové reakce hypokotyly mutantu <i>7B-1</i> k auxinu NAA v závislosti na světelných podmínkách | 30 |
| 4.2. Růstové reakce kořene mutantu <i>7B-1</i> k auxinu NAA v závislosti na světelných podmínkách | 33 |
| 4.3. Růstové reakce kořene mutantu <i>7B-1</i> k auxinu IAA v závislosti na světelných podmínkách | 35 |
| 4.4. Růstové reakce kořene mutantu <i>7B-1</i> k auxinu 2,4-D v závislosti na světelných podmínkách | 39 |
| 5. DISKUZE | 42 |
| 5.1. Vliv exogenních auxinů na růst hypokotyly mutantu rajčete <i>7B-1</i> | 43 |
| 5.2. Vliv světla na citlivost kořenů k auxinu | 43 |
| 5.3. Mechanismy účinků světla na inhibici růstu kořene vlivem auxinů | 45 |
| 6. ZÁVĚR | 49 |
| 7. LITERATURA | 50 |

SEZNAM ZKRATEK

| | |
|----------|---|
| IAA | Indole-3-Acetic Acid (kyselina indol-3-octová) |
| NAA | 1-NaphthaleneAcetic Acid (kyselina 1-naftylactová) |
| 2,4-D | 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (kyselina 2,4-dichlorfenoxyoctová) |
| D | Dark (tma) |
| PAA | PhenylAcetic Acid (kyselina fenylactová) |
| ATP | Adenosine TriPhosphate (adenosintrifosfát) |
| NPA | 1-N-NaphthylPhthalamic Acid (kyselina naftylftalamová) |
| TIBA | 2,3,5-TriIodoBenzoic Acid (kyselina 2,3,5-trijodbenzoová) |
| CPD | Cyclopropyl Propan Dione (cyklopropyl propan dion) |
| ZMK | <i>Zea mays</i> K ⁺ transporter (draslíkový kanál) |
| CRY | CRYptochrome (krytochrom) |
| PHOT | PHOTotropin (fototropin) |
| RL | Red Light (červené světlo) |
| IAOx | Indole-3-Acetaldoxime (indol-3-acetaldoxim) |
| WT | Wild-Type (standardní typ, nemutovaná rostlina) |
| BL | Blue Light (modré světlo) |
| PAT | Polar Auxin Transport (polární auxinový transport) |
| FR | Far-Red (dlouhovlnné červené světlo) |
| COP | CONstitutive Photomorphogenic (konstitutivní fotomorfogeneze) |
| SAUR | Small Auxin Up RNA |
| MS | médium Murashige and Skoog |
| FAD | Flavin Adenine Dinucleotide (flavinadenindinukleotid) |
| PIN | Polar transport INhibitor resistant (PIN-formed) |
| AUX1/LAX | AUXin resistant 1/Like AuX |
| ABCB | ATP-Binding Cassette-B transporter |
| HY4, HY5 | elongated HYpokotyl 4,5 |

| | |
|---------|---|
| LOV | Light-Oxygen-Voltage sensitive |
| NPH1 | NonPhototropic Hypokotyl1 |
| PAR | Photosynthetically Active Radiation (fotosynteticky aktivní radiace) |
| IPA | Indole-3-Propionic Acid (indol-3-propionová kyselina) |
| TIR | Transport Inhibitor Resistant |
| PIF | Phytochrome-Interacting factor |
| PHY A-E | PHYtochrome A-E (fytochrom A-E) |
| MES | 2-(N-Morpholino) EthaneSulfonic acid (2- (N-morfolino) ethansulfonová kyselina) |
| SE | Standard Error (standardní chyba) |

1. ÚVOD A CÍLE PRÁCE

Auxiny patří mezi důležité rostlinné hormony, které regulují široké spektrum růstových a vývojových procesů v rostlinách. Na buněčné úrovni například stimulují expanzi buněk, čímž dochází k prodlužování orgánů. Světlo je klíčovým vnějším faktorem, který reguluje růst rostlin, často právě prostřednictvím auxinů. Světlo může redukovat hladinu auxinů v buňce, polární transport auxinů a množství či aktivitu auxinových receptorů. Tím se snižuje stimulační účinek endogenních auxinů na prodlužování buněk. Některé mechanismy interakce světla a auxinů v regulaci prodlužovacího růstu však nejsou dostatečně vysvětleny. Obecným cílem mé bakalářské práce bylo tedy přispět ke znalostem regulace růstu rostlin světlem, auxiny a jejich vzájemnou interakcí.

Účinek auxinů na růst rostlin je často studován aplikací exogenních auxinů, které však u intaktních rostlin růst inhibují. K experimentům v této bakalářské byl použit genetický přístup, který spočíval v analýze mutanta rajčete *7B-1* s defektem ve vnímání modrého světla. Mutant *7B-1* rovněž produkuje méně endogenních auxinů než kontrolní rostliny cv. Rutgers a vyznačuje se také tím, že etiolované hypokotyly jsou méně citlivé k inhibici auxinem NAA než hypokotyly nemutovaných rostlin. Předchozí experimenty také naznačily, že citlivost hypokotylů rajčete k auxinu je ovlivňována modrým světlem, a to odlišně při různých koncentracích aplikovaného auxinu. Cílem experimentální části mé bakalářské práce bylo zjistit, jak kvalita světla ovlivňuje růstové reakce hypokotylu a kořene rajčete k auxinům a jakou úlohu v těchto reakcích hraje mutace *7B-1*. Experimentální rostliny byly pěstovány ve tmě, na modrém nebo červeném světle v podmínkách *in vitro* na kultivačním médiu obsahujícím auxiny NAA, 2,4-D nebo IAA ve vybraných koncentracích.

Výsledky experimentů provedených v mé bakalářské práci potvrdily, že v podmínkách *in vitro* exogenní auxin inhibuje růst intaktních rostlin rajčete a přinesly nové informace o tom, jak světlo ovlivňuje citlivost rostlin k auxinům. Na základě výsledků jsme navrhli a diskutujeme hypotetické modely, které mohou naše výsledky vysvětlovat a současně nabízejí nové možnosti, jak tyto relativně složité mechanismy studovat.

Bakalářská práce byla vypracována v Laboratoři růstových regulátorů Univerzity Palackého v Olomouci a Ústavu experimentální botaniky Akademie věd České republiky.

2. SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

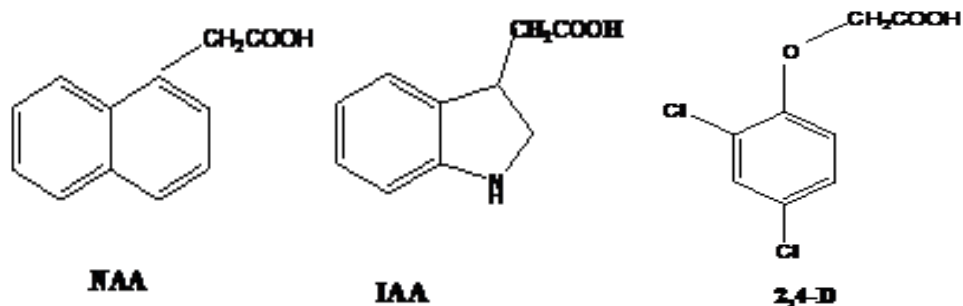
2.1. Rostlinné hormony auxiny

Auxin je prvním fytohormonem, který kdy byl studován na rostlinách. Jedna z jeho schopností na buněčné úrovni je stimulace dělení, prodlužování a diferenciacie buněk. Na úrovni rostlin auxiny indukují prodlužování stonků, vývoj meristému, růst adventivních kořenů a také apikální dominanci. Jednou ze skupin rostlinných hormonů, se kterými auxiny vzájemně spolupracují, jsou především cytokininy, ale rovněž gibereliny, kyselina abscicová, brasinosteroidy nebo etylen. Auxiny a cytokininy jsou hormony, které rostlina potřebuje pro životaschopnost, čímž se liší od ostatních rostlinných hormonů.

Na základě Wentova pokusu, který byl proveden v roce 1926 (Went 1926), bylo rostlinnému hormonu přiřazeno slovo auxin, řecky *auxein*, což znamená růst či vzrůst. F. W. Went ve svém pokuse prokázal, že za podporu buněčného prodloužení a tím i růstu částí koleoptile může aktivní substance, která je uvolněná ze špiček koleoptile ovsu po rozptýlení na želatinovém bloku. Studia fototropismu a gravitropismu souvisí s objevem auxinu.

Čtyři roky po Wentovu pokusu (1930) se zjistilo, že auxin je po chemické stránce kyselina indolyl-3-octová (IAA), která se vyskytuje ve všech rostlinách. IAA patří mezi fyziologicky nejdůležitější a nejvíce se vyskytující auxiny ze všech ostatních. Další auxiny byly prozkoumány a objeveny až později. Nízké hladiny IAA produkují všechna rostlinná pletiva, ale hlavním zdrojem IAA jsou mladé listy rostlin a apikální meristém (Ljung *et al.* 2001). Pokud je v rostlině IAA v ideální koncentraci, nebo dochází k ukončení jakékoli odpovědi na ni, dochází k degradaci auxinů a/nebo ke zpomalení syntézy auxinů. Degradace probíhá buď enzymaticky a nebo neenzymaticky, například světlem. Kyselina indolyl-3-octová se může v rostlině i hromadit.

Při studiích vyšších rostlin byly objeveny další auxiny, kam můžeme zařadit např. kyselina fenylloctová (PAA), kyselina indol-3-máselná nebo 4-chloroindolyl-3-octová kyselina. Díky poměrně jednoduché struktuře IAA bylo syntetizováno mnoho derivátů s podobnými vlastnostmi, do kterých patří např. 2-methoxy-3,6-dichlorobenzoovou kyselinu (dicamba), naftylloctovou kyselinu (NAA) nebo 2,4-dichlorofenoxyoctovou kyselinu (2,4-D) (Taiz and Zeiger 2010). Z místa syntézy je auxin transportován do míst, kde indukuje vývojové a růstové reakce.



Obr. č. 1 Strukturní vzorec auxinu NAA, IAA a 2,4-D.

2.2. Transport auxinu

Dosavadní výsledky ukazují, že auxin je transportován v rostlině tzv. polárním transportem, což znamená, že transport probíhá z apikální části do bazální části rostliny. Polární transport se vyskytuje skoro u všech rostlin, u nichž není ovlivněn například gravitací ani polohou pletiva, nicméně potřebuje energii, kterou použije na vstup a výstup auxinu z buněk. Dřívější výsledky ukázaly, že tento transport řídí chemiosmotický potenciál ($\Delta E + \Delta pH$) řídí influx (vstup) auxinu skrz plazmatickou membránu a membránový potenciál ΔE naproti tomu řídí efflux (výstup) auxinu. Vstup auxinu řídí protonové symportéry, které jsou řazeny do proteinové rodiny AUX1/LAX (Bennett *et al.* 1996; Yang *et al.* 2006). Zatímco výstup auxinu řídí transportní proteiny PIN a ABCB (Blakeslee *et al.* 2005). Transportní proteiny ABCB využívají ATP jako zdroj energie. Buňky, v nichž probíhá transport auxinu, obsahují na svých koncích polárně lokalizované proteiny PIN, kterými je řízen polární tok auxinu. Toto tvrzení bylo prověřeno v celých rostlinách (Li *et al.* 2005). Existují látky, které mohou inhibovat vstup a výstup auxinu a ty se nazývají inhibitory auxinového transportu. Jsou to např. inhibitory NPA, TIBA, CPD nebo gravacin mohou inhibovat výstup auxinu z buňky a inhibitor NOA může inhibovat vstup auxinu do buňky.

Auxinový transport může být regulován posttranskripčními mechanismy, transkripcí genů nebo jinými faktory, a to například fosforylací, proteolytickými procesy, interakcí s regulačními proteiny a složením membrány. Nejznámějšími faktory, regulující transport auxinu jsou například hormony (zpětnou vazbou i auxiny), pohyby proteinů a flavonoidy (Taiz and Zeiger 2010).

2.3. Auxinem-indukované prodlužování

Proces prodlužování nové rostliny nastává ve třetí fázi klíčení, kdy začnou růst embryonální buňky. Fenomén v prodlužování růstu buněčných a rostlinných orgánů byl studován pomocí prodlužující se koleoptile ovsa (*Avena*) (Darwin and Darwin, 1881). Tyto experimenty vedly k závěrům, že neporušené koleoptilové špičky mají "nějaký vliv" na fototropické zakřivení koleoptile. Existence tohoto vlivu zajímalo i ostatní a během 20. století bylo prokázáno, že tímto faktorem, který ovlivňuje fototropický růst je rostlinný hormon auxin IAA, který se šíří z koleoptilové špičky a reguluje růst (Cholodny 1924; Went 1928; Greenwood *et al.* 1973). Dnes víme, že auxin indukuje signální dráhy, které vedou k dramatickému růstu buněčných a rostlinných orgánů.

Auxinem indukovaný růst koleoptile je způsoben buněčným prodlužováním, zatímco počet buněk v koleoptili zůstává konstantní (Philippar *et al.* 1999). Mechanismy buněčného prodlužování stále zůstávají předmětem diskusí (Cleland 2004), přičemž byly navrženy různé interpretace toho, jak auxin indukuje růst (Rayle and Cleland 1992; Claussen *et al.* 1997; Philippar *et al.* 1999; Bauer *et al.* 2000). V poslední čtvrtině 20. století byly poskytnuty důkazy o tom, že konečný cíl působení auxinu je protonová pumpa H^+ -ATPáza na plazmatické membráně a bylo navrženo několik mechanismů aktivace H^+ -ATPázy (Hager 2003). Aktivací pumpy dochází k vylučování iontů H^+ do apoplastu a tím dochází k jeho okyselení. Trvalé ATP-řízené okyselování, tj. akumulace H^+ iontů v apoplastu, proto vyžaduje vyrovnání kladných nábojů protonů. Bylo zjištěno, že do tohoto procesu jsou zapojeny draslíkové kanály, které transportují ionty K^+ z vnějšku dovnitř buňky. Aktivita H^+ -ATPázy je proto závislá na antiportu K^+ dovnitř buňky prostřednictvím draslíkového kanálu ZMK1. Je zřejmé, že indukce exprese genů pro draslíkové kanály je hlavním cílem auxinové signalizace (Christian *et al.* 2006). Díky okyselování v apoplastu dochází ke zvýšení aktivity pH citlivých enzymů, které následně hydrolyzují xyloglukanové molekuly, které váží celulósová fibrily nebo rozbíjí vodíkové vazby mezi polymery. Buněčná stěna uvolňuje a zvyšuje turgorem řízenou expanzi buněk. Tento proces vysvětluje teorie tzv. kyselého růst (*acid-growth theory*; Rayle and Cleland 1970; Hager 2003).

Dvouděložné rostliny, jako je např. modelová rostlina *Arabidopsis*, vytváří embryonální a postembryonální stonek zvaný hypokotyl. Většina buněk v hypokotylu je tvořena v embryu, kde se nachází v embryonálním hypokotylu *Arabidopsis* asi dvacet epidermálních buněk. V důsledku toho, dochází v hypokotylu po vyklíčení pouze k několika buněčným dělením a hypokotyl roste především díky podélné expanzi buněk (Gendreau *et al.* 1997). Hypokotyl je velmi plastický orgán, který silně reaguje na různé

vnitřní a vnější faktory, o kterých je známo, že regulují buněčnou expanzi. Vnitřní faktory jako je auxin a další hormony, například gibereliny a brasinosteroidy, jsou obecně považovány za hormony stimulující růst, zatímco hormony etylén a cytokininy jsou především považovány za faktory inhibující prodlužování (Davies 2004, Vandenbussche and Van Der Straeten 2007). Dnes víme, že hormony působí v růstových a prodlužovacích procesech ve vzájemné shodě, nebo naopak antagonisticky (Vandenbussche and Van Der Straeten 2007). Nejvýznamnějším vnějším faktorem regulujícím prodlužování hypokotylu je bezpochyby světlo.

2.4. Fotomorfogeneze, fotoreceptory a přenos světelného signálu

Ukázalo se, že mechanismus pro prodlužovací růst hypokotylu ve tmě (skotomorfogeneze) se podstatně liší od růstu hypokotylu na světle (Gendreau *et al.* 1997). Ve tmě se hypokotyl stává velmi dlouhým, kdežto na světle dochází ke zpomalení jeho růstu. Tento proces, indukovaný světlem, se nazývá fotomorfogeneze (Obr. 2). Fotomorfogeneze je definovaná jako světlem indukované změny ve vývoji a růstu rostlin. Je to proces, při kterém světlo jako signál změni vývoj rostliny tak, aby mohla pro svůj další růst využít světlo jako energii (Taiz and Zeiger 2006). I když nejsou viditelné, první změny nastávají okamžitě po začátku působení světla. Například, během hodiny dochází ke snížení rychlosti prodlužování stonku, začíná se narovnávat apikální háček, iniciuje se syntéza chlorofylu a stimuluje se růst listů.



Obr .č. 2 Růst rostliny ve tmě (skotomorfogeneze; vlevo) a na světle (fotomorfogeneze; vpravo) (převzato z Taiz and Zeiger 2006)

Při fotomorfogenezi je světlo zachycováno pigmenty, které jsou součástí fotoreceptorů. Fotoreceptory, které vnímají červené světlo, se nazývají fytochromy. Receptory, které vnímají modré světlo a UV-A se nazývají kryptochromy a fototropiny.

Fytochromy jsou modré proteinové pigmenty velikosti asi 125 kDa a byly identifikovány v roce 1959 (Butler *et al.* 1959). První náznaky role fytochromů ve vývoji rostlin byly zjištěny ve 30. letech při pokusech s reakcemi indukovanými červeným světlem, konkrétně klíčení. V dnešní době je známa celá řada reakcí indukovaných červeným světlem prostřednictvím receptorů fytochromů. Přelom ve výzkumu fytochromů

nastal, když bylo zjištěno, že efekt červeného světla (650 – 680 nm) na vývoj rostliny může být eliminován ozářením světlem o větší vlnové délce, a to 710 – 740 nm, které se nazývá dlouhovlnné červené světlo (far-red, FR). Tento jev byl poprvé pozorován při klíčení salátových semen, ale byl rovněž pozorován u růstu stonku a listů a indukci kvetení. Experimentálně i biochemicky bylo prokázáno, že fytochrom se vyskytuje v rostlinném extraktu, že jde o jeden pigment, jehož forma se může měnit z R-absorbující na FR-absorbující. Reversibilní fytochromu vlastnosti byly ukázány *in vitro*.

První skupinou fotoreceptorů modrého světla jsou kryptochromy. Kryptochrom 1 (CRY1) byl identifikován pomocí mutanta *hy4* u *Arabidopsis*, který se vyznačuje tím, že není schopen reagovat k modrému světlu inhibicí prodlužovacího růstu svého hypokotylu (Cashmore 1997). Mutant má ve srovnání s kontrolní nemutovanou rostlinou dlouhý hypokotyl, i když roste na modrém světle. Později bylo zjištěno, že gen *HY4* kóduje protein o velikosti 75 kDa. Sekvenční analýza ukázala, že většina rostlinných kryptochromů má dvě domény. N-terminální doménu, která ukazuje homologii k DNA fotolyáze a C-terminální doménu, která není příbuzná k fotolyáze. Studie ukázaly, že amino-terminální část molekuly CRY (PHR doména) váže dva typy chromoforu, které přímo pohlcují světlo: flavin (FAD) a pterin. Protein *HY4* byl později přejmenován na *CRY1* (cryptochrome1) a je považován za fotoreceptor modrého světla, který zprostředkovává inhibici prodlužování. Nejdůležitějšími důkazy toho, že *CRY1* zprostředkuje inhibici prodlužování indukovaného modrým světlem, byly výsledky získány studiem overexprese genu *CRY1*. Overexprese genu *CRY1* v transgenních rostlinách tabáku a *Arabidopsis* vedla k silné inhibici prodlužování hypokotylu indukované modrým světlem, mnohem silnější, než u WT (Ahmad and Cashmore 1993, 1996). Druhý gen, homologní ke *CRY1* byl nazván *CRY2* a byl izolován rovněž u *Arabidopsis*. Hlavní rozdíl mezi fotoreceptory *CRY1* a *CRY2* je, že *CRY2* se rychle degraduje na světle, kdežto *CRY1* je fotostabilní. Experimenty ukázaly, že fotoreceptor *CRY2* nehraje primární roli v inhibici prodlužovacího růstu, ale především v růstu děloh indukovaném modrým světlem (Guo *et al.* 1998).

Druhou skupinou fotoreceptorů modrého světla jsou fototropiny (Liscum 2002). Fototropiny byly identifikovány pomocí mutantů *Arabidopsis*, kteří měly defekty ve fototropické reakci hypokotylu. Jeden z nich je mutant *nph1* (*nonphototropic hypocotyl1*). Mutant *nph1* není schopen reagovat fototropicky k modrému světlu, přičemž prodlužování hypokotylu je normálně inhibováno modrým světlem. Proto tento protein kódovaný genem *NPH1* byl navržen jako receptor pro fototropismus. Gen *NPH1* kóduje protein o velikosti 966 aminokyselin, který byl přejmenován na *PHOTOTROPINI* (*PHOT1*). *PHOT1* je

vysoce hydrofilní, ale bylo zjištěno, že se připojuje k membráně (má membránovou doménu). Fototropiny se vyznačují tím, že jejich N-terminální část obsahuje dva opakující se motivy, z nichž každá má 110 aminokyselin. Tyto domény jsou podobné doméně PAS v proteinech, které jsou regulovány světlem (Light), kyslíkem (Oxygen, u *Escherichia coli*), a napětím (Voltage, u *Drosophila* a obratlovců). Proto byly tyto domény nazvány LOV, konkrétně LOV1 a LOV2.

U *Arabidopsis* byl vyselektován i druhý mutant nazvaný *phot2*, který je podobný *phot1*. Stejně jako protein PHOT1, PHOT2 protein váže FMN a prochází autofosforylací, když je vystaven modrému světlu. Rozdíl mezi mutanty je ten, že *phot1* nereaguje fototropicky k modrému světlu o nízké intenzitě ($0.01-1 \mu \text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), ale uchovává si reakci k vyšší intenzitě ($1-10 \mu \text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$). Mutant *phot2* má normální obě fototropické reakce, ale double mutant *phot1/phot2* má silný defekt ve fototropismu při nízké i vyšší intenzitě modrého světla. To naznačuje, že oba geny *PHOT1* a *PHOT2* hrají roli ve fototropismu, přičemž *PHOT2* funguje při vysoké intenzitě.

Fototropiny v rostlinách zprostředkují další reakce indukované modrým světlem. Patří k nim indukce inhibice prodlužování hypokotylu během prvních sekund po ozáření rostliny modrým světlem, otevírání průduchů a pohyby chloroplastů v listech (akumulační a vyhýbavá reakce chloroplastů), pohyb jader a exprese genů.

Aktivace fotoreceptorů spouští významné transkripční přeprogramování a spouští fotomorfogenní procesy (Jiao *et al.* 2007). Ve tmě se E3 ubikvitin ligáza COP1 (CONSTITUTIVE PHOTOMORPHOGENIC 1) zaměřuje na transkripční faktor HY5 (ELONGATED HYPOCOTYL 5) skupiny bZIP, který směřuje k degradaci, což má za následek prodloužení hypokotylu, protože transkripční faktor HY5 nemůže tím pádem stimulovat expresi genů, které jsou zapojeny ve fotomorfogenezi. Na světle se interakce mezi COP1-HY5 přeruší. COP1 je jednak částečně degradován světlem, prostřednictvím fytochromů a kryptochromů a jednak je vlivem světla transportován z jádra do cytoplazmy. To vede ke zvýšené akumulaci HY5, což umožňuje expresi genů zapojených ve fotomorfogenezi. Jednou z fotomorfogenních reakcí je tedy inhibice prodlužování hypokotylu (Nemhauser 2008). Morfologická jednoduchost hypokotylu a jeho schopnost reagovat na vnitřní růstové regulátory a faktory prostředí, jakož i dostupnost různých mutantů, činí z hypokotylu vynikající modelový orgán pro studium prodlužovacích procesů a jeho regulace pomocí hormonů a interakce hormonů se světlem. V současné době je tedy k dispozici velké množství dat o regulaci růstu hypokotylu u rostlin *Arabidopsis*. To pomáhá pochopit mechanismy regulace prodlužovacích procesů rostlin.

2.5. Interakce světelných a hormonálních signálních drah v průběhu prodlužovacích procesů

Rostliny rostoucí na světle jsou kratší než ty, které se vyvíjí ve tmě nebo ve stínu. Inhibice prodlužování během fotomorfogeneze je zvláště patrná velmi brzo po klíčení semen. Mechanismy světlem indukované růstové inhibice ještě nejsou zcela objasněny, ale zahrnují několik různých procesů, včetně světlem indukované regulace hormonálních drah. Mnoho procesů je kontrolováno kvalitou světla, jeho množstvím nebo fotoperiodou a všechny tyto světelné signály interagují s hormonálními signálními drahami, které pak ovlivňují různé fyziologické procesy, včetně prodlužování hypokotylu. Je známo, že světlo-hormonální dráhy jsou integrovány na mnoha úrovních. Světlo může ovlivnit biosyntézu hormonů, jejich distribuci a citlivost pletiv na hormony. Tyto procesy mohou zahrnovat změny v expresi různých genů. Světlo a hormony mohou také sdílet společné signální prvky, jako jsou např. regulátory transkripce (Vandenbussche *et al.* 2005, 2007b; Nemhauser 2008; Kurepin and Pharis 2014; de Wit *et al.* 2016).

2.5.1. Světlo ovlivňuje hladinu endogenního auxinu a tím reguluje prodlužování hypokotylu

Světelné signály silně ovlivňují účinky auxinu v prodlužovacím růstu. To může spočívat například v tom, že světlo ovlivňuje hladinu endogenního auxinu v cílových orgánech a pletivech. Protože světlo inhibuje prodlužování buněk a auxin stimuluje prodlužování, byla vyslovena hypotéza, že světlo může v pletivech snižovat hladinu auxinu. V souladu s touto hypotézou bylo prokázáno u jednoděložných rostlin, že červené světlo (RL) inhibuje biosyntézu IAA v koleoptile kukuřice (Iino 1982; Nishimura *et al.* 2006). Bylo také ukázáno, že červené světlo snižuje hladinu auxinu v koleoptile kukuřice, mesokotylu, hrachovém epikotylu, hrachových interodiích nebo řapíku rostlin rodu *Brassica* (Jones *et al.* 1991; Behringer and Davis 1992; Fellner *et al.* 2006; Sorce *et al.* 2008).

Naopak, rostliny tabáku s mutací v genech, kontrolujících hladinu chromoforu, *pew1* a *pew2*, obsahují velké množství IAA, což koresponduje se zvýšeným prodlužováním rostliny (Kraepiel *et al.* 1995). Další data získaná u mutantů *phyA* a *phyB* v rajčeti potvrdila, že fytochromy A a B regulují hladinu IAA (Kraepiel and Miginiac 1997). Analýzou mutantu *Arabidopsis red1* s dlouhým hypokotylem na červeném světle a se zvýšenou hladinou auxinu, bylo zjištěno, že produkt RED1 zprostředkovává fytochromem regulovanou homeostázu auxinu (Hoecker *et al.* 2004; Wagner *et al.* 1997). Bylo také zjištěno, že *RED1* kóduje enzym P450 monooxygenázu, CYP83B1, a jeho exprese je stimulována červeným světlem. Tento enzym katalyzuje N-hydroxylaci prekurzoru IAA, kterým je indol-3-acetaldoxim (IAOx). Defekt v IAOx hydroxylaci vede

k akumulaci IAOx a tedy ke zvýšené akumulaci auxinu. U hrachu a slunečnice je elongace stonku a hypokotylu podporována sníženým poměrem RL/FR nebo sníženou fotosynteticky aktivní radiací (PAR), což bylo doprovázeno výrazně vyšší hladinou endogenního auxinu IAA v prodlužujících se pletivech (Behringer and Davies 1992). Podobně, prodlužování hypokotylu u *Arabidopsis* je při sníženém poměru RL/FR, spolu s nízkým PAR, závislé na IAA (Steindler *et al.* 1999). Tao *et al.* (2008) uvádí, že na základě nízkého poměru RL/FR se zvyšuje hladina IAA ve WT, ale ne u mutantu *sav3*. Analýza ukázala, že *sav3* postrádá tryptofan aminotransferázu TAA1, která katalyzuje tvorbu indol-3-propionové kyseliny (IPA) z L-tryptofanu, což je první krok v biosyntetické dráze auxinu. Nagashima *et al.* (2008) také uvedl, že RL snižuje hladinu IAA v nadzemních částech semenáčku *Arabidopsis* a že fytochromy phyA a phy B k tomuto snížení přispívají. Autoři také zjistili, že kryptochromy CRY1 a CRY2 aktivované modrým světlem (BL) snižují hladinu IAA v nadzemních částech sazenic (Nagashima *et al.* 2008). Význam modrého světla v rostlinné fotomorfogenezi byl rozpoznán již dříve (Darwin 1881; Vines 1886). Genomická a fyziologická data později ukázala, že BL působící prostřednictvím CRY1 rychle ovlivňuje expresi mnoha genů, což přispívá k redukci hladiny auxinu a vede tak k redukci prodlužování hypokotylu (Folta *et al.* 2003).

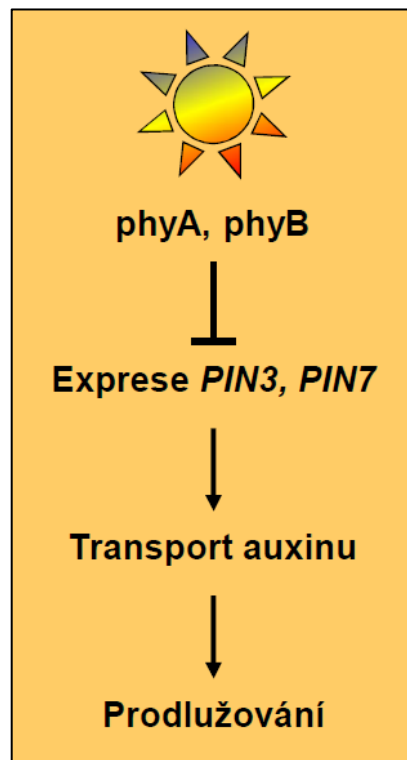
Romano *et al.* (1995) však zjistili, že transgenní rostliny *Arabidopsis* s nadprodukcí IAA ukazovaly normální reakce ke světlu, což naznačuje, že procesy regulace růstu hypokotylu prostřednictvím auxinu a světla mohou být nezávislé. Také se ukázalo, že u mutantů se zvýšenou hladinou auxinů, například *sur1* a *yucca*, nebo v přítomnosti exogenního auxinu, je prodlužování hypokotylu silně sníženo (Boerjan *et al.* 1995; King *et al.* 1995; Thomine *et al.* 1997; Ephritikhine *et al.* 1999a). Bylo rovněž zjištěno, že prodlužování hypokotylu na světle i ve tmě bylo sníženo v sazenicích s nadměrnou expresí *iaaLys*, což je IAA konjugační enzym (Gray *et al.* 1998). Z analýzy výsledků jednoznačně vyplývá, že světlem indukované snížení hladiny IAA je mechanismus, který je zapojen v inhibici prodlužování rostlinných buněk. Je však zřejmé, že interakce mezi světlem a auxinem i na jiné úrovni je zodpovědná za prodlužování hypokotylu (Folta *et al.* 2003; Nemhauser 2008; Kurepin and Pharis 2014; de Wit *et al.* 2016).

2.5.2. Prodlužování hypokotylu v důsledku světelné regulace polárního transportu auxinu

Na počátku roku 1990 Jones *et al.* (1991) a Behringer and Davies (1992) navrhli zapojení transportu auxinu regulovaného červeným světlem ve světlem-indukované inhibici buněčného prodlužování. Obě skupiny ukázaly, že ve tmě se IAA akumuluje uvnitř

epidermálních buněk, kdežto na RL se akumulace IAA snižuje. Další studie dále potvrdily vztah mezi světlem-indukovanými růstovými reakcemi a polárním transportem auxinu (PAT) (Tian and Reed 2001, Kim *et al.* 2002; Fuchs *et al.* 2003). Bylo prokázáno, že světlo snižuje intenzitu PAT v segmentech etiolované koleoptile (Naqvi 1975; Iino 1982; Fellner *et al.* 2003). Významnou úlohu světla a polárního transportu auxinu ve fotomorfogenezi semenáčků kukuřice lze také odvodit ze znalosti toho, jak se světlem-indukované snížení transportu auxinu podílí na prodlužování mezokotylu (Van Overbeek 1936; Iino 1982; Jones 1990; Jones *et al.* 1991).

U *Arabidopsis* bylo ukázáno, že u rostlin pěstovaných na světle, ale nikoliv u etiolovaných rostlin, inhibitor polárního transportu auxinu kyselina naftylftalamová (NPA) redukuje prodlužování hypokotylu (Jensen *et al.* 1998). To znamená, že ve tmě není růst dost citlivý na změny v koncentracích auxinu, a to buď proto, že je růst na auxinu nezávislý, nebo proto, že hladiny auxinů jsou nasycené, zatímco u rostlin rostoucích na světle se auxinový transport stává zásadní pro kontrolu růstu. Účinek NPA byl silně snížen v mutantech *phyA*, *phyB* nebo *cry1* rostoucích pod FR, RL nebo BL. Zdá se proto, že fotoreceptory-řízená inhibice prodlužování hypokotylu zahrnuje, alespoň částečně, regulaci polárního transportu auxinu (Jensen *et al.* 1998). Je zajímavé, že růst hypokotylu rajčete ve tmě nebo RL vyžaduje PAT, zatímco růst hypokotylu pod BL je nezávislý na PAT (Kraepiel *et al.* 2001). Později Pédrón *et al.* (2004) publikovali, že polární transport auxinu je zapojen v prodlužování hypokotylu u rostlin rajčete rostoucích pod modrým světlem prostřednictvím regulace exprese genu *LeEXT* (expansin), který by měl být zapojen do procesu regulace prodlužování hypokotylu (Catalá *et al.* 1997; Rose and Bennett 1999). V současné době však nevíme, jak přesně při regulaci transportu auxinu fytochromy působí. Nové studie ukázaly, že hladiny transkriptů genů kódujících přenašeče auxinu PIN3 a PIN7 jsou regulovány fytochromy (Devlin *et al.* 2003) a že fenotyp mutanta *pin3* je závislý na světle (Friml *et al.* 2002). Salisbury *et al.* (2007) ukázali, že hladina proteinu PIN3 a hladina PIN3 mRNA jsou zvýšeny u mutanta *phyB*, ve srovnání s WT. Autoři také prokázali, že fytochrom ve stoncích může kontrolovat růst postranních kořenů a DR5:GUS (β -glucuronidase) reportér, široce používaný auxinový senzor, je v mutantu *phyB* exprimován blíže u báze hypokotylu, než je tomu u WT. Proto může fytochrom řídit transport auxinu změnou hladiny auxinu a/nebo buněčnou lokalizací proteinů PIN. Celkově důkazy naznačují, že de-etiolace může být doprovázena širokou ztrátou auxinového průtoku z místa nejvyšší koncentrace auxinu ve vrcholu rostliny.



Obr. č. 3 Schéma vlivu světla na prodlužování hypokotylu regulací transportu auxinu. Světlo, prostřednictvím fytochromů A a B, potlačuje expresi genů *PIN3* a *PIN7*, jejichž produkty zprostředkovávají auxinový transport. Potlačení produkce proteinů PIN dochází proto k redukcí polárního transportu auxinů a tím ke snížení prodlužování. Navržené schéma představuje jeden z mechanismů procesu de-etiolizace rostlin (podle Devlin et al. 2003).

Auxinový transport je kromě proteinů PIN rovněž regulován transmembránovými p-glykoproteiny skupiny tzv. ATP-binding cassette transporters (ABC; Noh *et al.* 2001). Jedním z členů této skupiny je ABCB1, o němž bylo zjištěno, že přímo katalyzuje aktivní transport IAA z buňky (Geisler *et al.* 2005). Sidler *et al.* (1998) ukázali, že pokud je ABCB1 overexprimován v hypokotylu *Arabidopsis*, tak dochází k prodlužování hypokotylu. Naopak, pokud byl ABCB1 vyřazen z provozu (pomocí antisense technologie), pak se hypokotyl zkracuje. Lin and Wang (2005) prokázali, že ztráta funkce ABCB1 má za následek zvýšenou inhibici růstu na světle, a ukázali, že u rostlin rostoucích pod FR je zapojen v signální dráze phyA. Nagashima *et al.* (2008) uvedli, že exprese jiného typu ABC auxinového transportéru ABCB19 (nazývaného dříve PGP19) je potlačena aktivací fytochromů a kryptochromů. Tyto výsledky byly potvrzeny nedávno experimenty skupiny E. Spaldinga (Wu *et al.* 2010). Autoři ukázali, že overexprese ABCB19 v *Arabidopsis* zvyšovala hladinu auxinu v hypokotylu a vedla následně k jeho snížené citlivosti k BL- a RL-indukované inhibici růstu. Naopak, vypnutí ABCB19 v mutantu *cry1* částečně potlačilo dlouhý hypokotyl mutantu. Overexprese ABCB19

v rostlinách rostoucích na RL vedla k podobnému fenotypu, jaký má mutant *phyB*. Nakonec, mutace *cry1* a *phyB* vedly ke zvýšení hladiny ABCB19 proteinu. Tyto výsledky jasně ukazují, že aktivita ABC proteinů, např. ABCB1 a ABCB19, je během řízení distribuce auxinu z prýtu do kořene spojeny se světelnou signalizací a tak procesem prodlužování.

Je zajímavé, že exprese ABCB19 je indukována auxinem (Noh *et al.* 2001), ale v porovnání s PIN protein je buněčná lokalizace ABCB protein převážně nepolární. Kromě toho ABCB proteiny váží inhibitor auxinového transportu NPA (Murphy *et al.* 2002) a fenotypové účinky způsobené ztrátou funkce ABCB jsou nejvýraznější ve vegetativních orgánech. Patří mezi ně trpasličí růst, snížená apikální dominance, kudrnatě pomačkané listy, atd, což jen podporuje jejich úlohu ve vývoji řízeném auxinem (Bandyopadhyay *et al.* 2007). Nicméně, exprese, lokalizace a úloha proteinů ABCB ve vývojových procesech jsou méně charakterizované v porovnání s proteiny PIN. Dřívější informace, že ABCB19 stabilizuje PIN1 na plazmatické membráně naznačují, že interakce PIN-ABCB může regulovat polární transport auxinu z buňky (Noh *et al.* 2003). Zdá se, že ABCB1 a ABCB19 lokalizovány společně s PIN1 ve vrcholcích výhonku u *Arabidopsis* a interakce PIN-ABCB zvyšují aktivitu auxinového transportu (Blakeslee *et al.* 2007). Mravec *et al.* (2008) poté poskytli důkazy o tom, že PIN a ABCB proteiny definují nezávislé transportní mechanismy, které spolu při zprostředkování transport auxinu kooperují. Autoři navrhli model vysvětlující, jak je nepolární výtok auxinu, zprostředkovaný proteiny ABCB, spojen s polárním transportem, který je řízen proteiny PIN. Model navrhuje, že ABCB a PIN proteiny vzájemně působí intermolekulárně a pravděpodobně regulují stabilitu PIN proteinu na plazmatické membráně. Zbývající ABCB proteiny v těchto buňkách kontrolují zásobu buněčného auxinu, která je dostupná pro transport zprostředkovaný protein PIN. V důsledku toho dvojitý mutant *abcb1abcb19* má zvýšenou buněčnou koncentraci auxinu, a proto je transport PIN zesilován, ale již méně směřován (Mravec *et al.* 2008).

Další spojení mezi světlem a transportem auxinu je zprostředkováno transkripčním faktorem ATHB-2, který patří do skupiny transkripčních faktorů zvaných homeodomain-leucine zipper. Bylo ukázáno, že exprese *ATHB-2* byla indukována světlem s nízkým poměrem R/FR (Carabelli *et al.* 1996, Steindler *et al.* 1999), a to prostřednictvím fytochromů phyB a phyE. Rostliny s nesmyslným genem *ATHB-2* (s vypnutým genem *ATHB-2*) mají ve srovnání s WT krátký hypokotyl a zvětšené dělohy. Naopak transgenní rostliny se zvýšenou expresí *ATHB-2* vykazují fenotyp podobný mutantům, kteří postrádají fytochrom (Franklin *et al.* 2003). Kromě toho, jak mutant *phyB*, tak rostliny overexprimující *ATHB-2*, vytváří málo vedlejších kořenů. Vzhledem k tomu, že tvorba

vedlejších kořenů je regulována auxinem, byl udělán závěr, že fenotyp rostlin s nadměrnou expresí ATHB2 je výsledkem redukce transportu auxinu z prýtlů ke kořenům (Morelli and Ruberti 2000; Bhalerao *et al.* 2002). Tvorba vedlejších kořenů v rostlinách s nadměrnou expresí ATHB-2 může být indukována exogenním auxinem. To podporuje hypotézu, že fytochromy podporují transport auxinu z prýtlů ke kořenům.

2.5.3. Signalizační prvky sdílené světlem a auxinem během prodlužování **Společné geny regulované auxinem a světlem**

Pomocí primárních auxin-responsivních genů, použitých jako genetický a molekulární nástroj, bylo nalezeno několik propojení mezi světelnou a auxinovou signalizací. Byly nalezeny nejméně tři skupiny genů, které jsou zapojeny do signalizace auxinů a jsou zároveň pod kontrolou světla (Abel *et al.* 1995; Tepperman *et al.* 2001; Devlin *et al.* 2003). Jde o skupiny: 1) genů příbuzných s GH3, 2), genů Aux/IAA a 3) genů SAURs (Sitbon and Perrot-Rechenmann 1997).

GH3

Existuje několik důkazů, že auxinem-indukované geny skupiny *GH3* jsou zapojeny ve světelné signalizaci. Jedním z *GH3* genů je gen *FIN219*, který byl klonován, a bylo zjištěno, že je to 575-AA GH3-like protein a jeho transkript je rychle indukován auxinem. Světelné signály vnímané fotoreceptory včetně phyA, negativně regulují COP1, což je klíčový supresor fotomorfogeneze (Osterlund *et al.* 2000). Mutant *cop1* vytváří ve tmě krátký hypokotyl fenotypově podobný tomu, který je pozorován u sazenic vypěstovaných pod světlem. Hsieh *et al.* (2000) identifikovali nového mutanta *fin219*, který byl ve tmě schopen potlačit fenotyp mutanta *cop1*. Z tohoto důvodu dvojitý mutant *cop1fin219* rostoucí ve tmě vytvářel dlouhý hypokotyl. Analýza také ukázala, že mutant *fin219* rostoucí na FR vytváří dlouhý hypokotyl, zatímco transgenní linie s nadměrnou expresí *FIN219* jsou vysoce citlivé k FR. Další analýzy ukázaly, že funkční *FIN219* úzce spolupracuje s elementem *FHY1* signální dráhy phyA, a kromě toho je jeho exprese rychle indukována auxinem (Hsieh *et al.* 2000). Bylo proto navrženo, že *FIN219* představuje významné spojení pro phyA-zprostředkovanou inaktivaci COP1 světlem FR a možný prvek mezi auxiny a fytochromovou signální dráhou.

Aux/IAA

Proteiny Aux/IAA jsou transkripční regulátory, které jsou ovlivňovány auxinem a současně světlem (Reed 2001). Hladiny transkriptů genů *Aux/IAA* jsou vyšší u etiolovaných hypokotylů a epikotylů, než v dělicích a zrajících oblastech (Fujii *et al.* 2000, Wyatt *et al.* 1993). Když byly vyříznuté hypokotyly/epikotyly inkubovány v nepřítomnosti auxinu, množství transkriptu těchto genů se drasticky snížilo, ale exprese byla rychle obnovena, pokud byl aplikován auxin. Auxinem-indukovaná up-regulace *Aux/IAA* byla také pozorována prodloužených koleoptilích kukuřice (Zurfluh and Guilfoyle 1982). Srovnávací analýza rostlin rostoucích na světle a ve tmě ukázala, že se exprese *OsAAI*, gen skupiny *Aux/IAA* u rýže, snížila po osvětlení, ale silně se zvýšila v etiolovaných částech po aplikaci auxinu (Thakur *et al.* 2001).

SAUR

Geny skupiny SAUR (Small Auxin Up RNA) kódují malé proteiny o velikosti asi 9-12 kDa. O těchto proteinech jejich vztahu ke světelné signalizaci se ví zatím velice málo.

Pomocí orgánově-specifické transkriptomové analýzy u *Arabidopsis* bylo nedávno identifikováno 32 genů SAUR, jejichž exprese byla světlem buď indukována (v dělohách) nebo naopak potlačena, a to v hypokotylech (Sun *et al.* 2016). Autoři zjistili, geny *SAUR* stimulují růst hypokotylu tím, že inhibují aktivitu 2C protein fosfatázy (PP2C), což vede následně ke stimulaci plazmamembránové protonové pumpy H^+ -ATPázy. Zjistili rovněž zapojení PIF proteinů v prodlužování hypokotylu. U rostlin rostoucích ve tmě vysoká hladina auxinů a PIF proteinů vede k aktivaci exprese některých *SAUR* genů a tedy následně k prodlužování hypokotylu. Světlo inhibovalo prodlužování hypokotylu jednak tím, že redukovalo hladinu endogenních auxinů a jednak degradovalo množství PIF proteinů. To vedlo následně k redukcii exprese genů *SAUR* zapojených v prodlužování hypokotylu a tedy k inhibici růstu tohoto orgánu. Zcela nedávno Spartz *et al.* (2017) zjistili, že podobný mechanismus funguje i u hypokotylů rajčete. Výsledky této skupiny vědců dále potvrdily, že indukce exprese genů *SAUR* je dostačující pro vyvolání auxinem-zprotdředkovaného růstu buněk tím, že dochází k aktivaci H^+ -ATPázy, tím k okyselování apoplastu a tak k mechanickému rozvolnění buněčné stěny.

Elementy signální dráhy sdílené auxiny a světlem

Systém TIR1

Před několika lety byl identifikován auxinový receptor TIR1, který zprostředkuje transkripční reakci k auxinům (Kepinski and Leyser 2005; Dharmasiri *et al.* 2005; Paciorek and Friml 2006; Tan *et al.* 2007). TIR1 patří do F box proteinů, které jsou součástí komplexu E3/SCF, zapojeného v ubikvitinaci Aux/IAA proteinů. Aux/IAA proteiny mohou blokovat transkripční faktory ARF, které se váží na tzv. auxin-respivní elementy (AuxRe) na promotoru auxinem indukovaných genů a řídí expresi genů. Kepinski and Leyser (2005) a Dharmasiri *et al.* (2005) nezávisle na sobě prokázali, že auxin se váže přímo na TIR1. Aktivace SCF^{TIR1} auxinem vede k uvolnění Aux/IAA z ARF a degraduje Aux/IAA ubikvitinací v proteasomu (Christian *et al.* 2006; Badescu and Napier 2006).

Mechanismus, jak světlo řídí aktivitu Aux/IAA při přepínání na světlem regulovaný vývoj, není zcela jasný. Bylo například ukázáno, že přepis genu *SHY2/IAA3* je regulován aktivací phyB a phyA (Devlin *et al.* 2003). *In vitro* studie dale prokázaly, že v ovsu může být Aux/IAA fosforylován fytochromem A (Colon-Carmona *et al.* 2000), a že u *Arabidopsis* *SHY2/IAA3* může interagovat s phyB (Tian *et al.* 2003). Zdá se proto, že fytochromy jsou schopny ovlivnit expresi genů Aux/IAA a post-translační aktivitu. To podtrhuje silné vazby mezi světlem a Aux/IAA-zprostředkovanou auxinovou signalizací, zapojenou v prodlužování hypokotylu.

Transkripční faktor HY5

U fotomorfogenického supresorového proteinu COP1 bylo prokázáno, že reguluje množství bZIP transkripčního faktoru HY5 degradací pomocí 26S proteazomu (Osterlund *et al.* 2000). HY5 se váže na promotory světlem indukovaných genů a působí tedy jako pozitivní regulátor fotomorfogeneze (Oyama *et al.* 1997; Chattopadhyay *et al.* 1998). Mutant *hy5* se tedy vyznačuje nízkou citlivostí ke světlu a tak delším hypokotylem. Primární sekvence *HY5* je velmi podobná sekvenci transkripčního faktoru STF1A u sóji. STF1A se přednostně váže na DNA, která obsahuje základní sekvenci TGACGT, což je stejný motiv, který uděluje *GH3* promotoru u sóji schopnost být indukován auxinem (Liu *et al.* 1994). Pomocí mikroarray analýzy Clus *et al.* (2004) odhalili, že dva negativní regulátory auxinové signalizace, *AXR2/IAA7* a *SLR/IAA14*, jsou méně exprimovány v mutantu *hy5*. V souladu s tím, analýza rostlin *hy5* ukázala, že některé aspekty fenotypu *hy5*, zejména stavba kořene, lze přičíst zvýšené odezvě k auxinu. Genomová analýza vazebných míst HY5 poskytla důkazy pro přímé vazby HY5 k promotorům mnoha genů

zapojených v auxinové signalizaci, včetně Aux/IAA a transkripčních faktorů ARF (Lee *et al.* 2007). Je tedy zřejmé, že funkční transkripční faktor HY5 podporuje expresi negativních regulátorů auxinové signalizace, což potvrzuje propojení auxinových a světelných signálních drah zapojených v prodlužování hypokotylu.

Transkripční faktory PIF4, PIF5

PIF4 a PIF5 (phytochrome-interacting factor 4 a 5) jsou transkripční faktory typu bHLH, které hrají důležitou a pozitivní roli v reakcích rostlin proti zastínění (shade avoidance). Jejich stabilita je kontrolována R/FR. Konkrétně, při nízkém R/FR jsou PIF proteiny stabilní a indukují prodlužování zastíněných rostlin. Hornitschek *et al.* (2012) zjistili, že promotory genů *YUCCA* (geny zapojeny v syntéze auxinů) (*YUC5*, *YUC8*, *YUC9*) obsahují vazebné místo pro protein PIF5. Zjistili, že *YUCCA* geny jsou exprimovány při nízkém R/FR a přispívají k prodlužování hypokotylu. Autoři ukázali, že PIF4 a PIF5 se váží k *YUCCA8* a tím přímo řídí jeho expresi. V souhlasu s tím, dvojitý mutant *pif4pif5* má krátký hypokotyl a redukovanou expresi genu *YUC8*. Takže PIF4 a PIF5 mohou přímo kontrolovat syntézu auxinů.

Transkripční faktor PIF7

Li *et al.* (2012) ukázali, že transkripční faktor PIF7 (bHLH), který interaguje s phyB, se akumuluje v defosforylované formě v rostlinách rostoucích ve stínu. To dovoluje jeho vazbu na auxin-biosyntetické geny a zvyšování jejich exprese. Nově syntetizovaný auxin je tak vyžadovaný pro růst indukovaný stínem. Při vysokém R/FR je světlo přijímáno fotoreceptorem phyB, což vede k jeho translokaci do jádra, kde interaguje s fosforylovaným PIF7. V začátečním stínu (tj. nízké R/FR), phyB konvertuje na svou neaktivní formu Pr a není tak spojen s PIF7. PIF7 rychle defosforyluje a váže se ke G-boxu auxin biosyntetických genů. To vede k nárůstu volné IAA a tak k prodlužování. Fosforylace a defosforylace je mnohem rychlejší než degradace PIF7 světlem. Toto není jediný mechanismus, jak prostředí kontroluje růst. Během prodlouženého stínu (BL je zcela absorbován silnou vrstvou stínících rostlin, tj. *canopy*) jsou hlavními transkripčními faktory PIF4 a PIF5. Úlohu transkripčních faktorů PIF v interakci světelných a hormonálních (včetně auxinových) signálních drah shrnuje nedávná práce de Lucas and Prat (2014).

Transkripční faktor RVE1

Zajímavým elementem společných signálních drah auxinů a světla je transkripční faktor typu Myb-like zvaný REVEILLE 1 (RVE1). Jde o TF homologický k proteinům CCA1 a LHY, které jsou regulovány denním rytmem. Na rozdíl od CCA1 a LHY však inaktivace RVE1 neovlivňuje denní rytmicitu, ale projevuje se změnou růstu rostlin. RVE1 během dne stimuluje produkci auxinu, tím, že stimuluje expresi auxinem-indukovaného genu *YUCCA8* (*YUC8*). Vyšší hladina auxinů pak vede ke stimulaci růstu hypokotylu (Rawat *et al.* 2009). Aplikace exogenního auxinu IAA na kontrolní rostliny, mutanty *rve1* a transgenní rostliny overexprimující *RVE1* (*RVE1-OX*) ukazují, že u Col a mutanta *rve1* exogenní auxin stimuluje růst, protože zvyšuje hladinu endogenního auxinu na optimální úroveň. Naopak u *RVE1-OX*, který má zvýšenou hladinu endogenního auxinu IAA, aplikace dalšího, exogenního, auxinu vede k vysoké, a tedy toxické hladině IAA v rostlině. To vede k inhibici růstu hypokotylu.

3. MATERIÁL A METODY

3.1. Rostlinný materiál

K experimentální části byla využita semínka dvou genotypů rajčete jedlého *Solanum lycopersicum* L.): cv. Rutgers (kontrolní genotyp, dále označován wild-type, WT) a mutant *7B-1*. Spontánní recesivní mutant *7B-1* byl vyselektován na základě své samčí pylové sterility projevující se za dlouhého dne (16 hod světelná fotoperioda) (Sawhney, 1997). Funkce mutovaného genu *7B-1* není dosud známa, ale předchozí analýzy naznačují defekt v signální dráze modrého světla, konkrétně ve fototropinové signální dráze (Fellner and Sawhney 2002; Hlavinka *et al.* 2013). Semena obou genotypů byla laskavě poskytnuta Prof. Vipen K. Sawhney (University of Saskatchewan, Saskatoon, Canada).

3.2. Roztoky a chemikálie

MS (Murashige-Skoog) médium (firma: Caisson, USA)

Sacharósa (firma: Lachner, ČR)

MES - (2- (*N-morfolino*) ethansulfonová kyselina (firma: Serva, Německo)

Phytoagar (firma: Duchefa biochemie, Holandsko)

Sterilní a nesterilní destilovaná voda

Savo s obsahem 3% chloru (zředěné 600 ml SAVO+400 ml destilovaná H₂O)

70% a 96% Ethanol

NAA – kyselina 1-naftyloctová

IAA – kyselina indol-3-octová

2,4-D – kyselina 2,4-dichlorfenoxyoctová

3.3. Přístrojová technika a pomůcky

Laminární flowbox

Mikrovláknová trouba

Růstové komory Microclima 1000 (firma: Snijders Scientific B.V., Holandsko)

Předvážky

Analytické váhy

pH metr (firma: WTW)

Magnetická míchačka (firma: Velp Scientifica, made in Europe)

Magnetická míchačka a míchátko

Váženka

Kovová lžička

Varné láhve (500ml)
Erlenmeyerova baňka (3l)
Odměrný válec (0,5l)
Kulaté plastové Petriho misky (průměr 90 mm, sterilní)
Dlouhá pinzeta
Sterilní a nesterilní plastová centrifugační zkumavka (50ml)
Automatická pipeta (10 ml, 2-10 μ l, 20 – 200 μ l)
Sterilní špičky k pipetám
Alobal
Stojánek na odkládání zkumavky
Lahvička na etanol
Lihový kahan
Lihová fixa
Páska z netkané textilie
Nesterilní kádinka na odpad
Pravítko
Sterilní skalpel

3.4. Příprava média

V experimentech bylo použito kultivační médium Murashige-Skoog (MS) (Murashige and Skoog 1962), které bylo připraveno následujícím způsobem: Do 3l Erlenmeyerovy baňky byl nalit 1 litr destilované vody a za stálého míchání bylo přidáno 8,66 g/l MS média, 20 g/l sacharózy a 390,4 mg/l pufru MES. Po rozmíchání byl objem doplněn destilovanou vodou do 2 litrů. Po doplnění bylo upraveno pH na 6,1 pomocí 1M roztoku KOH, který byl přidáván po kapkách. Hotové médium bylo rozlito po 400 ml do varných půllitrových lahví, do kterých bylo předtím naváženo 2,8 g agaru do každé láhve. Láhve s médiem byly umístěny do autoklávu a médium bylo vysterilizováno při vysoké teplotě a tlaku.

3.5. Klíčení semen

Pro každý experiment bylo od každého genotypu napočítáno 300 semínek WT (Semínka byla umístěna do plastových 50ml centrifugačních zkumavek a zalita zhruba 40 ml roztokem Savo s 3% obsahem chloru za účelem povrchové desinfekce semínek. Desinfekce probíhala 20 až 25 minut za intenzivního protřepávání zkumavek. Po uplynutí doby sterilizace bylo Savo odsáto 10 ml pipetou a nahrazeno sterilní destilovanou vodou.

Takto byla semínka propláchnuta celkem pětkrát. Po posledním promytí destilovanou vodou, byla semínka zalita cca 5ml destilované vody.

Kultivační médium bylo rozehráno v mikrovlnné troubě a nalito pomocí sterilní plastové zkumavky po 20 ml média do sterilních Petriho misek. Pomocí pinzety namočené do 96 % ethanolu a ožehnuté nad plamenem byla promytá semínka každého genotypu přeneseny po zhruba padesáti na povrch ztuhlého kultivačního. Po vyšetí semínek byly misky zalepeny páskou Urgopor z netkané textilie 2x dokola a misky byly ve vertikální poloze zabaleny do alobalu a umístěny do kultivační komory (Microclima 1000; Snijders Scientific B.V., The Netherlands). Tam byla semínka inkubována po dobu 3 dnů při 23°C.

3.6. Růst rostlin na médiu s auxinem

Po třech dnech inkubace semínka obou genotypů rajčete vyklíčila. Ke studiu růstu byla přenesena na nové kultivační médium obsahující příslušný auxin (NAA, IAA nebo 2,4-D) v koncentracích 0, 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} a 5×10^{-7} M. Vyklíčená semínka byla kladena na povrch média do řady doprostřed misky a kořínkem dolů a na každou misku byl přenesen stejný počet rostlinek s krátkými a dlouhými kořínky. Na každou misku bylo přeneseno průměrně 7 rostlinek. Po té byly misky zalepeny páskou 2x dokola, popsány a umístěny vertikálně do připravených plastových stojanů. Misky s rostlinkami byly umístěny do růstových komor, kde byly inkubovány po dobu 7 na modrém nebo červeném světle a při teplotě 23°C. Zdrojem modrého světla byla trubice Philips TLD-36W/18-Blue (Philips USA) s maximální ozářeností $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ při 440 nm. Zdrojem červeného světla byly trubice Philips TLD-36 W/15-Red (Philips, USA) s maximální ozářeností $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ při 660 nm. Pro kultivaci ve tmě byly misky s rostlinkami zabaleny do alobalu a umístěny do stejné růstové komory.

3.7. Měření délky rostlin

Po uplynutí týdenní kultivace byla změřena délka hypokotylů a kořenů narostlých rostlin. Rostliny byly vyjmuty z misky pomocí pinzety a nataženy na plastovou podložku s černým podkladem. Délka kořenů a hypokotylů byla změřena pomocí pravítka s přesností na jeden milimetr a výsledky byly zapsány do tabulek, zpracovány do grafů a analyzovány. Z naměřených hodnot délek hypokotylů a kořenů byl rovněž počítán inhibiční účinek auxinů na růst těchto orgánů. Hodnoty procentuální inhibice jsme vypočítali dle následujícího vzorce:

$$\% \text{ inhibice} = \frac{a-b}{a} \times 100\% ,$$

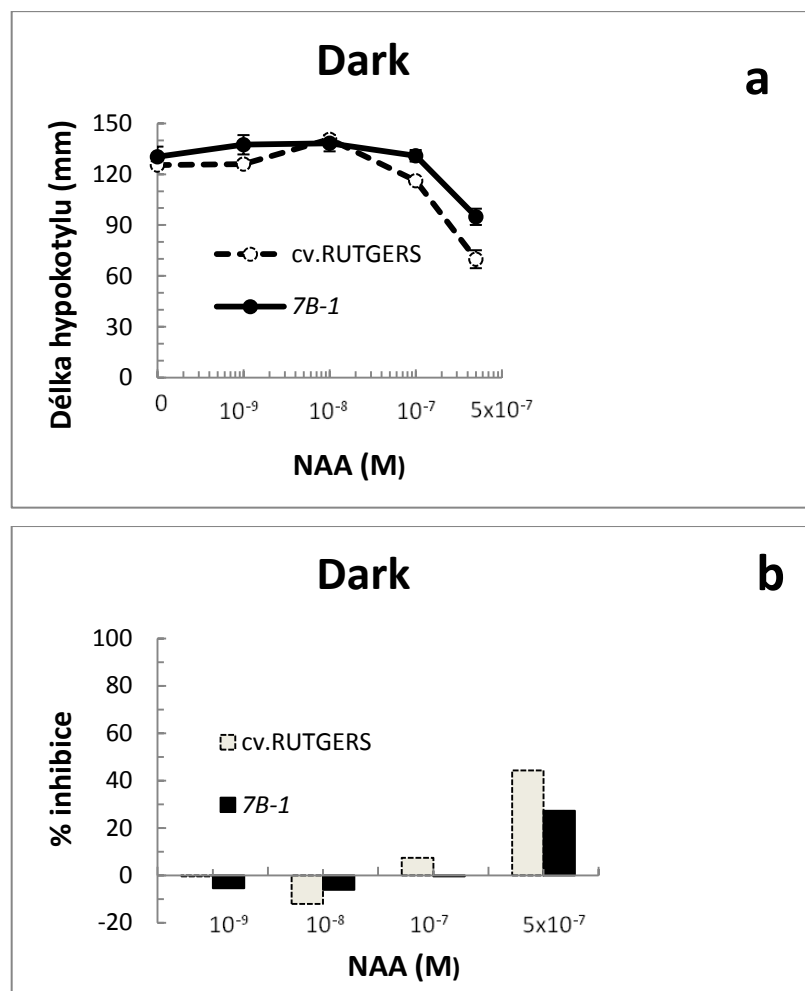
kde a = hodnota délky hypokotylu při koncentraci 0 M, b = hodnota délky hypokotylu při zvolené koncentrace, pro kterou počítáme inhibici.

Se všemi typy auxinů a každým genotypem byly provedeny tři nezávislé experimenty.

4. VÝSLEDKY

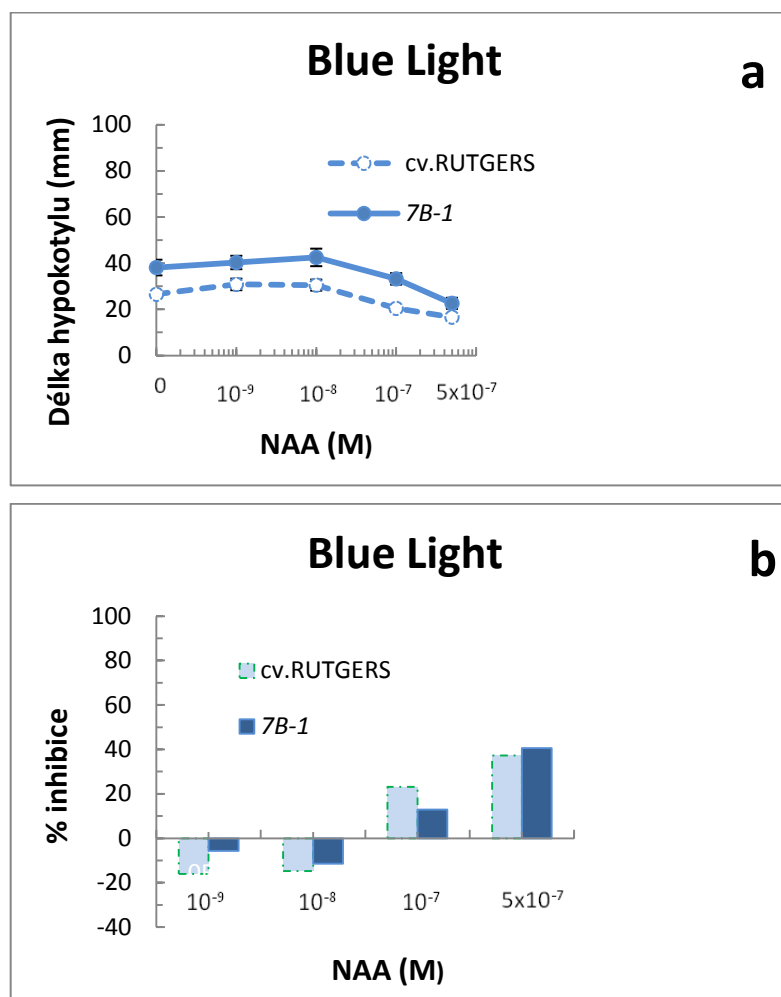
4.1. Růstové reakce hypokotylu mutanta *7B-1* k auxinu NAA v závislosti na světelných podmínkách.

V experimentech s hypokotylem jsme zjišťovali vliv auxinů (NAA, IAA a 2,4-D) na růst hypokotylu dvou genotypů rajčete, a to kontrolního nemutovaného kultivaru cv. Rutgers a od něj odvozeného mutanta *7B-1* v závislosti na světelných podmínkách (tma, modré světlo, červené světlo).



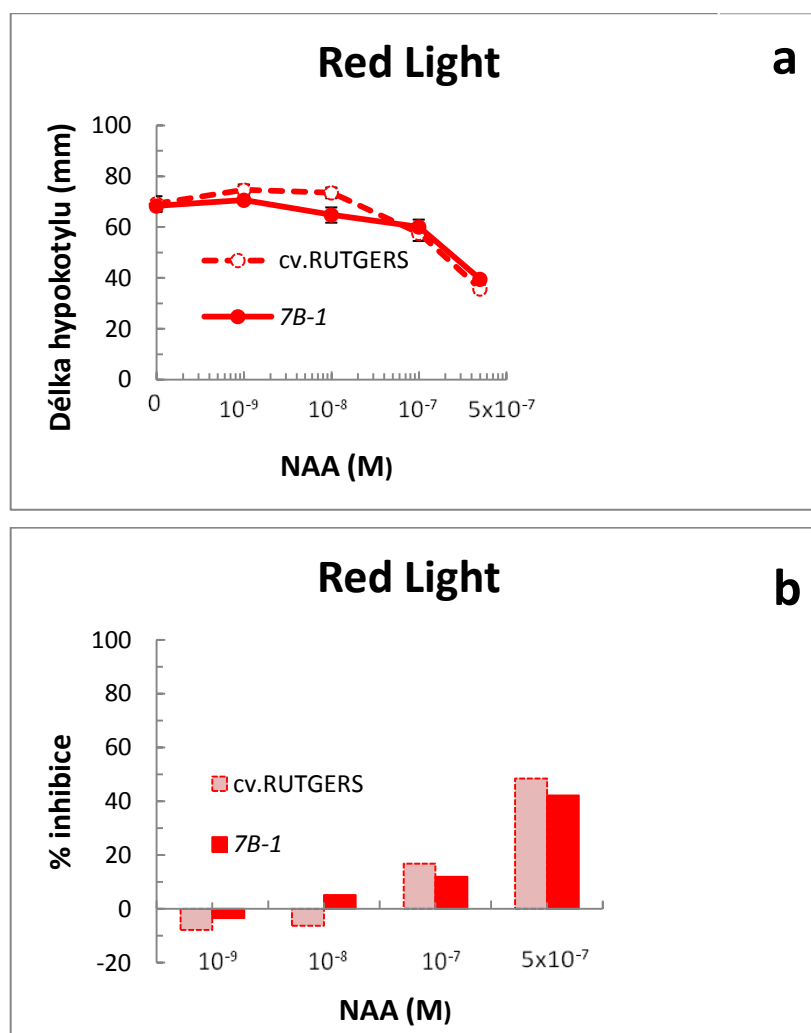
Obr. č. 4 Vliv syntetického auxinu NAA na délku etiolovaných hypokotylů kontrolního kultivaru cv. Rutgers a mutanta *7B-1*. Graf (a) ukazuje průměrné délky hypokotylů \pm SE získané ze tří nezávislých experimentů, přičemž v každém experimentu a při každé koncentraci NAA bylo měřeno cca. 10 rostlin každého genotypu. Graf (b) ukazuje vypočítané průměrné hodnoty inhibice růstu hypokotylu (v %) vlivem auxinu NAA.

Na obrázku 4a můžeme vidět, že auxin NAA výrazně inhiboval růst etiolovaných hypokotylů až při nejvyšší testované koncentraci $5 \cdot 10^{-7}$ M. Na Obr. 4a i b je vidět, že u mutanta *7B-1* auxin o koncentraci $5 \cdot 10^{-7}$ M způsoboval inhibici růstu hypokotylu kolem 30%, kdežto u cv. Rutgers to bylo více jak 40%. Nejnižší testované koncentrace NAA naopak velmi slabě stimulovaly růst hypokotylu, jak u cv. Rutgers, tak i u mutanta *7B-1*.



Obr. č. 5 Vliv syntetického auxinu NAA na prodlužování hypokotylu testovaných genotypů cv. Rutgers (WT) a mutanta *7B-1* pěstovaných na modrém světle po dobu 7 dnů v podmínkách *in vitro*. Vynesená data představují průměrné hodnoty délky hypokotylů \pm SE ze tří nezávislých experimentů. Při každé koncentraci auxinu bylo měřeno zhruba 10 rostlin cv. Rutgers a 10 rostlin mutanta *7B-1* (a). Graf (b) ukazuje průměry hodnot inhibice růstu hypokotylu (%) vlivem použitých koncentrací auxinu NAA.

Podobně jako ve tmě, auxin NAA se zvyšující se koncentrací ovlivňoval prodlužování hypokotylu obou testovaných genotypů rostoucích na modrém světle (Obr. 5a). Z grafu je vidět, že k výraznější inhibici růstu hypokotylu obou genotypů dochází již při koncentraci 10^{-7} M. Obrázek 5b pak znázorňuje naopak mírnou stimulaci hypokotylů u obou genotypů, která nastává při koncentraci 10^{-9} M a 10^{-8} M NAA.



Obr. č. 6 Vliv koncentrace syntetického auxinu NAA na prodlužování hypocotylu testovaných genotypů cv. Rutgers (WT) a *7B-1* pěstovaných na červeném světle po dobu 7 dnů v podmínkách *in vitro*. Data vynesena v grafech představují průměrné hodnoty délky hypocotylů \pm SE ze tří nezávislých experimentů. Při každé koncentraci auxinu NAA bylo měřeno zhruba 10 rostlin cv. Rutgers a 10 rostlin mutanta *7B-1* (a). Graf (b) představuje průměrné hodnoty inhibice růstu hypocotylu (%) vlivem použitých koncentrací auxinu NAA.

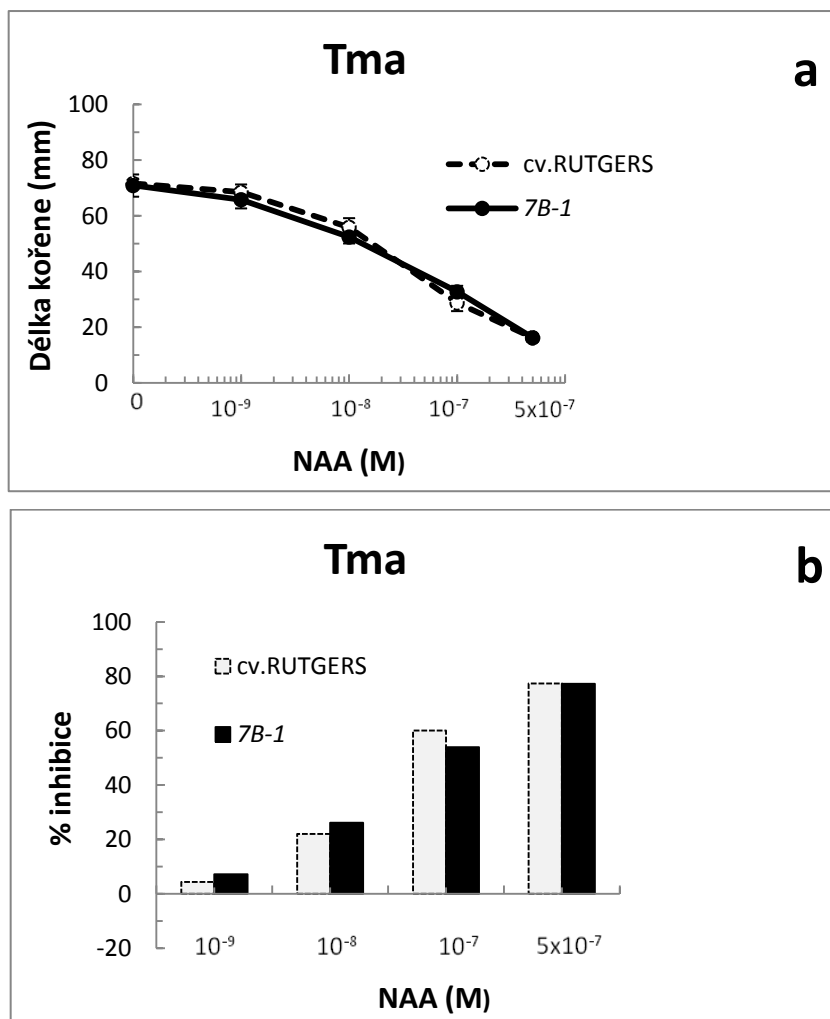
Na obrázku 6a můžeme pozorovat, podobně jako na modrém světle, inhibici hypocotylu mutanta *7B-1* a cv. Rutgers rostoucích na červeném světle, která je způsobena vlivem auxinu NAA o koncentracích 10^{-7} a $5 \cdot 10^{-7}$ M. Na obrázku 6b je znázorněna procentuální inhibice růstu hypocotylů, kde například u nejvyšší koncentrace 5×10^{-7} M dosahuje u obou genotypů podobných hodnot, tj. kolem cca 45%. Na nejnižších testovaných koncentracích NAA docházelo u genotypu cv. Rutgers k mírné stimulaci hypocotylu, nikoliv však u mutanta *7B-1* (Obr. 6b).

Podobné experimenty s hypocotylem jsme provedli i za použití nativního auxinu IAA a dalšího syntetického auxinu 2,4-D, kde jsme zaznamenali velice podobné výsledky, jako při experimentech s auxinem NAA, a to podobně při všech použitých světelných podmínkách. U genotypů cv. Rutgers i mutanta *7B-1* docházelo vlivem auxinů IAA i 2,4-D

a světelných podmínek buď k inhibici a někdy i slabé stimulaci růstu hypokotylů, podobně jako tomu bylo u auxinu NAA (podrobné výsledky nejsou ukázány).

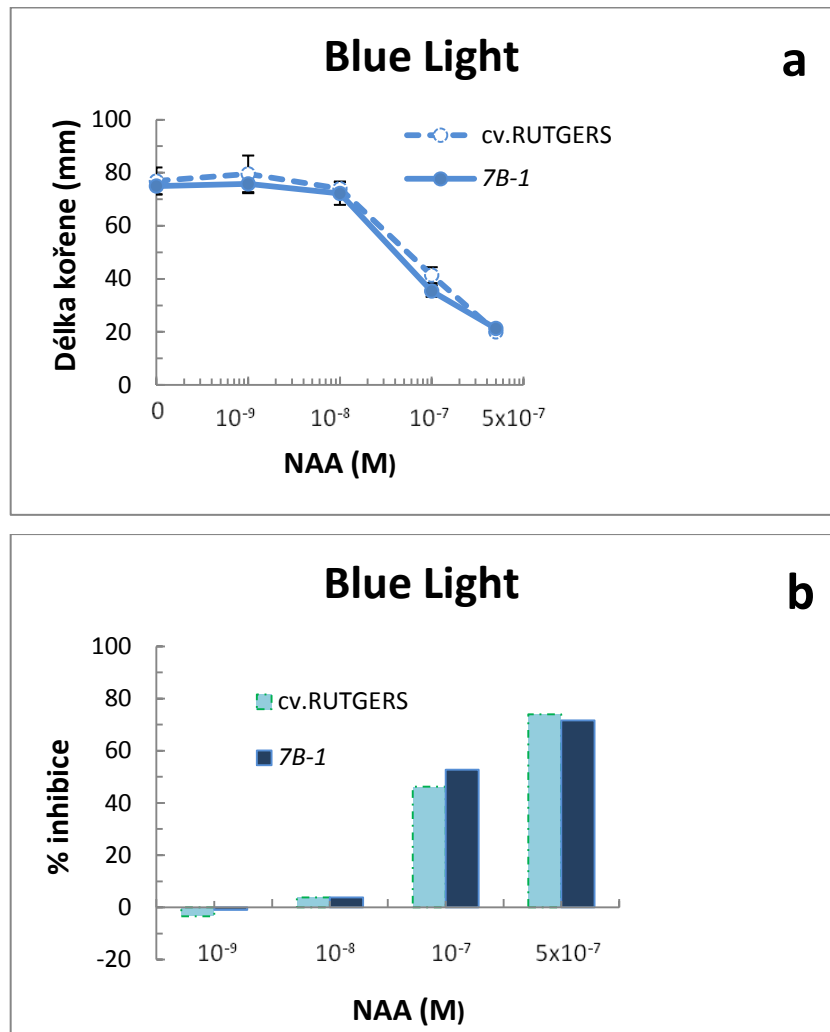
4.2. Růstové reakce kořene mutantu 7B-1 k auxinu NAA v závislosti na světelných podmínkách.

V následujících experimentech jsme opět sledovali vliv auxinů (NAA, IAA a 2,4-D) na prodlužovací růst primárních kořenů dvou genotypů 7B-1 a cv. Rutgers v závislosti na různých světelných podmínkách, a to tma, modré světlo a červené světlo.



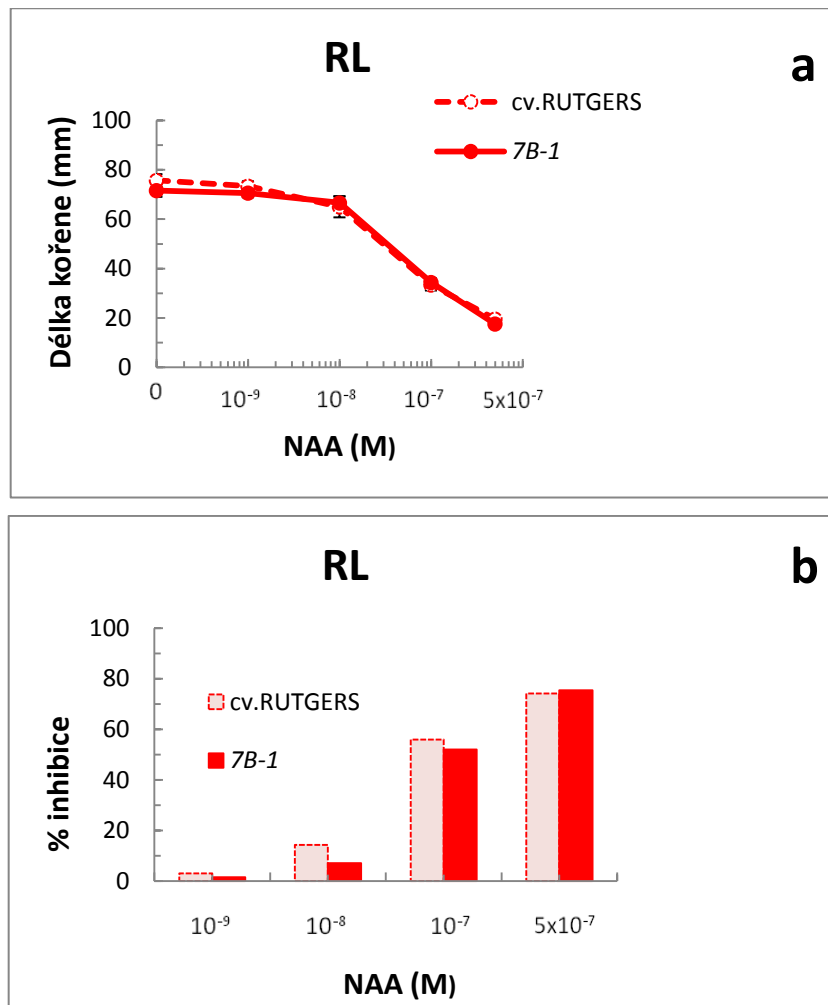
Obr. č. 7 Vliv syntetického auxinu NAA na délku kořenů kontrolního kultivaru cv. Rutgers a mutantu 7B-1. V grafu (a) jsou vyneseny průměrné délky kořenů \pm SE získané ze tří nezávislých experimentů, přičemž v každém experimentu a při každé koncentraci NAA bylo měřeno cca. 10 rostlin každého genotypu. Graf (b) znázorňuje vypočítané průměrné hodnoty inhibice růstu kořene (v %) vlivem auxinu NAA.

Na obrázku 7a můžeme zaznamenat, že u rostlin u obou testovaných genotypů rostoucích ve tmě aplikace zvyšující se koncentrací auxinu NAA měla za následek postupnou a výraznou inhibici růstu kořene. Například k 50% inhibici růstu kořene docházelo při koncentraci cca 10^{-7} M NAA (Obr. 7b). Stimulační vliv auxinů nebyl pozorován ani při nejnižších testovaných koncentracích.



Obr. č. 8 Vliv koncentrace syntetického auxinu NAA na délku kořenů na testovaný kultivar cv. Rutgers a mutant *7B-1* pěstovaných pod modrým světlem po dobu 7 dnů v podmínkách *in vitro*. Vynesená data na grafu (a) představují průměrné délky kořenů \pm SE, které byly získány ze tří nezávislých experimentů. Při každé koncentraci auxinu bylo měřeno cca 10 rostlin cv. Rutgers a 10 rostlin mutanta *7B-1*. (b) Průměry hodnot inhibice růstu kořene (%) vlivem použitých koncentrací auxinu NAA.

Podobně jako ve tmě, růst kořenů rostlin obou genotypů na modrém světle byl rovněž inhibován auxinem NAA (Obr. 8a). Je však zajímavé, že při koncentraci 10^{-8} M byla inhibice růstu v téměř nulová (Obr. 8b) ve srovnání s inhibicí růstu kořenů pěstovaných ve tmě, kde dosahovala při stejné koncentraci NAA zhruba 20% (Obr. 7b). To platí pro oba testované genotypy.

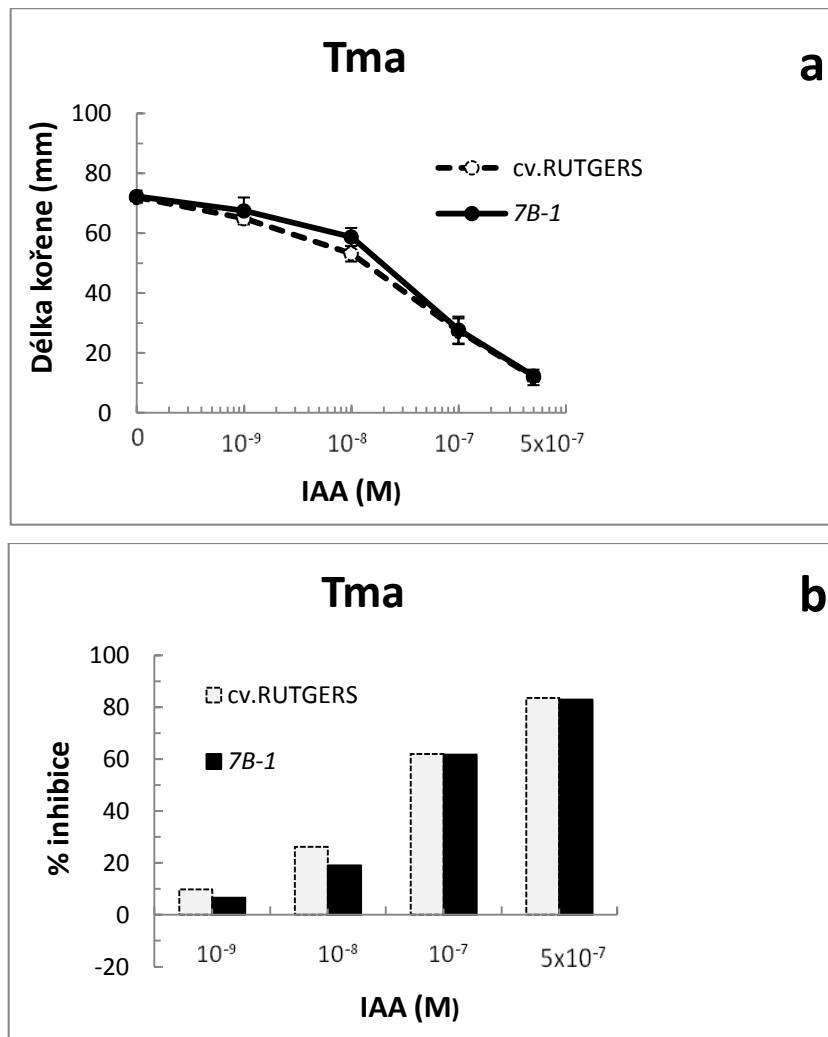


Obr. č. 9 Vliv koncentrace auxinu NAA na délku kořenů k testovanému kultivaru cv. Rutgers a mutantu *7B-1* pěstovaných pod červeným světlem po dobu 7 dnů v podmínkách *in vitro*. Graf (a) představuje průměrné délky kořenů \pm SE, které byly získány ze tří nezávislých experimentů. V každém experimentu u každé koncentrace auxinu bylo měřeno cca 10 rostlin cv. Rutgers a 10 rostlin mutantu *7B-1*. (b) Představuje průměrné hodnoty inhibice růstu kořene (%) vlivem použitých koncentrací auxinu NAA.

Podobná situace byla pozorována na červeném světle (Obr. 9a). Růst kořenů obou genotypů byl silně inhibován při koncentracích NAA 10^{-7} a 5×10^{-7} M, kdežto při koncentraci 10^{-8} M byla inhibice růstu kořenů obou genotypů výrazně nižší (Obr. 9b) než bylo u rostlin pěstovaných ve tmě (Obr. 7b).

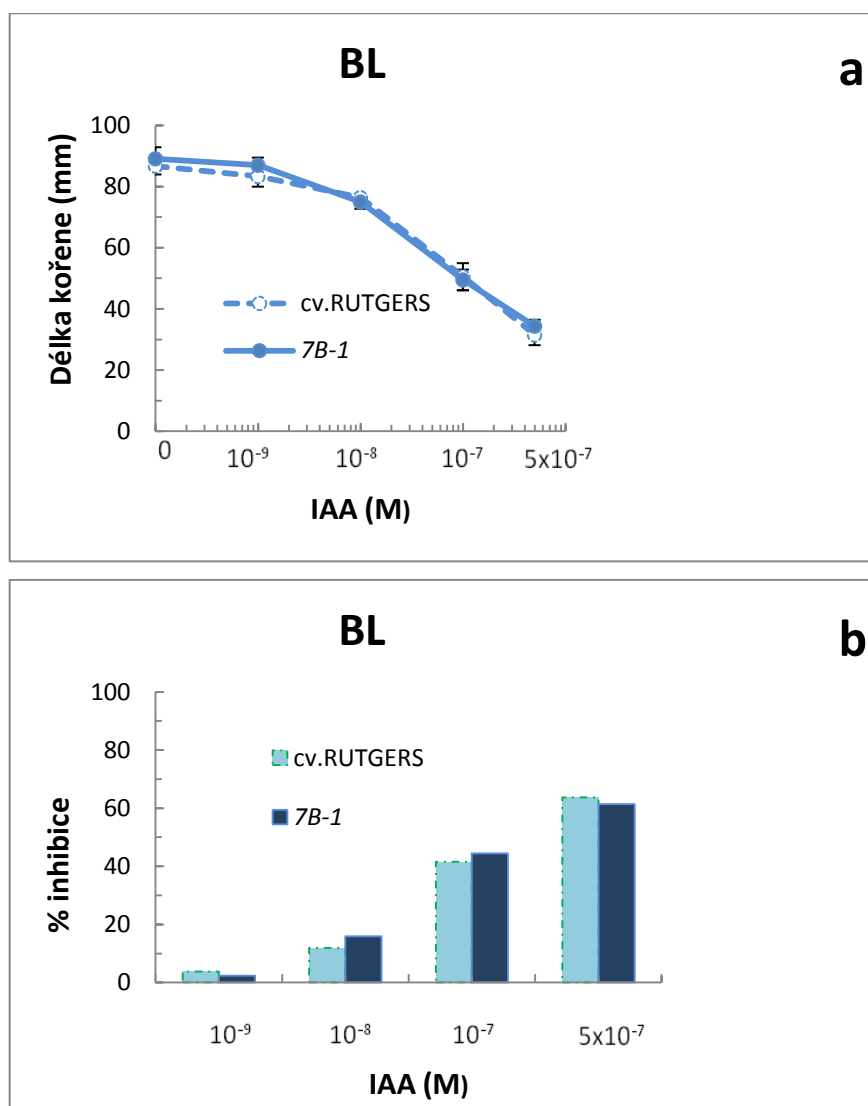
4.3. Růstové reakce kořene mutantu *7B-1* k auxinu IAA v závislosti na světelných podmínkách.

V tomto experimentu jsme použili nativní auxin IAA, a to ve stejných koncentracích, jako u předešlého syntetického auxinu NAA.



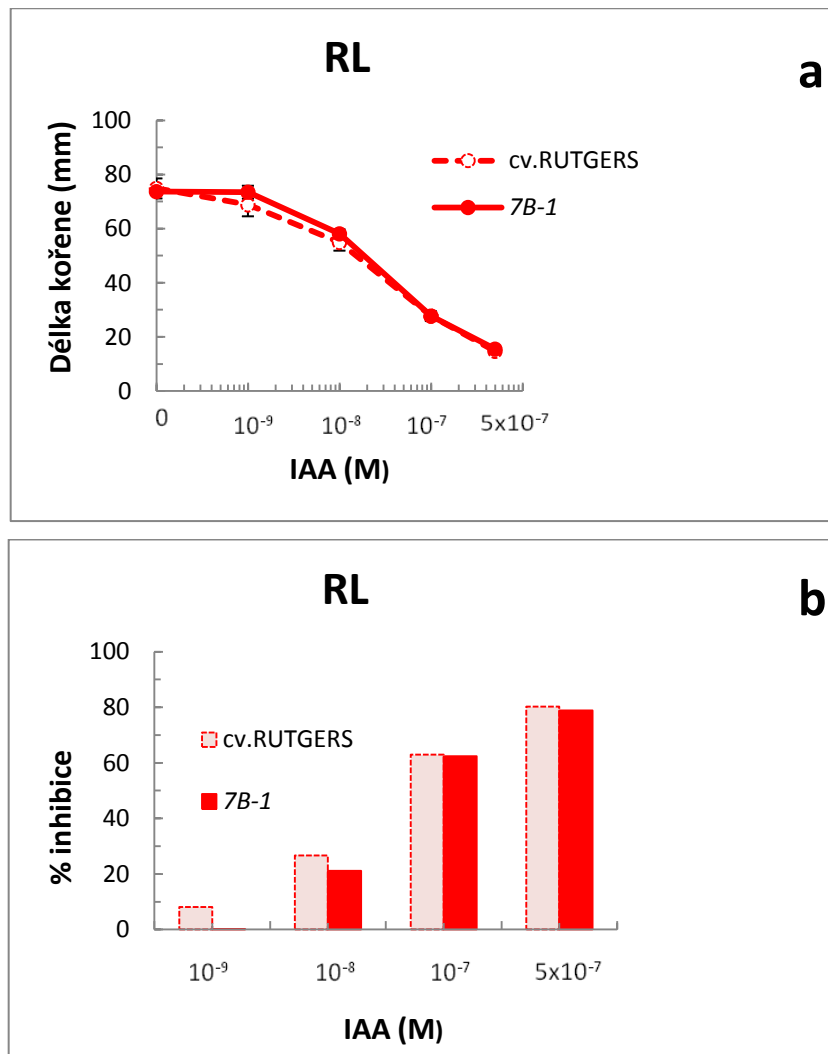
Obr. č. 10 Vliv nativního auxinu IAA na délku kořenů kontrolního kultivaru cv. Rutgers a mutanta *7B-1*. Graf (a) představuje průměrné délky kořenů \pm SE, získané ze tří nezávislých experimentů, přičemž v každém experimentu a při každé koncentraci IAA bylo měřeno cca 10 rostlin každého genotypu. Graf (b) znázorňuje vypočítané hodnoty inhibice růstu kořene (v %) vlivem auxinu IAA.

Na obrázku 10a můžeme vidět postupnou inhibici růstu kořene zvyšující se koncentrací auxinu IAA ve tmě. Jak u genotypu cv. Rutgers, tak u mutanta *7B-1* dosahuje inhibice velice podobných hodnot. Například při nejvyšší koncentraci 5×10^{-7} M se inhibice růstu kořenů obou genotypů pohybuje okolo 85% (Obr. 10b).



Obr. č. 11 Vliv koncentrace nativního auxinu IAA na délku kořenů na testovaném kultivaru cv. Rutgers a mutantu *7B-1* pěstovaných pod modrým světlem po dobu 7 dnů v podmínkách *in vitro*. Vynesená data na grafu (a) znázorňují průměrné délky kořenů \pm SE, které byly získány ze tří nezávislých experimentů. Při každé koncentraci auxinu bylo měřeno asi 10 rostlin cv. Rutgers a 10 rostlin mutantu *7B-1*. (b) Průměrné hodnoty inhibice růstu kořene (%) vlivem použitých koncentrací auxinu IAA.

Podobně jako ve tmě byl růst kořenů obou genotypů rostoucích na modrém světle inhibován se zvyšující se koncentrací IAA (Obr. 11a). Podobně jako v případě syntetického auxinu byla inhibice růstu kořenů WT na modrém světle při koncentraci 10^{-8} M výrazně nižší (Obr. 11b), než u rostlin pěstovaných při stejné koncentraci IAA ve tmě (Obr. 10b). U mutantu *7B-1* byl tento rozdíl evidentní až při koncentraci 10^{-7} M (Obr. 10b a 11b).

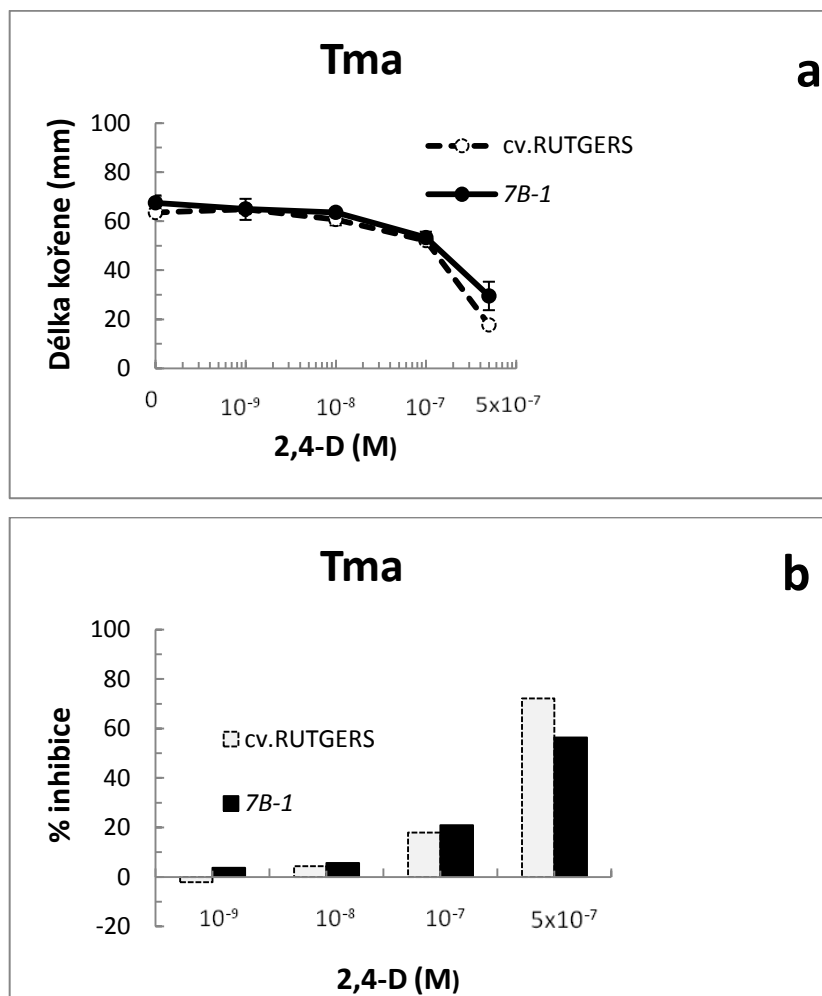


Obr. č. 12 Vliv koncentrace auxinu IAA na délku kořenů k testovanému kultivaru cv. Rutgers a mutantu *7B-1* pěstovaných pod červeným světlem po dobu 7 dnů v podmínkách *in vitro*. Graf (a) ukazuje průměrné délky kořenů \pm SE, které byly získány ze tří nezávislých experimentů. V každém experimentu u každé koncentrace auxinu bylo měřeno cca 10 rostlin cv. Rutgers a 10 rostlin mutantu *7B-1*. (b) Představuje průměrné hodnoty inhibice růstu kořene (%) vlivem použitých koncentrací auxinu IAA.

Na obrázku 12a,b můžeme pozorovat, že rovněž na červeném světle docházelo k inhibici růstu kořene genotypu cv. Rutgers a mutantu *7B-1*. Hodnoty procentuální inhibice (Obr. 12b) jsou u obou genotypů při všech testovaných koncentracích auxinů velice podobné a nejvyšší inhibice růstu kořene dosahovala cca 80%. Na rozdíl od modrého světla, hodnoty inhibice růstu kořenů na červeném světle byly při koncentracích 10^{-8} či 10^{-7} M IAA podobné hodnotám inhibice u kořenů rostoucích ve tmě. To platilo pro oba genotypy (Obr. 12b a 10b).

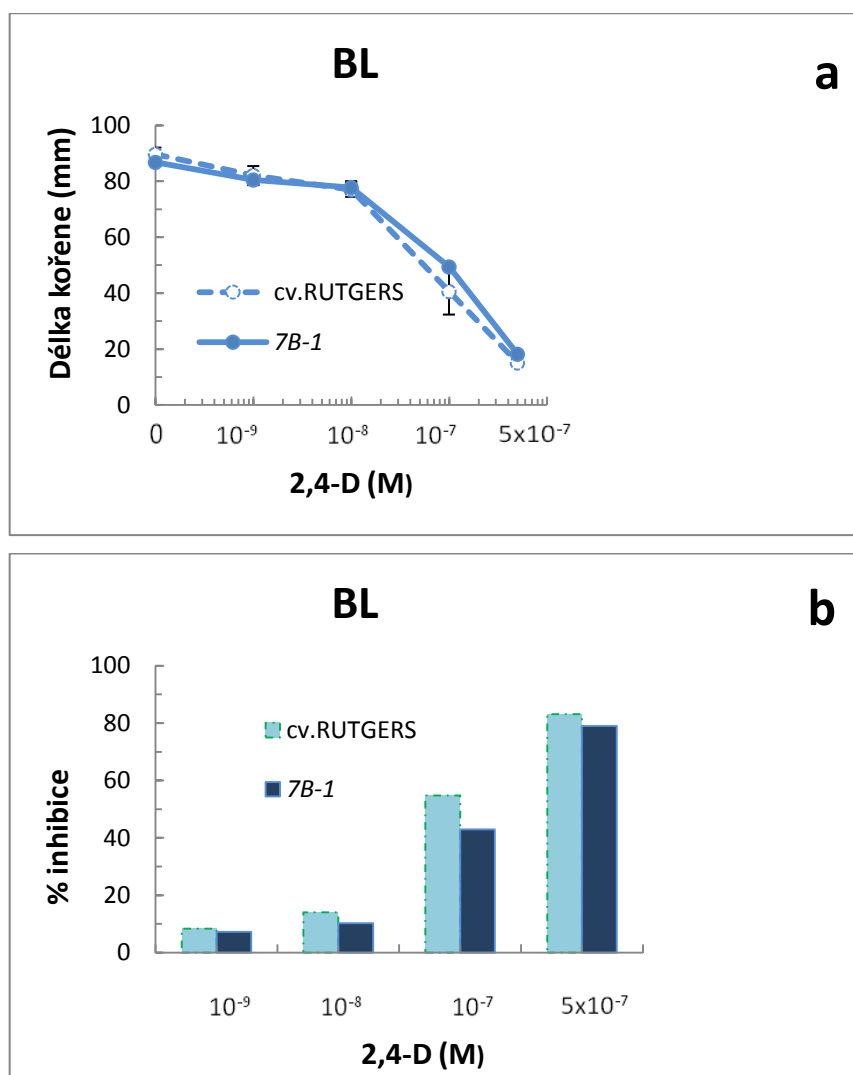
4.4. Růstové reakce kořene mutanta *7B-1* k auxinu 2,4-D v závislosti na světelných podmínkách.

Jako poslední jsme použili syntetický auxin 2,4-D, jehož koncentrace byly stejné jako u auxinu NAA a IAA a jako v případě předchozích dvou použitých auxinů jsme pozorovali růst kořenů genotypu cv. Rutgers a mutanta *7B-1* v závislosti na světelných podmínkách (tma, modré světlo a červené světlo).



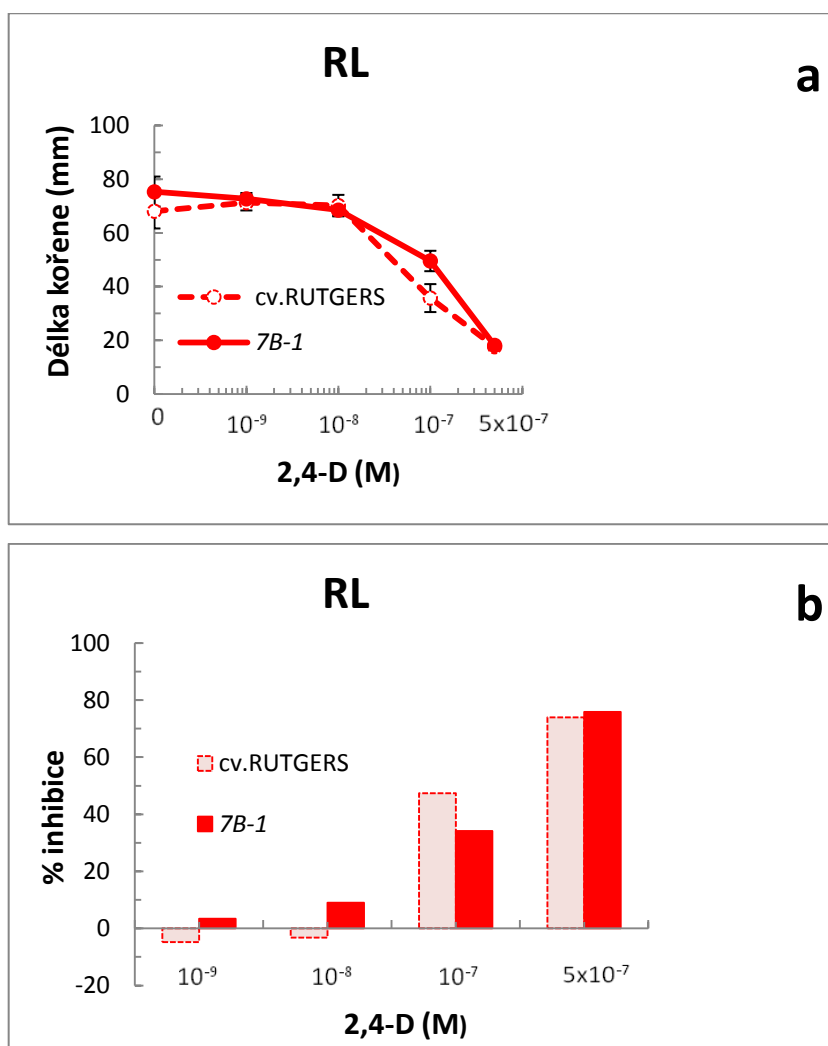
Obr. č. 13 Vliv syntetického auxinu 2,4-D na délku kořenů kontrolního kultivaru cv. Rutgers a mutanta *7B-1*. Graf (a) představuje průměrné délky kořenů \pm SE, získané ze tří nezávislých experimentů, přičemž v každém experimentu a při každé koncentraci auxinu 2,4-D bylo měřeno asi 10 rostlin každého genotypu. Graf (b) znázorňuje vypočítané hodnoty inhibice růstu kořene (v %) vlivem auxinu 2,4-D.

Na obrázku 13a je vidět mírnou inhibici růstu kořene genotypu cv. Rutgers působením syntetického auxinu 2,4-D ve tmě. U mutanta *7B-1* jsou hodnoty inhibice velice podobné. Na rozdíl od auxinů NAA a IAA se výrazná inhibice kořene vlivem 2,4-D objevila až při nejvyšší použité koncentraci $5 \cdot 10^{-7}$ M. Při koncentraci 5×10^{-7} M dosahuje inhibice u genotypu cv. Rutgers asi 70%, kdežto u mutanta *7B-1* je nižší, cca 50% (Obr. 13b).



Obr. č. 14 Vliv koncentrace syntetického auxinu 2,4-D na délku kořenů testovaného kultivaru cv. Rutgers a mutantu *7B-1*, pěstovaných pod modrým světlem po dobu 7 dnů v podmínkách *in vitro*. Vynesená data v grafu (a) znázorňují průměrné délky kořenů ± SE, které byly získány ze tří nezávislých experimentů. Při každé koncentraci auxinu 2,4-D bylo měřeno cca 10 rostlin cv. Rutgers a 10 rostlin mutantu *7B-1*. (b) Průměrné hodnoty inhibice růstu kořene (%) vlivem použitých koncentrací auxinu 2,4-D.

Obrázek 14a znázorňuje inhibiční účinek auxinu 2,4-D na růst kořenů genotypu cv. Rutgers a mutantu *7B-1* rostoucích na modrém světle. Například u koncentrace 10⁻⁷ M dochází k výrazné inhibici oproti předešlým koncentracím u obou genotypů. Délky kořene jsou v počáteční 0M koncentraci delší, než ve tmě (Obr. 13a). Zaznamenali jsme stejný vývoj růstu kořenů jednotlivých genotypů. Procentuální inhibice (Obr. 14b) dosahuje nejvyšších hodnot u největší koncentrace 5x10⁻⁷ M, kde se u obou genotypů pohybuje okolo 80%. Porovnáním Obr. 13b a 14b je tedy zřejmé, že inhibice růstu kořenů auxinem 2,4-D byla mnohem intenzivnější na modrém světle než ve tmě, což je vidět především u koncentrace 10⁻⁷ M.



Obr. č. 15 Vliv koncentrace auxinu 2,4-D na délku kořenů k testovanému kultivaru cv. Rutgers a mutantu *7B-1* pěstovaných pod červeným světlem po dobu 7 dnů v podmínkách *in vitro*. Graf (a) ukazuje průměrné délky kořenů \pm SE, které byly získány ze tří nezávislých experimentů. V každém experimentu u každé koncentrace auxinu bylo měřeno cca 10 rostlin cv. Rutgers a 10 rostlin mutantu *7B-1*. (b) Ukazuje průměrné hodnoty procentuální inhibice růstu kořene vlivem použitých koncentrací auxinu 2,4-D.

Podobně jako na modrém světle, auxin 2,4-D na červeném světle inhiboval růst kořene genotypu cv. Rutgers a mutantu *7B-1* silněji než ve tmě. Opět je to nejlépe vidět na koncentraci 10^{-7} M 2,4-D (Obr.15b a 13b).

5. DISKUZE

Je známo, že auxiny a světlo spolu v procesu růstu rostlin vzájemně interagují (de Wit *et al.* 2016). Tato interakce je často studována na hypokotylech, protože je to orgán velice citlivý k auxinům i ke světlu. Zatímco endogenní auxiny stimulují prodlužovací růst hypokotyly, světlo tento růst inhibuje a zpomaluje. Jedním z mechanismů, jak světlo inhibuje růst rostlin, spočívá v tom, že světlo redukuje hladinu endogenních auxinů v rostlině (Iino 1982; Nishimura *et al.* 2006) a polární transport auxinů (Jones *et al.* 1991; Behringer and Davies 1992) čímž dochází ke snížení stimulačního účinku auxinů. Světlo může také redukovat množství auxinových receptorů a tím snižovat citlivost buněk k auxinům (Jones *et al.* 1991).

Účinek auxinů na růst rostlin je často studován aplikací exogenních auxinů, o kterých je známo, že u intaktních rostlin v časovém rozmezí hodin a dnů naopak prodlužovací růst hypokotylů inhibují. Přesný mechanismus však není dosud objasněn. Jednou z možností je, že v rostlině dochází k akumulaci vysoké hladiny auxinu a to může vést k aktivaci aniontových kanálů, které způsobují depolarizaci membrány buněk, čímž dochází k inhibici růstu (Boerjan *et al.* 1995; King *et al.* 1995; Fellner 1997; Thomine *et al.* 1997).

Dřívější experimenty ukázaly, že mutant *7B-1* s defektem ve vnímání modrého světla, produkuje méně endogenních auxinů než kontrolní rostlina cv. Rutgers (Fellner *et al.* 2001). Dále bylo zjištěno, že hypokotyle etiolizovaných rostlin *7B-1* jsou ve srovnání s kontrolním genotypem cv. Rutgers méně citlivé k inhibičnímu auxinu NAA, aplikovaném v koncentračním rozmezí 5×10^{-7} až 10^{-5} M, nejvýrazněji však při nejnižší testované koncentraci 5×10^{-7} M (Fellner *et al.*, nepublikované výsledky). Dále bylo zjištěno, že u obou genotypů modré světlo snižuje inhibiční účinek NAA na růst hypokotyly (Fellner *et al.*, nepublikované výsledky).

Cílem experimentální části mé bakalářské práce bylo zjistit, zda se při nižších koncentracích auxinů (10^{-9} až 10^{-7} M) rezistence etiolizovaných hypokotylů *7B-1* k auxinu projeví výrazněji a zda a jak bude citlivost k nízkým koncentracím auxinů ovlivněna světelnými podmínkami, především pak modrým světlem. Studovali jsme proto účinky auxinů NAA, 2,4-D a IAA na růst hypokotyly mutantu *7B-1* a kontrolního genotypu cv. Rutgers rostoucích ve tmě, na modrém a červeném světle. Současně jsme zjišťovali, zda se mutant *7B-1* odlišuje od kontrolního genotypu i v růstových reakcích kořene k exogenním auxinům a zda jsou tyto změny ovlivňovány kvalitou světla.

5.1. Vliv exogenních auxinů na růst hypokotylu mutantu rajčete *7B-1*

Na rozdíl od experimentů s vyššími koncentracemi auxinu NAA ($5 \cdot 10^{-7}$ až 10^{-5} M) (Fellner, nepublikované výsledky), experimenty provedené v této bakalářské práci ukázaly, že etiolizované hypokotylы mutantu *7B-1* nevykazovaly sníženou citlivost k NAA použité v koncentračním rozmezí 10^{-9} až 10^{-7} M. Výjimkou byla nejvyšší testovaná koncentrace NAA $5 \cdot 10^{-7}$ M, při které jsme sníženou citlivost hypokotylu *7B-1* opět pozorovali (Obr. 4b). Jednou z příčin může být fakt, že NAA v koncentračním rozmezí 10^{-9} až 10^{-7} M neměl téměř žádné inhibiční účinky na růst hypokotylu. Protože však při nejvyšší testované koncentraci $5 \cdot 10^{-7}$ M byla inhibice výrazná, je zřejmé, že v dalších podobných pokusech bychom se měli zaměřit spíše na škálu koncentrací NAA mezi hodnotami 10^{-7} až $5 \cdot 10^{-7}$ M. Podobně tomu bylo i u dalších použitých auxinů 2,4-D a IAA. D, kde však ani při nejvyšší koncentraci $5 \cdot 10^{-7}$ M nebyla nižší citlivost *7B-1* k inhibičnímu účinku auxinu zřetelná. Rovněž na modrém či červeném světle nebyl mezi *7B-1* a cv. Rutgers zaznamenán výrazný rozdíl v citlivosti ke všem testovaným auxinům a světlo růstové reakce hypokotylu k těmto nízkým koncentracím auxinů výrazně neovlivňovalo. Výsledky našich experimentů potvrdily, že v podmínkách *in vitro* exogenní auxin inhibuje růst intaktních hypokotylů, a vedou rovněž k závěru, že funkční produkt genu *7B-1* není důležitým elementem zapojeným v růstových reakcích intaktního hypokotylu k exogenním auxinům.

5.2. Vliv světla na citlivost kořenů k auxinu

Výsledky experimentů s kořeny ukázaly, že ve tmě auxin NAA v závislosti na koncentraci inhiboval růst kořenů mutantu *7B-1* i kontrolního genotypu cv. Rutgers. U obou genotypů docházelo k přibližně stejné inhibici růstu, v závislosti na použitých koncentracích NAA, a to ve tmě i na světle. Podobně tomu bylo i u dalších použitých auxinů IAA a 2,4-D. Výsledky našich experimentů potvrdily, že v podmínkách *in vitro* exogenní auxin opravdu inhibuje růst intaktních kořenů. Srovnání růstových reakcí mutantu *7B-1* a cv. Rutgers vede dále k závěru, že funkční produkt genu *7B-1* není zapojen v růstových reakcích kořene rajčete k exogenně aplikovaným auxinům, a to bez ohledu na světelné podmínky.

Při další podrobné analýze výsledků jsme však zjistili, že vlnová délka světla významně mění citlivost růstových reakcí kořenů k inhibičním účinkům testovaných auxinů. Tabulka č. 1 ukazuje hodnoty inhibice růstu kořenů kontrolního genotypu cv. Rutgers za přítomnosti jednotlivých auxinů ve dvou vybraných koncentracích 10^{-8} a 10^{-7} M ve tmě, na modrém a červeném světle. Tabulka č. 2 pak ukazuje totéž u mutantu *7B-1*.

Tabulka č. 1 Inhibice růstu kořenů WT (cv. Rutgers) (v %) vlivem auxinů NAA, IAA a 2,4-D ve tmě, modrém světle a červeném světle.

| WT | 10 ⁻⁸ M | | | 10 ⁻⁷ M | | |
|----|--------------------|-----|-------|--------------------|-----|-------|
| | NAA | IAA | 2,4-D | NAA | IAA | 2,4-D |
| D | 22 | 26 | 4 | 60 | 62 | 18 |
| BL | 4 | 12 | 14 | 46 | 42 | 55 |
| RL | 14 | 27 | -3 | 56 | 63 | 47 |

Z výsledků je patrné, že modré světlo snižovalo citlivost kořene cv. Rutgers k inhibičním účinkům NAA a IAA, což bylo výrazné u obou vybraných koncentrací 10⁻⁸ a 10⁻⁷ M. U červeného světla však tento účinek světla pozorován nebyl. Naopak u auxinu 2,4-D byla reakce opačná - modré světlo citlivost kořene k tomuto auxinu zvyšovalo. Červené světlo rovněž zvyšovalo citlivost kořenů k inhibičnímu účinku 2,4-D. Vliv světla na citlivost kořenů k 2,4-D byl pozorován pouze u koncentrace 10⁻⁷ M.

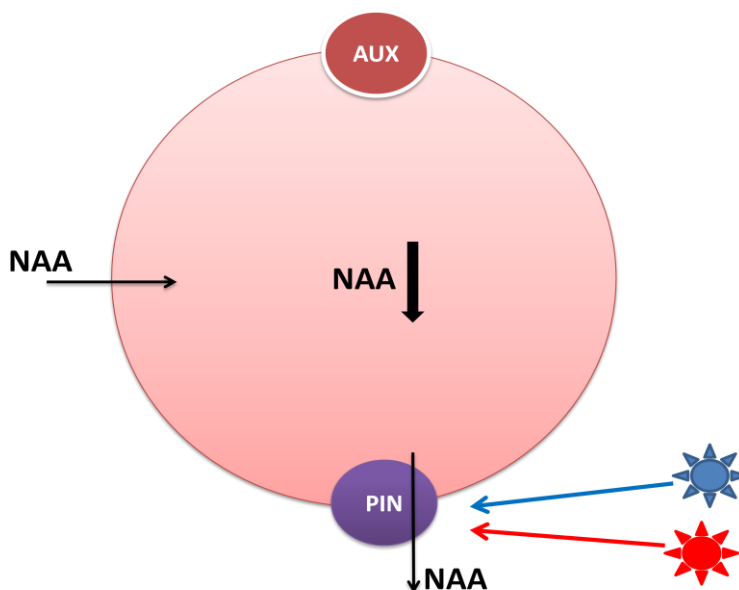
Tabulka č. 2 Inhibice růstu kořenů mutanta 7B-1 (v %) vlivem auxinů NAA, IAA a 2,4-D ve tmě, modrém světle a červeném světle.

| 7B-1 | 10 ⁻⁸ M | | | 10 ⁻⁷ M | | |
|------|--------------------|-----|-------|--------------------|-----|-------|
| | NAA | IAA | 2,4-D | NAA | IAA | 2,4-D |
| D | 26 | 19 | 6 | 54 | 62 | 21 |
| BL | 4 | 16 | 10 | 53 | 44 | 43 |
| RL | 7 | 21 | 9 | 52 | 62 | 34 |

Výsledky u mutanta 7B-1 (Tab. 2) jsou podobné výsledkům u cv. Rutgers. Modré světlo snižovalo citlivost kořene k auxinu NAA, a to pouze při koncentraci 10⁻⁸ M. Taktéž snižovalo citlivost kořenů k auxinu IAA, ale pouze při koncentraci 10⁻⁷ M, kdežto u koncentrace 10⁻⁸ M nebyl tento efekt výrazný. Červené světlo snižovalo citlivost kořene k auxinu NAA jen u koncentrace 10⁻⁸ M, kdežto v případě auxinu IAA červené světlo nemělo žádný vliv na citlivost kořene k tomuto auxinu. Podobně jako u genotypu cv. Rutgers, modré i červené světlo zvyšovalo citlivost kořenů k inhibičním účinkům auxinu 2,4-D, ale tento efekt byl výrazný pouze při koncentraci 10⁻⁷ M.

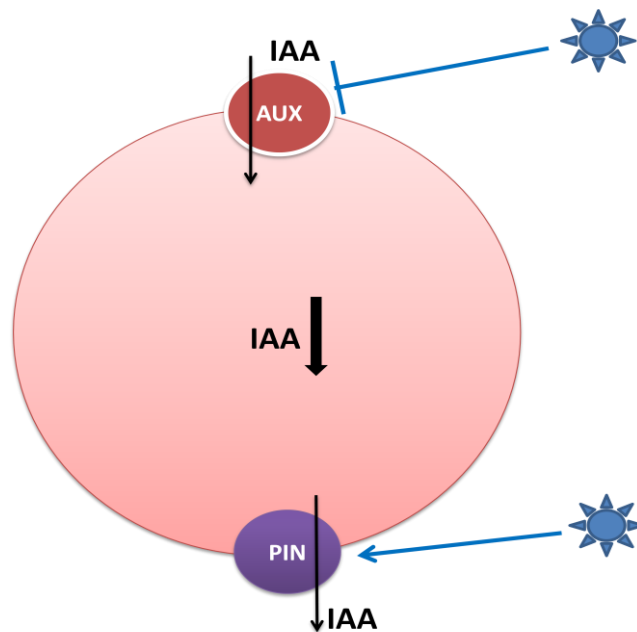
5.3. Mechanismy účinků světla na inhibici růstu kořene vlivem auxinů

Na základě našich výsledků jsme sestavili modely, jak by světlo mohlo ovlivňovat akumulaci konkrétního aplikovaného auxinu v buňce a tak ovlivňovalo růstové reakce kořenů k tomuto auxinu. Je třeba zdůraznit, že naše modely neuvažují o možnosti, že světlo může rovněž ovlivňovat biosyntézu a metabolismus auxinů či přímo elementy auxinové signalizace. Modely vychází z práce Delbarre *et al.* (1996), kde autoři analyzovali mechanismy, jakými jsou schopny se auxiny NAA, 2,4-D a IAA transportovat do buňky a z buňky.



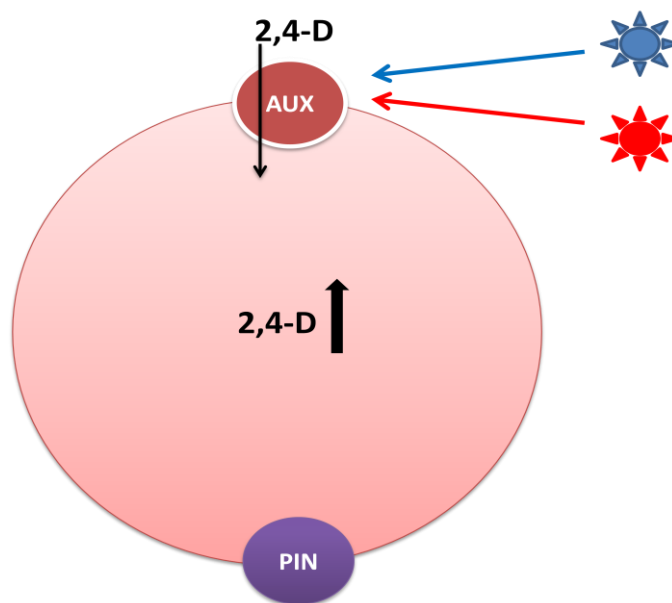
Obr. č. 16 Hypotetický model účinků světla na hladinu auxinu NAA v buňce kořene (podle Morris 2000, modifikováno).

V případě auxinu NAA (Obr. č. 16) zjistili, že transport tohoto auxinu prostřednictvím přenašeče AUX1/LAX (influx carrier; Parry *et al.* 2001; Zažímalová *et al.* 2010) je zanedbatelný a auxin NAA vstupuje do buněk především pasivní difúzí, přičemž jeho transport z buňky se děje především proteinovými přenašeči typu PIN (efflux carrier; Galweiler *et al.* 1998; Luschnig *et al.* 1998). Zjistili jsme, že na modrém světle a méně zřetelně na červeném světle je inhibice růstu kořene nižší než u kořenů rostoucích ve tmě. Dle našich výsledků lze uvažovat o tom, že modré a červené světlo může aktivně působit na přenašeč PIN a zvýšit tak „odtok“ auxinu NAA z buňky, který bude intenzivnější než transport NAA do buňky (Obr. č. 16). To znamená, že na světle může docházet k nižší akumulaci auxinu NAA v buňce než ve tmě. Pokud budeme v našem modelu uvažovat, že vyšší akumulace auxinu v buňce vede k vyššímu inhibičnímu účinku auxinu na růst buňky, pak nižší akumulace NAA v buňce může vést k nižší inhibici růstu kořene.



Obr. č. 17 Hypotetický model vlivu světla na hladinu auxinu IAA v buňce kořene (podle Morris 2000, modifikováno).

Delbarre *et al.* (1996) zjistili, že na rozdíl od syntetického auxinu NAA, je nativní auxin IAA transportován do buňky především přenašeči typu AUX1/LAX a z buňky je transportován podobně jako NAA, tedy proteinovými přenašeči typu PIN (Obr. č. 17). Naše experimenty ukázaly, že modré světlo, nikoliv však červené, mírně snižuje citlivost kořene k inhibičnímu účinku IAA. Pokud tedy budeme uvažovat, že nižší inhibice růstu hypokotylu auxinem IAA je důsledkem nižší akumulace IAA v buňce, pak můžeme uvažovat, že modré světlo může snižovat aktivitu přenašeče AUX1/LAX a naopak zvyšovat přenos auxinu prostřednictvím proteinů PIN (Obr. č. 17). Tyto výsledky mohou být podpořeny pozorováním Malichové (2015), která ukázala, že exprese genu *PIN1a* u kukuřice je stimulována modrým světlem. Je dále zajímavé, že tato stimulace byla výraznější při absenci genu pro auxin-binding protein1 (ABP1) (Malichová 2015). Samozřejmě, je také možné, že modré světlo stimuluje přenos IAA jak do buňky, tak z buňky, přičemž stimulace „odtoku“ IAA z buňky modrým světlem bude intenzivnější než stimulace transportu IAA z buňky prostřednictvím AUX1/LAX.



Obr. č. 18 Hypotetický model ukazující vliv světla na hladinu auxinu 2,4-D v buňce kořene (podle Morris 2000, modifikováno).

Delbarre *et al.* (1996) ukázali, že transport auxinu 2,4-D do buňky je zajišťován přenašeči typu AUX1/LAX. Autoři rovněž zjistili, že afinita PIN přenašečů k 2,4-D je relativně nízká a tudíž přenos auxinu 2,4-D z buňky prostřednictvím proteinů PIN je slabý (Obr. č. 18). Naše experimenty ukázaly, že modré a částečně i červené světlo zvyšuje citlivost kořenů k inhibičnímu účinku 2,4-D. V našem modelu tedy navrhuje, že modré a částečně i červené světlo může stimulovat transport 2,4-D do buňky prostřednictvím přenašeče AUX1/LAX. Vzhledem k nízké schopnosti 2,4-D opouštět buňku může na světle docházet k vyšší akumulaci auxinu 2,4-D uvnitř buňky než ve tmě. To může následně vést ke zvýšení citlivosti buňky kořene k inhibičnímu účinku auxinu 2,4-D.

Fakt, že změna citlivosti kořenů k auxinům vlivem světla se projevuje ve velice úzkém koncentračním rozmezí nebo pouze při určitých koncentracích aplikovaných auxinů naznačuje, že navrhované mechanismy regulace transportu auxinů do buňky a z buňky budou pravděpodobně velice citlivě reagovat na koncentrace exogenních auxinů a na světelné podmínky. Tento systém tak může pro buňky představovat velice jemný způsob regulace auxinového transportu a hladiny auxinu v buňce flexibilně regulovaný světelnými podmínkami.

Náš koncept, že světlo, především modré světlo, reguluje polární transport auxinu a jeho akumulaci v kořenových buňkách rajčete (Obr. 16 až 18) je docela nový, protože literární data na toto téma jsou velice omezená. Laxmi *et al.* (2008) navrhli, že světlo prostřednictvím receptorů modrého světla pozitivně ovlivňuje aktivitu transportu auxinů z buňky ven tím, že udržuje přenašeče auxinů typu PIN2 na plazmatické membráně.

Rovněž u kořenů, avšak u *Arabidopsis*, Zeng *et al.* (2010) na základě svých experimentů navrhuje, že fotoreceptor CRY1 redukuje expresi proteinů PIN1. Použitím mutantů *cry1* bylo zjištěno, že v hypokotylech rajčete receptory CRY1 negativně ovlivňují polární transport auxinů a že slabé červené světlo polární transport auxinu naopak zesiluje (Liu *et al.* 2011). Podobné výsledky publikoval i Zeng *et al.* (2010). Naše výsledky se částečně shodují se závěry Stočese *et al.* (2012), kteří studovali úlohu boru a auxinů ve fotomorfogenezi hypokotylů *Arabidopsis thaliana*, Autoři navrhuje, že v hypokotylech *Arabidopsis* modré světlo redukuje aktivitu auxinových přenašečů typu AUX1/LAX a naopak, stimuluje funkci přenašečů proteinové skupiny PIN. Stimulace PIN proteinů červeným světlem navržená v našem model (Obr. 16) se shoduje s výsledky Keuskamp *et al.* (2010) a Ding *et al.* (2011). Jejich výsledky shodně naznačují, že červené světlo může indukovat polárně- lokalizované proteiny PIN3, které usměřují auxinový transport v bazipetálním směru (Petrášek and Friml, 2009), a tak může zvyšovat bazipetální auxinový transport.

Je známo, že polární transport auxinů vyžaduje i další proteinové přenašeče a to auxinové transportéry typu ABC (Lewis *et al.* 2009) nazývané ABCB19 (dříve MDR1 nebo PGP19) (Vevrier *et al.* 2008). Bylo publikováno, že v hypokotylecha *Arabidopsis* je exprese genu *FLABBY*, který kóduje transportér ABCB19, redukována aktivací fytochromů a kryptochromů (Nagashima *et al.* 2008). Ve shodě s těmito výsledky, Wu *et al.* (2010) uvádí, že mutace v *CRY1* a *PHYB* zvyšují hladinu proteinů ABCB19 na plazmatické membráně. Nedávné výsledky také ukazují, že další fotoreceptory modrého světa, fototropiny fosforylují proteiny ABCB19. To vede k inhibici přenašečů auxinů z buňky ven, tím ke zvyšování hladiny auxinu v buňce (Christie *et al.* 2011).

Je tedy zřejmé, že systém regulace hladiny auxinů v buňce světlem prostřednictvím auxinových transportérů představuje komplexní systém a znalosti o mechanismech těchto regulací jsou velice omezené. Výsledky této bakalářské práce mimo jiné nabídly nové výhledy, jak tyto mechanismy studovat. Zajímavé by určitě bylo, studovat, jak světlo ovlivňuje expresi genů kódujících známé auxinové transportéry a jak světlo ovlivňuje jejich polarizaci a jejich množství na plazmatické membráně.

6. ZÁVĚR

Cílem mé bakalářské práce bylo zjistit účinky nízkých koncentrací použitých auxinů (NAA, IAA, 2,4-D) na růstové reakce rostlin rajčete a studovat, jaký vliv mělo v tomto procesu světlo, konkrétně vlnová délka. Pomocí genetického přístupu, tedy analýzou mutanta *7B-1* se sníženou citlivostí k modrému světlu a sníženou citlivostí etiolizovaných hypokotylů k auxinu NAA, jsem dále studovala, jakou úlohu hraje gen *7B-1* v růstových reakcích hypokotylu a kořene rajčete k exogenním auxinům. Výsledky našich experimentů potvrdily, že v podmínkách *in vitro* exogenní auxin inhibuje růst intaktních hypokotylů i kořenů. Výsledky vedou dále k závěru, že funkční produkt genu *7B-1* není důležitým elementem zapojeným v růstových reakcích intaktního rostlin rajčete k exogenním auxinům, a to za všech studovaných světelných podmínek. Experimenty však odhalily, že vlnová délka světla významně mění citlivost růstových reakcí kořenů k inhibičním účinkům testovaných auxinů. Konkrétně, modré světlo snižovalo citlivost kořene k inhibičním účinkům auxinů NAA a IAA, naopak zvyšovalo citlivost k auxinu 2,4-D. Červené světlo podobně snižovalo citlivost kořene k inhibičním účinkům auxinu NAA, nemělo žádný efekt v citlivosti kořene k IAA, a naopak zvyšovalo citlivost kořenů k inhibičním účinkům auxinu 2,4-D. Protože tyto reakce nebyly ovlivněny mutací *7B-1*, je zřejmé, že funkční produkt genu *7B-1* není v těchto reakcích kořene významně zapojen. Na základě znalostí o tom, jak jsou jednotlivé typy auxinů do buňky transportovány, jsme navrhli hypotetické modely toho, jak světlo může ovlivňovat reakce kořenů k inhibičním účinkům jednotlivých typů auxinů. Principem modelů je předpoklad, že inhibiční účinek auxinu na růst buňky je úměrný hladině (akumulaci) auxinu v buňce. Na základě některých literárních dat můžeme předpokládat, že světlo může regulovat hladinu auxinů uvnitř buňky tím, že ovlivňuje funkci přenašečů auxinů do a z buňky, AUX1/LAX a proteinů PIN. Tyto modely mohou jednak naše výsledky alespoň částečně vysvětlit a za druhé nabízejí nové možnosti, jak tyto relativně složité mechanismy studovat.

7. LITERATURA

- Abel S, Nguyen MD, Theologis A (1995) The PS-IAA4/5-like family of early auxin-inducible mRNAs in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Molecular Biology* 251: 533-549
- Ahmad M, Cashmore AR (1993) HY4 gene of *A. thaliana* encodes a protein with characteristics of a blue-light photoreceptor. *Nature* 366: 162–166
- Ahmad M, Cashmore AR (1996) Seeing blue: the discovery of cryptochrome. *Plant Molecular Biology* 30: 851–861
- Badescu GO, Napier RM (2006) Receptors for auxin: will it all end in TIRs? *Trends in Plant Science* 11: 217-223
- Bandyopadhyay A, Blakeslee JJ, Lee OR, Mravec J, Sauer M, Titapiwatanakun B, Makam SN, Bouchard R, Geisler M, Martinoia E, Friml J, Peer WA, Murphy AS (2007). Interactions of PIN and PGP auxin transport mechanisms. *Biochemical Society Transactions* 35: 137-141
- Bauer CS, Hoth S, Haga K, Philippar K, Aoki N, Hedrich R (2000) Differential expression and regulation of K⁺ channels in the maize coleoptile: molecular and biophysical analysis of cells isolated from cortex and vasculature. *Plant Journal* 24: 139-145
- Behringer DJ, Davies PJ (1992) Indole-3-acetic acid levels after phytochrome-mediated changes in the stem elongation rate of dark-and light-grown *Pisum* seedlings. *Planta* 188: 85-92
- Bennett MJ, Marchant A, Green HG, May ST, Ward SP, Millner PA, Walker AR, Schulz B, Feldmann KA (1996) *Arabidopsis* AUX1 gene: a permease-like regulator of root gravitropism. *Science* 273: 948-950
- Bhalerao RP, Eklöf J, Ljung K, Marchant A, Bennett M, Sandberg G (2002) Shoot-derived auxin is essential for early lateral root emergence in *Arabidopsis* seedlings. *Plant Journal* 29: 325-332
- Blakeslee JJ, Peer WA, Murphy AS (2005) Auxin transport. *Current Opinion in Plant Biology* 8: 494-500

- Boerjan W, MT Cervera, M Delarue, T Beeckman, W Dewitte, C Bellini, M Caboche, H Van Onckelen, M Van Montagu, D Inzé (1995) Superroot, a recessive mutation in *Arabidopsis*, confers auxin overproduction. *The Plant Cell* 7: 1405-1419
- Butler WL, Norris KH, Seigelman HW, Hendricks SB (1959) Detection, assay, and preliminary purification of the pigment controlling photoresponsive development of plants. *Proceedings of National Academy of Science of the USA* 45: 1703–1708
- Carabelli M, Morelli G, Whitelam G, Ruberti I (1996) Twilight-zone and canopy shade induction of the *Athb-2* homeobox gene in green plants. *Proceedings of National Academy of Science of the USA* 93: 3530-3535
- Cashmore AR (1997) A cryptochrome family of photoreceptors. *Plant, Cell and Environment* 208: 764-767.
- Catalá C, Rose JK, Bennett AB (1997) Auxin regulation and spatial localization of an Endo-1,4-Beta-D-glucanase and a Xyloglucan Endotransglycosylase in expanding tomato hypocotyls. *Plant Journal* 12: 417-426
- Claussen M, Lüthe H, Blatt M, Böttger M (1997) Auxin-induced growth and its linkage to potassium channels. *Planta* 201: 227-234
- Cleland, R (2004) in *Plant hormones: Biosynthesis, signal transduction, action, auxin and cell elongation*, ed Davies J. (Kluwer Acad. Pub., Dordrecht, The Netherlands), pp 204–220.
- Colon-Carmona A, Chen DL, Yeh K-C, Abel S. (2000) Aux/IAA proteins are phosphorylated by phytochrome in vitro. *Plant Physiology* 124: 1728-1738
- Darwin C, Darwin F (1881) *The power of movement in plants*. Appleton-Century, New York.
- Davies PJ (2004) *Plant hormones biosynthesis, signal transduction, action!* Kluwer Academic Publishers (2004)
- De Lucas M, Prat S (2014) PIFs get BRight: PHYTOCHROME INTERACTING FACTORs as integrators of light and hormonal signals. *The New Phytologist* 202: 1126-1141

- De Wit M, Galvao VC, Fankhauser C (2016) Light-mediated hormonal regulation of plant growth and development. *Annual Review of Plant Biology* 67: 513-537
- Delbarre A, Muller P, Imhoff V, Guern J (1996) Comparison of the mechanism controlling uptake and accumulation of 2,4-dichlorophenoxy acetic acid, naphthalene-1-acetic acid and indole-3-acetic acid in suspension-cultured tobacco cells. *Planta* 198: 532-541
- Devlin PF, Yanovsky MJ, Kay SA (2003) A genomic analysis of the shade avoidance response in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 133: 1617–1629
- Dharmasiri N, Dharmasiri S, Estelle M (2005) The F-box protein TIR1 is an auxin receptor. *Nature* 435: 441-445
- Ding Z, Galván-Ampudia CS, Demarsy E, Łangowski Ł, Kleine-Vehn J, Fan Y, Morita MT, Tasaka M, Fankhauser C, Offringa R, Friml J (2011) Light-mediated polarization of the PIN3 auxin transporter for the phototropic response in *Arabidopsis*. *Nature Cell Biology* 13: 447-452
- Ephritikhine G, Fellner M, Vannini C, Lalous D, Brygøo HB(1999a) The sax1 dwarf mutant of *Arabidopsis thaliana* shows altered sensitivity of growth responses to abscisic acid, auxin, gibberellins and ethylene and is partially rescued by exogenous brassinosteroid. *Plant Journal* 18: 303-314
- Fellner M (1997) Search for selection screens of auxin-response mutants in *Arabidopsis thaliana*. Genetic and physiological characterization of the first isolated mutants. Ph.D. thesis, Universite de Paris-Sud XI, Orsay, France.
- Fellner M, Horton LA, Cocke AE, Stephens NR, Ford DE, Van Volkenburgh E (2003) Light interacts with auxin during leaf elongation and leaf angle development in young corn seedlings. *Planta* 216: 366-376
- Fellner M, Sawhney VK (2001) Seed germination in a tomato male-sterile mutant is resistant to osmotic, salt and low-temperature stresses. *Theoretical and Applied Genetics* 102: 215-221
- Fellner M, Sawhney VK (2002) The 7B-1 mutant in tomato shows blue-light-specific resistance to osmotic stress and abscisic acid. *Planta* 214: 675–682

- Fellner M, Ford ED, Van Volkenburgh E (2006) Development of erect leaves in a modern maize hybrid is associated with reduced responsiveness to auxin and light of young seedlings in vitro. *Plant Signaling and Behavior* 1: 201-211
- Folta KM, Pontin MA, Neumann GK, Bottini R, Spalding EP(2003) Genomic and physiological studies of early cryptochrome 1 action demonstrate roles for auxin and gibberellin in the control of hypocotyl growth by blue light. *Plant Journal* 36: 203-214
- Franklin KA, Praekelt U, Stoddart WM, Billingham OE, Halliday KJ, Whitelam GC (2003) Phytochromes B, D, and E act redundantly to control multiple physiological responses in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 131: 1340-1346
- Friml J, Wiśniewska J, Benková E, Mendgen K, Palme K (2002) Lateral relocation of auxin efflux regulator PIN3 mediates tropism in *Arabidopsis*. *Nature* 415, 806-809
- Fuchs I, Philippar K, Ljung K, Sandberg G, Hedrich R (2003) Blue light regulates an auxin-induced K⁺-channel gene in the maize coleoptile. *Proceedings of National Academy of Science of the USA* 100: 11795-11800
- Fujii N, Kamada M, Yamasaki S, Takahashi H (2000) Differential accumulation of Aux/IAA mRNA during seedling development and gravity response in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Plant Molecular Biology* 42: 731-740
- Galweiler L, Guan C, Müller A, Wisman E, Mendgen K, Yephremov A, Palme K (1998) Regulation of polar auxin transport by AtPIN1 in *Arabidopsis* vascular tissue. *Science* 282: 2226-2230
- Geisler M, Blakeslee JJ, Bouchard R, Lee OR, Vincenzetti V, Bandyopadhyay A, Titapiwatanakun B, Peer WA, Bailly A, Richards EL, Ejendal KFK, Smith AP, Baroux C, Grossniklaus U, Müller A, Hrycyna CA, Dudler R, Murphy AS, Martinoia E (2005) Cellular efflux of auxin catalyzed by the *Arabidopsis* MDR/PGP transporter AtPGP1. *Plant Journal* 44: 179-194
- Gendreau E, Traas J, Desnos T, Grandjean O, Caboche M, Hofte H (1997) Cellular basis of hypocotyl growth in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology* 114: 295-305
- Goldsmith M, Goldsmith T (1977) Chemiosmotic model for polar transport of auxin. *Plant Physiology* 59: 90-90

- Gray WM , Östin A, Sandberg G, Romano CP, Estelle M (1998) High temperature promotes auxin-mediated hypocotyl elongation in *Arabidopsis*. Proceedings of National Academy of Science of the USA 95: 7197-7202
- Greenwood MS, Hillman JR, Shaw S, Wilkins MB(1973) Localization and identification of auxin in roots of *Zea mays*. *Planta* 109: 369-374
- Guo H, Yang H, Mockler TC, Lin C (1998) Regulation of flowering time by *Arabidopsis* photoreceptors. *Science* 279: 1360-1363
- Hlavinka J, Nauš J, Fellner M (2013) Spontaneous mutation 7B-1 in tomato impairs blue light-induced stomatal opening. *Plant Science* 209: 75–80
- Hoecker U, Ortiz GT, Bender J, Quail PH (2004) The photomorphogenesis-related mutant *red1* is defective in *CYP83B1*, a red light-induced gene encoding a cytochrome P450 required for normal auxin homeostasis. *Planta* 219: 195-200
- Hornitschek P, Kohnen MV, Lorrain S, Rougemont J, Ljung K, López-Vidriero I, Franco-Zorrilla JM, Solano R, Trevisan M, Pradervand S, Xenarios I, Fankhauser C (2012) Phytochrome interacting factors 4 and 5 control seedling growth in changing light conditions by directly controlling auxin signaling. *The Plant Journal: for Cell and Molecular biology* 71: 699-711
- Hsieh H-L, Okamoto H, Wang M, Ang LH, Matsui M, Goodman H, Deng XW(2000) *FIN219*, an auxin-regulated gene, defines a link between phytochrome A and the downstream regulator COP1 in light control of *Arabidopsis* development. *Genes and Development* 14: 1958-1970
- Chattopadhyay S, Ang LH, Puente P, Deng XW, Wei N (1998) *Arabidopsis* bZIP protein HY5 directly interacts with light-responsive promoters in mediating light control of gene expression. *Plant Cell* 10: 673-683
- Cholodny N (1924) Über die hormonale Wirkung der Organpitze bei der geotropischen Krümmung. *Berichte Botanischen Gesellschaft* 42: 356-360
- Christian M, Steffens B, Schenck D, Burmester S, Böttger M, Lüthen H. (2006) How does auxin enhance cell elongation? Roles of auxin-binding proteins and potassium channels in growth control. *Plant Biology* 8: 346-352

- Christie JM, Yang H, Richter GL, Sullivan S, Catriona ET, Lin J, Titapiwatanakun B, Ennis M, Kaiserli E, Lee OR, Adamec J, Peer WA, Murphy AS (2011) phot1 inhibition of ABCB19 primes lateral auxin fluxes in the shoot apex required for phototropism. *Plos Biology*: 9:e1001076
- Iino M (1982) Inhibitory action of red light on the growth of the maize mesocotyl: Evaluation of the auxin hypothesis. *Planta* 156:388-395
- Jensen EB, Veierskov B (1998) Interaction between photoperiod, photosynthesis and ethylene formation in tomato plant (*Lycopersicon esculentum* cv. ailsa craig and ACC-oxidase antisense pTOM13). *Physiologia Plantarum* 103: 363–368
- Jiao Y, Lau OS, Deng XW (2007) Light-regulated transcriptional networks in higher plants. *Nature Reviews* 8: 217-230
- Jones AM (1990) Location of transported auxin in etiolated maize shoots using 5-Azidoindole-3-acetic acid. *Plant Physiology* 93: 1154-1161
- Jones AM, Cochran DS, Lamerson PM, Evans ML, Cohen JD (1991) Changes in the abundance of Indoleacetic Acid and a 22-Kilodalton auxin-binding protein in the maize mesocotyl. *Plant Physiology* 97: 352-358
- Kepinski S, Leyser O (2005) The *Arabidopsis* F-box protein TIR1 is an auxin receptor. *Nature* 435: 446-451
- Keuskamp DH, Pollmann S, Voeselek LA, Peeters AJ, Pierik R (2010) Auxin transport through PIN-FORMED 3 (PIN3) controls shade avoidance and fitness during competition. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 107: 22740-22744
- King JJ, Stimart DP, Fisher RH, Bleecker AB (1995) A mutation altering auxin homeostasis and plant morphology in *Arabidopsis*. *The Plant Cell* 7: 2023-2037
- Kraepiel Y, Marree K, Sotta B, Caboche M, Miginiac E (1995) In vitro morphogenic characteristics of phytochrome mutants in *Nicotiana plumbaginifolia* are modified and correlated to high indole-3-acetic acid level. *Planta* 197: 142-146
- Kraepiel Y, Miginiac E (1997) Photomorphogenesis and phytohormones. *Plant, Cell and Environment* 20: 807-812

- Kurepin LV, Pharis RP (2014) Light signaling and the phytohormonal regulation of shoot growth. *Plant Science: an International Journal of Experimental Plant Biology* 229: 280-289
- Laxmi A, Pan J, Morsy M, Chen R (2008) Light plays an essential role in intracellular distribution of auxin efflux carrier PIN2 in *Arabidopsis thaliana*. *Plos ONE* 1: 1–11
- Lewis DR, Wu G, Ljung K, Spalding EP (2009) Auxin transport into cotyledons and cotyledon growth depend similarly on the ABCB19 multidrug resistance-like transporter. *The Plant Journal* 60: 91–101
- Li J, Yang H, Richter G, Blakeslee JJ, Bandyopadhyay A, Peer WA, Titapiwantakun B, Richards E, Undurraga S, Murphy AS, Gilroy S, Gaxiola R (2005) *Arabidopsis* H⁺-PPase AVP1 regulates auxin-mediated organ development. *Science* 310: 121-125
- Li L, Ljung K, Breton G, Schmitz RJ, Pruneda-Paz J, Cowing-Zitron C, Cole BJ, Ivans LJ, Pedmale UV, Jung H-S, Ecker JR, Kay SA, Chory J (2012) Linking photoreceptor excitation to changes in plant architecture. *Genes and Development* 26: 785-790
- Lin R, Wang H (2005) Two homologous ATP-binding cassette transporter proteins, AtMDR1 and AtPGP1, regulate *Arabidopsis* photomorphogenesis and root development by mediating polar auxin transport. *Plant Physiology* 138: 949-964
- Liscum E. *The Arabidopsis Book*. The American Society of Plant Biologists; Rockville, MD: 2002. Phototropism: Mechanisms and Outcomes. doi: 10.1199/tab.0042
- Liu X, Cohen JD, Gardner G (2011) Low-fluence red light increases the transport and biosynthesis of auxin. *Plant Physiology* 157: 891–904
- Liu ZB, Ulmasov T, Shi X, Hagen G, Guilfoyle TJ (1994) Soybean GH3 promoter contains multiple auxin-inducible elements. *Plant Cell* 6: 645-657
- Ljung K, Bhalearo RP, Sandberg G (2001) Sites and homeostatic control of auxin biosynthesis in *Arabidopsis* during vegetative growth. *The Plant journal: for cell and molecular biology* 28: 465-474
- Luschnig C, Gaxiola RA, Grisafi P, Fink GR (1998) EIR1, a root-specific protein involved in auxin transport, is required for gravitropism in *Arabidopsis thaliana*. *Genes and Development* 12: 2175–2187

- Malichová I (2015) Role of auxin-binding proteins ABP1 and ABP4 in regulation of PIN proteins in maize *Zea mays L.* Bachelor thesis. Palacky University in Olomouc, Faculty of Science, Department of Biochemistry
- Morelli G, Ruberti I (2000) Shade avoidance responses, driving auxin along lateral routes. *Plant Physiology* 122: 621-626
- Mravec J, Kubeš M, Bielach A, Gaykova V, Petrášek J, Skůpa P, Chand S, Benková E, Zažímalová E, Friml J (2008) Interaction of PIN and PGP transport mechanisms in auxin distribution-dependent development. *Development* 135: 3345-3354
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15: 473-497
- Murphy AS, Hoogner KR, Peer WA, Taiz L (2002) Identification, purification, and molecular cloning of N-1-Naphthylphthalimic Acid-binding plasma membrane-associated aminopeptidases from *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 128: 935-950
- Nagashima A, Suzuki G, Uehara Y, Saji K, Furukawa T, Koshiba T, Sekimoto M, Fujioka S, Kuroha T, Kojima M, Sakakibara H, Fujisawa N, Okada K, Sakai T (2008) Phytochromes and crypochromes regulate the differential growth of *Arabidopsis* hypocotyls in both a PGP19-dependent and a PGP19-independent manner. *The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology* 53: 516-529
- Naqvi SM (1975) Kinetics of auxin transport in light and in dark grown *Zea mays L.* coleoptile segments. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie* 76: 379-383
- Nemhauser JL (2008) Dawning of a new era: photomorphogenesis as an integrated molecular network. *Current Opinion in Plant Biology* 11: 4-8
- Nishimura T, Mori Y, Furukawa T, Kadota A, Koshiba T (2006) Red light causes a reduction in IAA levels at the apical tip by inhibiting de novo biosynthesis from tryptophan in maize coleoptiles. *Planta* 224: 1427-1435
- Noh B, Bandyopadhyay A, Peer WA, Spalding EP, Murphy AS (2003) Enhanced gravi- and phototropism in plant mdr mutants mislocalizing the auxin efflux protein PIN1. *Nature* 423: 999-1002

- Noh B, Murphy AS, Spalding EP (2001) *Multidrug Resistance*-like genes of *Arabidopsis* required for auxin transport and auxin-mediated development. *The Plant Cell* 13: 2441-2454
- Osterlund MT, Hardtke CS, Wei N, Deng XW (2000) Targeted destabilization of HY5 during light-regulated development of *Arabidopsis*. *Nature* 405: 462-466
- 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 and Development* 11: 2983-2995
- Paciorek T, Friml J (2006) Auxin signaling. *Journal of Cell Science* 119: 1199-1202
- Parry G, Delbarre A, Marchant A, Swarup R, Napier R, Perrot-Rechenmann C, Benner MJ (2001) Novel auxin transport inhibitors phenocopy the auxin influx carrier mutation *aux1*. *The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology* 25: 399-406
- Pédrón J, Thierry L, Agnes C, Côte ES, Costa C, Lobstein E, Kraepiel Y (2004) Polar auxin transport is required for the inhibition by blue light of the elongation-related *LeEXT* tomato gene. *Plant Growth Regulation* 42: 113-123
- Petrásek J, Friml J (2009) Auxin transport routes in plant development. *Development* 136: 2675-2688
- Philippar K, Fuchs I, Lüthen H, Hoth S, Bauer CS, Haga K, Thiel G, Ljung K, Sandberg G, Böttger M, Becker D, Hedrich R (1999) Auxin-induced K⁺ channel expression represents an essential step in coleoptile growth and gravitropism. *Proceedings of National Academy of Science of the USA* 96: 12186-12191
- Raven JA (1975) Transport of indole-3-acetic acid in plant cells in relation to pH and electrical potential gradients, and its significance for polar IAA transport. *New Phytologist* 74: 163-172
- Rawat R, Schwartz J, Jones MA, Sairanen I, Cheng Y, Andersson CR, Zhao Y, Ljung K, Harmer SL (2009) REVEILLE1, a Myb-like transcription factor, integrates the circadian clock and auxin pathways. *Proceedings of National Academy of Science of the USA* 106: 16883-16888
- Rayle DL, Cleland R (1970) Enhancement of wall loosening and elongation by acid solutions. *Plant Physiology* 46: 250-253

- Rayle DL, Cleland RE (1992) The Acid Growth Theory of auxin-induced cell elongation is alive and well. *Plant Physiology* 99: 1271-1274
- Reed JW (2001) Roles and activities of Aux/IAA proteins in *Arabidopsis*. *Trends in Plant Science* 6: 420–425
- Romano CP, Robson PRH, Smith H, Estelle M, Klee H (1995) Transgene-mediated auxin overproduction in *Arabidopsis*: hypocotyl elongation phenotype and interactions with the *hy6-1* hypocotyl elongation and *axr1* auxin-resistant mutants. *Plant Molecular Biology* 27: 1071–1083
- Rose JKC, Bennett AB (1999) Cooperative disassembly of the cellulose–xyloglucan network of plant cell walls: parallels between cell expansion and fruit ripening. *Trends in Plant Science* 4: 176-183
- Rubery PH, Sheldrake AR (1973) Effect of pH and surface charge on cell uptake of auxin. *Nature New Biology* 244: 285-288
- Salisbury FJ, Hall A, Grierson CS, Halliday KJ (2007) Phytochrome coordinates *Arabidopsis* shoot and root development. *The Plant Journal* 50: 429-438
- Sawhney VK (1997) Genic male sterility. In: Shivanna KR, Sawhney VK (eds) *Pollen biotechnology for crop production and improvement*, Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp 183–198
- Sidler M, Hassa P, Hasan S, Ringli C, Dudler R (1998) Involvement of an ABC transporter in a developmental pathway regulating hypocotyl cell elongation in the light. *The Plant Cell* 10: 1623-1636
- Sitbon F, Rechenmann CP (1997) Expression of auxin-regulated genes. *Physiologia Plantarum* 100: 443-455
- Sorce C, Picciarelli P, Calistri G, Ceccarelli N (2008) The involvement of indole-3-acetic acid in the control of stem elongation in dark- and light-grown pea (*Pisum sativum*) seedlings. *Journal of Plant Physiology* 165: 482-489
- Spartz AK, Lor VS, Ren H, Olszewski NE, Miller ND, Wu G, Spalding EP, Gray WM (2017) Constitutive expression of *Arabidopsis* SMALL AUXIN UP RNA19 (SAUR19) in tomato confers auxin-independent hypocotyl elongation. *Plant Physiology* 173: 1453–1462

- Steindler C, Matteucci A, Sessa G, Weimar T, Ohgishi M, Aoyama T, Morelli G, Ruberti I (1999) Shade avoidance responses are mediated by the ATHB-2 HD-zip protein, a negative regulator of gene expression. *Development* 126: 4235-4245
- Sun N, Wang J, Gao Z, Dong J, He H, Terzaghi W, Wei N, Deng XW, Chen H (2016) *Arabidopsis* SAURs are critical for differential light regulation of the development of various organs. *Proceeding of the National Academy of Science of the USA* 113: 6071–6076
- Taiz L, Zeiger E (2006) *Plant Physiology*, 4th ed., Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland, MA, USA
- Taiz L, Zeiger E (2010) *Plant Physiology*, 5th ed., Sinauer Associates, Inc. Publishers Sunderland, MA, USA, pp. 545-573.
- Tan X, Villalobos LIAC, Sharon M, Zheng C, Robinson CV, Estelle M, Zheng N (2007) Mechanism of auxin perception by the TIR1 ubiquitin ligase. *Nature* 446: 640-645
- Tao Y, Ferrer JL, Ljung K, Pojer F, Hong F, Long JA, Li L, Moreno JE, Bowman ME, Ivans LJ, Cheng Y, Lim J, Zhao Y, Ballaré CL, Sandberg G, Noel JP, Chory J (2008) Rapid synthesis of auxin via a new tryptophan-dependent pathway is required for shade avoidance in plants. *Cell* 133: 164-176
- Tepperman JM, Zhu T, Chang HS, Wang X, Quail PH (2001) Multiple transcription-factor genes are early targets of phytochrome A signaling. *Proceedings of National Academy of Science of the USA* 98: 9437-9442
- Thakur JK, Tyagi AK, Khurana JP (2001) OsIAA1, an Aux/IAA cDNA from rice, and changes in its expression as influenced by auxin and light. *DNA Research* 8: 193-203
- Thomine S, Lelievre F, Boufflet M, Guern J, Barbier-Brygoo H (1997) Anion-channel blockers interfere with auxin responses in dark-grown *Arabidopsis* hypocotyls. *Plant Physiology* 115: 533-542
- Tian Q, Nagpal P, Reed JW (2003) Regulation of *Arabidopsis* SHY2/IAA3 protein turnover. *Plant Journal* 36: 643-651
- Van Overbeek J (1936) Growth substance curvatures of *Avena* in light and dark. *Journal of General Physiology* 20: 283-309

- Vandenbussche F, Straeten VD (2007) One for all and all for one: cross-talk of multiple signals controlling the plant phenotype. *Journal of Plant Growth Regulation* 26: 178-187
- Verrier PJ, Bird D, Burla B, Dassa E, Forestier C, Geisler M, Klein M, Kolukisaoglu U, Lee Y, Martinoia E, Murphy A, Rea PA, Samuels L, Schulz B, Spalding EJ, Yazaki K, Theodoulou (FL 2008) Plant ABC proteins: a unified nomenclature and updated inventory. *Trends in Plant Science* 13:151–159
- Vines SH (1886) *Lectures on the Physiology of Plants*. Cambridge University Press, Cambridge, UK
- Wagner D, Hoecker U, Quail PH (1997) RED1 is necessary for phytochrome B-mediated red light-specific signal transduction in *Arabidopsis*. *The Plant Cell* 9: 731-743
- Went FW (1926) On growth accelerating substances in the coleoptile of *Avena sativa*. *Proceedings of the Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen* 30: 10-19
- Went FW (1928) "Wuchsstoff und Wachstum". *Recueil des Travaux Botaniques Neerlandais* 24: 1-116
- Wu G, Cameron JN, Ljung K, Spalding EP (2010) A role of ABCB19-mediated polar auxin transport in seedling photomorphogenesis mediated by cryptochrome 1 and phytochrome B. *Plant Journal* 62: 179–191
- Wyatt RE, Ainley WM, Nagao RT, Conner TW, Key JL (1993) Expression of the *Arabidopsis AtAux2-11* auxin-responsive gene in transgenic plants. *Plant Molecular Biology* 22: 731-749
- Yang Y, Hammes UZ, Taylor CG, Schachtman DP, Nielsen E (2006) High-affinity auxin transport by the AUX1 influx carrier protein. *Current Biology* 16: 1123-1127.
- Zažímalová E, Murphy AS, Yang H, Hoyerová K, Hošek P (2010) Auxin transporters—why so many? *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 2: a001552
- Zeng J, Wang Q, Lin J, Deng K, Zhao X, Tang D, Liu X (2010) *Arabidopsis* cryptochrome-1 restrains lateral roots growth by inhibiting auxin transport. *Journal of Plant Physiology* 167:670–673

Zurfluh LZ, Guilfoyle TJ (1982) Auxin-induced changes in the population of translatable messenger RNA in elongating maize coleoptile sections. *Planta* 156: 525-527

