



**Univerzita Palackého v Olomouci**

**Bakalářská práce**

**Olomouc 2013**

**Magda Sumarová**

**Univerzita Palackého v Olomouci**  
**Přírodovědecká fakulta**  
**Katedra buněčné biologie a genetiky**



**Identifikace genů indukujících kvetení u**  
*Arabidopsis thaliana a Triticum aestivum*

**Bakalářská práce**

**Magda Sumarová**

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

Olomouc 2013

vedoucí práce: RNDr. Jan Šafář Ph.D.



### **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem svoji bakalářskou práci vypracovala samostatně, s využitím informačních zdrojů, které jsou v práci citovány.

Olomouc 2013

Magda Sumarová

## **Poděkování**

Na tomto místě bych ráda poděkovala RNDr. Janu Šafářovi Ph.D. za jeho cenné rady, ochotu, trpělivost a čas, které mi věnoval při psaní této bakalářské práce.

## **Souhrn**

V předkládané práci je zpracována literární rešerše zaměřená na geny indukující kvetení. V první části jsou popsány obecné principy rozmnožování nižších a vyšších rostlin. Ve druhé části jsou rozepsány nejdůležitější dráhy indukce kvetení u modelové rostliny *Arabidopsis thaliana* včetně genů, které jsou s nimi spřažené. Dále je pokračováno vnějšími podmínkami, jako jsou délka dne nebo působení nízkých teplot a jejich vlivem na dobu kvetení. Třetí část je zaměřena na dráhy indukce kvetení u *Triticum aestivum* a některých dalších významných obilovin jako je *Hordeum vulgare* nebo *Oryza sativa*. Popsány jsou především geny fotoperiodické dráhy, vernalizační dráhy a geny ranosti *per se*.

## Summary

In the present study is a research focused on genes inducing flowering. The first section describes the general principles of propagation of lower and higher plants. In the second part are described the most important pathways of flowering in the model plant *Arabidopsis thaliana*, including genes with which they are coupled. Proceed to external conditions, such as day length or exposure to low temperatures and their effect on flowering time. The third part focuses on the pathways inducing flowering in *Triticum aestivum* and some other major cereals such as *Hordeum vulgare* and *Oryza sativa*. Genes belong to photoperiodic, vernalization pathways and earliness *per se* genes are described in particular.



## OBSAH

1. ÚVOD .....	1
2. REPRODUKCE ROSTLIN .....	3
3. VEGETATIVNÍ ROZMNOŽOVÁNÍ .....	3
4. POHLAVNÍ ROZMNOŽOVÁNÍ .....	4
5. ROZMNOŽOVÁNÍ SEMENNÝCH ROSTLIN .....	5
5.1. NAHOSEMENNÉ ROSTLINY .....	5
5.2. KRYTOSEMENNÉ ROSTLINY .....	7
6. MODELOVÁ ROSTLINA ARABIDOPSIS THALIANA L. ....	10
6.1. ZÁKLADNÍ GENY KVETENÍ .....	10
7. DRÁHY INDUKCE KVETENÍ .....	14
7.1. FOTOPERIODICKÁ DRÁHA .....	15
7.2. VNITŘNÍ OSCILÁTOR ROSTLIN .....	18
7.3. VERNALIZAČNÍ DRÁHA .....	18
7.4. GIBERELINOVÁ DRÁHA .....	21
7.5. PŮSOBENÍ MALÝCH RNA (miRNA).....	22
8. OBECNÁ CHARAKTERISTIKA TRITICUM AESTIVUM L. ....	24
9. DRÁHY INDUKUJÍCÍ KVETENÍ U PŠENICE .....	26
9.1. PHOTOPERIODICKÁ DRÁHA .....	26
9.2. VERNALIZAČNÍ DRÁHA .....	29
9.3. GENY RANOSTI <i>PER SE</i> .....	32
10. ZÁVĚR .....	33
11. POUŽITÁ LITERATURA .....	34
12. POUŽITÉ ZKRATKY .....	38



## 1. ÚVOD

Existence každého organismu je závislá na reprodukci a tím se zachovává pokračování druhu. Správné načasování doby kvetení je proto velmi důležité a pomáhá zajistit reprodukční úspěch. Doba kvetení je přechodné období mezi fází vegetativní (juvenilní) a generativní (Procházka, 1998). Juvenilní fáze představuje neschopnost rostliny vykvést, protože zárodečný meristém není kompetentní k odpovědi na sezónní vnější indukční signály a udržuje se ve vegetativním stavu (Samach, 2012). U mnoha stromů je juvenilita velkou překážkou při šlechtění a sklizení úrody (Samach, 2012). V posledním desetiletí bylo zjištěno, že například over-exprese genu *LEAFY* způsobuje redukci juvenility u osiky (Weigel a Nilsson, 1995), topolu (Rottmann et al., 2000) a citrusu (Pena et al., 2001). S juvenilní fází úzce souvisí i sezónnost, která zahrnuje délku dne (fotoperiodu) a jarovizaci (Samach, 2012). Po překonání juvenilní fáze nastupuje fáze generativní a začínají se tvořit struktury potřebné pro reprodukci.

Mnoho rostlin má ve světě nezastupitelný hospodářský význam. Jednou ze základních plodin je potravinářská pšenice, jejíž globální význam může být srovnatelný pouze s rýží nebo kukuřicí (Prášil, 2009). Aby rostlina věděla, kdy je ideální doba vykvést, musí vyhodnotit řadu signálů vnějších (externích) a vnitřních (interních). Jak každý z nich ovlivňuje kvetení, závisí na životní strategii rostliny a na podmínkách konkrétní lokality (Bernier et al., 2005). Tyto faktory se dají rozdělit na primární (délka dne, chladové působení) a na sekundární (okolní teplota, kvalita světla), které pouze modifikují vliv primárních faktorů (Bernier et al. 2005). Mimo přírodní faktory byl studován i vliv hormonů především gibberelinů a demetylačních látek. Vnitřní signály zahrnují stáří rostliny. Stresy abiotické a biotické způsobují zpomalení nebo zrychlení kvetení. K urychlení kvetení může také napomáhat spektrální složení světla, případně další signály z prostředí jako je teplota, dostatek vody a výživy v půdě.

Mezi vnější signály patří chladové působení (vernalizace), které je vnímáno především apikálním meristémem. Vernalizace je dlouhodobé působení nízkých teplot 0-10°C. Vernalizované rostliny jsou mnohem citlivější na délku fotoperiody než nevernalizované. Dalším externím signálem je délka dne (fotoperioda). Délka fotoperiody rozděluje rostliny na dlouhodenní, krátkodenní a neutrální. Dlouhodenní rostliny kvetou při fotoperiodě delší než 16 hodin. Dělí se na absolutně dlouhodenní a fakultativně dlouhodenní rostliny. Absolutně

dlouhodobě rostliny kvetou až poté, co překročí kritickou hranici, jinak nevykvetou. Fakultativně dlouhodobě rostliny kvetou i za krátkého dne, ale se zpožděním. Krátkodobě rostliny kvetou za délky dne kolem 10 hodin a dělí se na absolutně krátkodobě a fakultativně krátkodobě rostliny. Absolutně krátkodobě rostliny mají nastavenou kritickou délku dne, nad kterou už nekvete. Fakultativně krátkodobě rostliny kvetou i za dlouhého dne, ale se zpožděním. Neutrální rostliny jsou nezávislé na délce dne a přechod do kvetení je řízený autonomně. Složení světla a délka dne jsou vnímány především listy (Šetlík et al., 2007). Mezi vnitřní signály patří autonomní zralost ke kvetení neboli kompetence. Znamená to překonání juvenilního charakteru rostliny. Jedná se o morfologické projevy jako je vytvoření určitého počtu listů nebo určitá velikost meristému k tomu, aby rostlina mohla vykvést (Procházka, 1998). Například mnoho rostlin má do určitého stáří vegetativní fázi, a nedokáže vykvést ani za příznivých podmínek. Dalšími vnitřními signály ovlivňující indukcí kvetení jsou hladina hormonů hlavně giberelinů a přítomnost malých RNA (Samach, 2012).

Většina jevů spojených s indukcí kvetení byla popsána u modelové rostliny *Arabidopsis thaliana* L. Z počátku se jednalo o fyziologické a postupem času i o genetické studie. Zvláště pro genetické studie je *Arabidopsis* velmi vhodnou rostlinou. Má malý genom, neklade velké nároky na prostor, tvoří mnoho semen a má krátkou vegetační dobu. Vegetativní fáze u *Arabidopsis* je založena na tvorbě přízemní růžice bez stonku. Při přechodu do reprodukční fáze se apikální meristém přestává diferencovat v lisy, začne se prodlužovat a dává vznik květním částem rostliny (Procházka, 1998). Důležitou rostlinou hlavně pro zemědělství je pšenice setá (*Triticum aestivum*), proto si vysloužila přední zájem vědců. Pšenice setá má složitý genom, protože v průběhu evoluce procházela několika stupni polyploidizace. V současnosti je známo mnoho genů zapojených do indukce kvetení a některé z nich mají své homology u *Arabidopsis*.

Cílem této bakalářské práce je vypracovat literární rešerši a popsat klíčové dráhy indukující kvetení u modelové rostliny *Arabidopsis thaliana*, *Triticum aestivum* a některých agronomicky významných obilovin.

## 2. REPRODUKCE ROSTLIN

Reprodukce je jedna ze základních vlastností organismů. Význam spočívá hlavně v zachování druhu a v jeho rozšiřování na určitém území. Je také důležitým hybatelem evoluce. Těsně s ní souvisí variabilita, mutace a předávání genetické informace. Stejně jako u živočichů existuje u rostlin pohlavní a nepohlavní rozmnožování. Zvláštním typem nepohlavního rozmnožování je vegetativní rozmnožování. Nepohlavní rozmnožování se vyskytuje většinou u nižších rostlin, jako jsou sinice, řasy, houby nebo lišejníky. Při něm se často mateřská buňka nebo jedinec rozdělí na stejně velké části nebo od sebe odděluje základy dceřiných jedinců. Dalším typem je agamospermie a rozmnožování pomocí specializovaných buněk takzvaných spor (Novák a Skalický, 2009).

## 3. VEGETATIVNÍ ROZMNOŽOVÁNÍ

Při vegetativním množení vzniká jedinec ze somatických buněk mateřského organismu. Nedochází k meióze, a proto má nový jedinec shodnou genetickou výbavu. Potomstvo, vzniklé vegetativním množením, se nazývá klon. Mohou se tak rozmnožovat i rostliny v juvenilní fázi ontogeneze. Vegetativní množení může probíhat v podobě dělení, kdy se mateřská buňka dělí na dvě nebo více částí, ze kterých vzniknou noví jedinci, a původní buňka zaniká. Dalším příkladem je regenerace, což je schopnost nahrazovat poškozené části těla. Regenerace může probíhat fragmentací, reparací nebo aktivací klidových pupenů na hlízách nebo oddencích. U ovocných stromů se často používá očkování nebo roubování. Dalším typem vegetativního množení je rozmnožování pomocí specifických částic například mnohobuněčná tělíska u jätrovek. Mnoho rostlin tvoří hlízy, šlahouny, cibulky a jiné. Vegetativní množení má velký význam v zemědělství a v zahradnické praxi při množení rostlin. U rostlin je vysoká regenerace jednou z charakteristických vlastností, což je projevem adaptace rostlin na zvýšenou možnost poškození a neschopnost pohybu (Novák a Skalický, 2009).

Rozmnožování spórami (nepohlavní výtrusy) je charakteristické pro houby, řasy, mechorosty a kaprad'orosty. Při nepohlavním rozmnožování se spory vyvíjejí ve výtrusnicích zvaných sporangia. Mohou být pohyblivé zoospory a nepohyblivé aplanospory. Pokud vznikají při mitotickém dělení, jsou to mitospory, pokud při meiotickém dělení označují se jako meiospory. U bezcévných rostlin je sporangium jednobuněčné a vznikají u něj

mitospor, zatímco u cévnatých výtrusných rostlin je sporangium mnohobuněčné a vznikají u něj meiospory. Z meiospor potom vyrůstá pohlavní generace zvaná gametofyt, která žije jen krátkou dobu a produkuje pohlavní orgány gametangia s pohlavními buňkami gametami. Mohou být samčí a samičí. U cévnatých rostlin samčí sporangia produkují pohlavní buňky mikrospory a samičí sporangia samičí buňky megaspory (Novák a Skalický, 2009).

#### 4. POHLAVNÍ ROZMNOŽOVÁNÍ

Při pohlavním rozmnožování dochází ke splynutí dvou haploidních pohlavních buněk a to samčí a samičí za vzniku diploidní zygoty. Pohlavním procesem se rozumí splývání neboli asimilace dvou gamet. Gamety vznikají mitotickým dělením v gametofytu a proces splývání se nazývá oplození. Zygota má diploidní počet chromozómů a je první buňkou sporofytu. Pohlavní rozmnožování je charakteristické střídáním jaderných fází a to diploidní fáze s haploidní fází. Nejprve musí dojít k oplození a zdvojení počtu chromozómů v jádře zygoty, a pak k meióze, což vede k redukci počtu chromozómů na polovinu. Oplození se střídá s meiózou, proto hovoříme o střídání jaderných fází. Dalším důležitým jevem doprovázejícím pohlavní rozmnožování je heterogeneze neboli rodozměna. Rodozměna je těsně spojena se střídáním jaderných fází. Nejčastěji se střídá pohlavní generace gametofyt s nepohlavní generací sporofytem. Můžeme rozlišovat několik typů heterogeneze. Homofázickou, při které je jedna ze dvou základních generací potlačena a její existence je omezena jen na krátkou dobu. Heterofázická heterogeneze je častější než předchozí typ. Pohlavní a nepohlavní generace se střídají v určitém časovém intervalu. Izomorfní heterogeneze probíhá u některých řas a gametofyt se sporofytem jsou téměř shodné. Heteromorfní rodozměna je častější než izomorfní. Gametofyt se liší od sporofytu a jedna generace je více či méně potlačena (Novák a Skalický, 2009).

## 5. ROZMNOŽOVÁNÍ SEMENNÝCH ROSTLIN

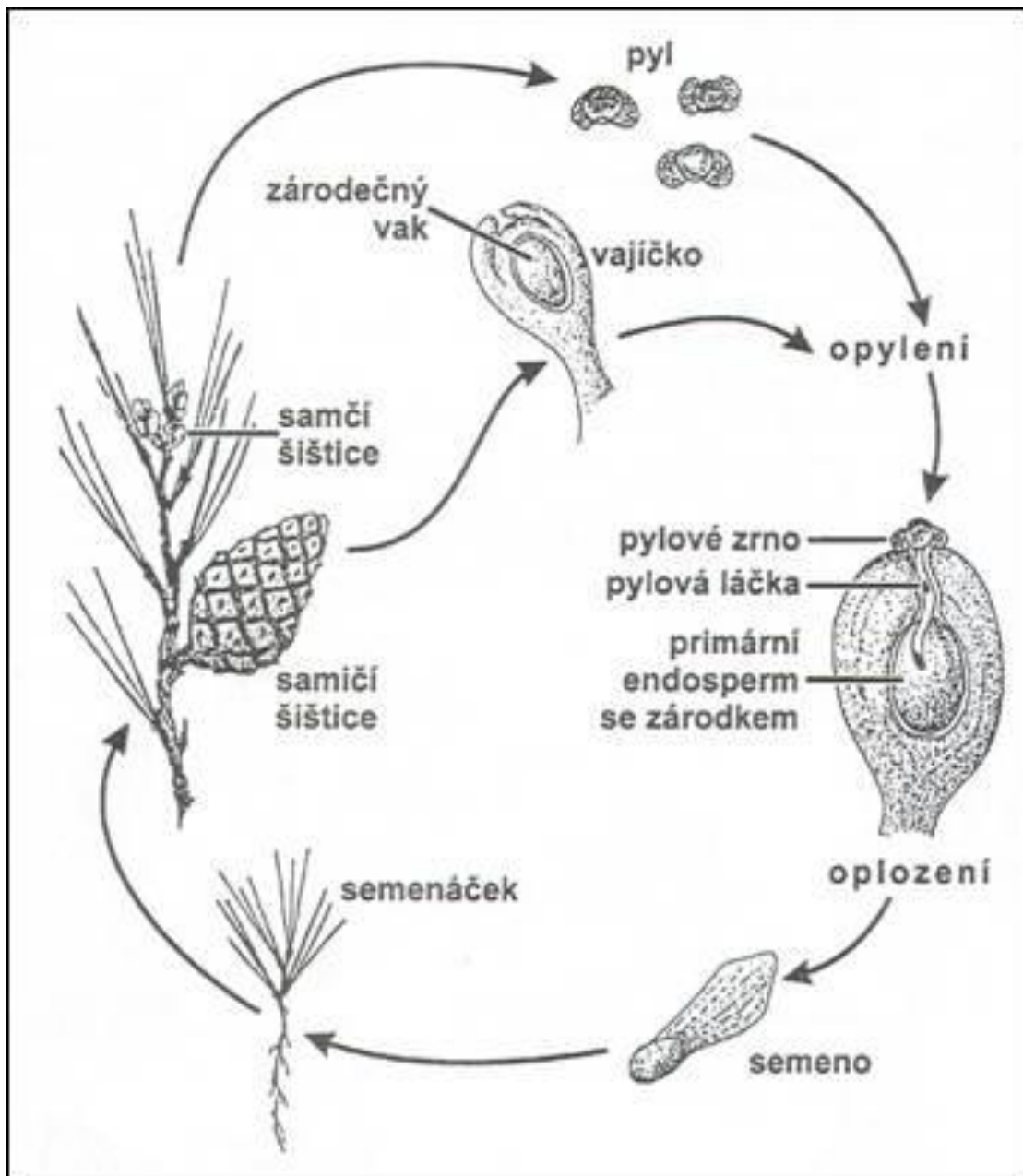
Semenné rostliny se rozdělují na nahosemenné a krytosemenné. Obě skupiny se rozmnožují pomocí charakteristických útvarů nazývaných semena. Semena jsou mnohobuněčné útvary, které se vytváří na sporofytu a dávají vznik novým jedincům. Střídání generací je silně potlačeno. Gametofyt je zcela závislý na sporofytu a není schopen samostatné existence. Díky tomu už není oplození závislé na vodním prostředí a vyvinulo se opylení. Na sporofytu se vytváří megasporangia s megasporou a mikrosporangia nesoucí mikrosporu. Vajíčko představuje megasporangium, ve kterém probíhá oplození a vzniká zárodek nového sporofytu. Z vajíčka se vyvíjí semeno a vaječné obaly se přemění na osemení (Novák a Skalický, 2009).

### 5.1.NAHOSEMENNÉ ROSTLINY

Nahosemenné rostliny se vyznačují značnou převahou sporofytu nad gametofytem, který není schopen samostatné existence a je součástí sporofytu. Dalším znakem je nedokonalá ochrana vajíček. Ze sporofytu vyrůstají samčí a samičí šištice, které nazýváme strobily. Samičí šištice obsahují vřetenou, z něhož vyrůstají podpůrné šupiny a z nich semenné šupiny. Při bázi semenných šupin se tvoří vajíčka. Vajíčko se vyvíjí z dělivého pletiva, které dává vznik obalu vajíčka. Na vrcholu vajíčka, kde obal není spojený, se nachází klokový otvor. Samčí šištice jsou tvořeny vřetenem s tyčinkami. Tyčinku představuje mikrosporofyl až s několika mikrosporangii. V samičím gametofytu se v jádře tvoří jedna velká mateřská buňka megaspora. Meiózou této buňky vznikají čtyři haploidní buňky, z nichž doroste pouze jedna, která dá vznik zárodečnému vaku. Gametofyt se vyvíjí dělením megasporu a je představován mnohobuněčným endospermem. Na jeho mikropilárním konci se tvoří archegonia a uvnitř každého se nachází vaječná buňka oosféra. Takto je gametofyt připraven k oplození. V samčím gametofytu obsahuje mikrosporangium pylotvorné pletivo, z něhož se vytváří výstelková vrstva tapetum a sporogenní tkáň. Meiózou sporogenní tkáně vznikají tetrády pylových zrn a tapetum slouží k jejich výživě. Pylová zrna obsahují vnější a vnitřní blánu exinu a intinu. Tyhle dvě blány od sebe odstávají a tvoří vzdušné vaky. Vnitřek zrna zaujímá buňka, která dělením dává vznik buňce vegetativní (láčkové) a buňce generativní. Generativní se dělí za vzniku dvou buněk, z nichž jedna je buňka spermatogenní, která dá vznik dvěma spermatickým buňkám. Takto je pylové zrno připraveno k uvolnění z prašných pouzder. Po

opylení vegetativní buňka roste v pylovou láčku, která proniká klovým otvorem do vaječné buňky. Jedna ze spermatických buněk splývá s jádrem vaječné buňky, což je znázorněno na Obr. 1 a z oplozené vaječné buňky vzniká zygota. Ostatní buňky pylové láčky zanikají. Ze zygoty se dalším dělením tvoří embryo a celé vajíčko se modifikuje na semeno. Semeno je tvořeno diploidním osemením, haploidním endospermem a diploidním zárodkem. U zralých semen je patrný hypokotyl s radikulou (Novák, Skalický, 2009).

Obr 1: Rozmnožovací cyklus nahosemenných rostlin (převzato z prezentace od Mgr. Moniky Štrejbarové)





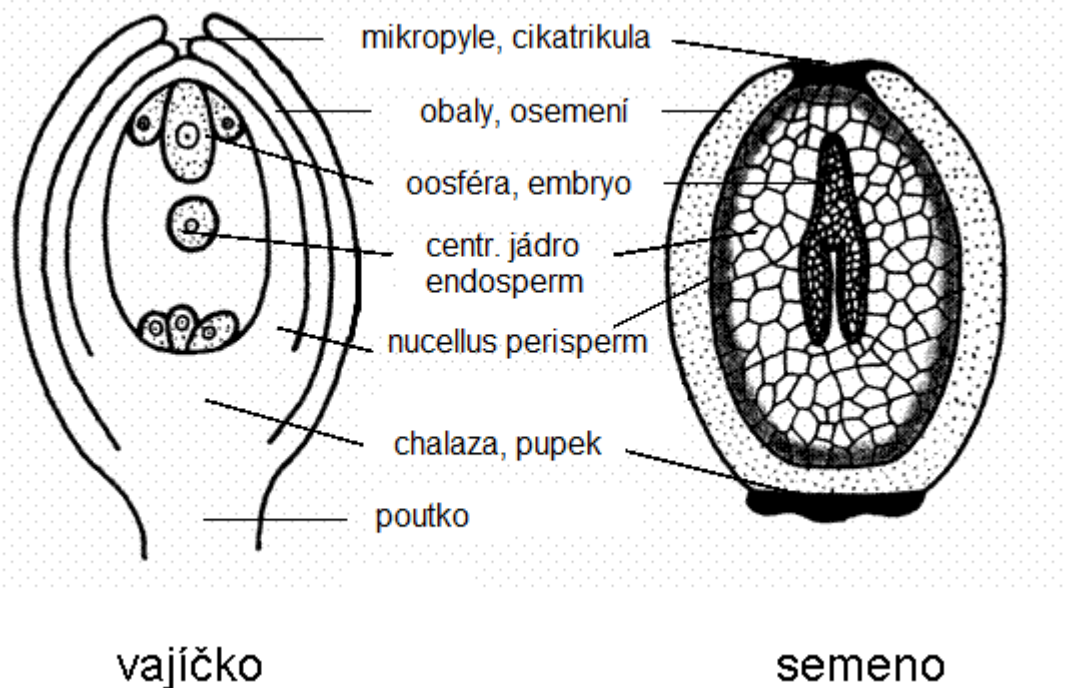
## 5.2.KRYTOSEMENNÉ ROSTLINY

Krytosemenné rostliny jsou vývojově nejmladší skupinou vyšších rostlin. Reprodukční orgány byly nejprve uspořádány do oboupohlavních souborů a dalším vývojem vznikaly samčí a samičí jednotky samostatně. Tyto samčí pohlavní orgány tyčinky a samičí pohlavní orgány vajíčka jsou součástí květu. Květ je charakterizován jako krátký stonek omezeného růstu a jeho hlavní funkcí je ochrana pohlavních buněk, opylení a zajištění pohlavního rozmnožování. Podle přítomnosti samčích a samičích pohlavních orgánů se dělí květy na oboupohlavné a jednopohlavné. Jednopohlavné květy mají buď tyčinky, nebo jenom pestík. Podle toho, jaký typ květu nesou, rozdělujeme rostliny na jednodomé a dvoudomé. Jednodomá rostlina má samčí a samičí květy na jedné rostlině. Dvoudomá rostlina má pouze jeden typ květů a to buď samčí, nebo samičí. Morfologicky je květ soubor přeměněných listů, jenom květní lůžko má původ stonkový. Květní obaly tvoří okvětí nebo jsou rozděleny na kalich a korunu. Reprodukční orgány tvoří tyčinky a pestík. Soubor všech tyčinek květu se nazývá andreceum. Původně bylo mnoho tyčinek, ale postupným vývojem docházelo k redukci a odvozenější skupiny mají květy se stálým počtem tyčinek uspořádaných ve dvou kruzích. Tyčinka se skládá z nitky, konektivu a prašníku. Nejdůležitější je prašník, neboť v jeho prašných pouzdrech se vyvíjí pylová zrna (pyl). Při vývoji se v prašníku diferencují základy samčího archesporu, jehož dělením vzniká vnější vrstva parietálních a vnitřní vrstva sporogenních buněk. Ze sporogenních buněk vznikají po několika děleních mateřské buňky pylová zrna a v nich meiózou mikrospory. Výsledkem jsou tetrády mikrospor. V mladém stádiu se protoplast pylového zrna rozdělí na buňku generativní a buňku vegetativní. Generativní buňka se dělí ve dvě spermatické (Hendrych, 1977).

Další částí květu je samičí pohlavní orgán pestík, který vznikl srůstem plodolistů. Má tři části. Semeník, čnělka a blizna. Uvnitř semeníku roste vajíčko, které se vyvíjí z dělivého pletiva plodolistu. Základem je archesporová buňka, která se dělí na buňku vnější a buňku vnitřní nebo se může sama stát mateřskou buňkou. Redukčním dělením mateřské buňky vznikají čtyři haploidní buňky, z nichž se vyvíjí pouze jedna, která se následně přemění na sekundární buňku zárodečného vaku a z té se následně utvoří zárodečný vak s pohlavní buňkou oosférou. Po několika po sobě jdoucích dělení jádra zárodečného vaku vzniknou na jednom pólu tři buňky zvané antipody. V mikropylární oblasti se utváří vaječná buňka a pomocné buňky, které spolu tvoří vaječný aparát. Uprostřed vzniká diploidní jádro zárodečného vaku, ze kterého posléze vznikne triploidní endosperm. Po dozrání pylu a vajíčka dojde k opylení (přenosu pylu z prašníku na bliznu). Pylová láčka začne prorůstat do

čnělky a nakonec až do semeníku. Pro krytosemenné rostliny je typické dvojité oplození, které spočívá v tom, že jedna spermatická buňka splývá s vaječnou buňkou a druhá spermatická buňka oplodní centrální jádro zárodečného vaku. Z oplozené vaječné buňky vzniká zygota a z centrálního jádra se vyvíjí endosperm. Z diploidní zygoty se dělením utváří zárodek. Po oplození vajíčka vzniká mnohobuněčný útvar semeno, jak je patrné na Obr. 2.

Obr. 2: Přeměna vajíčka v semeno (převzato z web2.mendelu.cz).



Semeno dává vznik nové generaci rostlin a je tvořeno několika částmi. První z nich je osemení neboli testa. Osemení se vytváří z integumentů vajíčka a může mít různý povrch. Druhou částí je perisperm, který zaujímá funkci živného pletiva umístěného pod osemením a vznikl přeměnou nucellu. Dále se v semeni nachází vnitřní živné pletivo, které je tvořeno z centrálního jádra zárodečného vaku. Důležitou součástí je zárodek, který vzniká z oosféry v boční nebo centrální části semene. Vytváří se vaječné poutko funikulus, ze kterého potom vzniká stopka semene. Po přisednutí poutka na vajíčko se utváří hillum neboli jizva. Semeno je obaleno dužnatým pletivem míškem. Živné pletivo semen bývá označováno jako bílek. Ten je tvořen perispermem a endospermem a obsahuje zásobní látky, které jsou potřebné v době, kdy rostlina přechází do fáze klíčení. V některých případech bílek chybí a zásobní funkci přebírají dělohy. Součástí semena je zárodek nazývaný klíček a dělí se na radikulu, hypokotyl,

dělohy a pupen. Pupen obsahuje základy stonku a prvních asimilačních listů. Po nastolení vhodných vnitřních a vnějších podmínek dojde k procesu klíčení a obnovení vývoje nové rostliny. K tomu, aby semeno vyklíčilo, potřebuje dostatek vody a dostupnost kyslíku. Některá semena klíčí ihned po dozrání, jiná mohou vyklíčit až za několik let. Pro tato semena je charakteristická doba dormance. Semena ve fázi dormance potřebují projít vnitřními fyziologickými a morfologickými změnami a zároveň vnímat podmínky vnějšího prostředí. Tyhle vnější a vnitřní faktory dají podnět ke klíčení (Novák a Skalický, 2009; Hendrych, 1977).

## 6. MODELOVÁ ROSTLINA *ARABIDOPSIS THALIANA L.*

V minulosti se vědci snažili najít ideální organismus pro studium mechanismů indukce kvetení u vyšších rostlin. Tyto procesy měly být studovány jak na fyziologické tak genetické úrovni. Modelovým organismem se proto stal Huseníček Thalův (*Arabidopsis thaliana L.*) díky výhodným vlastnostem, kterými jsou poměrně malý, nyní již osekvenovaný, genom, krátká vegetační doba a velký počet semen. U *Arabidopsis* představuje vegetativní fázi listová přizemní růžice bez stonku. Při přechodu do reprodukční fáze přestane apikální meristém tvořit listová primordia a začne vytvářet květní části. Fáze změny zahrnují úbytek květního represoru *COPS* (controller of phase switching), který v nízkém stupni vede k aktivaci květního iniciačního procesu *FLIP* (floral initiation process) (Koornneef et al., 1998). U *Arabidopsis thaliana L.* genetické variace představují velký počet mutantů s časným nebo pozdním fenotypem kvetení (Koornneef et al., 1998). *Arabidopsis* je fakultativně dlouhodobá rostlina, a proto je kvetení indukováno dlouhým dnem. Pro studium indukce kvetení se používají především pozdní genotypy, které mají prodlouženou vegetativní fázi a málo reagují na vernalizaci, přičemž pokud jsou vystaveny nízkým teplotám, dochází u nich ke zkrácení vegetativní doby. Méně časté jsou rané genotypy, u kterých je vegetativní fáze mnohem kratší (Koornneef et al., 1998).

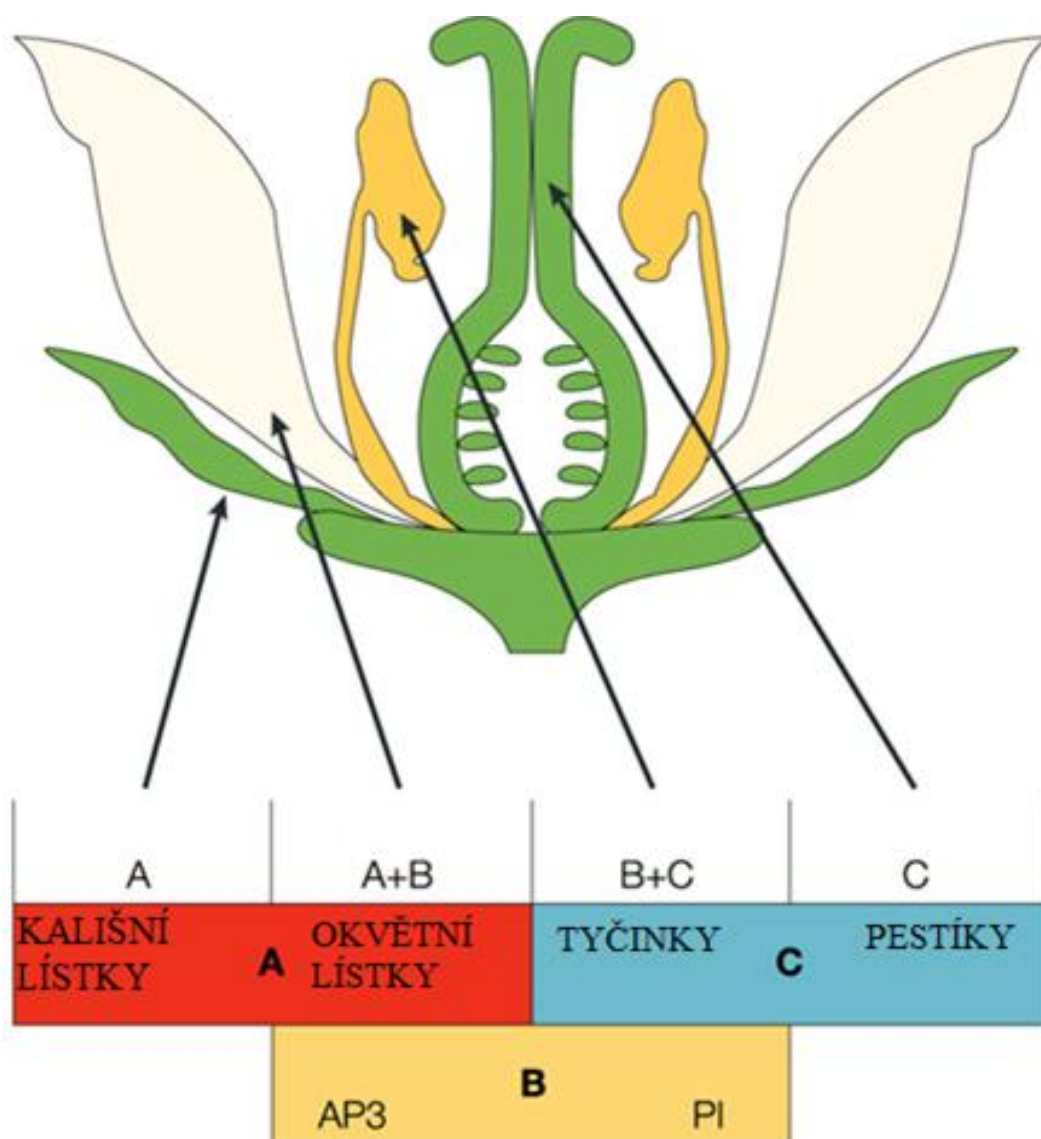
### 6.1. ZÁKLADNÍ GENY KVETENÍ

Geny, které řídí vývoj květních orgánů či se podílí na procesu kvetení, můžeme zařadit do čtyř skupin. První skupina zahrnuje geny, které zodpovídají za indukci kvetení (floral induction genes). Do druhé skupiny obvykle řadíme geny určující identitu květních meristémů (floral meristem identity genes). Třetí skupinou jsou homeotické geny a čtvrtá skupina obsahuje katastrální geny. (Jack et al., 1993). Geny zodpovědné za indukci kvetení iniciují přechod vegetativního vývoje na reproduktivní v závislosti na vnějších a vnitřních faktorech (Jack et al., 1993). Rostlina tímto přepnutím nastartuje svoje stárnutí a smrt. V tomto procesu je zahrnuta celá řada genů působících v různých drahách řízení kvetení. Mutace v těchto genech způsobuje zpoždění ve kvetení. Geny identity květních meristémů jsou přímo zodpovědné za diferenciaci květních orgánů a stvolu. Mutace v těchto genech způsobuje změny v počtu nebo ve struktuře květních primordií (Jack, 2004). Do této skupiny patří geny *LEAFY (LFY)* (Coen et al., 1990), *TERMINAL FLOWER 1 (TFL1)*, *APETALA1 (API)*,

*APETALA2 (AP2)* (Jofuku et al., 1994), *CAULIFLOWER (CAL)* (Bowman et al., 1993), *FRUITFUL (FUL)* (Gu et al., 1998) a *UNUSUAL FLORAL ORGANS (UFO)* (Jack, 2004). V původním nemutovaném genotypu je exprese genu *LFY* nejčasnějším znakem toho, že se skupina buněk, odvozených z apikálního meristému, mění v květ (Jack, 2004).

Skupina homeotických genů byla nalezena i u jiných rostlinných druhů, ale na rozdíl od klasických homeotických genů nekódují proteiny s homeodoménou. Jsou to zároveň konzervované transkripční faktory s DNA-binding doménou zvanou *MADS-box*. Byly nalezeny díky mutacím, které vedly ke změně počtu nebo polohy květních orgánů. Pro lepší porozumění interakcím genů a květních orgánů byl vytvořen tzv. ABC model identity květních orgánů (Jack, 2004). Ten nám říká, že květní orgány jsou uspořádané ve čtyřech koncentrických kruzích a každý orgán je tvořen specifickou kombinací čtyř homeotických genů. Od krajního po vnitřní jsou kruhy tvořené kališními lístky, okvětními lístky, tyčinkami a pestíkem. Každý orgán se vytváří v určité oblasti. Geny, které řídí vývoj těchto základních orgánů, jsou řazeny do třech skupin A, B a C. Geny ne vždy přímo náleží do jedné třídy. Třída A obsahuje geny pro tvorbu kališních a okvětních lístků. Tyto geny slouží zároveň jako represory aktivity genů C třídy v kruzích 1 a 2, jak je patrné z Obr. 3 (Jack, 2004). U *Arabidopsis* do této třídy patří geny *APETALA1* a *APETALA2*. Třída B tvoří geny *APETALA3* a *PISTILLATA*, které jsou potřebné pro vývoj květních lístků v kruhu 1 a tyčinek v kruhu 2. Gen *AGAMOUS* z C třídy je nezbytný pro tvorbu tyčinek v kruhu 3 a pestíku v kruhu 4. Druhou hlavní funkcí třídy C je potlačení aktivity genů A třídy v kruhu 3 a 4. Všechny geny jsou exprimované v předem daných květních orgánech, pouze RNA genu *APETALA2* je zastoupena ve všech čtyřech květních kruzích (Jack, 2004). ABC model byl později doplněn o čtvrtou skupinu genů tzv. *SEPALLATA GENY (SEP)*. Tyto geny rovněž hrají důležitou úlohu ve vývoji okvětních lístků, tyčinek a pestíku.

Obr 3: Uspořádání květních orgánů podle ABC modelu (upraveno z www.nature.com)



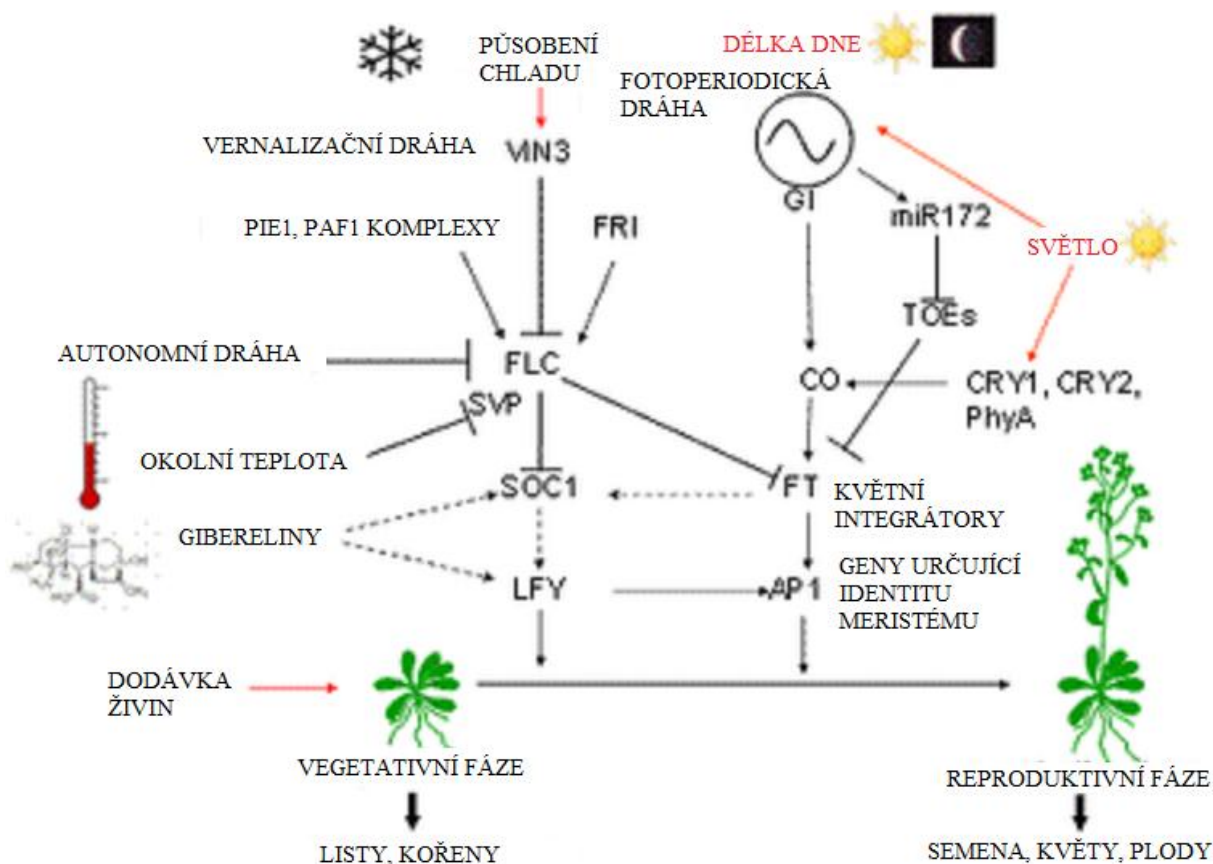
Další skupinou jsou integrátorové geny, které slučují signály z různých regulačních drah indukce kvetení a samy většinou stojí mimo tyto dráhy (Parcy et al., 2005). Integrátory pak přímo působí na geny identity meristému jako je *LEAFY* nebo *APETALA*, protože ty zodpovídají za přeměnu vegetativního meristému na reprodukční. Jedním z těchto genů je *FLOWERING LOCUS T (FT)*. Dlouho se hledalo, jaký konkrétní stimul působí na apikální meristém a dává mu podnět ke kvetení. Teprve až molekulárně genetické studie mutací ovlivňujících kvetení u *Arabidopsis thaliana* objasnily záhadu onoho signálu. Byl nalezený právě gen *FT*, který byl aktivovaný pouze za podmínek indukujících kvetení (Štorchová,

2008). Rozhodující důkaz přinesly experimenty *FT* genu s dexametazonem, kdy transgenní huseníček vykvetl i za krátkého dne. Proto byl protein *FT* genu ztotožněn s dlouho hledaným „florigenem” (Štorchová, 2008). *FT* kóduje protein vázající fosfatidyletanolamin a byl objevený pomocí pozdně kvetoucího T-DNA mutanta. Za dlouhého dne je exprese *FT* pozitivně regulována genem *CONSTANS* a tím dojde k předčasnému vykvetení. Gen *FT* slučuje signály z fotoperiodické a autonomní dráhy. Geny fotoperiodické dráhy podporují expresi *FT*, zatím co geny autonomní dráhy expresi *FT* potlačují. Další integrační gen je *FLOWERING LOCUS C (FLC)*. *FLC* gen slučuje signály z autonomní a vernalizační dráhy a v obou případech geny dráh potlačují expresi genu *FLC* (Jack, 2004). Naopak je jeho exprese pozitivně řízená genem *FRIGIDA*. Gen *FLC* působí jako květní represor snižováním hladiny *FT* (Parcy et al., 2005). Gen *SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS (SOC1)* slučuje signály z autonomní, vernalizační a fotoperiodické dráhy. *SOC1*, kódující *MADS*-box transkripční faktor, je většinou exprimovaný v listech a apikálním meristému. Mutace v *soc1* genu způsobuje pozdní kvetení za dlouhého i krátkého dne (Jack, 2004). Na sekvenci *MADS* v promotoru *SOC1* se může vázat protein *FLC*, a tím dochází k potlačení exprese *SOC1* (Jack, 2004). *SOC1* má vazebné místo i pro *CO* gen, ale k aktivaci je potřeba ještě dalšího kofaktoru (Jack, 2004).

## 7. DRÁHY INDUKCE KVETENÍ

Geny, které indukují kvetení, rozdělujeme obvykle do pěti skupin. Patří sem fotoperiodická, vernalizační, metylační, autonomní a na giberelinech závislá dráha. Do indukce doby kvetení je zapojena i malá skupinka genů, kterým se říká integrátory signálů doby kvetení, a tyto geny začleňují signály z různých drah podílejících se na kvetení a výsledný signál dopravují až ke genům identity meristému (*FMI* geny). Schématické propojení drah ovlivňující kvetení u *Arabidopsis* je znázorněno na Obrázku 4.

Obr 4: Schéma některých genů a regulačních drah ovlivňujících kvetení u *Arabidopsis thaliana* L (upraveno z [www.flowercrop.com](http://www.flowercrop.com))





## 7.1. FOTOPERIODICKÁ DRÁHA

Některé rostliny kvetou na jaře nebo na podzim, kdy je krátký den a dlouhá noc. Jiné rostliny kvetou naopak v létě, kdy délka dne přesahuje 16 hodin. Tyto rostliny označujeme jako krátkodenní, respektive dlouhodenní. Fotoperiodismus je schopnost rostliny vnímat délku dne a noci. Neutrální rostliny nemají kvetení indukované fotoperiodou.

Orgánem pro příjem fotoperiodického signálu je list. Rostliny přijímají světelný signál skupinou fotoreceptorů. K zachycení fotoperiodického signálu slouží fytochromy v cytoplazmě, které absorbují červené světlo. Zapojují se do indukce kvetení, klíčení a vnímání fotoperiody. Červené světlo o vlnové délce 660 nm převádí fytochrom na aktivní formu ve dne, zatímco vlnová délka 730 nm inaktivuje fytochrom, což probíhá v noci. Po přijetí signálu vznikne v listech fotoperiodický stimul, který je transportován k meristému. Byly prováděny pokusy s naroubováním nekvetoucí rostliny na kvetoucí, přičemž nekvetoucí záhy vykvetla. Fytochromy jsou kódovány pěti geny: *PHYA*, *PHYB*, *PHYC*, *PHYD*, *PHYE*. *PHYA* a *PHYB* regulují čas kvetení (Linn et al., 2000). Mutant *phyB* kvete brzy, zatímco mutant *phyA* kvete pozdě. Mutace v obou genech (mutant *phyAphyB*) způsobuje kvetení dříve než u mutantu *phyB*. Velká část z nich kóduje proteiny, které se podílejí na vnímání světla (*PHYTOCHROM A*, *PHYTOCHROM B*, *CRYPTOCHROME 2*, aj.) nebo jsou součástí cirkadiálních endogenních rytmů (Linn et al., 2000). Dále jsou zastoupeny dva geny *CRYPTOCHROM 1 (CRY1)* a *CRYPTOCHROM 2 (CRY2)*, které vnímají modré světlo a UV-A část (400–500nm). Mutace v genech *CRY1* a *CRY2* vedou k pozdnímu kvetení (Linn et al., 2000). Molekulární metody vychází ze studia mutantů, kteří se projevují pozdějším nebo ranějším kvetením. U *Arabidopsis* tak byly získány třídy mutantů, jejichž geny se účastní kvetení. Jedna třída mutantů kvetla později než kontrolní rostliny za dlouhých dnů, ale ve stejném čase jako kontrolní rostliny za krátkých dnů.

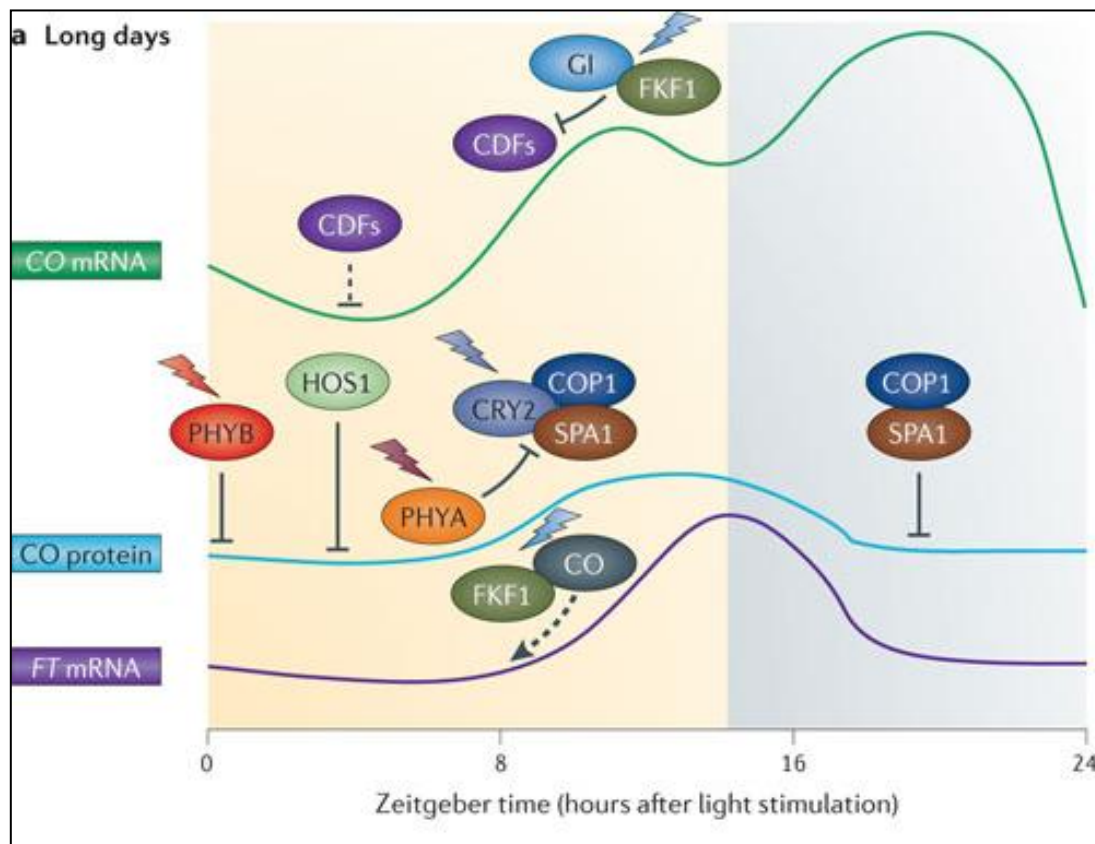
V této dráze mají hlavní regulační roli geny *GIGANTEA (GI)*, *FLAVIN KELCH F BOX 1 (FKF1)*, *CONSTANS(CO)* a *FLOWERING LOCUS T (FT)* (Andrés a Coupland, 2012). Tyto geny jsou exprimované v cévním pletivu listů. Aktivace fotoperiodické dráhy vede k transkripční aktivaci genu *FT*, který se objevuje pouze za podmínek dlouhého dne. Tato aktivace vyžaduje gen *CO*, který aktivuje expresi květních genů a mutace v tomto genu způsobuje nezávislost kvetení na délce dne. *CO* kóduje Zn-finger transkripční regulátor

spojený *B-boxy*, *CO*, *CO-LIKE* a *TOC1* (známého jako *APRR1*) doménou (*CCT-doména*). *CO* aktivuje transkripci *FT* přímou interakcí s *FT*-promotorem.

Transkripce *CO* je regulována světlem a cirkadiálními hodinami. Světelná aktivace *CO* transkripce je indukována interakcí mezi rostlinným specifickým proteinem *GI* a ubiquitin ligázou *FKF1*: dva proteiny, které jsou součástí cirkadiálních hodin. *FKF1* je schopná vnímat světlo skrz chromofor a za dlouhého dne tato interakce mezi *FKF1* a *GI* uvolňuje represi *CO* mRNA indukci degradace transkripčních represorů známých jako *CYCLING DOF FAKTORs* (*CDFs*) (Andrés a Coupland, 2012). Na konci dlouhého dne *GI* a *FKF1* interagují a spouští degradaci *CDFs* a zvýšení *CO* mRNA, jak je patrné z Obr. 5 (Andrés a Coupland, 2012).

Post-translační regulace *CO* je důležitá pro reakci na dlouhý den. *CO* protein je ubiquitinován ubiquitin ligásovým komplexem, který zahrnuje *CONSTITUTIVE PHOTOMORPHOGENIC 1 (COP1)* a *SUPPRESSOR OF PHYTOCHROME A (SPA1)*, ulehčující degradaci *CO* 26S proteasomem (Andrés a Coupland, 2012). Aktivita tohoto komplexu je potlačována světlem, takže to hlavně podněcuje degradaci *CO* proteinu ve tmě. Tato stabilizace *CO* na konci dlouhého dne zahrnuje fotoreceptory *PHYTOCHROME A (PHYA)*, receptor pro dlouhovlnné červené světlo) a *CRYPTOCHROM 2 (CRY2)*, receptor pro modré světlo. Přímé interakce mezi *CRY2* a *SPA1* nebo *COP1* redukuje katalytickou aktivitu *COP1-SPA1* na světle a *CO* není efektivně degradován. V odpovědi na modré světlo *FKF1* váže *CO*, a tím zvyšuje jeho stabilitu. Ráno přispívá k nestabilitě *CO* vysoká exprese genu *HOS1 (HIGH EXPRESSION OF OSMOTICALLY RESPONSIVE GENE1)*, což je patrné z Obr. 5. Tato systémová signalizace z listů do vrcholového apikálního meristému zahrnuje pohyb *FT* proteinu. *FT* protein je částí florigenového signálu a patří do *CETs* proteinové rodiny, která se skládá z *CENTRORADIALIS (CEN)*, *TERMINAL FLOWER1 (TFL1)* a *FT* (Andrés a Coupland, 2012). Protein genu *CO* působí na transkripci genu *SOC1* a genu *FT*, jehož produkt indukuje přeměnu apikálního meristému na květní primordia. Mimo fotoperiodickou dráhu se uplatňuje gen *FLC*, který zpožďuje kvetení potlačením produktu *FT* v listech a *SOC1* v meristémech, kde zabraňuje zvýšení regulace *FD* transkripčního faktoru, který je potřebný ke tvorbě komplexu s *FT*. Exprese genu *FT* je detekovaná ve všech orgánech a je redukována krátkým dnem.

Obr 5: Transkripční a post-translační regulace genu *CONSTANS* za dlouhého dne (převzato z Andrés a Coupland, 2012)



Vrchol exprese *CO* mRNA, vyskytující se mezi 12-16 hodinami po rozbřesku je nezbytný pro dlouhodobě závislou podporu kvetení a je regulován *GI* (Andrés a Coupland, 2012). Za dlouhého dne 10-14 hodin po rozbřesku *GI* interaguje s *FLAVIN KELCH F BOXEM 1 (FKF1)*, což je chromofor spojený s *F*-box ubiquitin ligásou. Tato interakce podporuje degradaci *CDF* faktorů, které potlačují transkripci *CO*. *CO*-protein, exprimovaný na konci dlouhého dne, je stabilizovaný díky vytvoření komplexu *COP1-SPA1* ubiquitin ligázy, která je inhibována světlem a tudíž nemůže degradovat *CO*. Tato inhibice se vytvořila z důvodu navázání aktivovaného *CRY2* na komplex *COP1-SPA1*. *PHYA* také inhibuje tento komplex, ale mechanismus je zatím neznámý. *FKF1* také stabilizuje *CO*-protein. Po ukončení dne přestanou být fotoreceptory aktivní, takže komplex *COP1-SPA1* není blokován a zahajuje degradaci *CO*- proteinu. Pokud se *CO*- protein vyskytuje i brzo ráno degraduje ho *COP1* dráha, která je aktivována *PHYB*. Tato regulace transkripční a post-translační regulace vede k aktivaci transkripce genu *FT* (Andrés a Coupland, 2012).

## 7.2.VNITŘNÍ OSCILÁTOR ROSTLIN

Po objevení délky dne coby důležitého činitele v indukci kvetení se vyskytla otázka, jak rostlina pozná délku dne. Zjistilo se, že rostliny k vnímání světa potřebují určité vnitřní hodiny, které jim říkají, kdy je ráno a kdy noc. Jejich principem jsou transkripčně translační smyčky založené na zpětné vazbě. (Štorchová, 2008). V tomto procesu je zapojeno několik významných genů. Jsou to zejména ranní geny *CIRCADIAN CLOCK ASSOCIATED 1 (CCA1)* a *LATE ELONGATED HYPOCOTYL (LHY)* (Štorchová, 2008). Tyto geny jsou ráno aktivované a je syntetizována příslušná mRNA s proteiny. Zároveň působí jako inhibitory transkripce večerního genu *TIMING OF CAB EXPRESSION 1 (TOC1)*, který je ale nezbytný pro transkripci obou genů (Štorchová, 2008). Jeho nedostatek způsobí pokles hladin proteinů *CCA1* a *LHY* a tím i aktivaci vlastní exprese, ke které přispívá kaskáda *PPR* genů. Důležitou roli zde hraje gen *CO*, který je přímo řízen vnitřními hodinami (Štorchová, 2008).

## 7.3.VERNALIZAČNÍ DRÁHA

V zeměpisných šířkách mírného pásu je pro přechod do reprodukční fáze rizikové nepříznivé chladné období. Pro přizpůsobení se těmto podmínkám si rostlina vyvinula adaptační mechanismy, které zabraňují vykvést na podzim a indukují tvorbu květů až na jaře. Vernalizační požadavek může mít charakter fakultativní nebo obligatorní. V prvním případě nízké teploty nástup do reproduktivní fáze pouze urychlují, zatímco u obligatorního požadavku jsou pro kvetení nezbytné (Procházka et al., 1998).

Vernalizace (česky jarovizace) je proces, při kterém je rostlina dlouhodobě vystavena nízkým teplotám 0 - 10°C. Nízké teploty mohou následně iniciovat tvorbu květů nebo zvýšit citlivost rostlin k fotoperiodickému signálu. Požadavek na vernalizaci je častý u přezimujících (ozimá pšenice, ječmen) a dvouletých rostlin. Nízké teploty nepůsobí jen na apikální meristém, ale byl zjištěn i účinek na listy. Vernalizace v mnohých případech neindukuje kvetení přímo, pouze ho umožňuje. Vernalizované rostliny jsou citlivé k dlouhodobému světlu a brzy kvetou, zatímco nevernalizované zůstávají ve vegetativní fázi. Vernalizace působí přes inhibici transkripce květního represoru *FLC*.

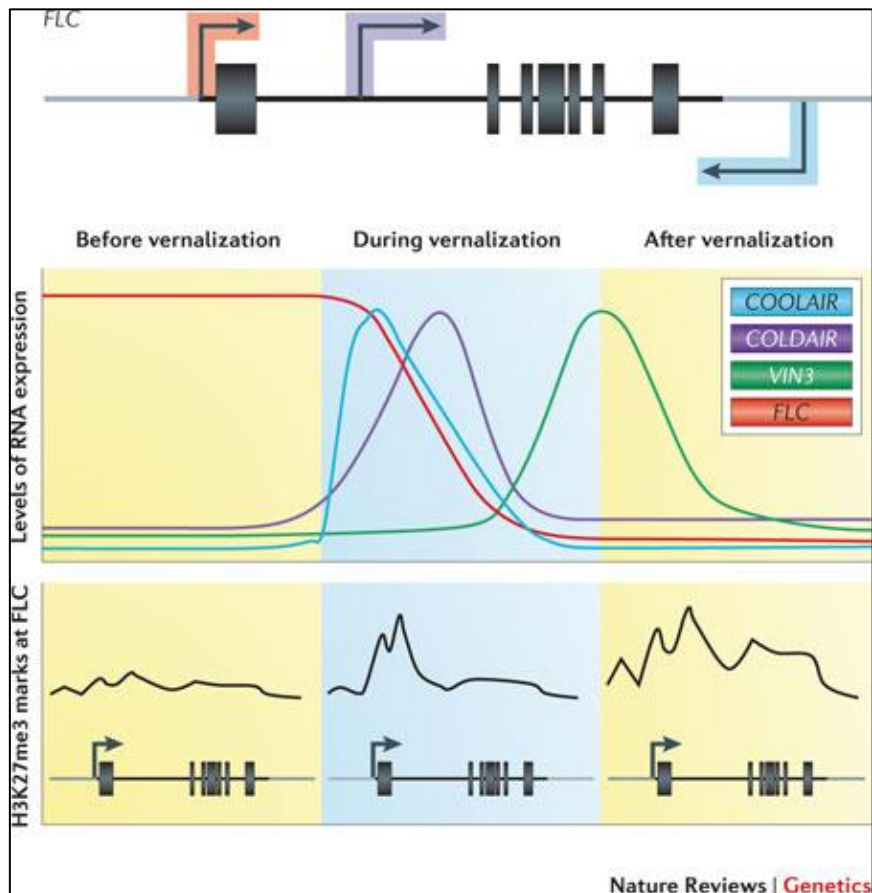
*Arabidopsis thaliana* L. se dělí na rostliny letní a zimní. Letní rostliny dokončí svůj životní cyklus velmi rychle během jara a léta, protože nevyžadují vernalizaci k indukci kvetení. Zimní rostliny obvykle žijí déle, protože kvetení není indukované do té doby, než projdou vernalizací v zimě a potom kvetou následující jaro. Vernalizace je vnímána také ve vrcholových meristémech. Buňky meristému si pamatují, že prošly vernalizací. To se předává na dceřiné buňky při mitóze. Proto je vernalizace zařazována do epigenetické dědičnosti. Analýza genetických rozdílů mezi zimními a letními rostlinami ukázala, že zimní rostliny zahrnují aktivní alely ve dvou místech, *FLOWERING LOCUS C (FLC)* a *FRIGIDA (FRI)*, zatímco letní rostliny nesou mutace v jednom genu nebo v obou genech. *FRI* kóduje spirálovitě stočený protein, který podněcuje transkripci *FLC*, působením na jeho chromatinovou strukturu. *FLC* je *MADS*-box transkripční faktor, který se přímo váže na geny podporující kvetení a blokuje jejich transkripci. *FLC* se přímo váže na geny *SOC1* a *FT*, kde potlačuje jejich transkripci. Tím *FLC* spolu s genem *FRI* zpožďuje kvetení represí transkripce genů fotoperiody (Johanson et al., 2000).

Vernalizace je vysoce komplexní děj, který operuje s mnoha dalšími regulátory z okolního prostředí. U ozimé pšenice může být vernalizace úplně nebo částečně nahrazena krátkým dnem nebo vysokou intenzitou záření. U ozimého ječmene naopak dlouhodobou tmou. Vernalizace vyvolává demetylací DNA, která umožňuje expresi hydroxylázy kyseliny kamenové, což je důležitý enzym v syntéze giberelinů. Mutanti *Arabidopsis*, kteří měli exprimovaný metyltransferázový gen *MET1*, kvetli mnohem dříve než kontrolní rostliny. Tím byla potvrzena role metylace při udržování vývojových stavů meristému v závislosti na vernalizaci (Procházka et al., 1998). U *Arabidopsis thaliana* L. je proces indukce řízen vernalizačními geny *VRN* a genem *FRI*.

Gen *FLC*, potlačuje kvetení blokováním transkripce genů fotoperiodické dráhy. Proto si rostliny musely vytvořit mechanismus, který by umlčel tento gen, aby rostlina mohla záhy vykvést, což je znázorněno na Obr. 6. Represe transkripce genu *FLC* během vernalizace koreluje s expresí nekódující RNA zvanou *COOLAIR* a *COLD AIR*. Na začátku vernalizace dochází k vysoké expresi nesmyslné (antisense) RNA *COOLAIR*, která je kódovaná z promotoru na 3' konci. Po třech týdnech dosahuje vrcholu exprese druhá smyslná (sense) RNA *COLD AIR*, která je kódovaná prvním intronem, a je nezbytná pro umlčování *FLC* genu. K tomu, aby byla zajištěna stabilní represe *FLC* jsou důležité proteiny, způsobující změny struktury chromatinu modifikací histonu. Proteiny potřebné pro změny chromatinu se přímo spojují s *COLD AIR*. Jedním z těchto proteinů je *CURLY LEAF*, který je součástí Polycomb

repressivního komplexu 2 (*PRC2*), který je potřebný k zavedení lysinu 27 na histon *H3* trimetylaci (*H3K27me3*), což slouží jako značka pro potlačení exprese po vernalizaci. Po poklesu *COLDAIR* a *FLC* mRNA je indukována transkripce genu *VIN3*. Ten kóduje protein zodpovědný za umlčování *FLC* a pravděpodobně reaguje s *PRC2*, který je odpovědný za inkorporaci *H3K27me3*.

Obr. 6: Potlačení exprese genu *FLC* vernalizací (převzato z Andrés a Coupland, 2012)



U rostlin je jedním z nejznámějších epigenetických procesů právě vernalizace, protože při ní dochází k metylaci DNA. Obecně metylace patří mezi nejpozději objevené dráhy ovlivňující kvetení. Změny v genové expresi nejsou způsobené změnou primární struktury DNA, ale epigenetickými procesy, které jsou způsobené specifickými modifikacemi histonů a metylací DNA. Tyto změny se přenášejí z generace na generaci. Bylo prokázáno, že u rostlin, které prošly chladem, došlo k úbytku metylecytosinu z jejich DNA a dále bylo zjištěno, že stejný účinek má na rostliny citlivé k vernalizaci demetylační látka azicytidin (Koornneef et al., 1998). Také bylo prokázáno, že rostliny reagují jinak na vernalizaci a azicytidin. (Lízal et

al., 2001). DNA je vázána na histony a metylací histonu *H3* se stane *FLC* nečinný, protože se nachází v jeho těsné blízkosti. Metylace proběhne, pokud je rostlina vystavena vernalizaci. Časně kvetení bylo prokázáno u *Arabidopsis* s nefunkčním *FLC* genem. Naopak rostliny s funkčním *FLC* genem, které nebyly vystaveny vernalizaci kvetly mnohem později. Vernalizace potřebuje ještě další dva geny a to *VRN1* a *VRN2*. U rostlin s mutací v těchto genech byla aktivita genu *FLC* v chladu snížena, ale po návratu do tepla se vrátila do normálního stavu. Tyto genotypy nebylo možné jarovizovat a kvetly až dlouho po vyklíčení.

#### 7.4. GIBERELINOVÁ DRÁHA

Gibereliny (*GA*) jsou rostlinné hormony, které jsou zapojeny do řízení kvetení u mnoha rostlin jak jednoletých (King et al., 2006) tak i víceletých. Gibereliny mají různou aktivitu v různých růstových a vývojových procesech a mohou se tak účinkem u jednotlivých druhů rostlin lišit. Gibereliny se tvoří pravděpodobně ve všech rostlinných orgánech a nejvíce jich nacházíme v místech aktivního růstu (Procházka et al., 1998). Prudká redukce endogenních giberelinů zpožďuje kvetení za dlouhého dne a zabraňuje kvetení při krátkém dni. Z toho vyplývá, že gibereliny jsou rostlinné hormony, které u *Arabidopsis thaliana* L. vyvolávají kvetení za krátkého dne. Mutanti, ve kterých je *GA* potlačena jako jsou *gal-3* jsou neschopné kvést za krátkého dne, protože *gal-3* nese delecii v genu pro kontrolu klíčového kroku v rané části biosyntézy giberelinů (Wilson et al., 1992; Koorneef and Van der Veen, 1980). Pozitivně regulují gen *LFY* a *SOCI*, který je jinak za dlouhého dne stimulován genem *CO*. Bylo to prokázáno studiem mutací, které narušují biosyntézu giberelinů (Blázquez et al., 1998). *SOCI* gen se jeví jako hlavní cíl giberelinů s ohledem na kvetení od doby, co je jimi exprese *SOCI* ovlivňována (Moon et al., 2003). Vše naznačuje tomu, že vzestup exprese *SOCI* po aplikaci giberelinů trvá poměrně dlouho a vyžaduje dodatečný protein *AGL24* (Samach, 2012). Pokud *SOCI* chybí, gibereliny stejně silně působí na kvetení (Liu et al., 2008) a doba kvetení rostlin, u kterých došlo k overexpresi *SOCI*, je zpožděná biosyntézou inhibitorů giberelinů (Blázquez et al., 2002). Reakci rostlin na vernalizaci provází vždy zvýšený prodlužovací růst a v mnoha případech lze vernalizační požadavek eliminovat aplikací giberelinů. Z toho se dá předpokládat, že nízké teploty ovlivňují syntézu giberelinů (Procházka et al., 1998). Například inhibitor metylace DNA 5-azacytidin aktivuje jeden z enzymů biosyntézy giberelinů a ruší požadavek na vernalizaci u *Arabidopsis thaliana* (Burn et al., 1993). Přítomnost giberelinů indukuje kvetení u dlouhodobých rostlin. Které vytváří

přízemní růžici. U jiných dlouhodobých nebo krátkodobých rostlin tomu tak ovšem není. Gibbereliny, které jsou vysoce účinné ve vyvolávání stonkového růstu, se málo podílí na kvetení (Procházka et al., 1998). Silné florigenní účinky byly zjištěny u vysoce polárních gibberelinů s větším počtem hydroxylových skupin (Evans et al., 1993). Gibbereliny *GAI* a *GA3* mají funkci prodlužovat růst, zatímco *GA32* a dimetyl *GA4* působí jako květní stimuly (Šetlík et al., 2007).

## 7.5. PŮSOBENÍ MALÝCH RNA (miRNA)

Mikro RNA (miRNA) jsou podskupinou malých interferujících RNA (siRNA), tvořenou různými organismy včetně rostlin (Vonnet, 2009). Geny miRNA zahrnují přepisované obrácené repetice, a proto tvoří RNA zvláštní smyčkovitě stočenou strukturu (Samach, 2012). Jejich tvar tvoří komplex *DICER LIKE-1* do dvouvláknové RNA struktury o 20-24 párech bází (Samach, 2012). V cytoplazmě následně dochází ke spojení s komplexem *RISC*. Vzniklý komplex má specifickou oblast miRNA, která slouží pro rozpoznání mRNA s komplementární sekvencí. Komplex danou mRNA sestříhá a tím zahájí její degradaci nebo inhibuje translaci. U *Arabidopsis thaliana* je hlavním molekulárním „kráječem“ mRNA protein *ARGONAUTE1 (AGO)* (Samach, 2012). Rostliny redukují chod určité miRNA rodiny mechanismy označovanými jako cílové mimikry (falešné maskování) (Franco-Zorrilla et al., 2007). Místo normální miRNA začleňují inzerci 3 nukleotidy na místo, kde má dojít k sestříhu. Falešná miRNA je oddělena *RISC* komplexem, který způsobí pokles normální aktivity miRNA rodiny (Samach, 2012). Tyto mechanismy mohou být uměle zavedené do rostlin ke studiu toho, jak se rostliny chovají bez určité rodiny miRNA (Todesco et al., 2010). Použitím falešného maskování byl pozorován vývojový fenotyp u 14 miRNA rodin ze 73 rodin nalezených u *Arabidopsis* (Todesco et al., 2010). Několik z nich se podílí na určení času potřebného k vykvetení u rostlin (Poethig, 2009).

U *Arabidopsis* miR156 kóduje *SPL* transkripční faktory, které podporují kvetení (Wang et al., 2009). Overexprese této miRNA způsobuje pozdní kvetení za dlouhých i krátkých dnů (Schwab et al., 2006; Wang et al., 2009). Cílové působení miR156 způsobuje brzké kvetení za obou délek dne (Wang et al., 2009). MiR156 působí také na miR172 a její overexprese redukuje miR172 přes *SPL9* a *SPL10*, které podporují transkripci miR172 (Wu et al., 2009). Overexprese miR159 způsobuje pozdní kvetení za krátkých dnů u *Arabidopsis*



*thaliana* ( Achard et al., 2004), ale rostliny nezpožďovaly kvetení za dlouhé fotoperiody. Cíle miR159 jsou podskupiny *MYB* transkripčních faktorů, některé asociované s giberelinovou signální transdukcí (*GAMYB*) (Samach, 2012). *DELLA* transkripční faktor snižuje regulaci miR159 (Achard et al., 2004). Cílové mimikry miR167 skupiny způsobují pozdní kvetení za dlouhých dnů (Todesco et al., 2010). Působení miR169 zapříčiňuje růst rostlin s malými listy (Todesco et al., 2010). Poslední známou miRNA zapojenou v procesech kvetení je miR172, jejíž overexpresí dochází k brzkému kvetení (Chen, 2004; Jung et al., 2007). Působením miR172 dochází k pozdní kvetení za dlouhých dnů (Todesco et al., 2010). Cílem jsou *APETALA-like* transkripční faktory (Mathieu et al., 2009).

## 8. OBECNÁ CHARAKTERISTIKA TRITICUM AESTIVUM L.

*Triticum aestivum* L. (pšenice setá) náleží do čeledi *Poaceae* (lipnicovité). Do této čeledi patří vytrvalé nebo jednoleté byliny se svazčitými kořeny a čárkovitými listy. Stonek je typu stébla s meristémy v kolénkách, většinou dutý. Listy mají pochvy s blanitým jazýčkem a ouškem na bázi čepele. Květy jsou jedno nebo oboupohlavné, většinou trojčetné, mají silně redukované obaly a skládají se do klásků. K opylení dochází větrem. Malé kvítky jsou chráněny pluchami a pluškami. Plodem je obilka, méně často tobolka.

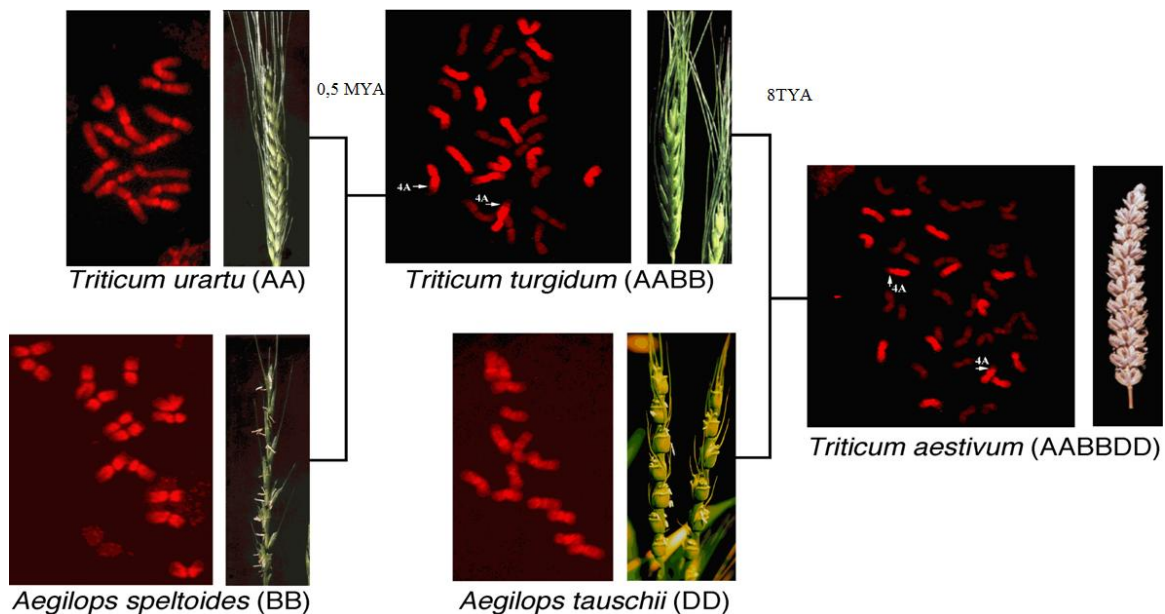
Rod *Triticum* zahrnuje jak jednoleté tak i víceleté druhy s různou úrovní ploidie. Díky relativní genetické blízkosti mezi kulturními druhy pšenice a jejich divokými příbuznými bylo možné vzájemné křížení a vytváření žádaných nových genových kombinací (Pánková a Milec, 2011). Pšenice byla známá již několik tisíc let před naším letopočtem jako planá forma. První historický druh kulturní pšenice *Triticum monococcum* L. ( $2n = 14$ ) byl domestikován před deseti tisíci lety v oblasti úrodného půlměsíce Blízkého východu a jeho evoluce úzce souvisí s rozvojem zemědělství (Prášil, 2009). Mnohem významnější druhy tetraploidní pšenice *Triticum durum*  $2n = 28$  a hexaploidní pšenice *Triticum aestivum* L.  $2n = 42$  jsou pěstovány ve všech oblastech mírného pásma, což souvisí s jejich schopností přizpůsobit se ekologicky rozdílným podmínkám. Pšenice je pěstována od oblasti rovníku až po nejvzdálenější severní nebo jižní oblasti. Za to může vnitrodruhová variabilita, která umožňuje různým druhům vykvést za různých vnějších podmínek. V současnosti je známo velké množství genů určujících různé vlastnosti produktů pšenice, jako jsou obsah a složení proteinů nebo pekařské vlastnosti (Pánková a Milec, 2011).

Hexaploidní pšenice *Triticum aestivum* s genomem AABBDD je dobrým modelem pro studium polyploidie a zároveň pro studium evoluce genomu. Složení genomu charakterizují písmena A, B a D, které označují jednotlivé donory genomu, což je znázorněno na Obr. 7. Nejbližší příbuzný dnešnímu druhu pšenice *Aegilops speltoides* byl donorem genomu B a donorem genomu A byl *Triticum uratu*. Před 0,5 miliony let došlo k hybridizaci obou druhů a vznikla tetraploidní pšenice *Triticum turgidum* s genomovým složením AABB. Před osmi tisíci lety došlo k hybridizaci *Triticum turgidum* s pravděpodobným předkem donora genomu D *Aegilops tauschii* a vznikla hexaploidní forma pšenice *Triticum aestivum* AABBDD (Gill et al., 2004). Každé písmeno reprezentuje jednu kopii genomu

představovanou sedmi chromozómy. Výzkumem a šlechtěním pšenice byly odhaleny geny, které ovlivňují některé důležité vlastnosti pšenice, jako je výnos nebo odolnost proti chorobám či škůdcům. V zemědělství závisí optimální výnos na načasování doby kvetení a vnějších podmínkách. Pšenice je plodina s rozsáhlým geografickým polem působnosti, což souvisí s její schopností přizpůsobit načasování doby kvetení a tvorbu zrna různým vnějším faktorům. Toto načasování se u různých odrůd liší podle přítomnosti tří skupin genů – *Ppd*, *Vrn* a *Eps*.

Pšenice se obecně vyskytuje ve třech formách jako jarní, ozimá a přesívková. Ozimá se vysévá na podzim, kdy vyklíčí a vytvoří přizemní růžici listů, která zůstává ve vegetativní fázi. Po projití nízkými teplotami 0-10°C brzy na jaře vykvétá. Kdyby neprošla vernalizací, nevykvetě. Jařiny se vysévají na jaře a rychle přecházejí do kvetení. Přesívky jsou odrůdy, které nepotřebují k vykvetení vernalizaci. Přezimují díky silné citlivosti na krátký den. Ten na podzim zabrání jejich přechodu do kvetení. Mohou se vysévat na podzim i na jaře, ale dnes se pro nízké výnosy nevyužívají (Prášil, 2009).

Obr. 7: Vznik hexaploidní pšenice (upraveno Gill et al., 2004).



## 9. DRÁHY INDUKUJÍCÍ KVETENÍ U PŠENICE

Stejně jako u *Arabidopsis*, tak i u pšenice byly objeveny dráhy, které řídí načasování doby kvetení. Doba kvetení je řízená fotoperiodickou dráhou (*Ppd*), vernalizační dráhou (*Vrn*), a významnou roli zde hrají také geny ranosti *per se* (*Eps*). Tyto dráhy geneticky řídí dobu kvetení u pšenice. Porovnáním drah doby kvetení u *Arabidopsis* a obilovin bylo zjištěno, že vernalizace je řízena rozdílnými MADS-box geny, ale interakce vernalizace a fotoperiody mají podobné mechanismy (Trevaskis et al., 2007).

### 9.1. PHOTOPERIODICKÁ DRÁHA

Délka dne hraje v indukci kvetení důležitou roli, protože bez požadované délky denního světla by rostliny nemohly vykvést. Podle délky dne se rostliny dělí na krátkodenní (kvetou, když je den kratší než kritická hranice), dlouhodenní (kvetou, když den přesáhne kritickou hranici) a neutrální (kvetou nezávisle na délce dne). Dlouhé dny podporují kvetení urychlením vývoje reproduktivního apikálního meristému. Pšenice i ječmen jsou dlouhodenní rostliny, proto kvetou, až když den dosáhne určité kritické hranice, kterou je obvykle fotoperioda delší než 14 hodin. U *Arabidopsis thaliana* je fotoperiodická dráha řízená geny *GI*, *FKF1*, *CO* a *FT*. Signál v listech je přijímán skupinou fytochromů a cryptochromy. Nejdůležitějším genem je *CO*, protože jeho produkt přímo aktivuje gen *FT*, který je částí florigenového signálu a aktivuje přeměnu apikálního meristému na reproduktivní.

U pšenice seté je photoperiodická dráha řízená skupinou *Ppd* genů, které jsou rozšířené po celém genomu pšenice a ty nejdůležitější se nachází na krátkém raménku chromozómů 2A, 2B a 2D - *Ppd-A1*, *Ppd-B1* a *Ppd-D1* (Mohler et al., 2004) a u ječmene na chromosomu 2HS – *Ppd-H1* (Laurie et al., 1997). Vnesení dominantní alely genu necitlivosti k photoperiodě *Ppd-D1* do genomu moderních odrůd spolu s genem *Rht* pro krátkostébelnatost přineslo v 60. letech „Zelenou revoluci“ (Borlaug) a pěstování pšenice se mohlo rozšířit do subtropických oblastí, kde dříve nemohlo být dosaženo úrody (Pánková et al., 2011). *Ppd* geny patří do *PRR* genové rodiny. U ječmene a pšenice citlivé na světlo *Ppd1* urychluje kvetení up-regulací genu *VRN3* za dlouhého dne. U ječmene bylo také prokázáno, že za dlouhého dne mutace v *CCT*-doméně *Ppd1* genu mění periodické načasování genu *CO* a omezuje indukci *VRN3* (Distelfeld

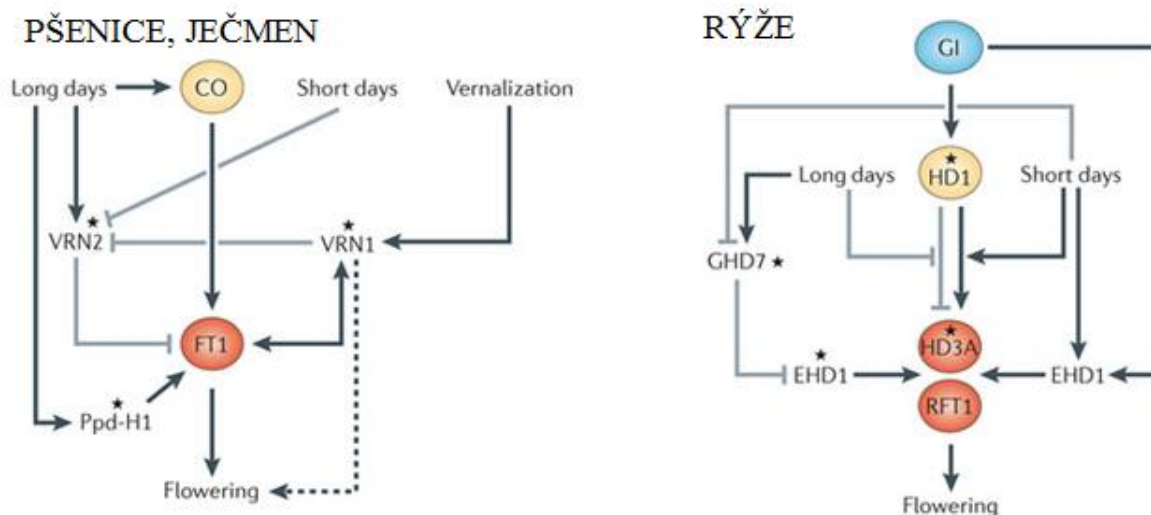
et al., 2009). U pšenice je delece na *Ppd-D1* promotoru zodpovědná za zvýšení exprese *VRN3* za krátkých dnů. Gen *CO* je jedním z nejdůležitějších genů fotoperiodické dráhy a podílí se na regulaci kvetení nejen u dlouhodobých, ale i u krátkodobých rostlin. U dlouhodobých rostlin je gen *FT* aktivován na světle, u krátkodobých krátkým dnem. K *CO* byly identifikovány tři orthologní geny u pšenice *TaHd1-1*, *TaHd1-2* a *TaHd1-3* lokalizované na chromozómech 6A, 6B a 6D (Nemoto et al., 2003). Na druhé straně byl identifikován pšeničný gen *CO* (*WCO1* nebo také *TaCO1*) lokalizovaný na homologní skupině 7 (Shimada et al., 2009). Homologní geny pro *TaCO1* byly oddělené jako *TaCO-B1* a *TaCO-D1* lokalizované na chromozómech 7B a 7D.

Rýže (*Oryza sativa*) je tropická fakultativně krátkodenní rostlina a kvetení je iniciováno krátkou délkou dne (Brambilla et al., 2013). Rýže byla domestikována před deseti tisíci lety v oblasti Asie a od té doby expandovala dál na sever a do oblastí mírného pásma (Izawa, 2007; Huang et al., 2012). Přizpůsobení se severním oblastem vyžadovalo redukci citlivosti k fotoperiodě, dovolující rostlinám kvést rychle za delšího dne před začátkem zimy. U rýže se vyskytují geny podobné genům *Arabidopsis thaliana*, ale zároveň využívá specifické geny, které nejsou společné dvouděložným rostlinám (Doi et al., 2004; Xue et al., 2008; Brambilla et al., 2013). Molekulární mechanismy řízení doby kvetení v závislosti na délce dne jsou rovněž podobné.

Pomocí metody *QTL* byly identifikovány geny ovlivňující kvetení tzv. „heading date” (*Hd*) u rýže (Yano et al., 1997). *Hd1* až *Hd5* jsou hlavní geny řídící odpověď kvetení na fotoperiodu. *Hd1* a *Hd2* alely vykazovaly předpoklady co by krátkodenní květní promotory s velkým účinkem na fenotyp a působící nezávisle na sobě (Yano et al., 1997). *Hd3a* geneticky interaguje s *Hd1* a *Hd2* a podněcuje tak kvetení za krátkého dne. Alely *Hd4* a *Hd5* zpožďují kvetení za dlouhého dne. Mezi geny *Hd1* a *Hd5* byl nalezen epistatický vztah (Lin et al., 2003). Klonováním genů *Hd1* a *Hd3a* bylo zjištěno, že sdílí rozsáhlou sekvenční podobnost s *CO* a *FT*. *Hd1* podporuje expresi *Hd3a* za krátkého dne (Yano et al., 2000), ale zároveň může potlačovat expresi *Hd3a* za neinduktivních podmínek dlouhého dne (Lin et al., 2000). U rýže byl také objeven ortholog genu *GI* u *Arabidopsis* nazvaný *OsGI*, který podněcuje expresi *Hd1* (Hayama et al., 2003). Molekulární studie ukázaly že *Hd3a* protein je v listech tvořený florigenový signál, který je přemístěn do vrcholového apikálního meristému a indukuje kvetení (Tamaki et al., 2007). Genom rýže kóduje 13 homologů genu *Hd3a* (Faure et al., 2007), jako jsou například *FT-like1(FT-L1)* a *FLOWERING LOCUS T* rýže (*RFT1*), které sdílí sekvenční podobu s *Hd3a*. *RFT1* je exprimován v listech a současně vyřazuje *Hd3a*

a *RFT1* a tím chrání rostlinu před předčasným vykvetením, až nastanou indukční podmínky krátkého dne. To naznačuje, že rýže může produkovat dvojitý florigenový signál. Další analýzy *RFT1* ukázaly, že se může uplatňovat jako hlavní florigenový signál za dlouhého dne. Rýže může kvést za neinduktivních podmínek indukováním exprese druhého florigenového proteinu řízeným dlouhodobě specifickou dráhou (Brambilla et al., 2013). Izolací *EARLY HEADING DATE 1 (Ehd1)* byla objevena nová regulační dráha nezávislá na *Hd1*, jak je prezentováno na Obr. 8 (Doi et al., 2004). Přes gen *Ehd1* působí mnoho dlouhodobých represorů. Jsou to například *Ghd7* nebo *Ghd8*. *Ghd8* potlačuje kvetení za dlouhého dne, ale za krátkého dne kvetení podporuje. Další dlouhodobí represor je kódovaný *Os-MADS56* genem (Ryu et al., 2009).

Obr. 8: Indukce doby kvetení u rýže, pšenice a ječmene (upraveno z Andrés a Coupland, 2012).



Rýžový homolog *CO Hd1* potlačuje kvetení za dlouhého dne inhibicí transkripce genu *Hd3a*, ale za krátkého dne podporuje transkripci *FT-like* genů *Hd3a* a *RFT1*. *Ghd7* je represor kvetení za dlouhého dne a potlačuje transkripci *Ehd1*, ale za krátkého dne *Ehd1* aktivuje transkripci *Hd3a* a *RFT1* (Andrés a Coupland, 2012).

## 9.2. VERNALIZAČNÍ DRÁHA

Nejen u *Arabidopsis*, ale i u *Triticum aestivum* L. nebo *Hordeum vulgare* L. bylo zjištěno, že dlouhé vystavení chladu (jarovizace) urychluje kvetení. Tento proces je u ozimé pšenice řízený geny *Vrn*, jejichž funkcí je zablokování vývoje před dosažením fáze tzv. „double ridge“ a odblokování nastává v průběhu chladových procesů. Původní alely genů *Vrn* jsou recesivní. Jejich mutované formy (dominantní alely) signalizují ztrátu tohoto nároku u jarních odrůd.

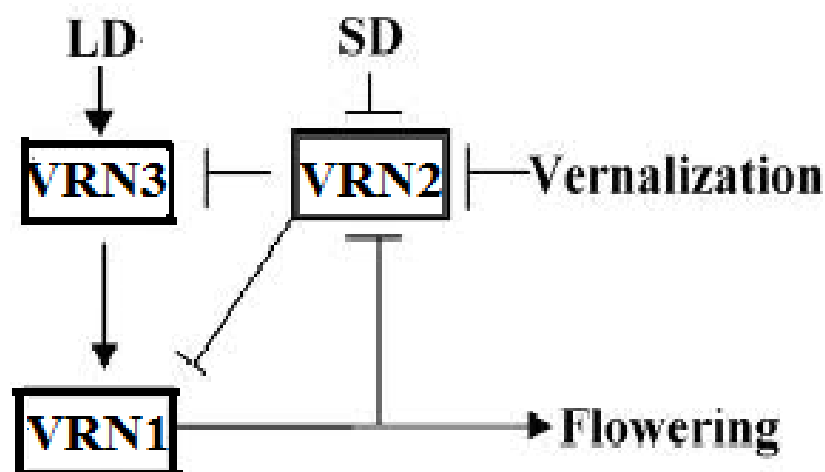
Tyto geny jsou lokalizované především na chromozómech skupiny 5 dlouhého raménka 5A, 5B a 5D (*Vrn-A1*, *Vrn-B1*, *Vrn-D1*, *Vrn 2*) a na chromozómu 7B (*Vrn-B3*). Při jejich zkoumání bylo zjištěno, že nejenom regulují vernalizační procesy, ale také řídí kvetení za dlouhých dnů. *VRN1* kóduje *MADS-box* transkripční faktor, *VRT2* a *CAR-G-box*, což je místo v oblasti promotoru. U diploidní pšenice s delecí v *CAR-G*-boxu a zimním habitem bylo zjištěno pravděpodobné regulační místo pro vernalizaci *VRN*-box. *CAR-G*-box může být začleněn i ve fotoperiodické regulaci (Distelfeld et al., 2009). V diploidní pšenici jsou alely s *CAR-G*-boxem a *VRN*-boxem nebo *CAR-G*-boxem a prvním intronem spřažené s vyššími stupni exprese *VRN1* za krátkého dne (Distelfeld et al., 2009). Pomocí radioaktivně indukovaných delecí bylo zjištěno, že *VRN1* je nezbytný pro kvetení. *VRN1* je indukovaný vernalizací a urychluje přechod do reprodukční fáze, a zároveň působí v apikálním meristému jako jeho homologní gen *APETALA* u *Arabidopsis*. *VRN1* gen patří mezi represory genu *VRN2*. V isogenních liniích hexaploidní pšenice nesoucí různé kombinace dominantních a recesivních alel *VRN-A1*, *VRN-B1* a *VRN-D1*, jedině produkty dominantních alel jsou detekované v listech nevernalizovaných rostlin (Distelfeld et al., 2009). Redukce *VRN2* je pozorována až po transkripci dominantní *VRN1* alely a před transkripcí recesivních alel. Za krátkých dní jsou stupně *VRN1* vyšší u vernalizovaných rostlin a *VRN1* je up-regulován vernalizací nezávisle na *VRN2* a *VRN3*. *VRN1* kóduje *APETALA*-like *MADS*-box transkripční faktor, třídu *MADS*-box genů, která řídí identitu meristému v místě růstu (Trevaskis et al., 2007).

*VRN2* oblast obsahuje dva *ZCCT* geny, kódující proteiny se *Zn*-prstem a *CCT* doménou (*CO*, *CO-like* a *TOC1*), podobnou té, jakou má *CO* (Yan L. et al., 2004). Tyto dva geny slouží jako represory kvetení tak, že potlačují expresi genu *VRN3*, dokud rostlina neprojde vernalizací. Mutace v této oblasti nebo delece celého genu *VRN2* mají za následek recesivní

alely jarního habitu v diploidní pšenici a ječmeni, které eliminují vernalizační požadavek (Yan L. et al., 2004; Dubcovsky et al., 2005). Účinek alelického rozdílu *VRN2* genu na dobu kvetení je potlačen nebo eliminován mutacemi v promotoru nebo v prvním intronu *VRN1* genu jak u pšenice, tak u ječmene (Dubcovsky et al., 2005). Když jsou rostliny vernalizované, exprese *VRN2* klesá za dlouhého dne, zatímco exprese *VRN1* stoupá. *VRN2* gen je dominantní represor kvetení, down-regulovaný vernalizací a krátkým dnem (Yan L. et al., 2004, Trevaskis et al., 2006). *VRN2* má rovněž homologní geny u rýže. Gen *GHD7* je represor kvetení u rýže. Zvýšená exprese *GHD7* down-reguluje gen *HD3a* (homolog *VRN3*) za dlouhého dne, ale ne za krátkého dne. Snížení hladiny transkriptů *VRN2* pomocí RNA interference (*RNAi*) v hexaploidní odrůdě ozimé pšenice Jagger výrazně urychluje kvetení (Yan L. et al., 2004). Obecné schéma působení *VRN* genů v závislosti na určité délce dne je znázorněno na Obr. 9.

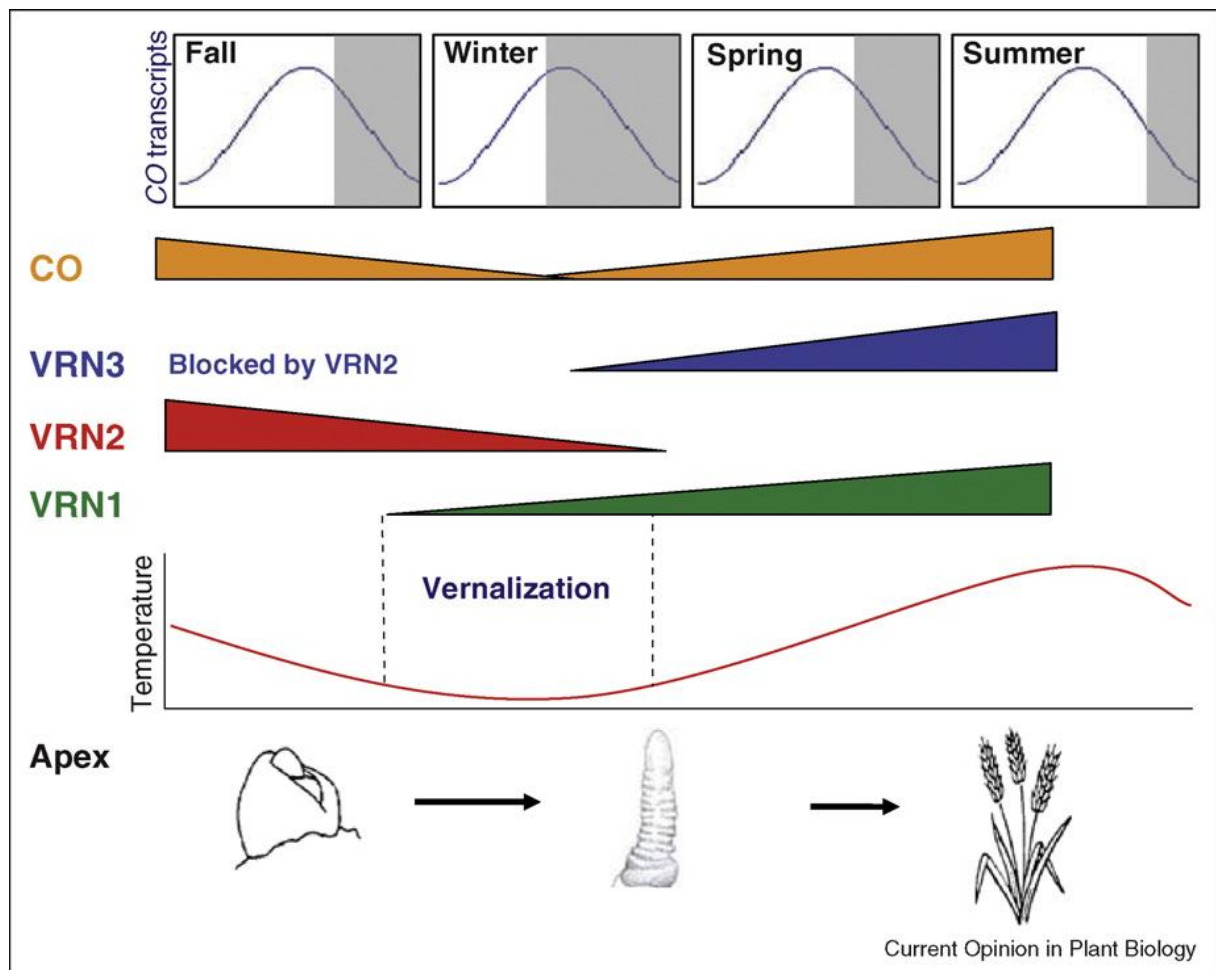
*VRN3* gen kóduje *RAF*-kinázový inhibitor-like protein a má homologa *FT* u *Arabidopsis*. Proto se usuzuje, že *VRN3* slouží jako integrátor vernalizačního a fotoperiodického signálu. (Distelfeld et al., 2009). *VRN3* je indukován dlouhými dny a rovněž řídí reproduktivní vývoj apikálního meristému jako *VRN1*.

Obr.9: Schéma působení nízkých teplot a délky dne na vernalizační geny u pšenice (převzato z [www.pnas.org](http://www.pnas.org))





Obr.10: Regulace vernalizačních a fotoperiodických genů změnami vnějšího prostředí ve fotoperiodicky-citlivých obilovinách (převzato z Distelfeld et al., 2009).



Podle Obr. 9 jsou geny kvetení ovlivněny délkou dne a chladovými podmínkami. Na podzim jsou dny ještě dlouhé a tím pádem je *VRN3* potlačen vysokými stupni exprese genu *VRN2* a ten zároveň zabraňuje indukci *VRN1* genu. Nástup vernalizace způsobí zvýšení regulace *VRN1* a zároveň snižuje expresi genu *VRN2*. Nízké stupně *VRN2* způsobují up-regulaci genu *VRN3* za dlouhých dní na jaře procesem řízeným fotoperiodickými geny *PPD1* a *CO*. *VRN3* protein je následně exportován plazmodezmaty do vrcholového apikálního meristému, kde nadále podporuje expresi *VRN1* až nad hranici nutnou pro indukci kvetení. Vegetativní apikální meristém přestane produkovat listy a začne vytvářet květní primordia (Distelfeld et al., 2009).

### 9.3. GENY RANOSTI *PER SE*

V roce 1981 Ford et al oznámili existenci třetí skupiny genů, která působí na kvetení u pšenice nezávisle na vernalizaci a fotoperiodě a nazvali ji *earliness per se (eps)* nebo li geny ranosti. Ty geny jsou převážně značeny *QTL* (quantitative traits loci) a jsou rozšířené po celém genomu pšenice. Ovlivňují dobu do dosažení kvetení v řádech několika dnů modifikací ranosti daných genotypů finálním doladěním vnitřních procesů kvetení a zodpovídají za rozsáhlé adaptace pšenice k různým podmínkám (Pánková et al., 2011). *Earliness per se* působí na obě fáze vegetativní a rané reprodukční nezávisle na sobě rozdílným způsobem (Slafer 1996). Rozdíly v době kvetení jednou fotoperioda a vernalizace jsou připisovány právě genům *per se* (Lewis et. al., 2008). Tato variabilita je důležitá ke konečnému vyladění kvetení a může být využita k maximalizování výnosu v různých podmínkách pěstování kulturní pšenice. Vzhledem k tomu, že *Eps* geny zahrnují geny ovlivňující dobu kvetení, které nejsou zapojeny do další vernalizační nebo fotoperiodické dráhy, mohly by být heterogenní skupinou s proměnlivými účinky na různé vývojové fáze.

Molekulární základ funkce *Eps* genů je málo pochopený a poziční klonování hexaploidní pšenice je stále náročným úkolem (Lewis et al., 2008). Jako modelová rostlina pro studium a klonování *Eps* genů byla vybrána diploidní pšenice *Triticum monococcum L.* Byly prováděny analýzy individuálních *Eps* genů, působících na různá vývojová stadia pšenice, následované mapováním. Díky těmto metodám byl zmapovaný hlavní lokus *Eps – A<sup>m</sup>1* na distálním konci dlouhého raménka chromozómu *1A<sup>m</sup>* (Lewis et al., 2008). Při řízených podmínkách pozdní alela zpožďovala kvetení při 23°C ovšem při 16°C byl rozdíl ve zpoždění mnohem větší. Gen *Eps-A<sup>m</sup>1* byl klonován a zmapován (Valárik et al., 2006), což ukázalo, že pozdní alela zpožďovala přechod do reprodukční fáze a negativně působila na délku přechodu z fáze „double ridge” do utváření terminálního klásku, který pozitivně utvářel počet klásků na vrcholu (Lewis et al., 2008). Tím se ukázalo, že jeho efekt byl řízený teplotou (Lewis et al., 2008).

## 10. ZÁVĚR

Studium doby kvetení a jeho osvětlení molekulárních mechanismů započalo u modelové rostliny *Arabidopsis thaliana* díky jejím výhodným vlastnostem. Postupem času se výzkum logicky přesunul i na hospodářsky významné plodiny, jako jsou ječmen setý nebo potravinářská pšenice. U *Arabidopsis thaliana* bylo objeveno několik regulačních drah řídících kvetení, ve kterých působí různé geny. Jednou z nejlépe prostudovaných drah je photoperiodická dráha, ve které působí gen *CONSTANS*, který je pozitivně regulován genem *GIGANTEOU*. Gen *CONSTANS* má rovněž homologní geny u pšenice seté a ječmene. Produkt genu *CONSTANS* aktivuje transkripci genu *FLOWERING LOCUS T*, který je součástí florigenového signálu. Florigen působí na vegetativní apikální meristém a zahajuje jeho přechod do reprodukční fáze. Na dobu kvetení má vliv i kvalita světla, které je přijímáno phytochromy a cryptochromy. V našich zeměpisných šířkách je rizikové nepříznivé chladové období. Rostliny si proto vytvořily adaptační mechanismy, které jim zabraňují vykvést na podzim. Rostliny musí projít několikátýdenním chladovým obdobím, aby mohly brzo z jara začít kvést. Tento proces zvaný vernalizace je řízený vernalizačními geny *VRN*. Vernalizace působí přes inhibici květního represoru *FLOWERING LOCUS C*, který zabraňuje rostlinám vykvést na podzim. U obilovin byly rovněž nalezené homologní geny. Gen *VRN3* je homologním genem k *FT*, tudíž slouží jako iniciátor doby kvetení v apikálním meristému.

*Triticum aestivum L.* patří mezi základní plodiny pěstované ve všech oblastech mírného pásma. Proto se stala předním zájmem vědeckých studií. Snaha optimalizovat výnos a zemědělskou produkci je aktuální i dnes, kdy přibývá světové populace. Mechanismy doby kvetení u pšenice nejsou zdaleka tak dobře pochopeny jako u *Arabidopsis* z důvodu složitosti genomu. Celkem dobře je prozkoumána fotoperiodická dráha s vernalizační drahou. Doba kvetení je ale řízená i třetí skupinou genů, které jsou zodpovědné za finální vyladění. Když už všechny aspekty nabádají k tomu, že je čas vykvést, součinností genů *Eps* je umožněn přechod do reprodukční fáze.

Přesné pochopení molekulárních mechanismů způsobujících indukci doby kvetení má pro lidstvo velký význam. Studium přírodních zákonitostí na modelových organismech, jako je *Arabidopsis thaliana* přispělo k objasnění základních fyziologických procesů u rostlin. Předpokládá se, že toto poznání v budoucnu umožní rozvoj biotechnologií, které povedou k dosažení zvýšené zemědělské produkce pšenice a ječmene.

## 11. POUŽITÁ LITERATURA

**Andrés F., Coupland G.** 2012. The genetic basic of flowering responses to seasonal cues. *Nature Reviews* **13**: 627-639.

**Appendino M.L., Slafer G.A.** 2003. Earliness per se and its dependence upom temperature in diploid wheat lines differing in the major gene *Eps-A<sup>m</sup>1* alleles. *Journal of Agricultural Science* **141**: 149-153.

**Burn J. E., Bagnall D. J., Metzger J. D., Dennis E. S. and Peacock W. J.** 1993. DNA methylation, vernalization, and the initiation of flowering. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **90**: 287-291.

**Brambilla V., Fornara F.** 2013. Molecular control of flowering in response to day length in rice. *Journal of Integrative Plant Biology* **55**: 410-418.

**Cockram J., Jones H., Leigh F.J., O'Sullivan D., Powell W., Laurie D. A., Greenland A. J.** 2007. Control of flowering time in temperate cereals: genes, domestication and sustainable productivity. *Journal of Experimental Botany* **58**: 1231-1244.

**Distelfeld A., Tranquilli G., Li Ch., Yan L., Dubcovsky J.** 2009. Genetic and molecular characterization of the *VRN2* loci in tetraploid wheat. *Plant Physiology* **149**: 245-257.

**Distelfeld A., Li C., Dubcovsky J.** 2009. Regulation of flowering in temperate cereals. *Current Opinion in Plant Biology* **12**:1-7.

**Dubcovsky J., Loukoianov A., Fu D., Valarik M., Sanchez A., Yan L.** 2006. Effect of photoperiod on the regulation of wheat vernalization genes *VRN1* and *VRN2*. *Plant Molecular Biology* **60**: 469-480.

**Hay R.K.M., Ellis R.P.** 1998. The control of flowering in wheat and barley: What recent advances in molecular genetics can reveal. *Annals of Botany* **82**: 541-554.

**Hemming M. N., Walford S. A., Fieg S., Dennis E. S., Trevaskis B.** 2012. Identification of high-temperature-responsive genes in cereals. *Plant Physiology* **158**: 1439-1450.

**Hendrych R.** 1977. *Systém a evoluce vyšších rostlin.* - Praha.

**Irish V.F.** 2010. The flowering of *Arabidopsis* flower development. *The Plant Journal* **61**: 1014-1028.

**Jack T., Sieburth L. E., Mayerowitz E. M.** 1993. Genes that control flower development in *Arabidopsis*. *Seminars in Developmental Biology* **4**: 51-63.

**Jack T.** 2004. Molecular and genetic mechanisms of floral control. *The Plant Cell* **16**: 1-17.

**Krizek B. A., Fletcher J. C.** 2006. Molecular mechanisms of flower development: an armchair guide. *Nature* **6**: 688-698.

**Koornneef M., Alonso-Blanco C., Peeters A. J. M., Soppe W.** 1998. Genetic control of flowering time in *Arabidopsis*. *Plant Mol. Biol.* **49**: 345-370.

**Krekule J.** 2008. Kdy a jak kvetou. *Živa* **1**: 7-9.

**Kumar S., Sharma V., Chaudhary S., Tyagi A., Mishra P., Priyadarshini A., Singh A.** 2012. Genetics of flowering time in bread wheat *Triticum aestivum*: complementary interaction between vernalization-insensitive and photoperiod-insensitive mutations imparts very early flowering habit to spring wheat. *Journal of Genetics* **91**: 33-47.

**Levy Y. Y., Dean C.** 1998. Control of flowering time. *Current of Opinion in Plant Biology* **1**: 49-54.

**Levy Y. Y., Mesnage S., Mylne J. S., Gelndall A. R., Dean C.** 2002. Multiple roles of *Arabidopsis VRNI* in vernalization and flowering time control. *Science* **297**: 243-246.

**Lewis S., Faricelli M. E., Appendino M. L., Valárik M., Dubcovsky J.** 2008. The chromosome region including the earliness per se locus *Eps-A<sup>m</sup>1* affects the duration of early developmental phases and spikelet number in diploid wheat. *Journal of Experimental Botany* **59**: 3595-3607.

**Lízal P., Relichová J.** 2001. The effect of day length, vernalization and DNA demethylation on the flowering time in *Arabidopsis thaliana*. *Physiologia Plantarum* **113**: 121-127.

**Novák J., Skalický M.** 2009. *Botanika (Cytologie, histologie, organologie, systematika) 2.* doplněné vydání, Česká zemědělská univerzita v Praze.

**Pánková K., Milec Z., Simmonds J., Leverington-Waite M., Fish L., Snape W.** 2008. Genetic mapping of a new flowering time gene on chromosome 3B of *wheat*. *Euphytica* **164**:779-787.

**Pánková K., Milec Z., Tomková L., Prášil I. T., Snape J. W.** 2011. The discovery and identification of new genes and alleles influencing the process of flowering of wheat to achieve the increase of the yield in the era of changing climate. *Úroda, vědecká příloha*: 445-454.

**Parcy F.** 2005. Flowering: a time for integration. *Int. J. Dev. Biol.* **49**: 585-593.

**Pineiro M., Coupland G.** 1998. The control of flowering time and floral identity in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* **117**: 1-8.

**Prášil I. T.** 2009. Kdy kvete pšenice. *Vesmír* **88**: 567-570.

**Procházka S., Macháčková I.** 1998. *Fyziologie rostlin*. Academia, ISBN: 80-200-0586-2

**Putterill J., Laurie R., Macknight R.** 2004. It's time to flower: the genetic control of flowering time. *BioEssays* **26**: 363-373.

**Rousset M., Bonnin I., Remoué C., Falque M., Rhoné B., Veyrieras, J. B., Madur D., Murigneux A., Balfourier F., Le Gouis J., Santoni S., Goldringer I.** 2011. Deciphering the genetics of flowering time by an association study on candidate genes in bread wheat (*Triticum aestivum L.*) *Theor Appl Genet* **123**: 907-926.

**Samach A.** 2012. *Control of flowering. Biotechnology for improvement of yield and quality traits* Elsevier Inc. **387-404**.

**Štorchová H.** 2008. Molekulární genetika rozluštila záhadu florigenu, faktoru navozujícího kvetení. *Živa* **3**: 100-102.

**Šetlík I., Seidlová F., Šantrůček J.** 2007. *Fyziologie rostlin (učební text biologické sekce Jihočeské Univerzity), ontogeneze II- kvetení, fotoperiodismus*.

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

**Trevaskis B., Bagnall D. J., Ellis M. H., Peacock W. J., Dennis E. S.** 2003. *MADS* box genes control vernalization-induced flowering in cereals. *Plant Biology* **28**: 13099-13104.

**Trevaskis B., Hemming M. N., Dennis E. S., Peacock W. J.** 2007. The molecular basis of vernalization-induced flowering in cereals. *Trends in Plant Science* **12**: 352-357.

**Weigel D.** 1995. The genetics of flower development: from floral induction to ovule morphogenesis. *Annu. Rev. Genet.* **29**:19-39.

**Wellner F., Reichmann J. L.** 2010. Gene networks controlling the initiation of flower development. *Trend in Genetics* **26**: 519-527.

**Yan L., Loukoianov A., Tranquilli G., Helguera M., Fahima T., Dubcovsky J.** 2003. Positional cloning of the wheat vernalization gene *VRN1*. *PNAS* **100**: 6263-6268.

**Yan L., Loukoianov A., Blechl A., Tranquilli G., Wusirika Ramakrishna W., SanMiguel P., Bennetzen J. L., Echenique V., Dubcovsky J.** 2004. The wheat *VRN2* gene is a flowering repressor down-regulated by vernalization. *Science* **303**: 1640-1644.

**Yan L., Fu D., Li C., Blechl A., Tranquilli G., Bonafede M., Sanchez A., Valarik M., Yasuda S., Dubcovsky J.** 2006. The wheat and barley vernalization gene *VRN3* is an orthologue of *FT*. *PNAS* **103**: 19581-19586.

## 12. POUŽITÉ ZKRATKY

AGO – Argonautei

AP1,2 – Apetala 1,2

CAL – Cauliflower

CCA1 – Circadian clock associated 1

CDFs – Cycling dof factors

CO – Cnostans

COP1 – Constitutive photomorphogenic 1

COPS – Controller of phase switching

CRY – Cryptochrome

FLC – Flowering locus C

FLIP – Floral iniciativ process

FKF1 – Flavin kelch F box 1

FMI – Floral meristem identity

FRI – Frigida

FT – Flowering locus T

FUL – Fruitful

GA – Giberelinová kyselina

GI – Gigantea

HD – Heading date



HOS1 – High expression of osmotically responsive gene 1

LHY – Long elongated hypocotyl

LFY – Leafy

PHY – Phytochrome

PPD – Photoperiodic

PRC2 – Polycomb repressive komplex 2

QTL – Quantitative trait loci

SOC1 – Supresor of overexpression of constans 1

SPA – Supresor of phytochrome A

TaCO1 – Triticum aestivum constans1

TFL1 – Terminal flower 1

TOC1 – Timing of CAB box1

UFO – Unusual floral organs

VRN – Vernalization

WCO2 – Wheat constans 1