

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLMOUCI

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

KATEDRA BIOFYZIKY

CENTRUM REGIONU HANÁ PRO BIOTECHNOLOGICKÝ A ZEMĚDĚLSKÝ
VÝZKUM

**Otevírání průduchů, rychlost fotosyntézy
na modrém světle a růst stonku mutanta
rajčete *7B-1***

Eliška Ježilová

Olomouc 2016

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem rigorózní práci vypracovala samostatně za použití uvedené literatury. Měření obsahu chlorofylu, jehož výsledky jsou v práci použity, bylo prováděno RNDr. M. Špundovou, Ph.D., a Mgr. J. Hlavinkou, Ph.D.

V Olomouci, dne 10. 01. 2016

PODĚKOVÁNÍ

Děkuji RNDr. Martině Špundové, Ph.D., za podnětné rady a zkušenosti a pomoc, které mi poskytovala v průběhu mého studia, a za připomínky a pomoc při psaní manuskriptu publikace, na které je založena tato práce.

Dále bych ráda poděkovala všem kolegům z Katedry biofyziky a Laboratoře růstových regulátorů, jmenovitě prof. RNDr. Janu Naušovi, CSc., za pomoc při plánování experimentů a diskuze nad problematikou, doc. RNDr. Martinu Fellnerovi, Ph.D., a Véronique Bergougnoux, Ph.D., za poskytnutí materiálu a konzultace o pokusné rostlině a Mgr. Janu Hlavinkovi, Ph.D., za pomoc s péčí o rostliny a s experimenty.

Také děkuji své rodině a přátelům za trpělivost a psychickou podporu v průběhu celého studia.

ABSTRAKT

U mutanta rajčete *7B-1* s poruchou v signální dráze modrého světla a vyšším obsahem kyseliny abscisové (ABA) byla studována reakce průduchů a fotosyntézy na modré světlo a rychlost růstu stonku dospělých rostlin v porovnání s kontrolními rostlinami rajčete (*Solanum lycopersicum* L., cv. Rutgers) (WT).

Pomocí gazometrické aparatury byla měřena kinetika nárůstu stomatální vodivosti (g_s), rychlosti fotosyntézy (P_N) a transpirace (E) na modrém světle a hodnoty těchto parametrů v ustáleném stavu na 1., 4. a 9. listu (počítáno od báze) rostlin WT a *7B-1* ve stáří 5, 7 a 9 týdnů. U měřených listů byla také vyhodnocena efektivita využití vody (WUE_i) a obsah chlorofylu. Zároveň byla na stejných rostlinách po dobu 4 týdnů (stáří rostlin 5–9 týdnů) měřena délka internodií stonku a celkový relativní přírůstek internodií.

Kinetiky nárůstu g_s , P_N a E indukovaného modrým světlem byly u mladých listů rostlin *7B-1* i WT, podobně jako hodnoty těchto parametrů v ustáleném stavu, většinou velmi podobné. S rostoucím stářím 1. a 4. listů docházelo u rostlin *7B-1* ve srovnání s WT k výraznějšímu zpomalení kinetiky g_s , P_N a E a poklesu hodnot v ustáleném stavu. To se projevilo signifikantním rozdílem většiny uvedených charakteristik u starších 1. a 4. listů. Hodnoty WUE_i byly u 4. a 9. listů rostlin *7B-1* vyšší ve srovnání s WT. Obsah chlorofylu se v listech *7B-1* a WT rostlin nelišil. Délka internodií *7B-1* rostlin ve stáří 5 týdnů byla větší než u WT rostlin. Tento rozdíl se ale z důvodu rychlejšího relativního růstu mladších internodií WT rostlin v průběhu měření zmenšoval.

Zjištěné rozdíly ve fotosyntetických a růstových parametrech mohou být způsobeny vyšším obsahem endogenní ABA v listech *7B-1* rostlin a jejich nižší citlivostí k modrému světlu. Mladší rostliny *7B-1* ale mohou být zároveň méně citlivé k endogenní ABA, což mohlo být příčinou minimálních rozdílů ve fotosyntetických parametrech mezi mladšími listy *7B-1* a WT rostlin a rychlejšího růstu stonku u mladších rostlin *7B-1*.

ABSTRACT

The stomatal opening and the rate of photosynthesis under blue light was studied in the *7B-1* mutant in tomato with a defect in blue-light signaling and higher content of endogenous abscisic acid (ABA). Also, the growth rate of stem of mature *7B-1* plants and wild type tomato (*Solanum lycopersicum* L., cv. Rutgers) (WT) was compared.

The kinetics of the increase of stomatal conductance (g_s), photosynthetic rate (P_N) and transpiration rate (E) under blue light and the values of the parameters in steady-state were measured using a gas-exchange system in the 1st, 4th and 9th leaves (counted from the plant base) of 5-, 7- and 9-week-old WT and *7B-1* plants. Also, the intrinsic water-use efficiency (WUE_i) and the chlorophyll content of the measured leaves were estimated. The length of stem internodes and the total relative increment of internodes of WT and *7B-1* plants was measured during four weeks (from the plant age of 5 to 9 weeks).

The kinetics of the g_s , P_N and E increase induced by blue light were mostly very similar in younger leaves of *7B-1* and WT plants as well as the steady-state values of the parameters. With the aging of the 1st and 4th leaves, the kinetics of g_s , P_N and E was delayed and the steady-state values of these parameters decreased more pronouncedly in *7B-1* plants compared with WT. This was exhibited by significant differences of most characteristics measured in older 1st and 4th leaves. WUE_i was higher in the 4th and 9th leaves of *7B-1* plants than in WT plants. The leaf chlorophyll content did not differ between *7B-1* and WT plants. The length of internodes of the 5-week-old plants of *7B-1* was higher compared with WT. This difference decreased during the experiment because of faster relative growth of younger internodes of WT plants.

The observed differences in the photosynthetic and growth parameters can be caused by higher endogenous level of ABA in *7B-1* plants and their lower sensitivity to blue light. Moreover the *7B-1* plants in earlier growth phases can also be less sensitive to the endogenous ABA, which could be the reason of the non-significant differences of the photosynthetic parameters in the younger leaves of *7B-1* and WT plants and the faster stem growth of the younger *7B-1* plants.

PUBLIKACE

Tato práce je založena na následující publikaci, která je zařazena v Příloze 2:

Ježilová E., Fellner M., Bergougnoux V., Špundová M. (2012): Is the rate of photosynthesis under blue light altered in the *7B-1* tomato mutant? *Photosynthetica* 50: 477–480.

Ostatní autorčiny publikace, které nejsou zařazeny v této práci:

Ježilová E., Nožková-Hlaváčková V., Duchoslav M. (2014): Photosynthetic characteristics of three ploidy levels of *Allium oleraceum* L. (Amaryllidaceae) differing in ecological amplitude. *Plant Species Biology* 30: 212–224.

SEZNAM ZKRATEK

ABA – kyselina abscisová

CRY1, CRY2 – kryptochrom 1, kryptochrom 2

E – rychlost transpirace ($\text{mmol (H}_2\text{O) m}^{-2} \text{s}^{-1}$)

g_s – stomatální vodivost ($\text{mol (H}_2\text{O) m}^{-2} \text{s}^{-1}$)

Chl ($a+b$) – obsah chlorofylu a a b ($\mu\text{g cm}^{-2}$)

PHOT1, PHOT2 – fototropin 1, fototropin 2

PLD – fosfolipáza D

P_N – rychlost fotosyntézy ($\mu\text{mol (CO}_2\text{) m}^{-2} \text{s}^{-1}$)

PP1 – proteinfosfatáza 1

WT – standardní genotyp (wild type)

WUE_i – efektivita využití vody ($\mu\text{mol (CO}_2\text{) mol (H}_2\text{O)}^{-1}$)

OBSAH

PODĚKOVÁNÍ	iii
ABSTRAKT	iv
ABSTRACT.....	v
PUBLIKACE.....	vi
SEZNAM ZKRATEK	vii
OBSAH.....	viii
1. ÚVOD.....	1
2. PŘEHLED PROBLEMATIKY.....	2
2.1. MUTANT RAJČETE 7B-1	2
2.2. MODRÉ SVĚTLO	2
2.3. OTEVÍRÁNÍ PRŮDUCHŮ	3
2.4. ZAVÍRÁNÍ PRŮDUCHŮ POMOCÍ ABA	5
3. CÍLE PRÁCE	7
4. MATERIÁL A METODY	8
4.1. MATERIÁL	8
4.2. GAZOMETRICKÉ MĚŘENÍ.....	8
4.3. MĚŘENÍ OBSAHU CHLOROFYLU	9
4.4. MĚŘENÍ RYCHLOSTI RŮSTU STONKU.....	10
4.5. STATISTICKÉ ANALÝZY	11
5. VÝSLEDKY A DISKUSE.....	12
5.1. GAZOMETRICKÉ PARAMETRY.....	12
5.2. RŮST STONKU	16
6. ZÁVĚR.....	19
7. LITERATURA	21
8. PŘÍLOHA 1 – ŽIVOTOPIS	24
9. PŘÍLOHA 2 – PUBLIKACE	26

1. ÚVOD

Rostliny jsou využívány lidmi už odpradáva. V pravěku lidé sbírali jedlé plody rostlin na potravu, využívali léčivých účinků bylin a ze dřeva stromů a keřů vyráběli různé nástroje nebo je používali jako topivo. S příchodem zemědělství začali pěstovat různé plodiny, které se staly základem jejich jídelníčku. Rostliny ovšem nemají velký význam jen pro člověka, ale mají svoji nenahraditelnou funkci i v rámci ekosystému. Spolu s řasami, sinicemi a některými prokaryotickými bakteriemi mají schopnost fotosyntézy. Při fotosyntéze se do ovzduší uvolňuje kyslík, který je nezbytný pro život většiny organismů na Zemi. Také organické látky, které při procesu fotosyntézy vznikají z anorganických látek, jsou důležitou součástí potravinových řetězců dalších organismů. V důsledku nárůstu lidské populace se v poslední době klade důraz na šlechtění nových odrůd plodin, které mají větší výnos a jsou odolnější vůči vlivům prostředí a vůči patogenům, které tyto výnosy snižují.

Studium vlivu různých faktorů ovlivňujících životní funkce rostliny je důležité pro získání nových poznatků o tom, jak se rostliny přizpůsobují změnám prostředí. Mezi tyto faktory patří i modré světlo, které působí jako signál ovlivňující jak růst rostlin, tak např. otevírání průduchů, které má vliv i na fotosyntézu.

Rostliny mají vyvinuté různé mechanismy, kterými reagují na vnější faktory prostředí. Tyto mechanismy mohou být aktivovány šířením fyzikálních (např. hydraulická vlna, změna elektrického pole) nebo chemických signálů. Mezi chemické signály patří např. rostlinné hormony (kyselina abscisová, auxiny, gibbereliny aj.), které se šíří nejen uvnitř rostliny, ale mohou se uvolňovat i do ovzduší (např. kyselina jasmonová, etylen), a tím ovlivňují i vzdálené části rostlin nebo okolní rostliny.

Vnější i vnitřní faktory (např. produkce hormonů) ovlivňují různé funkce v rostlinách, například i fotosyntézu, a tím také produkci rostlin. Proto se při studiu těchto faktorů využívá mutantů rostlin, které vykazují poruchy nebo změny v reakcích na konkrétní vnější i vnitřní faktory. Jedním z těchto mutantů je mutant rajčete *7B-1*, který specificky reaguje na modré světlo a ABA. Studium této modelové rostliny a konkrétního mutantu může přispět nejen k pochopení procesů v rostlinách obecně, ale také k šlechtění nových odolnějších odrůd této významné plodiny.

2. PŘEHLED PROBLEMATIKY

2.1. MUTANT RAJČETE *7B-1*

Mutant rajčete *7B-1* je spontánní recesivní mutant (Bergougnoux et al. 2012; Fellner & Sawhney 2001; Omidvar & Fellner 2015) s mutací s pleiotrofním účinkem. Rostliny pěstované při 16hodinové fotoperiodě (dlouhé dny) vytvářejí květy se zakrnělými pestíky a neživotaschopným pylem (pylová sterilita). Pokud jsou pěstovány při 8hodinové fotoperiodě (krátké dny), vytvářejí květy s normálně vyvinutými pestíky a pylem (Fellner & Sawhney 2001).

Mutant vykazuje poruchu v signální dráze modrého světla a tím menší citlivost k modrému světlu (Bergougnoux et al. 2009, 2012; Fellner & Sawhney 2002; Hlavinka et al. 2013). Hypokotyly vystavené modrému světlu vykazují sníženou inhibici rychlosti růstu hypokotyly (tj. snížená de-etiolizace) (Bergougnoux et al. 2012; Fellner & Sawhney 2002; Omidvar & Fellner 2015) a rychlejší růst epidermálních buněk (Bergougnoux et al. 2012), proto jsou hypokotyly delší než u normálních rostlin.

Porucha v signální dráze modrého světla ovlivňuje hormonální citlivost a obsah hormonů v rostlinách mutanta (Omidvar & Fellner 2015). Hypokotyly mají zvýšený obsah endogenní kyseliny abscisové (ABA) (Fellner et al. 2001; Fellner & Sawhney 2002) a chlorofylu (Bergougnoux et al. 2009; Fellner et al. 2005). Mají také sníženou produkci etylenu (Fellner et al. 2005), snížený obsah auxinu, giberelinů (Fellner et al. 2001) a kyseliny salicylové (Bergougnoux et al. 2009). Při růstu na modrém světle mají snížený obsah některých cytokininů (Bergougnoux et al. 2012).

Semena rostlin mutanta *7B-1* jsou větší a těžší a klíčící rostliny jsou, zvláště na modrém světle, odolnější vůči osmotickému stresu a nízkým teplotám. Jsou také citlivější k působení exogenní ABA (Fellner & Sawhney 2001, 2002).

Protože mutant vykazuje pylovou sterilitu závislou na fotoperiodě a je odolný proti stresu, představuje vhodný objekt ke křížení a k šlechtění nových odrůd rajčete (Omidvar & Fellner 2015).

2.2. MODRÉ SVĚTLO

Modré světlo o vlnových délkách 390–500 nm působí u rostlin jako signál regulující různé funkce. Rostliny jej přijímají pomocí receptorů modrého světla, mezi které patří fototropiny a kryptochromy. Fototropiny regulují tok iontů přes plazmatickou

membránu, zatímco kryptochromy ovlivňují tok iontů přes membrány pouze nepřímo (např. Marten et al. 2010).

Fototropiny jsou proteinkinázy přidružené k plazmatické membráně, které se na modrém světle autofosforylují. Řídí ohyb hypokotylu, pohyb chloroplastů, listů a otevírání průduchů (např. Inoue et al. 2010; Lin 2002; Marten et al. 2010). Fosforylované fototropiny (v aktivním stavu) dále působí na přenos iontů. Dlouhodobě mění transport auxinů, čímž také ovlivňují transport iontů přes membránu (Marten et al. 2010). Fototropiny absorbují světlo o vlnové délce 320–500 nm (Briggs & Christie 2002). K maximální absorpci světla dochází při vlnové délce 450 nm (Kang et al. 2008). U *Arabidopsis thaliana* L. existují dva fototropiny – fototropin 1 (PHOT1) a fototropin 2 (PHOT2). PHOT2 je méně citlivý ke světlu než PHOT1 a je aktivován při větších světelných intenzitách (Kang et al. 2008; Marten et al. 2010).

Kryptochromy zprostředkovávají inhibici růstu hypokotylu a zvyšování expanze děložních lístků a růstu kořene. Také regulují dobu kvetení. Absorbují v UV-A a modré oblasti spektra (320–500 nm) (Lin 2000; Lin & Shalitin 2003; Wu & Spalding 2007). Nacházejí se převážně v jádře a ovlivňují expresi genů (Marten et al. 2010; Wu & Spalding 2007). Světlo vyvolává jejich přesun do cytoplazmy (Marten et al. 2010). U *Arabidopsis thaliana* L. se vyskytují dva kryptochromy lišící se svojí stabilitou: kryptochrom 1 (CRY1), jehož exprese se vlivem působení modrého světla nemění, a kryptochrom 2 (CRY2), jehož exprese při kontinuálním modrém světle strmě klesá (Lin 2000, 2002; Marten et al. 2010). U rajčete se vyskytují kryptochromy CRY1a, CRY1b a CRY2 (Lin 2002).

2.3. OTEVÍRÁNÍ PRŮDUCHŮ

Průduchy jsou póry obklopené svěracími buňkami, které regulují výměnu plynů mezi rostlinou a okolím. Reakce průduchů na vnější podmínky, jako je například koncentrace CO₂, světlo, relativní vlhkost vzduchu, biotický stres (např. Acharya & Assmann 2009) a abiotický stres (Hlaváčková et al. 2006), jsou řízeny vnitřními signály. Mezi ně patří hormony, reaktivní formy kyslíku, intracelulární koncentrace CO₂, hydraulické a elektrické signály (Hlaváčková et al. 2006).

Otevírání průduchů je stimulováno červeným i modrým světlem, přičemž modré světlo je účinnější (Roelfsema & Hedrich 2005). Svěrací buňky reagují na světlo dvěma signálními cestami: přes receptory modrého světla cestou nezávislou na fotosyntéze a

přes receptory fotosynteticky aktivního záření cestou závislou na fotosyntéze (Roelfsema & Hedrich 2005; Wang et al. 2011).

Fotoreceptory modrého světla ve svěřacích buňkách jsou fototropiny PHOT1 a PHOT2 (Roelfsema & Hedrich 2005). Signál z fototropinu se přenáší na proteinfosfatázu 1 (PP1) (Inoue et al. 2010). PP1 i modré světlo stimulují fosforylaci H^+ -ATPasy, která transportuje H^+ přes membránu do apoplastu, dochází k hyperpolarizaci membrány a zvyšování koncentrace negativního náboje uvnitř buňky. Ten aktivuje draselné kanály přenášející K^+ dovnitř buňky (např. Assmann & Shimazaki 1999; Daszkowska-Golec & Szarejko 2013; Inoue et al. 2010; Roelfsema & Hedrich 2005). PHOT1 a PHOT2 dále mohou stimulovat zvyšování hladiny Ca^{2+} v cytosolu (Roelfsema & Hedrich 2005). Ve svěřacích buňkách dochází také k akumulaci malátu (Assmann & Shimazaki 1999), čímž se snižuje osmotický potenciál svěřacích buněk (např. Inoue et al. 2010). To vede postupně ke vtoku vody do buněk, zvyšování turgoru a k otevírání průduchu (Inoue et al. 2010).

Otevírání průduchů může být stimulováno nejen samotným modrým světlem o nízké intenzitě, ale také červeným světlem či vysokými intenzitami modrého světla (Assmann & Shimazaki 1999; Roelfsema & Hedrich 2005). Tato signální cesta nejspíš závisí na koncentraci sacharózy v apoplastu, která se zvyšuje se stoupající rychlostí fotosyntézy ve svěřacích buňkách (Wang et al. 2011).

Otevírání průduchů na modrém světle je obecně pomalejší než nárůst rychlosti fotosyntézy. Rychlost fotosyntézy obecně dosahuje maximálních hodnot několik minut po osvětlení, ale otevřenost průduchů dosahuje svého maxima asi až po 20 minutách vystavení světlu (Shimazaki et al. 2007).

Stimulace otevírání průduchů modrým světlem usnadňuje průnik CO_2 k buňkám uvnitř listu, čímž se zvyšuje fotosyntéza. Fototropiny řídí kromě otevírání průduchů také ohyb stonku a pohyb listů a chloroplastů. Tím zvyšují účinnost zachycení fotonů a rychlost přenosu elektronů v elektron-transportním řetězci světelné fáze fotosyntézy. Modré světlo tedy zvyšuje rychlost fotosyntézy jak zlepšováním dodávky CO_2 pomocí otevírání průduchů, tak i pomocí zvyšování účinnosti světelné fáze fotosyntézy (Shimazaki et al. 2007).

2.4. ZAVÍRÁNÍ PRŮDUCHŮ POMOCÍ ABA

ABA je fytohormon, který se uplatňuje v časných fázích ontogeneze rostliny (např. při klíčení (např. Lim et al. 2012)) a v reakcích rostlin na vnější prostředí. Je jedním z nejdůležitějších stresových hormonů, který působí např. při dormanci pupenů, reakcích na sucho a zasolení a při uzavírání průduchů (Himmelbach et al. 2003; Miyakawa et al. 2013; Wilkinson & Davies 2002). Uzavírání průduchů vede k inhibici fotosyntézy (např. Lim et al. 2012).

Při stresu suchem klesá v buňkách kořenů turgor, což je signálem pro syntézu ABA v kořenech rostliny (Seo & Koshiba 2011). ABA je syntetizována také v chloroplastech svěřacích buněk (Daszkowska-Golec & Szarejko 2013) z prekurzorů karotenoidů (Acharya & Assmann 2009; Seo & Koshiba 2011; Xu et al. 2013). Nově syntetizovaná ABA je transportována do listů, kde je její šíření usnadněno zvyšováním pH v apoplastu listů (Acharya & Assmann 2009; Assmann & Shimazaki 1999; Seo & Koshiba 2011; Wilkinson & Davies 2002). Tam spolu s ABA tvořenou v chloroplastech svěřacích buněk stimuluje uzavírání průduchů a inhibuje jejich otevírání (Assmann & Shimazaki 1999; Daszkowska-Golec & Szarejko 2013; Pospíšilová 2003; Seo & Koshiba 2011).

ABA se dostává do svěřací buňky v protonované formě (Assmann & Shimazaki 1999; Pospíšilová 2003) a zde se váže na receptor v cytosolu nebo v chloroplastu (Lim et al. 2012; Miyakawa et al. 2013; Xu et al. 2013). Další možností přenosu signálu ABA do buňky je navázání molekuly ABA na G-proteinový receptor na povrchu buňky (Lim et al. 2012; Miyakawa et al. 2013; Xu et al. 2013). ABA inhibuje otevírání průduchů pomocí signální dráhy opačné k signální dráze modrého světla (např. Acharya & Assmann 2009; Assmann & Shimazaki 1999) a stimuluje uzavírání průduchů třemi cestami: změnami osmotického potenciálu svěřacích buněk, změnami mechanických vlastností svěřacích buněk a změnami v expresi genů (Pospíšilová 2003).

ABA působí na iontové kanály ve svěřacích buňkách a stimuluje produkci signálních molekul H_2O_2 a oxidu dusného (NO), které dále působí v signálních drahách, jejichž cílem je uzavření průduchů (Acharya & Assmann 2009; Daszkowska-Golec & Szarejko 2013; Gayatri et al. 2013; Himmelbach et al. 2003; Inoue et al. 2010; Lim et al. 2012). ABA aktivuje pomalý i rychlý typ aniontových kanálů, čímž dochází k výtoku aniontů (hlavně malátu a Cl^-) z buňky a k depolarizaci plazmatické membrány. Depolarizace stimuluje otevírání draselných kanálů transportujících K^+ z vakuoly a buňky a inaktivuje aniontové i draselné kanály transportující K^+ a anionty dovnitř buňky

(Acharya & Assmann 2009; Assmann & Shimazaki 1999; Daszkowska-Golec & Szarejko 2013; Lim et al. 2012; Miyakawa et al. 2013; Pospíšilová 2003; Roelfsema & Hedrich 2005). Spolu s anionty a draselnými kationty z buňky odchází voda, v buňce klesá turgor a dochází k uzavírání průduchu (Lim et al. 2012; Pospíšilová 2003; Roelfsema & Hedrich 2005; Wilkinson & Davies 2002). ABA také aktivuje G-proteiny (Acharya & Assmann 2009), inhibuje činnost H⁺-ATPasy (Inoue et al. 2010; Pospíšilová 2003; Roelfsema & Hedrich 2005), zvyšuje intracelulární koncentraci Ca²⁺ (Acharya & Assmann 2009; Assmann & Shimazaki 1999; Daszkowska-Golec & Szarejko 2013; Himmelbach et al. 2003; Pospíšilová 2003; Roelfsema & Hedrich 2005; Wilkinson & Davies 2002), a tím i pH cytosolu (Acharya & Assmann 2009; Assmann & Shimazaki 1999; Lim et al. 2012). Dalším sekundárním poslem ABA je kyselina fosfatidová aktivovaná fosfolipázou D (PLD), která inhibuje PP1 a umožňuje tím otevírání kanálů transportujících Ca²⁺ ven z buňky (Himmelbach et al. 2003; Inoue et al. 2010).

ABA také zvyšuje expresi některých genů vedoucí např. ke změnám obsahu proteinů zahrnutých v transportu vody a iontů (Himmelbach et al. 2003; Pospíšilová 2003) a snižuje propustnost listových pletiv pro vodu (Pantin et al. 2013). Způsobuje také reorganizaci aktinových vláken ve svěracích buňkách z radiálně uspořádaných vláken na náhodně orientované krátké fragmenty, což napomáhá uzavírání průduchů (Acharya & Assmann 2009; Eun & Lee 1997).

Uzavírání průduchů působením ABA snižuje rychlost fotosyntézy. ABA tedy působí na otevřenost průduchů a rychlost fotosyntézy v opačném smyslu než modré světlo (např. Acharya & Assmann 2009; Assman & Shimazaki 1999). To prostřednictvím fototropinů stimuluje otevírání průduchů, a tím zvyšuje rychlost fotosyntézy (např. Inoue et al. 2010; Lin 2002; Marten et al. 2010). Ke studiu vzájemného působení těchto dvou faktorů (světla a ABA) lze využít mutantů rostlin, které mají poruchu v signální dráze modrého světla nebo ABA. Mutant rajčete *7B-1* představuje ideální modelovou rostlinu pro toto studium. Protože je tento mutant méně citlivý k modrému světlu a má zvýšený obsah ABA (Bergounoux et al. 2009, 2012; Fellner et al. 2001; Fellner & Sawhney 2002; Hlavinka et al. 2013), předpokládáme, že na modrém světle bude pomaleji otevírat průduchy a bude mít sníženou rychlost fotosyntézy.

3. CÍLE PRÁCE

Cílem práce bylo zjistit, zda a jak je u rostlin mutanta rajčete *7B-1* ovlivněno otevírání průduchů a indukce fotosyntézy na modrém světle a zda se liší rychlost růstu stonku v porovnání s normálními rostlinami rajčete.

4. MATERIÁL A METODY

4.1. MATERIÁL

K měření byly použity dva genotypy rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum* L.): kultivar Rutgers jako kontrolní rostlina (WT) a mutant *7B-1*. Semena mutanta *7B-1* byla poskytnuta profesorem Vipen K. Sawhney (University of Saskatchewan, Kanada). Rostliny byly pěstovány během října 2010 ve skleníku jednotlivě ve standardizovaných květináčích (rozměr 80 × 80 × 70 mm, objem 448 cm³; jedno semeno v každém květináči, 10 mm hluboko) v půdě (Potgrond H, Klasmann Deilmann GmbH, Německo) a každý den zalévány. 16hodinová světelná perioda byla udržována pomocí vysokotlakových sodíkových lamp Planta Star E40/ES 400 W (Osram GmbH, Německo), teplota se pohybovala mezi 15 a 27 °C.

Tři týdny staré rostliny byly přemístěny do fytokomory SGC.170.PFX.J (Weiss-Gallenkamp, Ltd., Loughborough, Velká Británie) a ponechány dva týdny k aklimatizaci. Podmínky ve fytokomoře byly nastaveny na 16hodinovou světelnou periodu se světlem z fluorescenčních zářivek Luxline Plus F58W/830 (Havells Sylvania GmbH, Německo) o intenzitě 100 μmol m⁻² s⁻¹, teplotou 25 °C ve dne / 18 °C v noci a relativní vzdušnou vlhkostí 50 % ve dne / 55 % v noci.

4.2. GAZOMETRICKÉ MĚŘENÍ

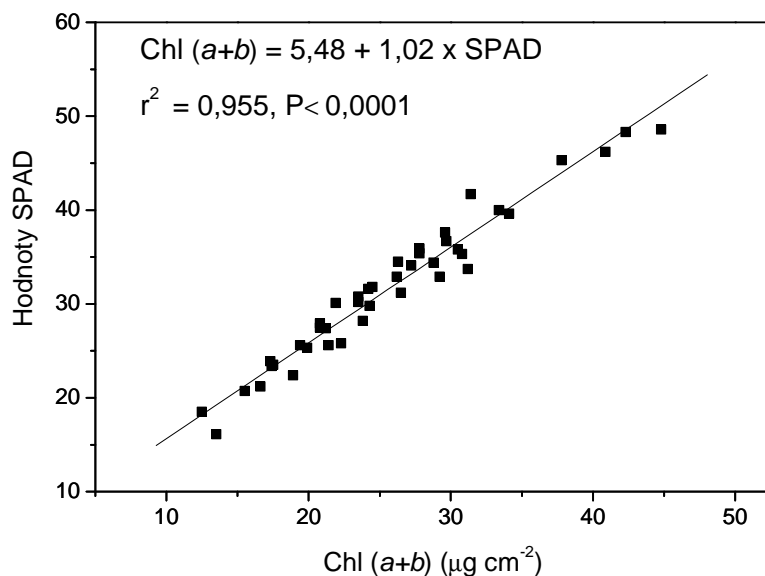
Měření fotosyntetických parametrů bylo prováděno na plně vyvinutých listech pomocí otevřené gazometrické aparatury LI-6400 (LI-COR Inc., Lincoln, NE, USA). Byly měřeny listy ve třech různých úrovních (viz dále) na 7 rostlinách od každého genotypu ve třech termínech (stáří rostlin 5, 7 a 9 týdnů). K měření byly použity 1. listy 5týdenních rostlin, 1. a 4. listy 7týdenních rostlin a 4. a 9. (list pod květenstvím) listy 9týdenních rostlin (listy počítány od báze). Měření bylo prováděno během světelné periody mezi 8. a 16. hodinou v různém pořadí rostlin WT a *7B-1* tak, aby byl vyloučen vliv změn fotosyntetické aktivity v průběhu dne.

Měřený list byl 30 min před měřením vložen do asimilační komory přístroje za účelem adaptace na tmu a podmínky v komoře. Koncentrace CO₂ v komoře byla nastavena na 380 μmol mol⁻¹, relativní vzdušná vlhkost na 50 % a teplota vzduchu na 23 °C. Vlastní měření probíhalo 5 min ve tmě a poté 65 min na modrém aktinickém světle o intenzitě přibližně 380 μmol m⁻² s⁻¹. Data byla zaznamenávána každých 30 s,

z rovnice podle von Caemmerera & Farquhara (1981) byla vypočítána stomatální vodivost (g_s), rychlost fotosyntézy (P_N) a rychlost transpirace (E) a zkonstruována jejich indukční křivka. Hodnoty g_s , P_N a E v ustáleném stavu a časy dosažení ustáleného stavu byly vyhodnoceny z indukčních křivek. Čas dosažení ustáleného stavu byl určen jako průsečík přímek procházejících rostoucí částí a horizontální částí indukční křivky. Efektivita využití vody (WUE_i) byla vypočítána jako poměr hodnot P_N a g_s v ustáleném stavu.

4.3. MĚŘENÍ OBSAHU CHLOROFYLU

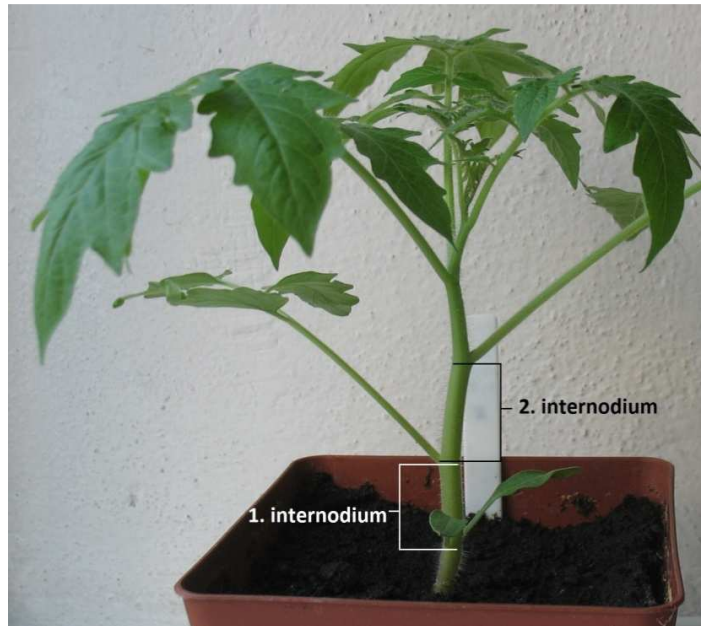
Obsah chlorofylu (Chl ($a+b$)) byl stanoven nedestruktivním měřením pomocí chlorofylmetru SPAD-502 (Konica Minolta Sensing, Japonsko) na listech používaných pro měření fotosyntézy. Měření bylo prováděno 1 den po měření fotosyntézy po 30minutové aklimaci rostliny na tmě. Změřené hodnoty byly převedeny na reálný obsah chlorofylu pomocí kalibrační křivky (Obr. 1). Ta byla získána změřením obsahu chlorofylu chlorofylmetrem SPAD-502 a analytickým stanovením v totožných vzorcích listů rajčete. Po změření obsahu chlorofylu chlorofylmetrem byly z listů vyřezány disky o průměru 14 mm, které byly zmrazeny v tekutém dusíku. Poté byly homogenizovány v 80% acetonu s malým množstvím $MgCO_3$ a centrifugovány 5 min při $3\,600 \times g$. Absorbance supernatantu (při vlnových délkách uvedených Lichtenthalerem (1987)) byla měřena pomocí spektrometru Unicam UV550 (Unicam UV550 ThermoSpectronic, Cambridge, Velká Británie) se spektrální šířkou štěrbinou 1 nm. Z hodnot absorbance byl podle Lichtenthalera (1987) vypočítán Chl ($a+b$) v supernatantu. Mezi hodnotami SPAD a Chl ($a+b$) byla pro listy rajčete nalezena lineární korelace ($r^2 = 0,955$, $P < 0,0001$): $Chl (a+b) (\mu g\ cm^{-2}) = 5,48 + 1,02 \times SPAD$ (Obr. 1).



Obr. 1: Kalibrační křivka pro odečet obsahu chlorofylu v listu rajčete z hodnot SPAD na základě analyticky určených hodnot Chl ($a+b$).

4.4. MĚŘENÍ RYCHLOSTI RŮSTU STONKU

Rychlost růstu stonku byla vyhodnocována pomocí měření délky šesti a od 48. dne, resp. 51. dne stáří rostliny osmi, resp. devíti internodií (počínaje internodiem mezi děložními listy a prvním pravým listem) (Obr. 2) na 10 rostlinách WT i *7B-1*. Měření probíhalo každý 1. a 5. den v týdnu od stáří rostlin 37 dní (tj. 5 týdnů) po dobu 4 týdnů (do stáří rostlin 62 dnů / 9 týdnů). Byla vyhodnocena délka internodia (d) a celkový relativní přírůstek internodia (Δd). Celkový relativní přírůstek internodia byl vypočítán jako $\Delta d = (d - d_1)/d_1$, kde d je délka internodia na konci měření (ve stáří 62 dní) a d_1 je délka internodia na začátku měření (ve stáří 37 dní, pro 7. a 8. internodium 48 dní, pro 9. internodium 51 dní).



Obr. 2. Pokusná rostlina s vyznačenými internodii.

4.5. STATISTICKÉ ANALÝZY

Pro porovnání naměřených parametrů u rostlin *7B-1* a *WT* byl použit dvouvýběrový t-test. Pro srovnání parametrů naměřených na stejném listě (1. nebo 4. list) ve dvou různých termínech byl použit dvouvýběrový párový t-test. Statistické analýzy byly prováděny pomocí programu OriginPro 8.5.1 (OriginLab Corporation, Northampton, MA, USA).

5. VÝSLEDKY A DISKUSE

5.1. GAZOMETRICKÉ PARAMETRY

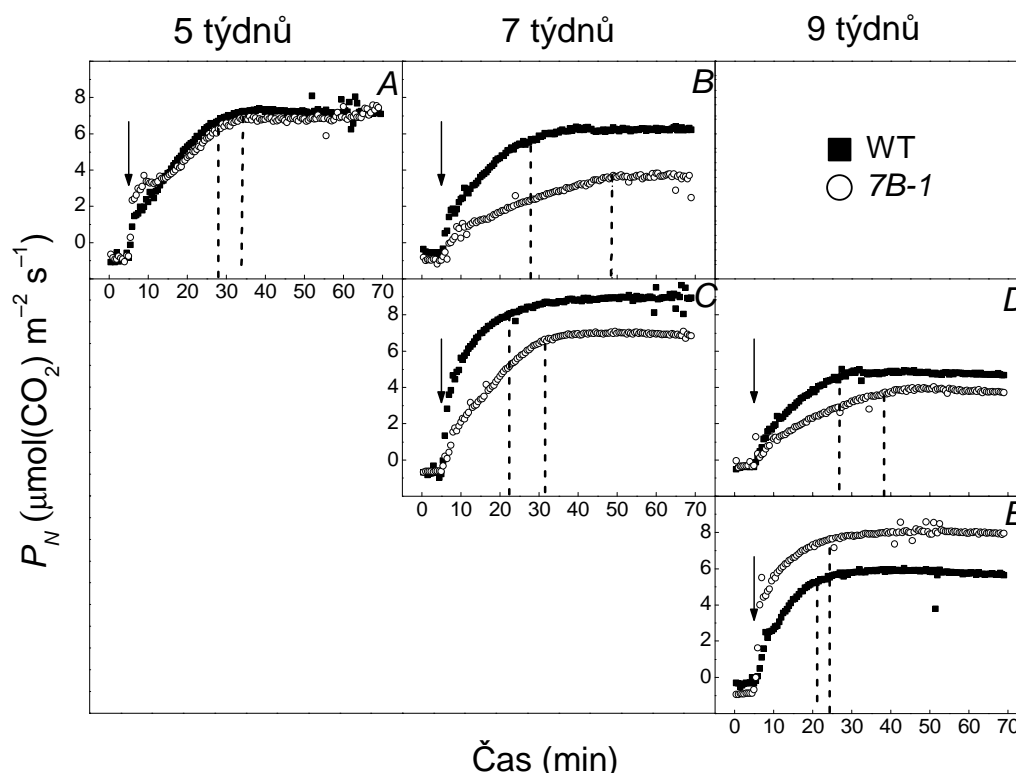
Když byl list adaptovaný na tmou vystaven modrému světlu, začaly se otevírat průduchy a rostla hodnota P_N a E , až dosáhly rovnovážného, ustáleného stavu (Obr. 3). Mutant *7B-1* v porovnání s WT vykazoval pomalejší světlem indukovaný nárůst g_s , P_N a E do ustáleného stavu u 1. listů 7týdenních rostlin a 4. listů 9týdenních rostlin (Obr. 3, Tab. 1). Nárůst P_N a E do ustáleného stavu po vystavení modrým světlem byl pomalejší i u 4. listů 7týdenních rostlin (Obr. 3, Tab. 1).

Tab. 1. Čas dosažení ustáleného stavu stomatální vodivosti (g_s), rychlosti fotosyntézy (P_N) a rychlosti transpirace (E) u 1., 4. a 9. listů 5-, 7- a 9týdenních rostlin WT a *7B-1*.

	5 týdnů 1. list	7 týdnů		9 týdnů	
		1. list	4. list	4. list	9. list
Čas dosažení ustáleného stavu g_s (min)					
WT	36 ± 6	39 ± 3	38 ± 7	34 ± 3	35 ± 4
<i>7B-1</i>	37 ± 7	55 ± 7*+	43 ± 6	50 ± 7*	39 ± 8
Čas dosažení ustáleného stavu P_N (min)					
WT	28 ± 11	27 ± 4	21 ± 2	24 ± 4	21 ± 2
<i>7B-1</i>	34 ± 7	49 ± 6*+	31 ± 6*	37 ± 8*	24 ± 9
Čas dosažení ustáleného stavu E (min)					
WT	34 ± 4	39 ± 3+	37 ± 3	33 ± 1+	32 ± 2
<i>7B-1</i>	37 ± 7	55 ± 9*+	43 ± 6*	48 ± 7*	39 ± 8

Uvedeny průměry ± SD; n = 6–7; * signifikantně odlišné ($P < 0,05$) od odpovídajícího listu WT, + signifikantně odlišné ($P < 0,05$) od stejného listu na stejné úrovni měřeného o dva týdny dříve.

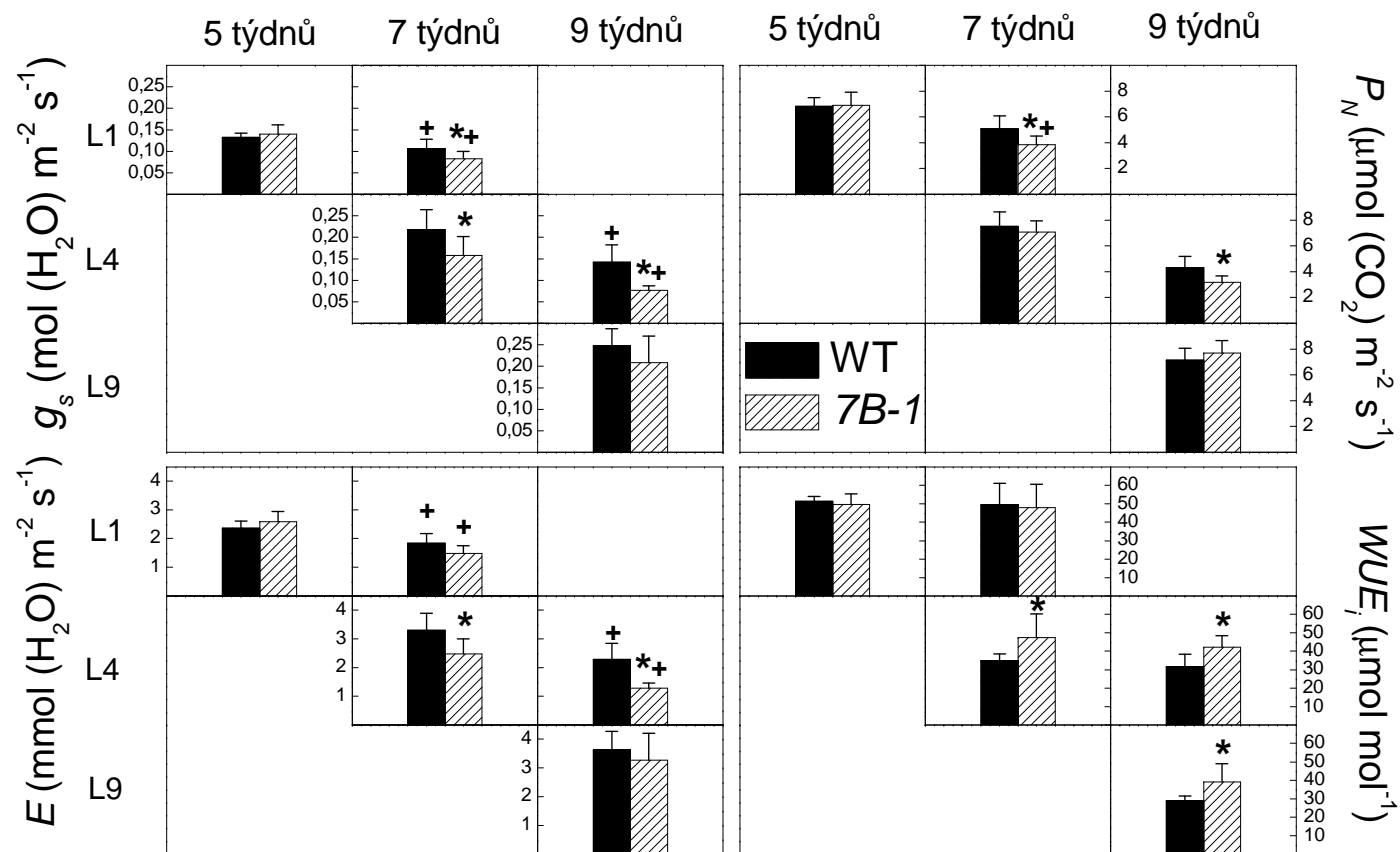
Hodnoty g_s v ustáleném stavu byly u 1. listů 7týdenních rostlin a u 4. listů 7- i 9týdenních rostlin mutanta *7B-1* nižší než u odpovídajících listů WT rostlin (Obr. 4). Podobné výsledky byly zjištěny i u saturačních hodnot P_N a E (Obr. 4).



Obr. 3. Reprezentativní indukční křivky rychlosti fotosyntézy (P_N) 1. listů 5týdenních rostlin (A), 1. listů (B) a 4. listů (C) 7týdenních rostlin a 4. listů (D) a 9. listů (E) 9týdenních rostlin WT a 7B-1. Šipky značí zapnutí modrého světla, přerušované čáry označují čas dosažení ustáleného stavu.

Se zvyšujícím se stářím 1. listů 7B-1 docházelo ke zpomalování nárůstu g_s , P_N a E do ustáleného stavu ve srovnání s měřením prováděným o dva týdny dříve (Tab. 1), tzn., že u 1. listů 5týdenních rostlin 7B-1 byl naměřen rychlejší nárůst g_s , P_N a E do ustáleného stavu než u 1. listů 7týdenních rostlin. S vyšším stářím 1. i 4. listů WT i 7B-1 rostlin docházelo také ke snižování saturačních hodnot g_s , P_N (pouze u 1. listu 7B-1) a E (Obr. 4). Také rozdíly v čase dosažení ustáleného stavu i v saturačních hodnotách mezi odpovídajícími listy WT a 7B-1 rostlin se se stářím listu zvětšovaly (Tab. 1, Obr. 4).

Přestože rostliny 7B-1 měly u 1. listů 7týdenních rostlin a 4. listů 9- a v některých případech i 7týdenních rostlin pomalejší nárůst parametrů do saturace a nižší hodnoty těchto parametrů v ustáleném stavu u stejných listů, u 1. listů 5týdenních a 9. listů 9týdenních rostlin nebyly žádné rozdíly ve fotosyntetických parametrech nalezeny. Nedá se tedy obecně vyvodit, že mutant 7B-1 byl ve všech parametrech měřených na všech listech horší než WT rostliny.



Obr. 4. Hodnoty stomatální vodivosti (g_s), rychlosti fotosyntézy (P_N), rychlosti transpirace (E) a efektivity využití vody (WUE_i) v ustáleném stavu u 1. (L1), 4. (L4) a 9. (L9) listů 5-, 7- a 9týdenních rostlin WT a 7B-1. Černé sloupce značí WT, šrafované 7B-1; jsou zobrazeny aritmetické průměry + SD; n = 6–7; * signifikantně odlišné ($P < 0,05$) od odpovídajícího listu WT, + signifikantně odlišné ($P < 0,05$) od stejného listu na stejné úrovni měřeného o dva týdny dříve.

Naměřené rozdíly na 1. a 4. listech starších rostlin mohou být způsobeny zvýšeným obsahem endogenní ABA a sníženou citlivostí rostlin *7B-1* k modrému světlu (Bergougnoux et al. 2012; Fellner et al. 2001; Fellner & Sawhney 2002; Hlavinka et al. 2013). Tato kombinace faktorů by měla vést ke snížené otevřenosti průduchů na modrém světle, a tím i snížené rychlosti fotosyntézy. To ale nebylo zjištěno u všech listů *7B-1* rostlin a nedá se tedy říci, že mutant *7B-1* má obecně nižší g_s , P_N a E .

Nižší g_s a P_N i pomalejší nárůst těchto parametrů do saturačních hodnot u starších listů mutantu *7B-1* mohou být spojeny s rychlejší ontogenezí listů *7B-1* v porovnání s listy WT, protože rychlost otevírání průduchů a tím i indukce P_N se může se stárnutím listu zpomalovat (Ögren & Sundin 1996). Chl ($a+b$), který se považuje za ukazatel míry listové senescence, se ale mezi listy WT a *7B-1* rostlin nelišil (Tab. 2). To znamená, že nižší hodnoty fotosyntetických parametrů u některých listů *7B-1* nebyly způsobeny nižším obsahem chlorofylu v listech a tyto rostliny se ještě nedostaly do fáze senescence. Nicméně je známo, že g_s , P_N a E mohou klesat během ontogeneze listu ještě předtím, než začne v listu klesat obsah chlorofylu (Majer & Hideg 2012; Xu et al. 1997).

Tab. 2. Obsah chlorofylu (Chl ($a+b$)) u 1., 4. a 9. listů 5-, 7- a 9týdenních rostlin WT a *7B-1*.

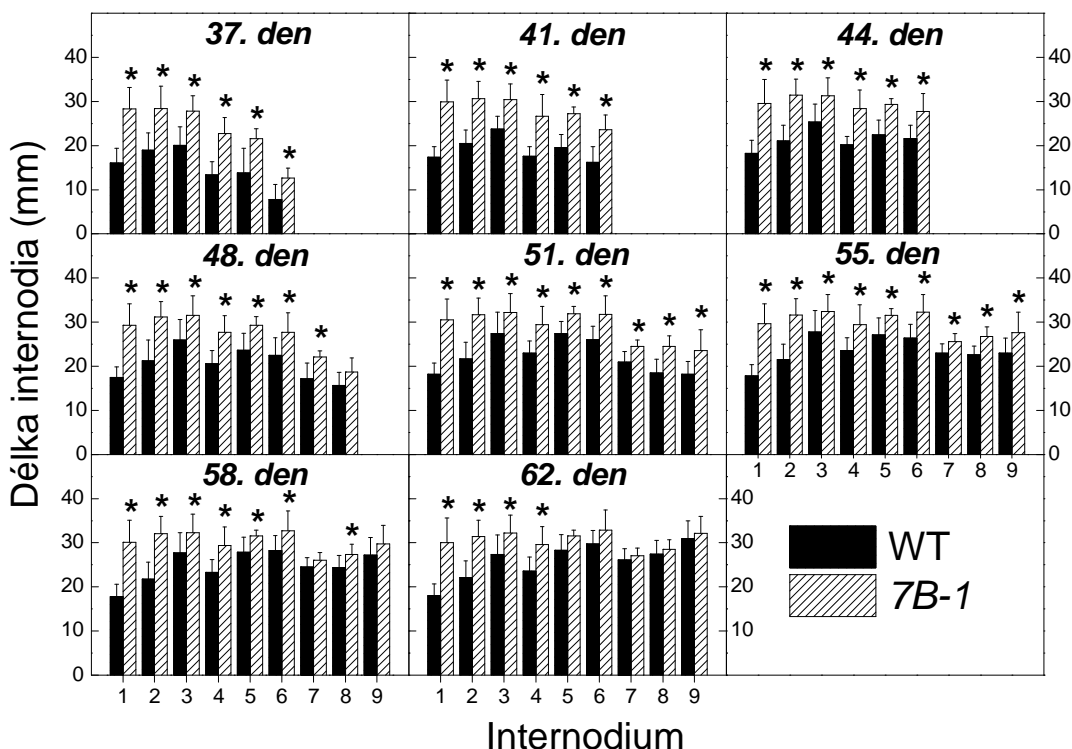
	5 týdnů	7 týdnů		9 týdnů	
	1. list	1. list	4. list	4. list	9. list
	Chl ($a+b$) ($\mu\text{g cm}^{-2}$)				
WT	36 \pm 1	35 \pm 2 ⁺	36 \pm 2	35 \pm 4	44 \pm 4
<i>7B-1</i>	36 \pm 1	34 \pm 4	37 \pm 2	35 \pm 2 ⁺	47 \pm 3

Uvedeny průměry \pm SD; n = 6–7; * signifikantně odlišné ($P < 0,05$) od odpovídajícího listu WT, + signifikantně odlišné ($P < 0,05$) od stejného listu na stejné úrovni měřeného o dva týdny dříve.

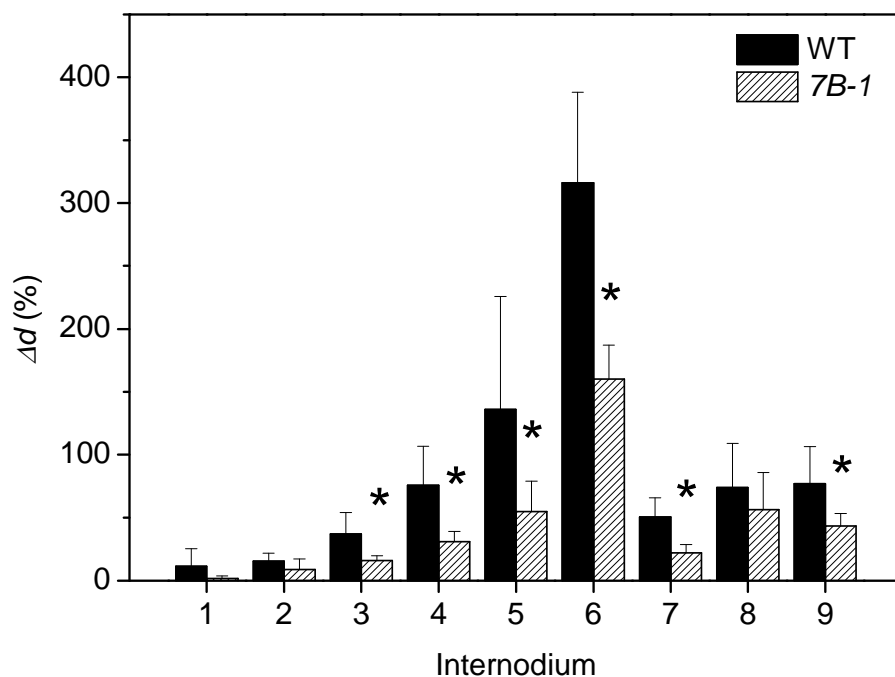
Dalším důvodem naměřených rozdílů ve fotosyntetických parametrech mezi *7B-1* a WT může být zvýšený obsah endogenní ABA v listech *7B-1*. To je indikováno zvýšenou WUE_i naměřenou u 4. listů 7- i 9týdenních rostlin a u 9. listů 9týdenních rostlin mutantu *7B-1* (Obr. 4). Je známo, že WUE_i roste s rostoucím obsahem endogenní ABA (Zhang et al. 2004), což bylo potvrzeno i u transgenních rostlin rajčete se zvýšeným obsahem ABA (Thompson et al. 2007). Avšak, jak vyplývá z našich výsledků, u 1. listů *7B-1* a WT rostlin nebyl významný rozdíl v hodnotách WUE_i naměřen. To může být vysvětleno nižší citlivostí mladých rostlin *7B-1* k endogenní ABA, jak předpokládají Fellner & Sawhney (2002). Protože je známo, že ABA ovlivňuje kromě průduchů také růst stonku a vývoj listů, měřili jsme rychlost růstu stonku během vývoje *7B-1* rostlin a porovnávali ji s WT rostlinami.

5.2. RŮST STONKU

Na začátku měření (tj. ve stáří 37 dní) byla všechna měřená internodia (1.–6.) *7B-1* rostlin delší než internodia WT rostlin (Obr. 5). V průběhu měření rostliny *7B-1* i WT rostly a zvětšoval se i počet jejich internodií. Během prvního týdne měření (tj. 41. a 44. den (tzn. 5. týden) stáří rostliny) byla délka všech měřených internodií (1.–6.) *7B-1* rostlin větší než u WT rostlin (Obr. 5). 48. den (6. týden) stáří rostlin byla opět všechna internodia *7B-1* rostlin kromě posledního, osmého, delší než internodia WT rostlin (Obr. 5). Délka všech internodií (1.–9.) měřená 51. až 55. den (tj. 7. týden) stáří rostlin byla u *7B-1* rostlin větší než u WT rostlin (Obr. 5). Ve stáří rostlin 58 dní byla všechna internodia *7B-1* rostlin kromě 7. a 9. delší než u WT rostlin (Obr. 5). Na konci měření (62. den, 9. týden stáří rostlin) bylo pouze 1.–4. internodium *7B-1* rostlin delší než příslušná internodia WT rostlin (Obr. 5). Celkový relativní přírůstek internodia byl u 3.–7. a 9. internodia *7B-1* rostlin nižší než u stejných internodií WT rostlin (Obr. 6).



Obr. 5: Délka jednotlivých internodií WT a *7B-1* rostlin ve stáří 37, 41, 44, 48, 51, 55, 58 a 62 dní. Černé sloupce představují WT rostliny, šrafované *7B-1* rostliny; uvedeny průměry + SD; n = 6–10; * signifikantně odlišné hodnoty (P < 0,05).



Obr. 6. Celkový relativní přírůstek Δd (%) jednotlivých internodií mezi 37. a 62. dnem stáří rostlin. Černé sloupce představují WT rostliny, šrafované *7B-1* rostliny; uvedeny průměry + SD; n = 5–10; * signifikantně odlišné hodnoty ($P < 0,05$).

Z výsledků je patrné, že rostliny *7B-1* měly v časně ontogenetické fázi rychlejší růst stonku než WT rostliny a že na začátku experimentu byl u těchto rostlin ukončený růst spodních internodií (Obr. 3). To může být způsobeno vyšším endogenním obsahem ABA v hypokotylech *7B-1* a jejich sníženou de-etiolizací na modrém světle (Bergougnoux et al. 2012; Fellner et al. 2001). ABA může urychlovat růst stonku zvýšením buněčného turgoru a vodního stavu nebo zvýšením účinnosti signální cesty ABA (Thompson et al. 2007).

Dalším vysvětlením toho, že mutant *7B-1* rostl rychleji v časně ontogenetické fázi a se zvyšujícím se stářím rostlin se jeho růst zpomaloval, může být již zmiňovaná změna citlivosti k ABA během ontogenetického vývoje. Sharp et al. (2000) zmiňuje, že ABA u mladých rostlin rajčete může inhibovat růst stonku, ale v pozdějších vývojových fázích může růst stonku stimulovat. U rostlin *7B-1* byl ale pozorován opačný jev. Rychlejší růst hypokotylů a stonku mladých rostlin *7B-1* může být způsoben nižší citlivostí rostlin k ABA. Během vývoje rostlin se citlivost k ABA zřejmě zvyšovala a rychlost růstu stonku se mohla kvůli pomalejší rychlosti fotosyntézy způsobené uzavíráním průduchů pomocí ABA zpomalovat.

ABA ovlivňuje kromě růstu rostlin také tvorbu etylenu, který má vliv i na růst stonku (Fellner et al. 2005). Hypokotyly *7B-1* mají zvýšenou citlivost k etylenu a sníženou jeho tvorbu (Fellner et al. 2005), což, spolu se změněným obsahem giberelinů a kombinací ABA a etylenu, může mít vliv na rychlost růstu během celého ontogenetického vývoje rostlin. Zjištěné rozdíly v rychlosti růstu stonku mezi *7B-1* a WT rostlinami v průběhu měření mohly být výrazně sníženy sníženou tvorbou etylenu a giberelinů u *7B-1* rostlin a kombinací účinku těchto rostlinných hormonů. K objasnění těchto vztahů je třeba dalších studií.

6. ZÁVĚR

V této práci bylo zkoumáno, jestli a jak se mění otevírání průduchů a rychlost fotosyntézy na modrém světle u spontánního recesivního mutanta rajčete *7B-1* s poruchou v signální dráze modrého světla. Dále jsme zkoumali rychlost růstu stonku dospělých rostlin tohoto mutanta a srovnávali tyto parametry s kontrolními rostlinami rajčete kultivaru Rutgers (WT).

S rostoucím stářím listů mutanta *7B-1* docházelo na modrém světle ke zpomalování rychlosti otevírání průduchů a nárůstu P_N a E do ustáleného stavu a ke snižování hodnot těchto parametrů v ustáleném stavu ve srovnání s odpovídajícími listy WT rostlin. To může být způsobeno rychlejší ontogenezí rostlin *7B-1*, což by potvrzoval i rychlejší růst stonku *7B-1* rostlin v časně ontogenetické fázi. Avšak Chl ($a+b$) se ve starších listech v porovnání s listy WT nesnižoval, jak bychom očekávali. Hlavním důvodem pro nalezené rozdíly ve fotosyntetických parametrech (g_s , P_N , E) mezi *7B-1* a WT rostlinami může být zvýšený obsah endogenní ABA v listech *7B-1* rostlin a jejich nižší citlivost k modrému světlu. ABA stimuluje uzavírání průduchů, a tím snižuje P_N , což může být příčinou nižších hodnot tohoto parametru u 1. a 4. listů *7B-1*. Vyšší hodnoty WUE_i naměřené u 4. a 9. listů *7B-1* tuto hypotézu podporují. Na druhou stranu, mladší rostliny mutanta *7B-1* mohou být méně citlivé k endogenní ABA, což může být příčinou toho, že g_s , P_N a WUE_i u 1. listů mladších rostlin dosahovaly u mutanta *7B-1* i u kontrolních rostlin podobných hodnot.

Vyšší obsah endogenní ABA a porucha v reakci na modré světlo u mutanta *7B-1* může mít také vliv na růst stonku rostlin. Rychlejší růst stonku rostlin mutanta v časně ontogenetické fázi může být způsoben sníženou de-etiolizací na modrém světle a sníženou citlivostí rostlin k ABA, i když hladina endogenní ABA mohla být vyšší než u WT rostlin. V průběhu ontogenetického vývoje rostlin se citlivost mutantů k ABA mohla zvyšovat a rychlost růstu stonku v důsledku nižší rychlosti fotosyntézy zpomalovat. Naměřené změny v rychlosti růstu stonku rostlin během ontogenetického vývoje *7B-1* rostlin mohly být také způsobeny zvýšenou citlivostí rostlin k etylenu a jeho sníženým endogenním obsahem a také kombinací vlivu ABA, etylenu a giberelinů na růst těchto rostlin.

Z výsledků vyplývá, že rozdíly mezi mutantem rajčete *7B-1* a WT rostlinami v reakci studovaných parametrů se v průběhu ontogeneze rostlin měnily. Tyto změny jsou nejspíše způsobeny vyšším obsahem endogenní ABA a nižší citlivostí rostlin *7B-1*

k ABA v časně ontogenetické fázi vývoje. Je třeba dalších studií mutantu *7B-1* k určení poruchy v signální dráze modrého světla a k objasnění souvislosti této poruchy s obsahem ABA u dospělých rostlin a jejich vlivu na chování mutantů. Jednou z možností je studium exprese receptorů pro ABA (skupiny PYL/PYR) v závislosti na kvalitě světla.

Tato studie přispívá k objasnění chování dospělých rostlin mutantů rajčete *7B-1*, které vykazují poruchu v signální dráze modrého světla a mají změněný obsah rostlinných hormonů, na modrém světle. Modré světlo a ABA mají opačný vliv na otevírání průduchů a studiem vlivu těchto dvou faktorů pomocí mutantů, kteří jsou těmito faktory ovlivněni, můžeme lépe vyhodnotit tento vztah a jeho vliv na další funkce v rostlině.

7. LITERATURA

- Acharya B. R., Assmann S. M. (2009): Hormone interactions in stomatal function. *Plant Molecular Biology* 69: 451–462.
- Assmann S. M., Shimazaki K. (1999): The multisensory guard cell. Stomatal responses to blue light and abscisic acid. *Plant Physiology* 119: 809–815.
- Bergougnoux V., Hlaváčková V., Plotzová R., Novák O., Fellner M. (2009): The *7B-1* mutation in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) confers a blue light-specific lower sensitivity to coronatine, a toxin produced by *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*. *Journal of Experimental Botany* 60: 1219–1230.
- Bergougnoux V., Zalabák D., Jandová M., Novák O., Wiese-Klinkenberg A., Fellner M. (2012): Effect of blue light on endogenous isopentenyladenine and endoreduplication during photomorphogenesis and de-etiolation of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) seedlings. *PLOS ONE* 7: e45255.
- Briggs W. R., Christie J. M. (2002): Phototropins 1 and 2: versatile plant blue-light receptors. *Trends in Plant Science* 7: 204–210.
- Daszkowska-Golec A., Szarejko I. (2013): Open or close the gate – stomata action under the control of phytohormones in drought stress conditions. *Frontiers in Plant Science* 4: 138.
- Eun S., Lee Y. (1997): Actin filaments of guard cells are reorganized in response to light and abscisic acid. *Plant Physiology* 115: 1491–1498.
- Fellner M., Zhang R., Pharis R. P., Sawhney V. K. (2001): Reduced de-etiolation of hypocotyl growth in a tomato mutant is associated with hypersensitivity to, and high endogenous levels of abscisic acid. *Journal of Experimental Botany* 52: 725–738.
- Fellner M., Franklin J. A., Reid D. M., Sawhney V. K. (2005): Increased sensitivity to, and reduced production of, ethylene in an ABA-overproducing tomato mutant. *Acta Biologica Cracoviensia* 47: 205–212.
- Fellner M., Sawhney V. K. (2001): Seed germination in a tomato male-sterile mutant is resistant to osmotic, salt and low-temperature stresses. *Theoretical and Applied Genetics* 102: 215–221.
- Fellner M., Sawhney V. K. (2002): The *7B-1* mutant in tomato shows blue-light-specific resistance to osmotic stress and abscisic acid. *Planta* 214: 675–682.
- Gayatri G., Agurla S., Raghavendra A. S. (2013): Nitric oxide in guard cells as an important secondary messenger during stomatal closure. *Frontiers in Plant Science* 4: 425.
- Himmelbach A., Yang Y., Grill E. (2003): Relay and control of abscisic acid signaling. *Current Opinion in Plant Biology* 6: 470–479.
- Hlaváčková V., Krchňák P., Nauš J., Novák O., Špundová M., Strnad M. (2006): Electrical and chemical signals involved in short-term systemic photosynthetic responses of tobacco plants to local burning. *Planta* 225: 235–244.

- Hlavinka J., Nauš J., Fellner M. (2013): Spontaneous mutation *7B-1* in tomato impairs blue light-induced stomatal opening. *Plant Science* 209: 75–80.
- Inoue S., Takemiya A., Schimazaki K. (2010): Phototropin signaling and stomatal opening as a model case. *Current Opinion in Plant Biology* 13: 587–593.
- Kang B., Grancher N., Koyffmann V., Lardemer D., Burney S., Ahmad M. (2008): Multiple interactions between cryptochrome and phototropin blue-light signalling pathways in *Arabidopsis thaliana*. *Planta* 227: 1091–1099.
- Lichtenthaler H. K. (1987): Chlorophyll and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology* 148: 350–382.
- Lim C. W., Baek W., Lim S., Lee S. C. (2012): ABA signal transduction from ABA receptors to ion channels. *Genes & Genomics* 34: 345–353.
- Lin C. (2000): Plant blue-light receptors. *Trends in Plant Science* 5: 337–342.
- Lin C. (2002): Blue light receptors and signal transduction. *The Plant Cell*: S207–S225.
- Lin C., Shalitin D. (2003): Cryptochrome structure and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology* 54: 469–496.
- Majer P., Hideg E. (2012): Developmental stage is an important factor that determines the antioxidant responses of young and old grapevine leaves under UV irradiation in a greenhouse. *Plant Physiology and Biochemistry* 50: 15–23.
- Marten I., Deeken R., Hedrich R., Roelfsema M. R. G. (2010): Light-induced modification of plant plasma membrane ion transport. *Plant Biology* 12: 64–79.
- Miyakawa T., Fujita Y., Yamaguchi-Shinozaki K., Tanokura M. (2013): Structure and function of abscisic acid receptors. *Trends in Plant Science* 18: 259–266.
- Ögren E., Sundin U. (1996): Photosynthetic responses to variable light: a comparison of species from contrasting habitats. *Oecologia* 106: 18–27.
- Omidvar V., Fellner M. (2015): DNA methylation and transcriptomic changes in response to different lights and stresses in *7B-1* male-sterile tomato. *PLOS ONE* 10: e0121864.
- Pantin F., Monnet F., Jannaud D., Costa J. M., Renaud J., Muller B., Simonneau T., Genty B. (2013): The dual effect of abscisic acid on stomata. *New Phytologist* 197: 65–72.
- Pospíšilová J. (2003): Participation of phytohormones in stomatal regulation of gas exchange during water stress. *Biologia Plantarum* 46: 491–506.
- Roelfsema M. R. G., Hedrich R. (2005): In the light of stomatal opening: new insights into ‘the Watergate’. *New Phytologist* 167: 665–691.
- Seo M., Koshiba T. (2011): Transport of ABA from the site of biosynthesis to the site of action. *Journal of Plant Research* 124: 501–507.
- Sharp R. E., LeNoble M. E., Else M. A., Thorne T. E., Gherardi F. (2000): Endogenous ABA maintains shoot growth in tomato independently of effects on plant water balance: evidence for an interaction with ethylene. *Journal of Experimental Botany* 51: 1575–1584.

- Shimazaki K., Doi M., Assmann S. M., Kinoshita T. (2007): Light regulation of stomatal movement. *Annual Review of Plant Biology* 58: 219–247.
- Thompson A. J., Andrews J., Mulholland B. J., McKee J. M. T., Hilton H. W., Horridge J. S., Farquhar G. D., Smeeton R. C., Smillie I. R. A., Black C. R., Taylor I. B. (2007): Overproduction of abscisic acid in tomato increases transpiration efficiency and root hydraulic conductivity and influences leaf expansion. *Plant Physiology* 143: 1905–1917.
- von Caemmerer S., Farquhar G. D. (1981): Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. *Planta* 153: 376–387.
- Wang Y., Noguchi K., Terashima I. (2011): Photosynthesis-dependent and -independent responses of stomata to blue, red and green monochromatic light: differences between the normally oriented and inverted leaves of sunflower. *Plant Cell Physiology* 52: 479–489.
- Wilkinson S., Davies W. J. (2002): ABA-based chemical signalling: the co-ordination of responses to stress in plants. *Plant, Cell and Environment* 25: 195–210.
- Wu G., Spalding E. P. (2007): Separate functions for nuclear and cytoplasmic cryptochrome 1 during photomorphogenesis of *Arabidopsis* seedlings. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104: 18813–18818.
- Xu H.-L., Gauthier L., Desjardins Y., Gosselin A. (1997): Photosynthesis in leaves, fruits, stem and petioles of greenhouse-grown tomato plants. *Photosynthetica* 33: 113–123.
- Xu Z., Kim D. H., Hwang I. (2013): ABA homeostasis and signaling involving multiple subcellular compartments and multiple receptors. *Plant Cell Reports* 32: 807–813.
- Zhang X., Zang R., Li C. (2004): Population differences in physiological and morphological adaptations of *Populus davidiana* seedlings in response to progressive drought stress. *Plant Science* 166: 791–797.

8. PŘÍLOHA 1 – ŽIVOTOPIS

Osobní a kontaktní údaje

Jméno a příjmení: Eliška Ježilová
Titul: Mgr.
Datum narození: 13. 2. 1986
Adresa: Koželužská 969/9,
779 00 Olomouc
Telefon: +420 737 412 916
E-mail: jezilova.eliska@gmail.com

Vzdělání

- 2010 – 2015: Univerzita Palackého v Olomouci
Přírodovědecká fakulta
doktorské studium, obor: Biofyzika
téma: Reakce rostlin na modré světlo
- 2009 – 2012: Univerzita Palackého v Olomouci
Přírodovědecká fakulta
celoživotní vzdělávání, kombinované studium, obor: Souběžné doplňující
studium učitelství biologie
(studium zakončeno státní závěrečnou zkouškou)
- 2008 – 2010: Univerzita Palackého v Olomouci
Přírodovědecká fakulta
navazující magisterské studium, obor: Botanika
název diplomové práce: Fotosyntetická kapacita cytotypů česneku
planého (*Allium oleraceum*)
(studium zakončeno státní závěrečnou zkouškou, Mgr.)
- 2005 – 2008: Univerzita Palackého v Olomouci
Přírodovědecká fakulta
bakalářské studium, obor: Systematická biologie a ekologie
název bakalářské práce: Fotosyntetická kapacita a polyploidie: přehled
metod studia a dosavadních znalostí
(studium zakončeno státní závěrečnou zkouškou, Bc.)

Pracovní zkušenosti

říjen 2015 – dosud J.M.I.T. a.s.
pozice: administrativní pracovnice

- 2015 – září 2015 Pevnost poznání
pozice: animátor sekce biologie
- 2012 – 2014 Centrum regionu Haná pro biotechnologický a zemědělský výzkum
pozice: vědecký pracovník oborů biochemie a biofyzika
- 2010 – 2011 Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta, Katedra
biofyziky
pozice: vědecký pracovník

Zahraniční stáže

říjen–prosinec 2012, květen–červenec 2013 – Mezinárodní laboratoř rostlinné
neurobiologie (LINV), Florencie, Itálie

Odborné publikace

Ježilová E., Fellner M., Bergougnoux V., Špundová M. (2012): Is the rate of photosynthesis under blue light altered in the *7B-1* tomato mutant? *Photosynthetica* 50: 477–480.

Ježilová E., Nožková-Hlaváčková V., Duchoslav M. (2014): Photosynthetic characteristics of three ploidy levels of *Allium oleraceum* L. (Amaryllidaceae) differing in ecological amplitude. *Plant Species Biology* 30: 212–224.

Mezinárodní konference

konference Plant Biology (2014) v Portlandu, Oregon, USA – poster s názvem Photosynthetic characteristics of polyploid *Allium oleraceum* L.

9. PŘÍLOHA 2 – PUBLIKACE

Ježilová E., Fellner M., Bergougnoux V., Špundová M. (2012): Is the rate of photosynthesis under blue light altered in the *7B-1* tomato mutant? *Photosynthetica* 50: 477–480.