

Univerzita Karlova v Praze
Pedagogická fakulta
Katedra biologie a environmentálních studií

Rostlinné hormony

Autor: Tatiana Petrlíková

Vedoucí práce: Doc. RNDr. Vasilis Teodoridis, Ph. D.

Praha 2012

Abstrakt

Předkládaná bakalářská práce si klade za cíl srozumitelným způsobem přiblížit problematiku rostlinných hormonů. A to nejen studentům vysokých škol, ale také pedagogům a studentům čtyřletých a víceletých gymnázií, popř. i žákům na základních školách. Důraz je kladen především na teoretické poznatky o fytohormonech s návazností na možnosti jejich následného využití v praxi, např. v zemědělství.

Práce je rozdělena na dvě části. První část se zabývá teorií. V jednotlivých kapitolách jsou podrobně popsány skupiny fytohormonů. Cesta k jejich objevu, vlastnosti, podmíněné jejich chemickou strukturou, metabolismus v rostlinách a následně jejich fyziologické účinky. Právě poznání daných vlastností nás může přivést k pochopení významu a dosud skrytého potenciálu fytohormonů.

Druhá část předkládané bakalářské se zaměřuje na implementaci problematiky fytohormonů do praktické výuky s ohledem na učivo na základních a středních školách. Jelikož jsou to právě současní studenti, kteří se budou podílet na ovlivňování vývoje životního prostředí, je velmi důležité jim zajistit dostatečné množství poznatků o problematice rostlinných hormonů a současně je dokázat srozumitelným způsobem zprostředkovat. Studenti, popř. žáci základních škol se s pojmem „fytohormony“ v běžné výuce často neseškávají. Z tohoto důvodu je možné zvolené úlohy aplikovat pouze pro demonstraci dějů, které v rostlinách probíhají a tímto způsobem studenty, popř. žáky seznámit s faktem o existenci látek, které ovlivňují fyziologické procesy v rostlinách.

Abstract

Plant hormones

Issued bachelor thesis is to in understandable way approximate problems of botanical hormones not only to university students, but also to teachers and student at 4 year and 8 year grammar schools and even secondary schools. Emphasis are made on theoretical findings about fythohormones with connection to their consequential practical usage for instance in agriculture.

The thesis is divided into two parts. Firs part is theoretical. In separate chapters there are in detail explained groups of fythohormones, way to their discovery, characteristics, conditioned by their chemical structure, metabolism in plants and consequentially their physiological effects. Precisely the findings about mentioned characteristics can bring us to the understanding of importance and hidden potential of fythohormones.

Second part is targeted to the implementation of fythohormones problems to practical education with consideration of curriculums at secondary schools and high schools. Because our contemporary students are the people who will be effecting evolution of our environment, it is really important to arrange enough information about botanical hormones problems and simultaneously to be able to get these information to them in understandable way. Student, also pupils at secondary schools do not get in touch with the word fythohormones at school very often. For this reason it is really important to apply these exercises only on processes demonstrations, which happen and effect physiological processes in plant, to get the students or pupils understand the facts about existence of mentioned matters.

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně s vyznačením všech použitých pramenů a spoluautorství. Souhlasím se zveřejněním bakalářské práce podle zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách, ve znění pozdějších předpisů. Byla jsem seznámena s tím, že se na mou práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, ve znění pozdějších předpisů.

V Praze dne:

podpis

Ráda bych poděkovala vedoucímu mé bakalářské práce Doc. RNDr. Vasilisu Teodoridisovi, Ph. D. za trpělivost, odborné vedení a cenné rady, které mi v průběhu práce poskytoval.

Dále děkuji svým blízkým za pochopení a všestrannou podporu během celé doby mého studia.

Obsah

Obsah	1
Seznam zkratek	3
1. Úvod.....	4
2. Fytohormony.....	6
2.1 Obecné vlastnosti fytohormonů	6
2.2 Rozdělení fytohormonů	8
2.3 Mechanismus působení hormonů	8
3. Klasifikace fytohormonů	10
3.1 Auxiny	10
3.1.1 Objev auxinů.....	11
3.1.2 Auxiny přirozené a syntetické	12
3.1.3 Metabolismus auxinů v rostlinách.....	13
3.1.4 Hladina auxinů v rostlinách	16
3.1.5 Transport a fyziologické účinky auxinů	16
3.2 Cytokininy	17
3.2.1 Objev cytokininů.....	18
3.2.2 Struktura cytokininů	18
3.2.3 Metabolismus cytokininů	20
3.2.4 Transport cytokininů.....	21
3.2.5 Fyziologické účinky cytokininů.....	21
3.3 Etylen	24
3.3.1 Objev etylenu	24
3.3.2 Struktura a vlastnosti etylenu.....	25
3.3.3 Metabolismus etylenu.....	25
3.3.4 Hladina a transport etylenu v rostlinách	26
3.3.5 Fyziologické účinky etylenu	27
3.4 Gibereliny	28
3.4.1 Objev giberelinů	28
3.4.2 Struktura a vlastnosti giberelinů	29
3.4.3 Metabolismus giberelinů	30

3.4.4 Fyziologické účinky giberelinů	32
3.5 Kyselina abscisová.....	34
3.5.1 Objev kyseliny abscisové.....	34
3.5.2 Struktura a vlastnosti kyseliny abscisové	34
3.5.3 Metabolizmus kyseliny abscisové	35
3.5.4 Hladina a transport kyseliny abscisové v rostlinách	36
3.5.5 Fyziologické účinky kyseliny abscisové.....	36
3.6 Brassinosteroidy.....	38
3.6.1 Objev brassinosteroidů	38
3.6.2 Struktura a vlastnosti brassinosteroidů	38
3.6.3 Metabolizmus brassinosteroidů	39
3.6.4 Hladina brassinosteroidů v rostlinách.....	40
3.6.5 Fyziologické účinky brassinosteroidů	40
4. Růstové regulátory rostlin.....	42
4.1 Kyselina jasmonová.....	42
4.1.1 Fyziologické účinky kyseliny jasmonové.....	43
4.2 Polyaminy	45
4.2.1 Fyziologické účinky polyaminů.....	46
4.3 Oligosachariny	47
4.3.1 Fyziologické účinky oligosacharinů	47
4.4 Fenolické látky.....	48
4.4.1 Fyziologické účinky fenolických látek	49
5. Obranné reakce rostlin	50
6. Rostlinné hormony v praxi	53
7. Praktická část	58
7.1 Barvení jodem jako důkaz přítomnosti cukru ve zrajícím ovoci	58
7.2 Pozorování účinku působení světla na stáčení rostlin	63
8. Závěr	68
9. Přílohy.....	69
10. Použitá literatura	70

Seznam zkratek

ABA	abscisová kyselina
ACC	kyselina 1-aminocyklopropan-1-karboxylová
AMP	adenozinmonofosfát
ATP	adenozintrifosfát
ARCK	aromatické cytokininy
BAP	benzylaminopurin
cAMP	cyklický adenosinmonofosfát
CR	receptor rozpustný v cytoplazmě
DNA	deoxyribonukleová kyselina
GA	kyselina giberelová
GMO	genetic modified organism
IAA	kyselina indolyl-3-octová
IBA	kyselina indolyl-3-máselná
IPA	kyselina indolyl-3-propionová
IPT	adenozinfosfát-izopentenyltransferáza
ISCK	izoprenoidní cytokininy
JA	kyselina jasmonová
MCPA	2-metyl-4-chlorfenoxyoctová kyselina
MeJA	metylester kyseliny jasmonové
mRNA	messenger RNA
NR	nový receptor
NAA	α -naftyloctová kyselina
NOA	β -naftyloctová kyselina
PAA	kyselina fenylloctová
SAM	S-adenozylmetionin
SA	kyselina salicylová
SAR	systemic acquired resistance
XET	xyloglukanendotransglykoláza
2,4-D	2,4-dichlorfenoxyoctová kyselina
2,4,5-T	2,4,5-trichlorfenoxyoctová kyselina

1. Úvod

Do počátku 20. století byl růst a vývoj rostlin vysvětlován pouze v souvislosti s jejich výživou. Až německý botanik Julius von Sachs (1832-1897), na základě svého výzkumu, vyslovil myšlenku o existenci specifických chemických signálů, pomocí nichž spolu mohou jednotlivé orgány rostlin vzájemně komunikovat. Tedy že rostliny jsou schopny, na základě těchto signálů, růstem a postupným vývojem reagovat na změny vnějšího prostředí. Na rozpracování konceptu, chemického ovlivnění růstu a vývoje rostlin se výraznou měrou podílel profesor Rudolf Dostál (1885-1973). Ve své práci používal a byl velkým obhájcem, do té doby ne příliš obvyklých, experimentálně morfologických přístupů. Jako příklad je možné uvést růst klíčnicích rostlin hrachu po odříznutí vrchní části lodyhy a jedné dělohy. Po tomto zásahu rostl pouze pupen v úžlabí odříznuté dělohy, přestože měl redukovanou výživu, což svědčilo o inhibičním vlivu děloh na růst pupenů v jejich úžlabí. V roce 1908 si R. Dostál poznamenal větu, která dosti přesně vystihuje způsob šíření hormonů: *„Z různých partií rostliny se šíří podráždění od buňky k buňce – patrně plasmodesmy – i na velkou vzdálenost a působí na buňky i jiných částí.“* (in Šebánek, 2004, str. 44). Od té doby se výzkumu fytohormonů a jejich působení na rostliny věnovalo a stále věnuje hodně času a úsilí. Bylo shromážděno velké množství poznatků, které se, s rozvojem analytických metod, neustále rozšiřují.

Předkládaná bakalářská práce si klade za cíl srozumitelným způsobem přiblížit problematiku rostlinných hormonů. A to nejen studentům vysokých škol, ale také pedagogům a studentům čtyřletých a víceletých gymnázií, popř. žákům na základních školách. Důraz je kladen především na teoretické poznatky o fytohormonech s návazností na možnosti jejich následného využití v praxi, např. v zemědělství.

V současné době je, v laické veřejnosti, rozšířen negativní postoj k využívání nejen chemie, ale také jakýchkoliv genetických úprav organismů/potravin. Ovšem pokud se budeme zabývat pouze zemědělskými plodinami, je jakékoliv šlechtění nové odrůdy genetickou modifikací. V této souvislosti je v práci otevřena otázka takto modifikovaných potravin. Jsou zde předloženy klady jejich pěstování (zvýšení

odolnosti, z čehož vyplývá snížení spotřeby např. pesticidů), ale také možnosti ovlivňování původních biotopů a to nejen v kladném směru.

Práce je rozdělena na dvě části. První část se zabývá teorií. V jednotlivých kapitolách jsou podrobně popsány skupiny fytohormonů. Cesta k jejich objevu, vlastnosti, podmíněné jejich chemickou strukturou, metabolismus v rostlinách a následně jejich fyziologické účinky. Právě poznání daných vlastností nás může přivést k pochopení významu a dosud skrytého potenciálu fytohormonů.

Druhá část předkládané bakalářské práce se zaměřuje na implementaci problematiky fytohormonů do praktické výuky s ohledem na učivo na základních a středních školách. Jelikož jsou to právě současní studenti, kteří se budou podílet na ovlivňování vývoje životního prostředí, je velmi důležité jim zajistit dostatečné množství poznatků o problematice rostlinných hormonů a současně je dokázat srozumitelným způsobem zprostředkovat. Studenti, popř. žáci základních škol se s pojmem „fytohormony“ v běžné výuce často nesebkávají. Z tohoto důvodu je možné zvolené úlohy aplikovat pouze pro demonstraci dějů, které v rostlinách probíhají a tímto způsobem studenty, popř. žáky seznámit s faktem o existenci látek, které ovlivňují fyziologické procesy v rostlinách.

2. Fytohormony

2.1 Obecné vlastnosti fytohormonů

Rostlinné hormony zahrnujeme mezi tzv. růstové regulátory. Tyto látky regulují růstové a vývojové procesy rostlin. Můžeme je rozdělit podle původu na přirozené, neboli nativní a syntetické. Nativní regulátory si rostliny vytváří samy a mezi ně řadíme právě fytohormony a další látky s regulační aktivitou. Kdežto syntetické regulátory nejsou součástí metabolismu rostlin a při aplikaci na rostliny působí delší dobu, protože rostliny nemají enzymy, které by je rozkládaly (Hejnák et al., 2007).

Fytohormony jsou definovány jako chemické látky (organické sloučeniny), které jsou účinné ve velmi nízkých koncentracích, ve stopových množstvích ($\leq 1 \text{ mmol l}^{-1}$, často i $\leq 1 \mu\text{mol l}^{-1}$) (Hejnák et al., 2007). Fytohormony lze ale také definovat jako endogenní regulátory růstu a vývoje. Jsou analogické živočišným hormonům v tom, že místo syntézy a vylučování může být vzdáleno od místa působení, jsou však obvykle mnohem méně specifické a mají tedy i širokou a mnohočetnou aktivitu (Kodíček, 2004).

Působí buď přímo v místě svého vzniku (meristematických pletivech, v listech a v lodyžních a kořenových vrcholech) nebo jsou transportovány vodivými pletivy či difúzí.

Fytohormony jsou vnitřními faktory na molekulární a buněčné úrovni. Koordinují metabolické a vývojové procesy v rámci celého rostlinného organismu. Jedná se o činnost jednotlivých souborů buněk a pletiv umístěných také ve vzdálených částech rostliny. Spolu s vnějšími faktory iniciují procesy růstu a diferenciaci rostliny a synchronizují její vývoj se změnami prostředí. Kromě toho regulují intenzitu a směr růstu, metabolickou aktivitu a transport, ukládání a využívání živin. Které hormony se aktivují, závisí na vývojovém stádiu rostlin, na povaze vnějšího stimulu, na tom, která část rostliny stimul zachytila, a na době, kdy se tak stalo.

Fytohormony mají nezastupitelnou funkci jako přenašeči informací. Když je zachycen stimul z prostředí, jsou o něm informovány všechny části rostliny díky syntéze nebo změně koncentrace jednoho či více fytohormonů. Pro výsledné působení není tedy

důležitá aktivita nebo jen jejich množství, ale hlavně vzájemný poměr jednotlivých rostlinných hormonů.

Mezi nejvíce rozšířené a mezi nejvíce probádané skupiny fytohormonů patří auxiny, gibbereliny a cytokininy, dále abscisiny, brassinosteroidy a plynný fytohormon etylen. Tyto skupiny se vyskytují v naprosté většině rostlin. Dále se v rostlinách vyskytují látky s regulační aktivitou růstu, které však mezi fytohormony nezařazujeme. Ať už z důvodu nedostatečných poznatků, či výšky koncentrace jejich působení. Sem řadíme polyaminy, kyselinu jasmonovou, některé oligosachariny a fenolické látky (Obr.:1).

SKUPINA	NEJDŮLEŽITĚJŠÍ LÁTKY VZOREC	ZKR.	SKUPINA	NEJDŮLEŽITĚJŠÍ LÁTKY VZOREC	ZKR.
auxiny	indolyl-3-octová kyselina 	IAA	polyaminy	putrescín $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$	Put
	fenyloctová kyselina 	PAA		spermidin $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_2\text{N}(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$	Spd
				spermin $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_2\text{N}(\text{CH}_2)_4\text{N}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$	Sp
cytokininy	zeatin (4 ^h -hydroxy-6-izopentenyl-aminopurin) 	Z	jasmonová kyselina 	JA	
	izopentyladenin (6-izopentenyl-aminopurin) 	IPA	brassinosteroidy 		
gibbereliny	giberelin A ₁ 	GA ₁	fenolické látky	p-hydroxybenzoová kyselina 	pHBA
	giberelin A ₃ 	GA ₃		p-kumarová (4-hydroxy-skořicová) kyselina 	pCA (HCA)
abscisová kyselina	abscisová kyselina 	ABA		ferulová (4-hydroxy-3-metoxyskořicová) kyselina 	FA
				naringenin 	—
etylen	etylen $\text{H}_2\text{C}=\text{CH}_2$	—	kumarin 	—	

Obrázek 1: Přehled nejdůležitějších růstových regulátorů

Převzato z: Macháčková, 1998

Ačkoliv stále mluvíme o látkách hormonální povahy, rostlinné hormony se od živočišných liší v mnoha ohledech. Jedním z důležitých aspektů je výrazně nízká specifita účinku fytohormonů. To znamená, že každý z fytohormonů ovlivňuje různé typy dějů probíhajících v rostlinách a tentýž děj může být katalyzován větším počtem látek. Dále se rostlinné hormony liší od živočišných místem jejich syntézy. Rostliny

nemají žlázy s vnitřní sekrecí, a proto se fytohormony syntetizují na více místech v rostlině. V neposlední řadě je zde také koncentrační závislost účinku. Ta není tolik zřejmá jako u hormonů živočišných. Proto také může jeden druh fytohormonů v určité koncentraci růst aktivovat a při jiné koncentraci inhibovat.

2.2 Rozdělení fytohormonů

Jak již bylo uvedeno, konečné působení závisí hlavně na koncentraci a vzájemném poměru jednotlivých hormonů. Proto je také dělení podle typu regulace růstu sporné a autoři se k němu vyjadřují nejednoznačně. Avšak obecně můžeme fytohormony rozdělit na růstové stimulanty (ve fyziologických koncentracích růst podporují). Sem řadíme gibbereliny a cytokininy. A růstové inhibitory (ve fyziologických koncentracích růst zpomalují). Do této skupiny patří kyselina abscisová. Auxiny se chovají amfoterně, neboli obojace. Což znamená, že při nízkých koncentracích růst stimulují a při vysokých ho inhibují. Spornou otázkou zůstává etylen. Zatímco v některých případech zůstává řazen mezi inhibitory (Hejnák et al., 2007) v jiných je považován za látku s amfoterní povahou (Nováček). Regulační vlastnosti jak etylenu, tak i jednotlivých fytohormonů budou podrobněji popsány v dalších kapitolách.

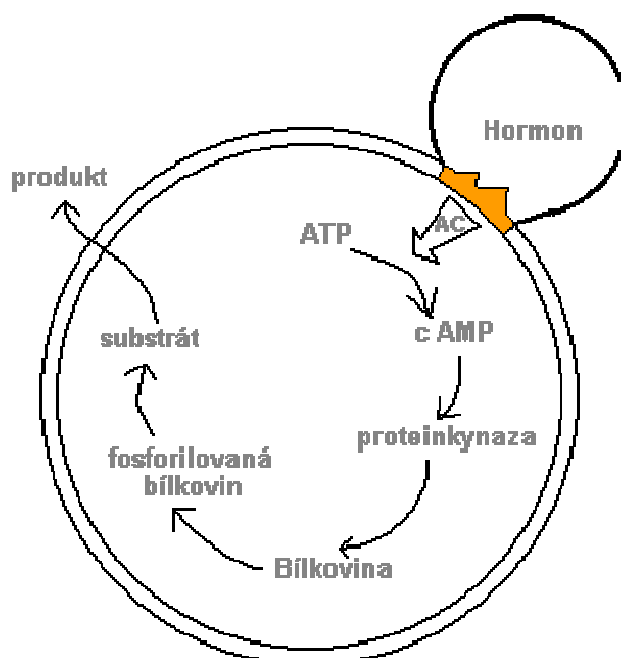
2.3 Mechanismus působení hormonů

Vzhledem k tomu, že signální systémy se u rostlinných a živočišných hormonů neliší, níže jsou uvedeny pouze obecné typy mechanismu působení hormonů.

Mechanismus působení hormonů na buněčné úrovni je zajištěn vazbou hormonu na receptory buněk a následnou reakcí na ně. Liší se u hormonů rozpustných a nerozpustných ve vodě. Receptory buněk pro hormony jsou bílkovinné molekuly se specifickou afinitou vůči molekule hormonu (vazba na receptor je výchozí podmínkou účinku hormonu v buňce).

Receptory pro hormony rozpustné ve vodě se nacházejí na povrchu buněčných membrán a po jejich aktivaci následuje aktivace enzymu adenylátcyklázy. Působením

tohoto enzymu se přemění ATP (adenozintrifosfát) na cyklické AMP (adenozinmonofosfát). cAMP (cyklický adenzinmonofosfát) se váže na enzymy proteinkynázy a takto vzniklou vazbou dokáže řídit jejich činnost. Proteinkynázy mají vliv na aktivitu důležitých enzymů buněčného metabolismu. Jedna molekula hormonu vyvolá tvorbu několika set molekul cAMP. Což znamená, že při tomto druhu přenosu je signál nejen přenesen, ale také zesílen. Jinak řečeno, signál je v buňce přenášen nepřímo (tzv. systém druhých posílů neboli *second messenger*) (Obr.: 2).



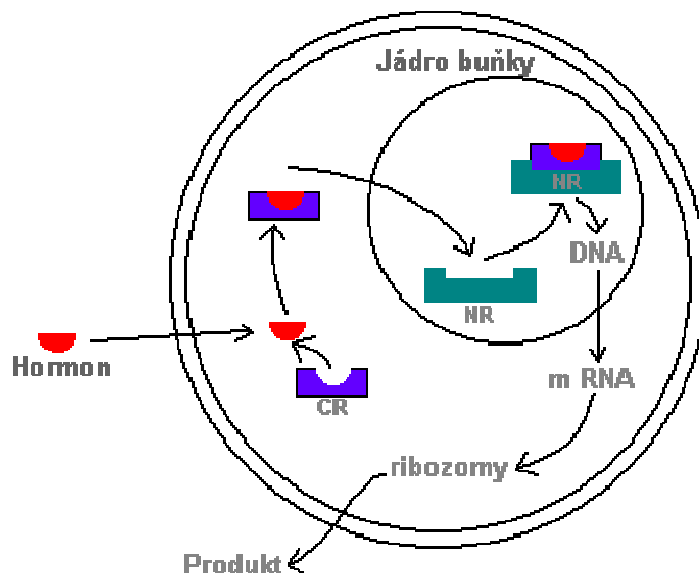
Obrázek 2: mechanismus působení hormonů rozpustných ve vodě.

Receptory pro hormony rozpustné ve vodě se nacházejí na povrchu buněčných membrán a po jejich aktivaci následuje aktivace enzymu adenylátcyklázy. Působením tohoto enzymu se přemění ATP (adenozintrifosfát) na cyklické AMP (adenozinmonofosfát). cAMP (cyklický adenzinmonofosfát) se váže na enzymy proteinkynázy a takto vzniklou vazbou dokáže řídit jejich činnost. Proteinkynázy mají vliv na aktivitu důležitých enzymů buněčného metabolismu.

Převzato z: viz web 1

Steroidní hormony prostupují buněčnými membránami, váží se na receptory rozpustné v cytoplazmě a jako nově vzniklý komplex pronikají do buněčného jádra. Zde se naváží

na nový receptor. Touto vazbou se spustí tvorba m-RNA, která v ribozomech řídí tvorbu bílkovin (Obr.: 3).



Obrázek 3: mechanismus působení hormonů nerozpustných ve vodě.

Steroidní hormony prostupují buněčnými membránami, váží se na receptory rozpustné v cytoplazmě (CR) a jako nově vzniklý komplex pronikají do buněčného jádra. Zde se naváží na nový receptor (NR). Touto vazbou se spustí tvorba m-RNA, která v ribozomech řídí tvorbu bílkovin.

Převzato z: viz web 2

3. Klasifikace fytohormonů

3.1 Auxiny

Auxiny jsou jedněmi z hlavních rostlinných hormonů. Podílí se na mnoha vývojových a morfogenetických procesech¹, založených na diferenciálním dělení a prodlužování buněk, jako je např. vývoj embrya, diferenciace cévního pletiva či růstové odpovědi na vnější podněty (Woodward a Bartel, 2005; Fleming, 2006).

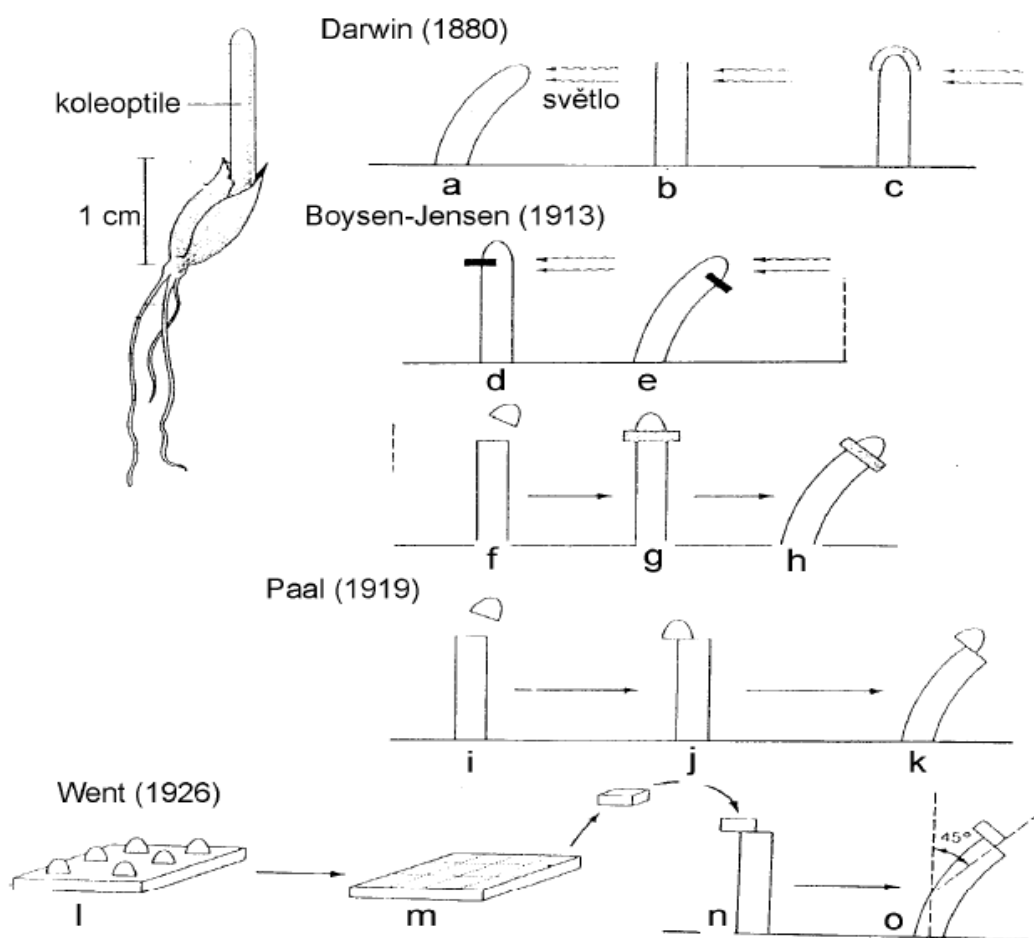
¹ Jedná se o procesy, které vedou ke vzniku a vývoji pletiv (tkání), orgánů a orgánových systémů. Mezi tyto procesy patří např. buněčné dělení, změna polohy buněk, ale také jejich odumírání.

3.1.1 Objev auxinů

Auxiny jsou považovány za nejdéle známé rostlinné hormony. Jejich existence byla prokázána ve dvacátých letech 20. století. Ačkoliv cesta k objasnění jejich struktury byla velmi dlouhá. Základem k objevení auxinů se stalo studium fototropizmu a gravitropizmu. Tímto studiem se zabýval již Charles R. Darwin. V roce 1880, jako první vyjádřil a publikoval koncept existence rostlinných hormonů. Zjistil, že odříznutím nebo zakrytím růstového vrcholu se zabrání fototropickému ohybu (Darwin, 1880). Tedy pokud odřízneme či zakryjeme vrchol rostliny a světlo působí pouze z jedné strany, potom k ohybu nedojde. Na druhou stranu, když rostlinu zahrneme substrátem tak, aby zůstal odkrytý pouze její vrchol a světlo opět necháme působit pouze z jedné strany, potom k ohybu dojde. Z tohoto vyplývá, že světlo je lokalizováno pouze v jednom místě rostliny. Kdežto reakce na tento stimul se projevila v jiné části rostliny (oblast prodlužovacího růstu) (Macháčková, 1998).

V těchto pokusech pokračoval dánský botanik Boysen-Jensen (1913). V první skupině rostlin vložil mezi stonk a stonkový vrchol blok želatiny. Ta bránila kontaktu buněk stonku a báze, avšak docházelo k difúzi látek. Takto upravené rostliny se chovaly „normálně“, otáčely se za světlem. U druhé skupiny rostlin tentokrát vložil mezi stonk a stonkový vrchol destičku slídy. Slída je neprostupná bariéra a proto nemohlo dojít k difúzi látek mezi stonkem a odříznutým stonkovým vrcholem. Z toho vyplývá, že rostliny nevykazovaly fototropickou odpověď (Boysen-Jensen, 1913). Tyto pokusy prokazují, že přenašečem signálu pro fototropickou odpověď je chemická látka.

Ale až v roce 1926 se F. W. Wentovi podařilo objasnit princip tropizmů. Prokázal, že špičky koleoptilií produkují látku, která difunduje do agaru a stimuluje prodlužovací růst (Went, 1926). Struktura této látky však byla zjištěna až o několik let později. Při hledání látek aktivních v ovesném koleoptilovém testu, získal Kögl z lidské moči aktivní látky, z nichž jedna, nazvaná heteroauxin, byla identifikována jako kyselina indoly-3-octová (IAA) (Kögl et al., 1933). Tato kyselina byla též nalezena v kvasinkách a teprve v roce 1946 ve vyšší rostlině, a to v nezralých obilkách kukuřice. Od té doby byl výskyt IAA potvrzen v celé škále druhů vyšších rostlin, bakterií, hub a řas (Macháčková, 1998). Shrnutí pokusů, které vedly k objevu auxinů (Obr.:4).



Obrázek 4: Pokusy, které vedly k objevu auxinu. Koleoptile se ohýbá za světlem (a), avšak bez špičky (b) nebo při jejím zatemnění (c) nereaguje na světlo (Darwin, 1880). Částečná a jednostranná izolace špičky od zóny ohybu brání ohybu za světlem, pokud je na straně zastíněné (d), nevádí však na straně osvětlené (e). Stimulus, tj. nějaký, patrně chemický faktor, proudí ze špičky dolů do růstové zóny a může procházet volně želatinovým bločkem, vloženým mezi odříznutou špičku a zónu růstu (f, g, h) (Boysen-Jensen et, 1913). Jednostranný kontakt růstové zóny se zdrojem stimulu vyvolá růst této strany a ohyb i bez světla (i, j, k) (Paál, 1919). Když se stimulus z mnoha špiček koleoptile nechá difundovat do agaru (l), agar rozřeže na bločky, které se umístí na dekapitovanou koleoptili tak, aby se dotýkaly poloviny řezné plochy, nastane rovněž ohyb ve tmě (m, n), který se dá měřit (o) (Went, 1926).

Převzato z: viz web 3

3.1.2 Auxiny přirozené a syntetické

Dlouhou dobu byla kyselina indolyl-3-octová (IAA) jediným známým auxinem. Avšak postupem času byly objeveny jiné látky s podobnými účinky, které nejsou v metabolickém vztahu k IAA. Jsou to především kyselina indolyl-3-máselná (IBA) a 4-

chlor-IAA. Tyto byly dříve považovány za látky syntetické. Kyselina fenyloctová (PAA) byla objevena pouze v některých rostlinách (plody ovocných stromů). Vyskytuje se ve vyšších koncentracích než IAA, ale s nižší účinností.

Na rozdíl od přírodních, je syntetických látek s účinkem auxinů celá řada. Jejich společným znakem je aromatický kruh s karboxylovou skupinou. Z chemického hlediska se jedná je o slabé organické kyseliny. Mají obdobné chemické a fyzikální vlastnosti jako auxiny přírodní. Jejich nespornou výhodou je skutečnost, že jsou většinou stálé. Podmínkou účinku auxinů je vzdálenost záporného náboje na karboxylové skupině postranního řetězce, při neutrálním pH. Tato vzdálenost je přibližně 0,5 nm.

Syntetické auxiny lze rozdělit do pěti skupin: (Macháčková, 1997a):

- Indolové kyseliny: indolyl-3-propionová (IPA), IBA a 4-Cl-IAA
- Naftalenové kyseliny: α -naftyloctová (NAA), β -naftoxyoctová (NOA)
- Chlorfenoxykyseliny: 2,4-dichlorfenoxycetová (2,4-D), 2,4,5-trichlorfenoxycetová (2,4,5-T) a 2-metyl-4-chlorfenoxycetová (MCPA)
- Benzoové kyseliny: 2,3,6- a 2,4,5-trichlorbenzoová, docamba
- Deriváty kyseliny pikolinové: picloram

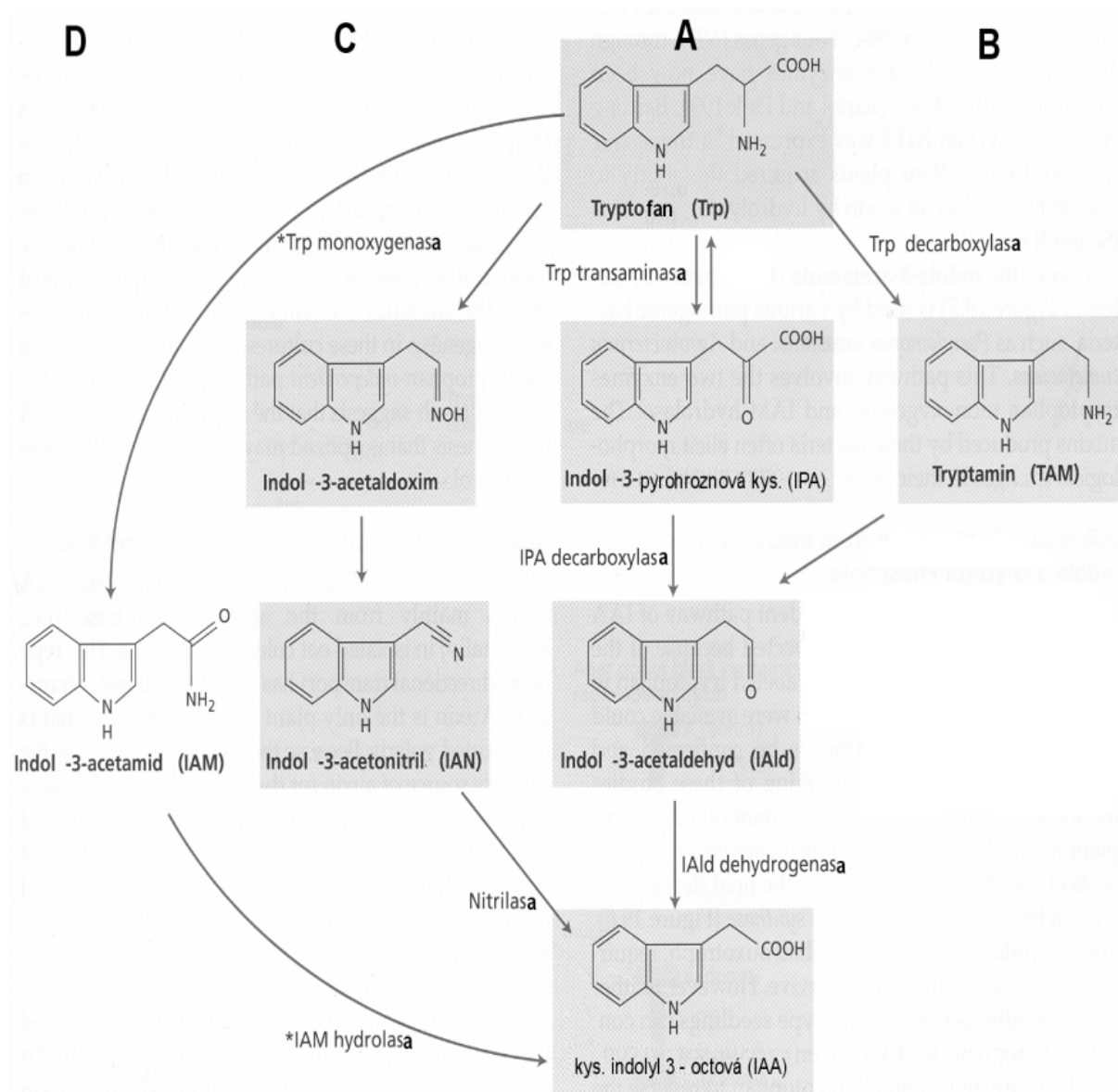
3.1.3 Metabolismus auxinů v rostlinách

Protože se kyselina indolyl-3-octová (IAA) vyskytuje v rostlinách nejčastěji a je uváděna jako zástupce skupiny auxinů, je také v této práci zvolena jako modelová látka pro popis metabolismu této skupiny hormonů v rostlinách. Pod pojem metabolismus zahrnujeme biosyntézu, konjugaci, katabolismus a jejich regulace.

- **Biosyntéza IAA**

Kyselina indolyl-3-octová se syntetizuje především ve vrcholových pletivech stonku a v mladých rostoucích listech. Do ostatních částí rostliny je transportována. Výchozí látkou pro biosyntézu IAA je aminokyselina L-tryptofan. Jsou známy čtyři biosyntetické dráhy: A) indolylpyruvátová (vyšší rostliny), B) tryptaminová (*Poaceae*),

C) indolylacetaldoximová (*Brassicaceae*, *Tovariaceae*, *Resedaceae*) a D) indolylacetamidová (mikroorganismy *Pseudomonas*, *Agrobacterium tumefaciens*) (Obr.: 5.)



Obrázek 5: Dráhy biosyntézy IAA

A-Indolylpyruvátová dráha, B-Tryptaminová dráha, C-Indolylacetaldoximová dráha, D-Indolylacetamidová dráha.

Převzato z: viz web 4

- Ø **Indolylpyruvátová dráha (A):** transaminační² reakcí dochází k přeměně tryptofanu na kyselinu indolylpyrohroznovou. Ta poté dekarboxyluje za vzniku indolylacetaldehydu, který je oxidován na IAA. Rychlost určující reakce a tedy také fáze regulace je poslední reakce. Dochází k tzv. regulaci zpětnou vazbou.
- Ø **Tryptaminová dráha (B):** z tryptofanu vzniká, dekarboxylací, tryptamin, který je příslušným enzymem (aminooxidáza) převeden na indolylacetaldehyd. Oxidace na IAA je společná pro dráhu A a B.
- Ø **Indolylacetaldoximová dráha (C):** tryptofan je štěpen na indolylacetaldoxim (enzym myrozináza). Ten následně přechází na indolylacetonitril a je oxidován na IAA.
- Ø **Indolylacetamidová dráha (D):** dochází k přeměně tryptofanu na indolylacetamid (enzym monooxygenáza), který je hydrolyzován na IAA

- **Konjugace IAA**

Aktivní formou auxinů jsou volné auxiny, ale většina auxinů v rostlině se nachází ve formě

konjugované s nízkomolekulárními látkami (estery, amidy) nebo látkami vysokomolekulárními (glukan, glykoproteiny). Konjugace je proces reverzibilní, konjugáty slouží jako zásobní a transportní forma a také jako ochrana před degradací. Nejčastějšími konjugáty jsou O-(indolyl-3-acetyl)- β -D-glukóza, N-(indolyl-3-acetyl) asparagová kyselina a O-(indolyl-3-acetyl) myoinozitol. Rostliny mohou tyto látky vytvářet také ze syntetických auxinů (Šetlík et al., 2004).

- **Katabolismus IAA**

Uvolnění auxinu z konjugátu je ovlivněno signály z prostředí (světlo, gravitace). Jsou známy dvě cesty degradace IAA: A) dekarboxylační, a B) nedekarboxylační. Obě cesty jsou oxidační a ireverzibilní.

² Jedná se o reverzibilní přenos aminoskupiny z 2-aminokyseliny na 2-oxokyselinu.

První (dekarboxylační) je katalyzována enzymem peroxidázou/IAA-oxidázou a produkty jsou indolylmetanol a metylenoxindol a jeho deriváty. Indolylmetanol může následně oxidovat na indolylaldehyd a kyselinu indolylkarboxylovou.

Enzym IAA-oxygenáza katalyzuje cestu nedekarboxylační. Tento způsob katabolizmu byl však prokázán pouze v několika druzích rostlin (např.: kukuřice, rýže). Produkty jsou kyseliny oxindolyl-3-octová, 5- nebo 7-hydroxyoxindolyl-3-octová, dioxindolyl-3-octová a její 5-hydroxyderivát (Macháčková, 1997a).

3.1.4 Hladina auxinů v rostlinách

Jak vyplívá z výše uvedených pokusů Darwina (1880) a Wenta (1926), jsou auxiny syntetizovány především ve vrcholových pletivech stonku a v mladých rostoucích listech. Do ostatních částí rostliny jsou transportovány bazipetálně. Tedy hladina koncentrace auxinů se snižuje od vrcholu rostlin k jejich bázi (jednoděložné rostliny). U dvouděložných rostlin je nejvyšší hladina auxinů v subkapitální zóně, která tudíž roste nejrychleji. V závislosti na růstu rostliny se ale hladina auxinů může měnit, např. při růstu pupenů. Koncentrace auxinů také závisí na stáří rostliny. Z vnějších faktorů je hladina auxinů závislá na světle, především na jeho intenzitě a kvalitě (Macháčková, 1997a).

3.1.5 Transport a fyziologické účinky auxinů

Jak již bylo řečeno, auxiny se podílí mnoha morfogenetických procesech. Tento jejich pleiotropní účinek je umožněn mimo jiné jejich polárním transportem, který má za následek lokální akumulace auxinů v určitých tkáních a buňkách.

Jsou popsány dva způsoby transportu auxinů. Rychlejší směrově nepolarizovaný transport floémem. Auxiny jsou v tomto případě transportovány na delší vzdálenost spolu s dalšími látkami. A pomalejší transportní systém z buňky do buňky. Právě tento systém je směrově polarizovaný díky nerovnoměrnému rozložení auxinových přenašečů na plazmatické membráně (Friml a Palme, 2002).

Nejvýznamnější funkcí auxinů je vznik a udržování polaritity rostlin. Auxiny jsou transportovány od vrcholu stonku ke kořenovému vrcholu. Toto je způsobeno polárním uspořádáním přenašečů auxinů v buňkách. Důsledkem jsou ohyby nadzemních orgánů za světlem (*fototropizmus*) a ohyby kořenů ve směru gravitace (*gravitropizmus*). V obou případech se jedná o změnu v uspořádání auxinových přenašečů v určitých buňkách. Změna polohy přenašečů auxinů v buňce je příčinou změny jejich distribuce, která má za následek asymetrický růst příslušného orgánu. Ohyby rostlin jsou tak vlastně reakcemi na odchylky v radiální distribuci auxinů. Ohyb nadzemních orgánů za světlem je způsoben stimulací růstu na straně odvrácené od světla. Ohyby kořene ve směru gravitace jsou zprostředkovány klesáním těžkých škrobových zrn v kořenových vrcholech. Jednostranný tlak škrobových zrn pak vyvolává asymetrii mnoha buněčných procesů probíhajících v kořenových vrcholech, až nakonec vyústí v asymetrii distribuce auxinů (podrobně viz Šebánek, 2010).

Jak již bylo zmíněno, to jestli se auxiny budou chovat jako aktivátory či inhibitory růstu závisí především na jejich koncentraci. A právě změnou koncentrace v jednotlivých orgánech rostlina reaguje na vnější podněty. Především větvení kořenů a tvorba kořenů adventivních je závislé na přísunu auxinů – čehož se využívá při zakořeňování řízků. Naproti tomu, k větvení stonků dochází v místech s nižšími koncentracemi auxinů. V důsledku toho, se stává hlavní pupen dominantní, produkuje více auxinů, nad spodními pupeny, vyrůstajícími v paždí listů. Další funkcí auxinů je diferenciací vodivých pletiv, která usnadňuje tok fytohormonů a dalších látek rostlinou.

3.2 Cytokininy

Cytokininy jsou spolu s auxiny uváděny jako hlavní růstové regulátory rostlin. Indukují dělení buněk v rostlinných pletivech za přítomnosti optimální koncentrace auxinů. Protože je buněčné dělení velmi zásadní pro většinu pochodů v rostlinném organizmu, záhy se k nim obrátila pozornost řady vědců a tento zájem trvá v podstatě dodnes. Díky tomu bylo o cytokininech nashromážděno značné množství poznatků, nejprve spíše empirickým pozorováním, později také konkrétnějších poznatků o jejich syntéze a degradaci i účinků na jednotlivé buněčné pochody a expresi různých genů

(Macháčková, 1998). Obecně jsou cytokininy deriváty adeninu a jedná se o látky, které mají řadu dalších fyziologických účinků.

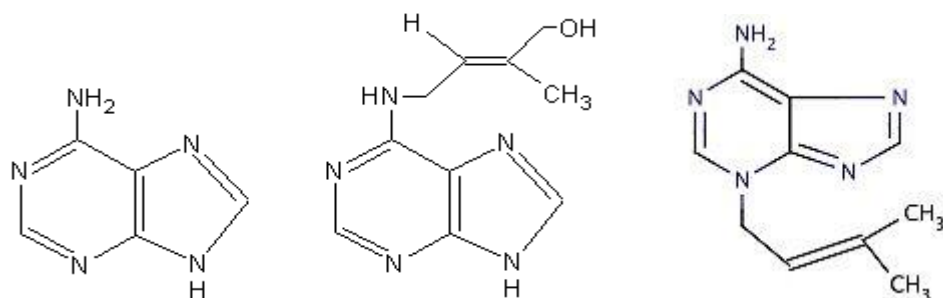
3.2.1 Objev cytokininů

Objevu cytokininů předcházela rozvoj technik rostlinných tkáňových kultur. Rostlinné buňky se dělily pouze za přítomnosti určitých látek. Tyto látky stimulovaly buněčné dělení a byly proto nazvány cytokininy. Prvními objevenými a izolovanými cytokininy byly kinetin a zeatin. Kinetin byl izolován z autoklávované DNA z rybího spermatu ve 30. letech 20. století. Zeatin byl izolován z nezralého endospermu kukuřice. Na základě testování jeho biologické aktivity, byly cytokininy definovány jako látky, které v přítomnosti auxinů stimulují buněčné dělení (Macháčková, 1998.).

3.2.2 Struktura cytokininů

V dnešní době je známo přibližně 30 přirozených cytokininů. Jejich prekurzorem je adenin (Obr.: 6), který je substituovaný na aminoskupině v poloze 6. Tato konfigurace je podmínkou biologické aktivity (Macháčková, 1998).

Přirozené cytokininy můžeme podle struktury jejich postranního řetězce rozdělit na izoprenoidní (ISCK) a aromatické (ARCK). Jejich biologická účinnost je z kvalitativního hlediska podobná. Ovšem účinná koncentrace se liší. Nejvíce zastoupenou skupinou jsou cytokininy izoprenoidní. Hlavně pak *N*6-(Δ^2 -izopentenyl)adenin a jeho hydroxylovaný derivát, zeatin (Obr.: 6), existující ve dvou konformacích. Vysoce biologicky aktivním a také hojně se vyskytujícím izomerem je *trans*-zeatin. Zatímco jeho *cis*-izomer má aktivitu spíše nízkou. Posledním zástupcem této skupiny cytokininů je dihydrozeatin, nasycený analog *trans*-zeatinu (Kende et al., 1971).

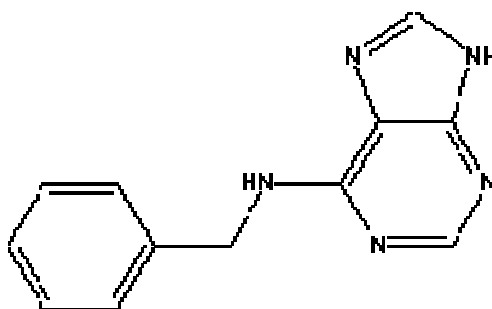


Obrázek 6: adenin (prekurzorů biosyntézy cytokininů), *trans*-zeatin, *N*⁶-(Δ²-isopentenyl)adenin (izoprenoidní cytokinin).

Převzato z: viz web 5

Méně obvyklé ARCK byly považovány za vzácně se vyskytující, ale zdokonalení analytických metod přineslo poznání, že i ony mají v rostlinné říši široké zastoupení. Jedná se o *N*⁶-benzyladenin a jeho hydroxyderiváty, topoliny, z nichž je výrazněji biologicky aktivní pouze *meta*-topolin (Strnad, 1997). Vzhledem k jejich vysoké stabilitě, ARCK se často používají při práci s tkáňovými kulturami, např.: benzyladenine.

Zvláštní skupinu tvoří některé syntetické deriváty močoviny, které se vyznačují cytokininovou aktivitou. Jedná se hlavně o fenyльмоčovinu a thidiazuron (Kende et al., 1971). Nejvíce rozšířeným syntetickým cytokininem je benzylaminopurin (BAP) (Obr.: 7).



Obrázek 7: benzylaminopurin (nejvíce rozšířený syntetický cytokinin).

Převzato z: viz web 6

3.2.3 Metabolismus cytokininů

Cytokinininy hrají důležitou roli v růstu a vývoji rostlin. Řídí morfogenetickou a metabolickou adaptaci. Jejich aktivita je v tomto ohledu ovlivňována environmentálními faktory. Do metabolismu cytokininů zahrnujeme jejich biosyntézu, volné přeměny postranních řetězců a tvorbu ribozidů (navázání ribózy) a ribotidů (následná fosforylace ribozidů) a také konjugaci s glukózou na glukozidy. Tímto způsobem vzniká několik desítek více či méně aktivních cytokininů. Přičemž vázané cytokinininy mají podstatně nižší aktivitu než cytokinininy volné.

- **Biosyntéza cytokininů**

Cytokinininy jsou syntetizovány v kořenech a ve stoncích rostlin. Především v částech bohatých na dělicí se buňky, jako jsou mladé listy a kořenová špička (Nordström et al., 2004). Anorganické dusíkaté látky, jako jsou dusičnany, jsou hlavními faktory regulující expresi genu pro adenosinfosfát-izopentenyltransferázy (IPT), což je klíčový enzym biosyntézy cytokininů (Hirose et al., 2008). Katalyzuje připojení izopentenylu za vzniku izopentenyladeninu, který je dále metabolizován na aktivní cytokinininy izopentenyladenin a zeatin.

Biosyntéza vychází buď z adenosinmonofosfátu (AMP) u mikroorganismů (*Agrobacterium tumefaciens*) a z adenindifosfátu (ADP) nebo adenosintrifosfátu (ATP) u vyšších rostlin (*Arabidopsis thaliana*).

- **Konjugace cytokininů**

Konjugáty se sacharidy jsou velmi často se vyskytující deriváty cytokininů. Při navázání glukózy na atomy dusíku purinového skeletu v poloze 7 a 9 dochází k ireverzibilní fyziologické inaktivaci. Vznikají tak deriváty N-glukozidy a O-glukozidy, přičemž O-glukozidy jsou mnohem více aktivní (Macháčková, 1998). Tyto konjugáty jsou považovány za zásobní a transportní formu cytokininů.

- **Degradace cytokininů**

Cytokinininy můžeme inaktivovat dvěma způsoby. Výše uvedenou konjugací anebo degradací.

Jedná se o nevratnou inaktivaci. Je to oxidativní rozštěpení struktury cytokininu pomocí enzymu cytokininoxidázy/dehydrogenázy (Haberer a Kieber, 2002). Substráty pro tvorbu cytokinin-oxidázy jsou izopentenyladenin, zeatin a jejich ribozidy. Přičemž dihydroxyzeatin je proti cytokinin oxidáze rezistentní. Cytokininoxidáza byla poprvé objevena v surovém extraktu kultivovaných tkáňových kultur tabáku (Pačes et al., 1971). Její aktivita je často vyvolána aplikací exogenních cytokininů, ať už těch, které jsou substráty enzymu nebo těch, které cytokinioxidázou štěpeny nejsou.

3.2.4 Transport cytokininů

Za hlavní místo biosyntézy cytokininů jsou považovány kořeny, tedy převážně jejich vrcholy. Odtud se cytokininy transportují xylémem do listů a po případné metabolické přeměně mohou být transportovány floémem do jiných částí rostliny. Zdrojem přirozených cytokininů mohou být nejen kořeny, ale i vyvíjející se embrya a pupeny, distribuce a působení je tedy spíše lokální (Cedzich et al., 2008).

Aby rostlinné buňky mohly cytokininy přijímat, tyto musí mít určitou molekulární formu. Polární glykozidy a rybotidy neprostupují buněčnou membránou, pro lipofilní cytokininové báze jsou rostlinné membrány permeabilní (Kamínek, 1997).

Pozoruhodná je schopnost kultur některých tkání, pocházejících z nadzemních orgánů „naučit se“ syntetizovat vlastní cytokininy a stát se nezávislými na přidání cytokininů do živné půdy. Tomuto jevu se říká habituace. U habituovaných kultur probíhá v přítomnosti auxinů dělení buněk i bez přidání cytokininů do živného média (Macháčková, 1998).

3.2.5 Fyziologické účinky cytokininů

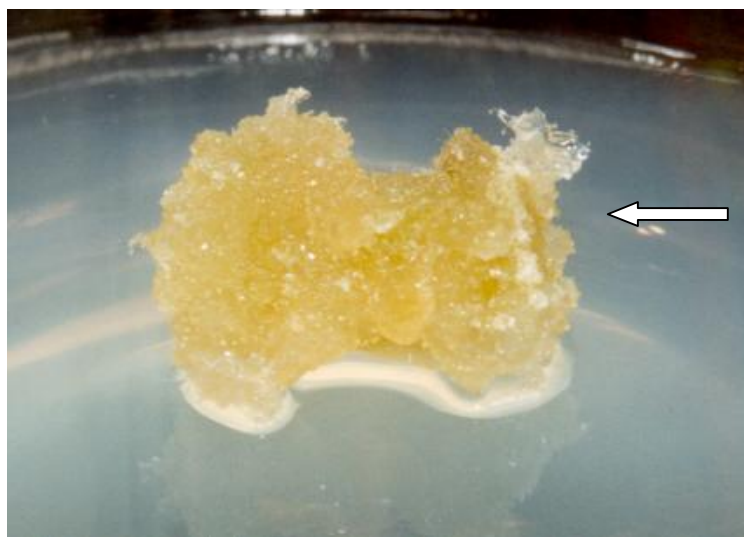
Hlavní funkcí cytokininů je stimulace buněčného dělení. A to nejen při dodání hormonů do tkáňových a buněčných kultur, ale i v celistvé rostlině. Dodaný cytokinin může např. zrychlit buněčné cykly ve vrcholu stonku a stimulovat organogenezi. Rovněž je prokázán jejich vliv na replikaci DNA ve fázi S mitózy. Zkrácením replikonů urychlují

přepis DNA a synchronizují buněčné dělení v pletivech (Macháčková, 1998). Cytokininy také stimulují objemový růst buněk.

Podílejí se na kontrole apikální dominance stonků. Regulují ji společně s rostlinnými hormony auxiny. Auxiny, které se syntetizují ve vrcholcích stonku, inhibují růst úžlabních pupenů, zatímco cytokininy syntetizované v růstových vrcholech kořenů, růst těchto pupenů podporují (Tahala et al., 2006).

Cytokininy také zvyšují kapacitu „sinku pletiv“. Mobilizace sinků znamená větší přísun živin a dalších regulačních látek do pupenů a podporuje růst pupenů. Tedy zvyšuje se výsledná biomasa s vysokým obsahem cytokininů (Macháčková, 1998; Werner et al., 2008).

Interakce cytokininů s auxinem v tkáňových kulturách umožňuje regeneraci celých rostlin z izolovaných částí. O tom, která část rostliny se bude regenerovat, rozhoduje poměr koncentrací cytokininu/auxinu. Pokud jsou koncentrace stejné, vytváří se nediferenciované pletivo, kalus (Obr.: 8).



Obrázek 8: Pletivo vytvořené při regeneraci *in vitro* za stejné koncentraci cytokininů a auxinů. Šipka označuje nediferenciované pletivo (kalus).

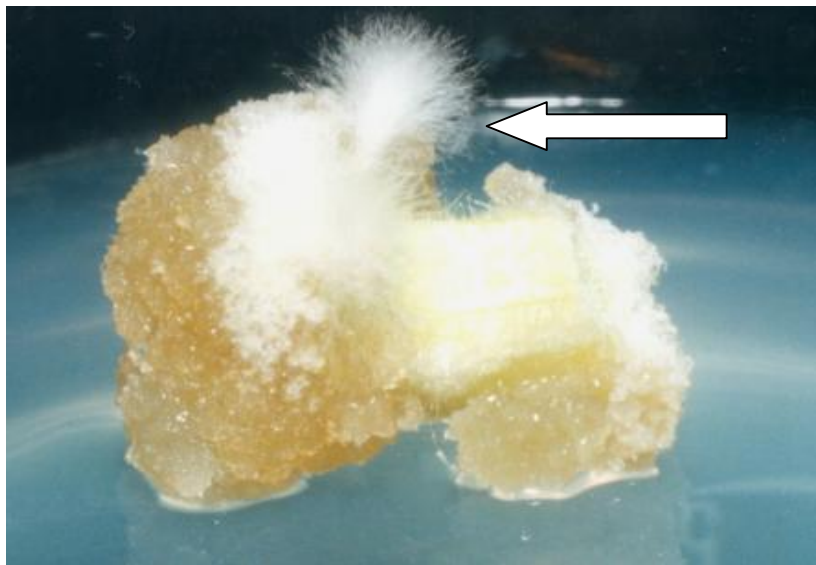
Převzato z: viz web 7

Naproti tomu zvýšená koncentrace cytokininů vyvolává regeneraci prýtů (Obr.: 9) a nadbytek auxinů směřuje k regeneraci kořenů (Obr.: 10) (Macháčková, 1998).



Obrázek 9: Pletivo vytvořené při regeneraci *in vitro* za zvýšené koncentrace cytokininů. Šipka označuje regenerovaný prýt.

Převzato z: viz web 8



Obrázek 10: Pletivo vytvořené při regeneraci *in vitro* za snížené koncentrace cytokininů. Šipka označuje regenerované kořenové pletivo.

Převzato z: viz web 9

Cytokininy v nadměrném množství zpomalují ontogenezi a oddalují stárnutí celých rostlin. Vnesením bakteriálního genu pro syntézu cytokininů (gen pro

izopentenyltransferázu) vznikají mutantní rostliny, které mají tmavší zelenou barvu a zpomalenou senescenci listů, mají opožděné kvetení a senescenci celých rostlin. Mají také redukovanou apikální dominanci, zvýšenou tvorbu listů, zkrácená internodia a redukovaný růst kořenů (Macháčková, 1998).

3.3 Etylen

Etylen je, na rozdíl od ostatních fytohormonů, dosud jediný známý plynný fytohormon. Jeho koncentrace v rostlinných buňkách je velmi nízká. Většina etylenu difunduje do mezibuněčných prostor a odtud do atmosféry. V cytoplazmě byly nalezeny specifické vazebné bílkoviny (nacházejí se na endoplazmatickém retikulu). Disociační konstanta komplexu protein – receptor je velmi nízká, což znamená, že vazba je pevnější než u ostatních fytohormonů. Tudíž se předpokládá, že jeho biologický účinek je zprostředkován vazbou na tyto bílkoviny. Etylen uvolněný do atmosféry může ovlivnit také okolní rostliny (Macháčková, 1998).

3.3.1 Objev etylenu

Etylen byl mezi rostlinné hormony zařazen jako jeden z posledních. Bylo to způsobeno jeho jednoduchou strukturou a plynným skupenstvím. Navíc působil, v porovnání s ostatními rostlinnými hormony „trochu podezřele“, ale není žádný důvod nezařadit etylen mezi ostatní rostlinné hormony (Kováč, 1991).

Už od konce 19. století bylo známo, že svítíplyn³ má vliv na některé procesy rostlin, především na opad listů. V roce 1901, zjistil ruský fyziolog D. N. Neljubov, že aktivní složkou svítíplynu je etylen. Důkaz tvorby etylenu rostlinami a vliv na jejich růst byl prokázán až ve třicátých letech (Macháčková, 1998). Bezpochyby nejvýznamnějším

³ Svítíplyn je plyn tvořený směsí vodíku, CO, CO₂ a dalších plynů. Pro osvětlování se používá od počátku 19. století. První veřejné plynové osvětlení bylo zprovozněno v roce 1813 v Londýně. V Praze se plynové osvětlení začalo používat až v roce 1847.

datem ve studiu etylenu byl rok 1959. V tomto roce Burg a Stolwijk poprvé použili plynovou chromatografii k jeho detekci (Burg et Stolwijk, 1959).

3.3.2 Struktura a vlastnosti etylenu

Etylen je velmi stálý bezbarvý plyn. Jedná se o nejjednodušší uhlovodík s dvojnou vazbou (C_2H_4). Tato vazba je nepolární a závisí na ní chemická aktivita látky. Etylen se snadno oxiduje na etylenoxid, etylenglykol či formaldehyd. S těžkými kovy tvoří komplexy.

Vzhledem ke své jednoduchosti může být překvapivá jeho fyziologická aktivita. Nejbližším strukturním analogem je propylen, jehož účinnost je ovšem o 2–3 řády nižší. Není nezajímavé, že některé fyziologické účinky etylenu je možné vyvolat také oxidem uhličitým (Macháčková, 1997b).

3.3.3 Metabolismus etylenu

Do metabolismu etylenu zahrnujeme jeho biosyntézu a degradaci.

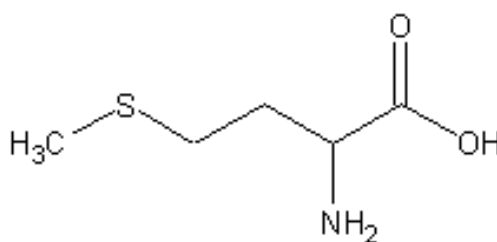
- **Biosyntéza etylenu**

Průběh biosyntézy etylenu byl předmětem intenzivního studia fyziologie rostlin ve druhé polovině 20. století. Vzhledem k jeho jednoduché struktuře, byla navrhována celá řada prekurzorů, např.: kyselina linoleová, propionaldehyd, alanin a metionin. Později Lieberman provedl pokusy s označeným metioninem v jablcích. Tím prokázal jeho přeměnu na etylen *in vivo* (Lin et al., 2009).

Tvorba etylenu je ovlivněna množstvím fyzikálních a chemických faktorů. Do těchto faktorů je možné zahrnout světlo, teplotu, koncentraci kyslíku a oxidu uhličitého. Optimální teplota pro syntézu etylenu se pohybuje okolo 25 až 35°C, je to tedy také teplota při které je účinnost biosyntézy maximální. Tvorba etylenu je indukována různými stresory, některými přirozenými i syntetickými regulátory růstu a je závislá také na autoregulačních mechanismech (Macháčková, 1997b).

Různé stresové podmínky a dodané auxiny indukují *de novo* syntézu ACC-syntázy. Záření v mnoha případech syntézu v zelených částech rostlin inhibuje. Často byla tato inhibice způsobena sníženou hladinou oxidu uhličitého a jejím zvýšením bylo možné inhibici kompenzovat. Tvorba etylenu podléhá zpětnovazebním regulacím, což je autokatalýza a autoinhibice (Macháčková, 1998).

Jak již bylo řečeno, je prekurzorem pro vznik etylenu L-metionin (Obr.:11). To platí pro vyšší a většinu nižších rostlin. Prvním meziproductem je S-adenozylmetionin (SAM), který je následnou reakcí přeměněn na kyselinu 1- aminocyklopropan-1-karboxylovou (ACC) a metyltioadenozin, který se v několika krocích mění zpět na metionin. ACC je následně enzymaticky přeměňována na etylen, oxid uhličitý a kyanovodík. Přeměna SAM na ACC je katalyzována enzymem ACC-syntázou. Tento enzym je lokalizován v cytoplazmě. Enzym katalyzující přeměnu ACC na etylen je ACC-oxidáza (Macháčková, 1997b).



Obrázek 11: L-metionin (prekurzor biosyntézy etylenu)

Převzato z: viz web 10

- **Degradace etylenu**

Etylen je odbouráván na etylenoxid a oxid uhličitý. Přičemž z etylenoxidu může vznikat etylenglykol a glukozid. Zastoupení metabolitů a schopnost etylen rozkládat je závislá na druhu, stáří a fyziologickém stavu rostliny. Oxidace etylenu je katalyzována enzymem monooxygenázou.

3.3.4 Hladina a transport etylenu v rostlinách

Všechny rostlinné hormony se vyskytují ve volné nebo vázané (konjugované) formě, ale etylen je výjimkou. Jako plyn se v konjugované formě vyskytovat nemůže, proto se

v rostlinách nachází pouze konjugát jeho prekurzoru. V rostlině se transportuje prekurzor etylenu, ACC, a ten může konjugovat a z konjugáty se zase uvolňovat, zatím co většina etylenu difunduje z buňky do mezibuněčných prostor a dále průduchy do atmosféry. Jen malá část se váže v buňce. Biologický účinek etylenu je dán vazbou etylenu v buněčných strukturách (Šetlík et al., 2004).

3.3.5 Fyziologické účinky etylenu

Fyziologické účinky etylenu jsou velmi rozmanité. Nejčastěji bývá jeho vliv pozorován jako tzv. trojná odezva. Dochází ke ztrátě gravitropizmu, zpomalení dlouhivého růstu stonků i kořenů a současně jejich tloustnutí. Podstatou je změna orientace mikrofibril celulózy v buněčných stěnách. Reakce buněk v některých orgánech však může být nestejná, to pak vede k obloukovitému zakřivení rostoucího orgánu (např. řapíku listů-epinastie). Z kladných účinků etylenu na růstové procesy je významné zrychlení dlouhivého růstu některých vodních rostlin (Macháčková, 1998). Toto lze v praxi pozorovat např. na leknínech (*Nymphaea*). Pokud rostlinu ponoříme do takové hloubky, aby se její listy dostaly pod hladinu, potom dojde k nahromadění etylenu a tím k rychlému růstu řapíku. Po navrácení listové plochy na hladinu se také znovu obnoví fotosyntéza.

Četné jsou i účinky etylenu na jiné procesy, než je pouze růst. K nejvýznamnějším patří stimulace některých procesů souvisejících se zráním plodů. Nejčastěji k tomu dochází díky významnému zvýšení aktivity enzymů hydrolyzujících polysacharidy (celulázy, pektinázy).

Urychluje opad listů (společně s IAA a ABA pomáhá vytvořit vrstvu buněk, ve které se listy odlamují). Zde dochází ke stimulaci tvorby enzymů, které štěpí buněčné stěny. Je také známé bezkontaktní vzájemné ovlivňování. Zvláště výrazné může být toto působení v prostředí s omezenou výměnou vzduchu, např. v půdě. Zde může docházet nejen k vzájemnému ovlivňování kořenů sousedních rostlin, ale také etylen produkovaný půdními mikroorganismy a houbami může ovlivňovat růst kořenů.

Rostliny reagují na téměř všechny stresové podmínky syntézou etylenu. Při zvýšené tvorbě etylenu např. vzrůstá odolnost pletiv vůči rozkladným enzymům a zrychluje se

syntéza obranných látek rostlin, tzv. fytoalexinů (Macháčková, 1998). Pokud budeme mluvit o napadení rostliny patogeny, je působení etylenu velmi složité. Etylen zprostředkovává obranné reakce. Může např. indukovat opad listů a tím doje k zabránění šíření infekce (Bleecker et al., 2000).

Během biosyntézy etylenu dochází k interakcím s jinými fytohormony, s auxinem, cytokininem, kyselinou abscisovou a také s proteiny reagujícími na stres. Obecně se dá říci, že etylen signalizuje stres.

3.4 Gibereliny

V mnoha oblastech rostlinného vývoje jsou gibereliny jedny ze základních regulátorů. Jedná se o proces klíčení semen, prodlužovacího růstu a kvetení. V rostlinách je biosyntéza giberelinů řízena mechanismem zpětné vazby. Konečný krok, který vede k syntéze biologicky aktivních giberelinů katalyzuje enzym GA 3-oxidáza (Matsushita et al., 2007).

3.4.1 Objev giberelinů

Gibereliny získaly své jméno podle houby *Giberella fujikuroi*. Tato houba způsobuje nemoc rýže zvanou *bakanae*. Po napadení rostlin dochází k urychlení dlouhivého růstu (Obr.: 12). To vede k etiolizaci a v některých případech také k úhynu rostliny. Takto jsou gibereliny známy již od třicátých let. Jejich struktura však byla známá až v letech padesátých. Jako první byla izolována kyselina giberelová (GA₃). Další výzkum ukázal, že v rostlinách se vyskytuje více druhů giberelinů. Pro identifikaci byl vytvořen a zaveden systém jejich číslování. V současné době je známo přibližně 100 derivátů základního skeletu (Macháčková, 1998).



Obrázek 12: rostliny rýže (*Oryza*) napadené nemocí *bakanae* (napadené rostliny jsou výrazně vyšší).

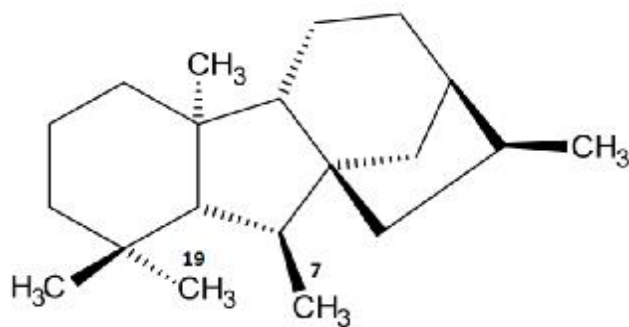
Převzato z: viz web 11

3.4.2 Struktura a vlastnosti giberelinů

Chemicky můžeme gibereliny zařadit mezi terpeny, přesněji mezi tetracyklické diterpenoidy. Jedná se o slabé organické kyseliny. Tvoří bílé krystalky, špatně rozpustné ve vodě a dobře rozpustné v organických rozpouštědlech či mírně alkalických vodných roztocích (Salaš, 2003).

Z hlediska struktury můžeme gibereliny rozdělit do dvou skupin: gibereliny s 19 a gibereliny s 20 atomy uhlíku, přičemž gibereliny C-19 mohou vznikat z derivátů C-20 odštěpením CO_2 . Jednotlivé gibereliny se odlišují laktonovým kruhem, počtem a polohou hydroxylových a karboxylových skupin.

Aktivita jednotlivých giberelinů závisí nejen na jejich struktuře, ale také na tom, ve které fázi růstu se ta která rostlina nachází. Soubor aktivních giberelinů může být odlišný i v různých orgánech jedné rostliny. Málo aktivní gibereliny jsou obvykle považovány za prekurzory či produkty degradace giberelinů aktivních. Obecně lze však říci, že podmínkou aktivity je neporušený *ent*-giberelanový skelet a karboxylové skupiny v poloze 7 a 19 (Obr.: 13) (Macháčková, 1998).



Obrázek 13: *ent*-giberelanový skelet.

Převzato z: viz web 12

Nejvýznamnější gibereliny jsou GA₁, GA₃, GA₄, GA₇ (viz kap. Přílohy, Tab. 1). Přitom u vyšších rostlin převládá GA₁, zatímco u jednobuněčné *Gibberella* převládá GA₃ (Šetlík et al., 2004).

3.4.3 Metabolismus giberelinů

Podobně jako u předchozích skupin fytohormonů zahrnujeme do metabolismu giberelinů jejich biosyntézu, degradaci a konjugaci. Gibereliny s různou chemickou strukturou mají různé účinky a tak jejich regulační funkce závisí nejen na jejich biosyntéze a inaktivaci (konjugací nebo degradací). Důležitými enzymy metabolismu giberelinů jsou GA20 oxidázy a 3β-hydroxylázy.

- **Biosyntéza giberelinů**

Syntéza giberelinů probíhá nejen v nadzemních částech, ale i v kořenech, ovšem vlastní růst kořenů je jimi jen velmi málo ovlivňován. Tyto gibereliny jsou transportovány xylémem do nadzemních částí rostlin (Salaš, 2003). Ovšem za hlavní místa syntézy giberelinů můžeme považovat především oblasti aktivního růstu rostlin. Jedná se hlavně o pupeny, mladé listy a semena. Odtud jsou transportovány do celé rostliny floémem ve formě aktivní, neaktivní nebo ve formě konjugované.

Biosyntéza giberelinů vychází z kyseliny mevalonové, která reaguje s ATP a za současné dekarboxylace vzniká dimethylallyl pyrofosfát. Ten izomeruje na izopentenylpyrofosfát, jako základní stavební prvek terpenů.

Podle místa průběhu, můžeme biosyntézu giberelinů rozdělit do tří etap, přičemž první dvě jsou společné pro všechny gibereliny (Šetlík et al., 2004):

- 1) cyklizace až po *ent*-kauren probíhá v chloroplastech a proplastidech,
- 2) biosyntetická dráha od *ent*-kaurenu až po aldehyd GA₁₂ (prekurzor pro syntézu dalších giberelinů v rostlinách) probíhá v endoplazmatickém retikulu,
- 3) poslední etapa biosyntézy giberelinů se větví, zahrnuje přeměny giberelinů, probíhá v cytozolu.

Biosyntéza je regulována několika způsoby. Jedná se o mechanismus zpětné vazby (při nadměrné koncentraci giberelinů se zastaví jejich syntéza). Regulace působením světla a změnou teploty (klíčení semen a kvetení je indukováno vystavením nízkým teplotám) (Hedden et al., 1997).

- **Konjugace giberelinů**

Jako první vázaná forma giberelinů byl popsán GA₃-glukozid. Konjugáty ve většině případů obsahují glukózu, jedná se tedy o glukozidy či glukózaestery různých giberelinů. Tyto látky se tvoří relativně rychle, proto se uvažuje o jejich vlivu při regulaci metabolismu giberelinů. Nachází se také ve floému, což ukazuje na jejich transportní funkci. A přítomnost v nezralých semenech souvisí s jejich úlohou při jejich dozrávání a klíčení (Macháčková, 1998).

- **Degradace giberelinů**

Úplný proces degradace giberelinů ještě nebyl popsán. Většina vědeckých článků se zmiňuje pouze o izolaci genů kódující enzymy nutné pro tento proces (Busov et al., 2003; Olszewski et al., 2002; Gallego-Giraldo et al., 2008). Nicméně je prokázáno, že zásadním enzymem pro degradaci v rostlinách je GA 2-oxidáza (Busov et al., 2003).

Nejčastější inaktivací giberelinů je jejich hydratace v poloze 2, případně oxidace C-20 na karboxylovou skupinu. Ve většině biotestů jsou takto modifikované gibereliny neaktivní (Macháčková, 1998).

3.4.4 Fyziologické účinky giberelinů

Aktivní gibereliny vykazují mnoho fyziologických účinků. Ovšem různé gibereliny se v každém druhu rostliny projevují jinak.

Podobně jako auxiny také gibereliny stimulují dlouhivý růst. Na rozdíl od auxinů se tento účinek týká pouze nadzemních částí rostlin, růst kořenů obvykle není gibereliny ovlivněn. Stimulace prodlužovacího růstu je spojena s aktivitou enzymu xyloglukanendotransglykolázy (XET). Tento enzym hydrolyzuje xyloglukan, mění orientaci molekul v buněčné stěně a umožňuje penetraci expanzinů⁴ do buněčné stěny a její růst. Při regulaci prodlužovacího růstu spolupracují IAA a GA tak, že IAA reguluje některé pozdější kroky biosyntézy GA (Šetlík et al., 2004) Účast giberelinů v regulaci prodlužovacího růstu můžeme dokázat pomocí zakrslých mutantů hrachu či rýže. U těchto rostlin jsou velmi nízké hladiny giberelinů a jejich zakrslý vzrůst lze kompenzovat aplikací giberelinů (Macháčková, 1998).

Gibereliny společně se světlem a dalšími hormony, jako je ABA a etylen, regulují klíčení (Obr. 14) a s tím související dormanci semen (Leubner-Metzger, 2001). Gibereliny se v embryu vyskytují ve vázané formě. Po naboptnutí semene se tyto uvolní a embryo syntetizuje gibereliny *de novo*. Takto syntetizované gibereliny potom difundují do aleuronové vrstvy, ve které indukují tvorbu α -amylázy. Jak již bylo řečeno, na regulaci klíčení se podílí také ABA. Inhibuje indukci syntézy tohoto enzymu. O tom jak dlouhá bude dormance a kdy semeno vyklíčí, rozhoduje, mimo jiné, vzájemný poměr koncentrací výše zmíněných hormonů (Macháčková, 1998).

⁴ Expanziny jsou strukturální proteiny buněčné stěny, významné pro zvětšování buňky. Narušují vodíkové můstky mezi celulózními mikrofibrilami a hemicelulózami a umožňují uložení dalšího materiálu, nezbytného pro zvětšení plochy buněčné stěny.



Obrázek 14: Klíčení semene.

Převzato z: viz web 13

Nejkritičtějším obdobím v životním cyklu rostlin je nejspíš přechod z vegetativní do generativní fáze. Proto je časový přechod ke kvetení regulován na mnoha úrovních. U většiny rostlinných druhů je kvetení ovlivněno environmentálními signály, jako je teplota a délka dne. Z vnitřních faktorů je to především vývojový stav, např.: stáří a vzrůst (Amasino, 2004). S tímto souvisí jev zvaný „jarovizace“. Pro některé rostliny je důležité, aby byly po určitou dobu vystaveny nízkým teplotám. Tím se stanou citlivé k fotoperiodě a mohou kvést (Macháčková, 1998). Procesem jarovizace nazýváme vystavení rostliny nízkým teplotám (0 až 4 °C) po dobu alespoň 21 dní. Tento požadavek zajišťuje, že rostliny nevykvetou před začátkem zimy, například v přechodně výhodných podmínkách teplého podzimu (Cetková, 2006).

Gibereliny indukují kvetení u dlouhodobých rostlin, které ve vegetativním stavu vytváří přizemní růžici. Ovšem u ostatních dlouhodobých, ale také krátkodobých či neutrálních rostlin gibereliny tento účinek nemají. Proto převládal názor, že indukce kvetení vyvolaná gibereliny je pevně spjata se stimulací dlouhivého růstu (Macháčková, 1998). Ovšem na modelovém organismu *Arabidopsis thaliana* (dlouhodobá rostlina) bylo prokázáno, že pokud dojde k narušení procesu biosyntézy giberelinů, potom tyto rostliny kvetou za podmínek krátkého dne velmi pozdě. Z toho vyplývá, že gibereliny jsou nezbytné pro indukci kvetení za podmínek krátkého dne a přímo nesouvisí se stimulací dlouhivého růstu (Moon et al., 2003).

Mezi další účinky giberelinů patří ovlivnění pohlaví květů. Jejich zvýšená aplikace potlačuje vznik samičích květů (např. u špenátu). Mohou inhibovat opadávání listů, podporují buněčné dělení a při klíčení ruší klidové období semen.

3.5 Kyselina abscisová

Kyselina abscisová (ABA) je účinná signální molekula. Pokud je rostlina vystavena stresovým podmínkám, potom se mění její koncentrace a tím ovlivňuje celou řadu rostlinných procesů. Jedná se např. o pohyby prùduchů (ovlivnění vodního režimu rostliny) nebo rychlost růstu kořenů a listů. Rostlina si tento hormon syntetizuje v listech a kořenech a je schopna jej přijímat také z půdy (Sauter et al., 2001).

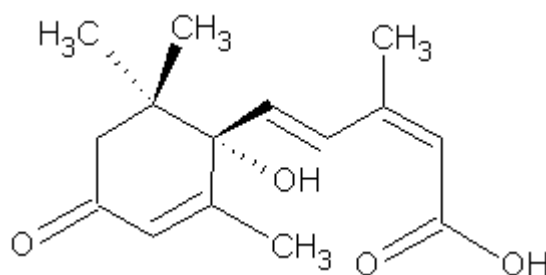
3.5.1 Objev kyseliny abscisové

Kyselina abscisová byla objevena při paralelním studiu dvou jevů: opadu listů a dormance pupenu stromů. Nejprve byla z dormantního javoru (*Acer pseudoplatanus*) izolovaná látka s inhibičním účinkem na růst segmentů koleoptilí. Byla nazvaná dormin. Jiná látka byla izolovaná z opadlých mladých plodů bavlníku (*Gossypium* sp.) a nazvaná abscisin. Později bylo zjištěno, že účinná složka je u obou látek stejná a byla nazvaná kyselina abscisová (Macháčková, 1998).

3.5.2 Struktura a vlastnosti kyseliny abscisové

Chemicky můžeme kyselinu abscisovou zařadit mezi seskviterpeny s uhlíky uspořádanými do cyklu a s postranním řetězcem (Obr.: 15). Jedná se o látku opticky aktivní, ovšem v rostlinách se přirozeně vyskytuje pouze (+)-(S)-enantiomer.

Stejně jako u předchozích skupin fytohormonů, je pro aktivitu kyseliny abscisové důležitá její chemická struktura. Jedná se o zachování dvojně vazby v cyklu, hydroxylové skupiny v poloze 1 a cis-konfigurace postranního řetězce. Z toho vyplývá, že většina změn ve struktuře její molekuly vede k redukci až ztrátě aktivity této látky (Macháčková, 1998).



Obrázek 15: kyselina abscisová

Převzato z: viz web 14

3.5.3 Metabolismus kyseliny abscisové

Kyselina abscisová je důležitý regulátor vývoje a klíčení semen a jak již bylo řečeno, podílí se také na reakcích rostlin na vnější stres. Abychom těmto dějům porozuměli, musíme nejprve pochopit její metabolismus a jeho regulace.

- **Biosyntéza kyseliny abscisové**

Místem syntézy ABA (nebo uvolněním z konjugované formy) jsou kořeny. Ale také může být syntetizována v nadzemních částech rostlin a floémem dopravována do kořene (Sauter et al., 2001). Prekurzorem biosyntézy ABA, pokud budeme mluvit o vyšších rostlinách, jsou terpenoidy. Část biosyntetické cesty je společná s gibereliny, ale také s karotenoidy a xantofyly.

Oddělení od syntézy terpenoidů probíhá, stejně jako u giberelinů, u uhlovodíku C-20 (geranylgeranylpyrofosfát). Jeho molekula se rozdělí za vzniku dvou molekul karotenoidů (violaxantin a zeaxantin). Takto vzniklé karotenoidy jsou dále štěpeny na dvě molekuly xantoxinu a dialdehydu C-10. Xantoxin je následně oxidován na konečný produkt – kyselinu abscisovou (Macháčková, 1998).

- **Konjugace kyseliny abscisové**

Stejně jako i ostatní hormony, také kyselina abscisová tvoří neaktivní formy – konjugáty. Konjugace ABA probíhá buď oxidací, nebo reverzibilní reakcí s cukrem na glukózylester. Inaktivovaná forma ABA je vhodná k transportu, může mít také zásobní funkci, potom je uložena ve vakuolách. Pravděpodobná je i její účast při regulaci obsahu volné kyseliny abscisové v rostlinách (Šetlík et al., 2004;).

- **Degradace kyseliny abscisové**

Odbourávání ABA probíhá oxidativním způsobem. Produkty jsou kyselina fazeová a dihydroxyfazeová.

3.5.4 Hladina a transport kyseliny abscisové v rostlinách

Jak již bylo uvedeno, ABA je v rostlinách syntetizována, ale může také pocházet z vnějších zdrojů. Vnější (exogenní) ABA pochází z produkce půdních organismů (bakterií). Endogenní ABA je syntetizována v rostlině. V kořeni může být ABA skladována, degradována, nebo transportována buňkami k cévám xylému, případně může dojít ke ztrátám ABA difúzí z kořene zpět do půdy (Jiang et al., 2008).

Transport ABA je ovlivňován především změnami pH. Ke změnám pH v kořeni dochází při vysychání půdy, pH apoplastu se zvyšuje, zatímco pH cytoplazmy buněk se snižuje. (Daeter et al., 1993). Vzhledem k tomu, že se ABA vždy soustřeďuje do nejalkaličtější části, acidifikace cytoplazmy a současná alkalizace apoplastu způsobuje, že ABA (syntetizována nebo dříve uložena v cytoplazmě) je uvolněna do apoplastu. Tam zde není katabolizována ani ukládána, do xylému se tak dostává dvojnásobné až trojnásobné množství ABA než u zavlažované rostliny (Slovik et al., 1995).

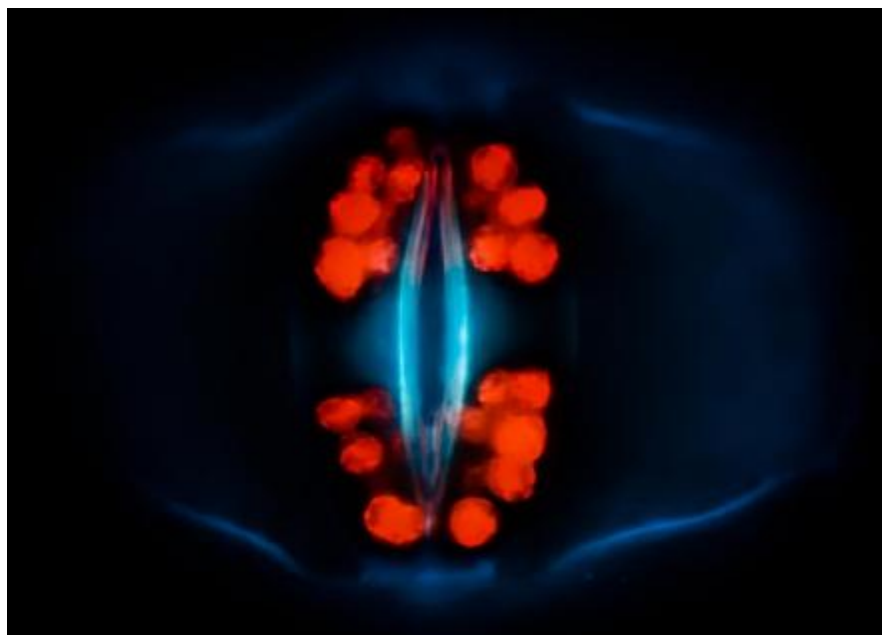
3.5.5 Fyziologické účinky kyseliny abscisové

Z fyziologických účinků ABA bývá na prvním místě uváděno zpomalení růstových procesů. Toto zpomalení nastává jako reakce rostlinných orgánů na aplikaci kyseliny abscisové. Z tohoto pohledu se ABA chová jako antagonist auxinů a giberelinů.

Významnou roli ABA hraje při dozrání semen tím, že brzdí předčasný růst embrya v nevyzrálých semenech. Vysoký obsah ABA nalezneme také v těch částech rostliny, které vstupují do dormance, Jedná se o pupeny, semena a hlízy (Macháčková, 1998). Z předchozího textu vyplývá, že dormance a její délka není závislá pouze na ABA, ale především na poměru koncentrací giberelinů a kyseliny abscisové.

ABA se účastní na tvorbě odlučovací vrstvičky způsobující opad listů, květů a plodů (abscission – odtud pochází její název). Ačkoliv primární vliv na tyto procesy má IAA a etylen, účinek ABA spočívá ve zvýšení biosyntézy etylenu (Šetlík et al., 2004).

Nejdůležitější úlohou kyseliny abscisové je regulace vodního režimu rostlin. Jak již bylo výše uvedeno, vysychání a salinita půdy indukují biosyntézu ABA v kořenech, což pomáhá maximalizovat transport nově syntetizované kořenové ABA směrem ke xylému – pozitivní zpětná vazba (Wilkinson et al., 2002). Při nedostatku vody v listech koncentrace ABA velmi rychle vzrůstá. Toto zvýšení vede k uzavření průduchů a to mnohem dříve, než by k němu došlo jiným způsobem. Pokud jsou nedostatku vody vystaveny pouze kořeny, dojde k transportu ABA z kořene do listů. Rostlina na toto reaguje zvýšením její syntézy v nadzemní části a přechodem ABA z mezofylu do epidermis, čímž dojde k uzavření průduchů. (Macháčková, 1998). Z toho vyplývá, že uzavírání průduchů by mělo být pozorovatelné dokonce už při počátku vysychání půdy, ačkoliv vodní potenciál listů je dostatečně vysoký (Obr.: 16).



Obrázek 16: Průduch v pokožce listu loděnky (*Tradescantia*). Buňky pokožky nejsou fotosynteticky aktivní. Výjimku tvoří svěrací buňky, které chloroplasty mají (červené body). Svěrací buňky jsou díky chloroplastům energeticky nezávislé a vždy mají dost energie, aby mohly uzavřít průduch v případě, že rostlina začne trpět suchem.

Převzato: viz web 15

Ke zvýšení koncentrace ABA dochází také pod vlivem nízkých teplot a zasolení půdy. ABA je tedy významným článkem obecné stresové reakce, která vede (mimo jiné) i k tvorbě nových proteinů zvyšujících celkovou odolnost.

3.6 Brassinosteroidy

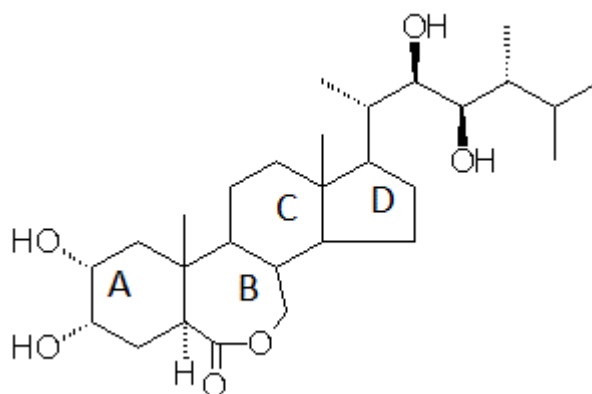
Brassinosteroidy jsou látky steroidní povahy. Vyskytují se napříč celou rostlinou říší a to jak v základní formě (brassinolid) tak ve formě konjugátů s glukózou. Můžeme je nalézt ve všech částech rostlin, včetně kořenů, byť v rozdílných koncentracích.

3.6.1 Objev brassinosteroidů

Brassinosteroidy byly objeveny přibližně před třiceti lety, v roce 1979. První z této skupiny, tzv. brassinolid (Obr.: 17), byl izolován z pylu řepky (*Brassica napus*). Tento objev otevřel novou etapu ve výzkumu fyziologie živých organismů. A to především díky chemické povaze brassinosteroidů. Do té doby totiž byly steroidní hormony známy pouze u hub a živočichů. Však také brassinosteroidy byly zařazeny mezi fytohormony až v roce 1998. V dnešní době je známo několik desítek zástupců této skupiny, přičemž mezi nejrozšířenější řadíme castasteron, typhasterol a samozřejmě také brassinolid (Macháčková, 1998, Khripach et al., 2000).

3.6.2 Struktura a vlastnosti brassinosteroidů

Jak již bylo zmiňováno, z chemického hlediska, řadíme brassinosteroidy mezi látky steroidní povahy. Svou strukturou jsou podobné živočišným steroidním hormonům. Pro jejich biologickou aktivitu je nezbytná přítomnost 7-oxolaktonového nebo 6-keetonového kruhu a vedle sebe umístěné hydroxylové skupiny v kruhu A a postranním řetězci (Macháčková, 1998). Stejně jako u všech látek, i zde vede změna chemické struktury ke změně fyziologických vlastností (např.: snížení aktivity).



Obrázek 17: Brassinolid.

Převzato z: viz web 16

3.6.3 Metabolismus brassinosteroidů

Metabolismus, stejně jako u předchozích fytohormonů, zahrnuje biosyntézu, katabolismus a konjugaci. Přičemž konjugaci můžeme rozdělit do dvou částí:

a) změny na steroidním skeletu

b) změny na postranním řetězci

- **Biosyntéza brassinosteroidů**

Prekurzorem pro biosyntézu je látka zvaná izopentenylpyrofosfát (prekurzor v biosyntéze steroidů). Ten přechází na campesterol, což je první biologicky aktivní produkt. Z campesterolu jsou dále syntetizovány teasteron, typhasterol, castasteron a brassinolid. Všechny tyto produkty zahrnujeme mezi brassinosteroidy (Macháčková, 1998)

- **Přeměny brassinosteroidů**

Jak již bylo zmíněno v předchozí kapitole, modifikace se mohou uplatnit buď na steroidním skeletu, nebo na postranních řetězcích. A právě tyto modifikace ovlivňují aktivitu a celkovou funkčnost dané látky.

Brassinosteroidy mohou být inaktivovány několika způsoby. Jedná se např. o dehydrogenaci na uhlíku C-3 a C-28, demetylaci na uhlíku C-26 a C-28 a rozpad vazby na postranním řetězci mezi uhlíky C-20 a C-22. Dalšími modifikacemi je úplná přeměna brassinosteroidů na konjugáty. Jedná se např. o esterifikaci (nejobvyklejší způsob

modifikace steroidního skeletu) a hydroxylaci (nejčastější modifikace postranního řetězce) (Bajguz, 2007). Je možné, že stejně jako u jiných skupin fytohormonů, neaktivní konjugáty brassinosteroidů slouží jako zásobní forma této skupiny látek. K převedení na aktivní formu je možné následnou konverzí. Konjugace jsou tedy přeměny reverzibilní.

- **Degradace brassinosteroidů**

Vlastní degradace, stejně jako celý metabolismus není ještě úplně pochopen a to z několika důvodů. Rostlinná říše zahrnuje tolik rostlinných druhů a ne všechny byly dostatečně prostudovány a u některých rostlin se stále nepodařilo identifikovat všechny metabolity (Bajguz, 2007). Avšak s rozvojem analytických metod se dá, v následujících letech, očekávat pokrok také v této oblasti.

3.6.4 Hladina brassinosteroidů v rostlinách

Brassinosteroidy se vyskytují ve všech orgánech rostlin, včetně kořenů. Ačkoliv ve starší literatuře (Macháčková, 1998) nejsou ještě kořeny zahrnuty. Množství brassinosteroidů se liší u jednotlivých rostlinných druhů a samozřejmě také u rostlinných orgánů. Obecně lze říci, že největší množství brassinosteroidů můžeme nalézt v pylu a nezralých semenech (řádově 1–100 ng/g). Naproti tomu v listech a v pletivech, která se již nedělí, je hladina brassinosteroidů mnohonásobně nižší (řádově 0,1–0,01 ng /g). Zajímavostí je, že v některých rostlinách, např.: kaštanovník vroubkovaný (*Castanea renata*), byly brassinosteroidy objeveny také v korunních plátcích (Bajguz a Tretyn, 2003).

3.6.5 Fyziologické účinky brassinosteroidů

Brassinosteroidy mají vliv na regulaci růstu a vývoje rostlin. Je prokázán jejich vliv na stimulaci dlouhivého růstu, byť je jejich účinná koncentrace nižší než u auxinů. Jsou aktivní pouze na světle. Při interakci s auxiny je důležité pořadí jejich aplikace. Pokud jsou brassinosteroidy aplikovány jako první, působí synergicky s IAA. V opačném případě dlouhivý růst spíše inhibují (Macháčková, 1998).

Jsou důležité pro normální růst a vývoj rostlin. Mutantní jedinci s deficitem brassinosteroidů jsou charakterističtí svým malým vzrůstem, tmavozelenými okrouhlými listy a omezenou plodností, či úplnou sterilitou (Obr.: 18). Po aplikaci brassinosteroidů, se úplně nebo částečně obnoví původní stavba a funkce rostliny (Bishop a Koncz, 2002).



Obrázek 18: Hladina brassinosteroidů reguluje jak velikost, tak senescenci. Zde je jako modelová rostlina použit tabák (*Nicotiana*). Rostlina vepředu má nízkou hladinu brassinosteroidů, je tedy nízká a listy nestárnou. Rostlina vzadu obsahuje normální hladinu brassinosteroidů, je tedy mnohem vyšší a na jejích listech se projevují známky stárnutí.

Převzato z: viz web 17

Co se týká regulace buněčného dělení, role brassinosteroidů v tomto procesu není zcela objasněna. Ve studiích zaměřených na tento vyřešení tohoto problému, bylo často dosaženo protichůdných výsledků. Toto záviselo především na použitém rostlinném druhu. Například stimulační vliv na buněčné dělení byl zaznamenán u rostlin čínského zelí (*Brassica napus chinensis*). Brassinolid dodaný k buněčné kultuře nahradil jejich požadavek na auxiny, které jsou jinak pro buněčné dělení nezbytné. Tento efekt brassinolidu však byl omezen jen na krátkou dobu kultivace a plně tedy nenahradil

působení auxinů (Nakajima et al., 1996). Na druhou stranu nebyly prokázány žádné stimulační účinky po přidání brassinolidu ke kultuře buněk mrkve obecné (*Daucus carota*) (Sala a Sala, 1985)

Dále dokáží indukovat zrychlení růstu rostlin, zvýšit životaschopnost semen. Hrají důležitou roli v plodnosti, vývoji xylému, růstu kořenů a senescenci. Studie také prokazují jejich nezanedbatelnou úlohu v odpovědi rostlin na abiotický stres (těžké kovy, vysoké či naopak nízké teploty, množství vody) a biotický stres (napadení patogeny).

Vlastní odpověď rostliny na nepříznivé podmínky se souborem komplexních biochemických reakcí. Jedná se o indukci syntézy proteinů (např.: při vystavení rostlin vysoké teplotě, došlo ke zvýšení syntézy tzv. heat-shock proteinů), aktivace či zastavení klíčových enzymatických reakcí a vytváření chemických obranných látek (Bajguz a Hayat, 2009). V roce 2006 je publikována studie, kde Haubrick dokazuje, že v rostlinách rýže (*Oryza*) tabáku (*Nicotiana*) se díky aplikaci brassinosteroidů vytváří rezistence proti bakteriálním a houbovým patogenům (Haubrick a Asmann, 2006).

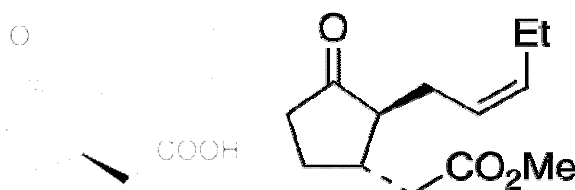
4. Růstové regulátory rostlin

Na začátku práce již bylo uvedeno, že v rostlinách se vyskytují také další látky s regulační aktivitou. Mezi ně patří polyaminy, kyselina jasmonová, některé oligosachariny a fenolické látky. Ačkoliv tyto látky neřadíme mezi fytohormony (především z důvodu nedostatečných poznatků), mají na fyziologické děje v rostlinách prokazatelný vliv. Proto si zaslouží naši pozornost a tato práce se jim bude také, alespoň okrajově věnovat.

4.1 Kyselina jasmonová

Kyselina jasmonovou (JA) (Obr.: 19) a její deriváty můžeme nalézt ve všech orgánech vyšších a nižších rostlin, ale také v houbách. Právě z houby *Lasiodiplodia theobromae* se vědcům poprvé podařilo kyselinu jasmonovou izolovat. Z vyšších rostlin je jejím

zdrojem jasmín (*Jasminum grandiflorum*), podle nějž také tato kyselina získala svůj název (Macháčková, 1998). Studium struktury a syntézy podpořil kosmetický průmysl díky použití éterických olejů jasmínu k výrobě parfémů. V roce 1980 byl objasněn vliv metylesteru kyseliny jasmonové (MeJA) (Obr.: 19) na senescenčně-promoční efekt (Ueda a Kato, 1980). O čtyři roky později, v roce 1984, Vick a Zimmermann objasnili biosyntézu této kyseliny a některých jejích derivátů (Vick a Zimmermann, 1984).



Obrázek 19: Kyselina jasmonová a její metylester.

Převzato z: viz web 18

Výchozím substrátem biosyntézy JA je kyselina α -aminolinolenová. Ta je oxygenována pomocí enzymu lipoxygenázy. Vznikající kyselina 13-hydro-peroxylinolenová se stává substrátem pro další sled reakcí. Ty vedou až k výslednému produktu – kyselině jasmonové (Wasternack, 2007).

Kyselina jasmonová ve své molekule obsahuje dvě chirální centra (uhlík C-3 a C-7), z čehož vyplývá možnost vytvářet čtyři formy stereoizomerů. Velmi častý je výskyt jejího metylesteru, který bývá reaktivnější než JA (nejspíš díky své těkavosti a neschopnosti disociovat). Dále je také prokázána přítomnost kyseliny jasmonové ve formě glukóza esteru (Macháčková, 1988). Vědci předpokládají, že právě glykozylované metabolity a konjugáty aminokyselin JA mohou být důležitými skladovacími formami pro hormony, které přispívají k udržování homeostázy (Staswick, 2002).

4.1.1 Fyziologické účinky kyseliny jasmonové

Kyselina jasmonová má v rostlinách široké spektrum účinku, ikdyž některé nejsou jednoznačně objasněné. Jejím nejdéle známým účinkem je urychlení stárnutí listových segmentů. Ve stárnoucích listech dochází k nahromadění MeJA a tím je potlačen

retardační vliv cytokininů a světla na stárnutí (Macháčková, 1998). Ovšem tato skutečnost je v opozici k vysokému výskytu JA v místech buněčného dělení a mladých listech (Creelman a Mullet, 1995). Z toho vyplývá, že otázka vlivu JA na senescenci rostlin zůstává otevřená.

Předpokládaný vliv na vývoj květů a plodů vychází z vysokého výskytu JA v rozvíjející se rostlinné reprodukční tkáni. JA může ovlivňovat zrání plodů, hladinu karotenoidů či expresi genů semen (Wasternack, 2007).

Vliv jasmonátů na klíčení semen rozebírá ve své práci z roku 1997 Bewley. Uvádí, že kyselina jasmonová a její metylester inhibují klíčení u nedormantních semen. U semen dormantních naopak klíčení aktivují. U semen dubu letního (*Quercus robur*) souviselo zvýšení jasmonátů s lipidperoxidázou, z čehož autor usuzuje na nejednoznačnost vztahu mezi biosyntézou JA a kontrolou klíčení. Zvýšené hodnoty připisuje spíše následku poškození membrány (Bewley, 1997).

Kyselina jasmonová hraje klíčovou roli při reakci rostlin na stres a aktivaci jejich obranného systému. V rostlině se po zranění hromadí JA. Při šíření rostlinou nese informaci o působení patogenu a zprostředkovává reakci na něj (Macháčková, 1998). Při pokusech s *Arabidopsis thaliana* bylo zjištěno, že pokud rostlině poraníme listy, buněčné dělení v růstově aktivních vrcholech se zastaví. Tedy díky jasmonátům dojde k potlačení dělení buněk a nové listy budou menší, než kdyby nedošlo k lokálnímu stresu. Z toho vyplývá, že rostliny nesyntetizující JA dorostou do větších rozměrů (Zhang a Turner, 2008).

Na stejném principu, jako JA působí při přenosu informací její metylester. Díky své těkavosti přenáší informace mezi jednotlivými rostlinami. Proto ochranné reakce probíhají i na rostlinách umístěných poblíž. Mimo jiné bylo prokázáno, že zvýšení odolnosti před plísní bramborovou (*Phytophthora infestans*) způsobuje právě zvýšená hladina JA u brambor. JA zde často působí v interakci s etylenem (Cohen et al., 1993).

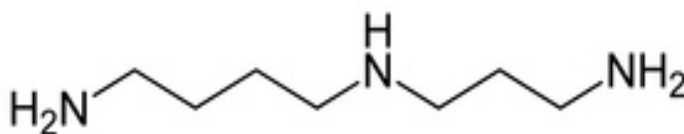
Dále jasmonáty fungují jako signál při reakci na dotyk (rostliny s úponky), zakládají hlízy, inhibují klíčení a růst kořenů. Působí proti účinku cytokininů (látky podporující buněčné dělení), na druhé straně ovšem vykazují podobnou aktivitu jako kyselina abscisová (ABA).

Za zmínku také stojí předpokládané protinádorové účinky JA. V práci publikované v roce 2005 Flescher uvádí, že MeJA vykazuje selektivní cytotoxické účinky u buněčných linií z širokého spektra zhoubných nádorů, např. prostaty nebo plic. Cílem jeho účinku jsou mitochondrie, kdy dochází k jejich zduření a následnému uvolnění cytochromu c. Toto je charakteristické pro apoptózu (programovanou buněčnou smrt) (Flescher, 2005). Vědci se také zabývají studiem detekce jasmonátů v lidských myeloidních leukemických buňkách (Ishi et al., 2004).

4.2 Polyaminy

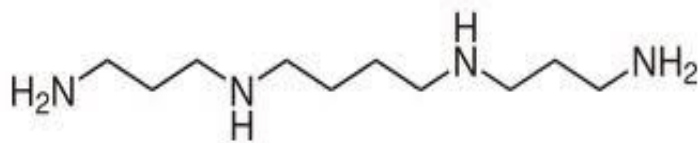
Polyaminy jsou organické látky s více aminoskupinami v molekule. Nacházejí se ve všech živých organizmech. Jsou nepostradatelné pro růst a vývoj organismů jak prokaryotních tak eukaryotních. V rostlinách jsou hlavními zástupci polyaminů spermidin (Obr.: 20), spermin (Obr.: 21) a putrescin (Obr.: 22). Vyskytují se buď ve volné formě nebo ve formě konjugátů, ať už s fenolickými látkami nebo proteiny či aminokyselinami (Kaur-Sawhney et al., 2003).

Biosyntéze polyaminů byla objasněna už v 50. letech. V roce 1958 Herbert Tabor s manželkou a kolektivem autorů publikovali článek, ve kterém zveřejnili výsledky výzkumu syntézy biogenních polyaminů v kulturách bakterie *E. coli* (Tabor et al., 1958). Výchozími látkami pro biosyntézu polyaminů jsou aminokyseliny arginin nebo ornitin. Z nich postupnou dekarboxylací vzniká putrescin. V této fázi se syntetická cesta rozděluje. Dochází k připojení aminoskupin. Tato reakce je katalyzovaná buď spermidinsyntázou (potom vzniká spermidin) nebo sperminsyntázou (produktem je spermin) (Macháčková, 1998).



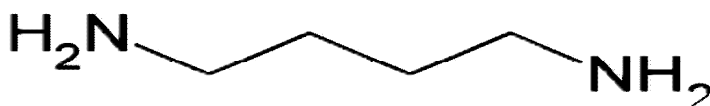
Obrázek 20: Spermidin.

Převzato z: viz web 19



Obrázek 21: Spermin.

Převzato z: viz web 20



Obrázek 22: Putrescin.

Převzato z: viz web 21

4.2.1 Fyziologické účinky polyaminů

Při fyziologické hodnotě pH, polyaminy snadno reagují s DNA, čímž ovlivňují její replikaci, transkripci a translaci. Toto, by mohla být podstata jejich fyziologického působení. Dále se podílejí na iniciaci kvetení, regulaci buněčného cyklu a potlačují senescenci rostlin (Macháčková, 1998).

Stejně jako výše zmíněné skupiny látek, také polyaminy mají vliv na regulaci růstu rostlin.

Montague prováděl pokusy s buněčnými kulturami mrkve obecné (*Daucus carota*) a v roce 1978 publikoval článek, ve kterém prokazuje souvislost mezi zvýšenou hladinou polyaminů a probíhajícím intenzivním buněčným dělením (Montague et al., 1978). Následující studie tento předpoklad nejen potvrzují, ale také prokazují, že platí i pro další rostlinné druhy. Přezkoumáním tohoto tvrzení se ve své práci zabývají Bais a Ravishankar (Bais a Raviskhar, 2002). Důležitá je také skutečnost, že ačkoliv spermidin, spermin a putrescin označujeme souhrnně jako polyaminy, každý se na regulaci rostlinného růstu podílí odlišně. Pro buněčné dělení je nejspíše důležitá vysoká hladina spermidinu a sperminu, putrescin je nezbytný pro prodlužování buněk (Cvikrová et al., 1999).

Jak již bylo výše řečeno, biologická aktivita polyaminů je do značné míry podmíněna jejich interakcí s biomembránami a molekulami nukleových kyselin, které jsou těmito vazbami stabilizovány a chráněny před degradací. V tom také spočívá jejich úloha při

obraně rostlin (např.: při napadení viry nebo jinými škůdci). V roce 2000 byla publikovaná studie, která prokazuje spojitost právě mezi akumulací volných forem polyaminů v rostlinách ozimé pšenice a jejich napadením mšicemi (Havlíčková a kol., 2000).

Studium úlohy polyaminů je zejména v oblasti týkající se živočišných buněk stále velmi aktuální. Především vzhledem k hromadění polyaminů v rakovinných buňkách (Thomas a Thomas 2003).

4.3 Oligosachariny

Také oligosachariny řadíme mezi látky s růstově regulační aktivitou. Jedné se o fragmenty buněčné stěny. Z chemického hlediska se ovšem jedná o oligosacharidy, tudíž název oligosachariny není úplně správný. Slouží k oddělení těch oligosacharidů, které mají regulační aktivitu.

Tyto můžeme rozdělit do tří skupin:

- Xyloglukanové oligosachariny, jejichž aktivní formy vždy, v postranním řetězci, obsahují spojení fruktóza-galaktóza. Tvoří nerozpustnou součást vlákniny. Jsou dominantní složkou buněčných stěn dvouděložných rostlin. U rostlin jednoděložných jsou přítomny v menším množství (Velíšek, 2002).
- Pektinové oligosachariny, jsou součástí pletiv vyšších rostlin. Podílí se na stavbě stěn primárních buněk a mezibuněčných prostor. Nejúčinnější z nich mají 9 – 14 jednotek. Můžeme je nalézt prakticky ve všech druzích ovoce a zeleniny (Hoza, 2007).
- Oligomery s glukózaminem, které vznikají štěpením části patogenů (chitinu nebo chitizanu) rostlinným enzymem chitinázou.

4.3.1 Fyziologické účinky oligosacharinů

Vzhledem k tomu, že se jedná o poměrně obsáhlou skupinu látek, mohou se i jejich fyziologické účinky značně lišit.

Xyloglukany působí při koncentraci 1 – 100 $\mu\text{mol l}^{-1}$. Jejich hlavním účinkem je inhibice dlouhivého růstu. A to i růstu stimulovaného auxiny a kyselinou gibberelovou (Macháčková, 1998).

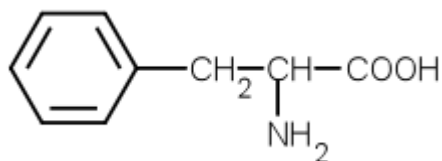
Pektiny během růstu, zrání a skladování ovlivňují texturu ovoce a zeleniny. V nezralém ovoci se vyskytují nerozpustné pektinové látky, které podléhají degradaci. A právě vlivem těchto degradací dochází, v průběhu zrání, k měknutí ovoce a zeleniny. Během zrání pektiny ztrácí svou želírovací schopnost a uvolňují se z komplexů polysacharidů, tvořících buněčné stěny. Rychlost tohoto procesu je ovlivněna přítomností určitých enzymů katalyzujících degradaci pektinů (Hoza, 2007). Pektinové oligosachariny také inhibují dlouhivý růst, zakořeňování a embryogenezi. V tomto směru vlastně působí proti účinkům auxinů. A stejně jako některé již zmiňované růstové regulátory se podílejí na obranné reakci při napadení rostliny patogenem (Macháčková, 1998).

Glukózaminové oligosachariny jsou důležité při napadení rostlin patogeny. Indukují syntézu tzv. fytoalexinů (obrné látky) a syntézu etylenu (podílí se na signalizaci stresu) (Fry et al., 1993).

4.4 Fenolické látky

Fenolické látky jsou velmi početné a různorodé sekundární metabolity. Do této skupiny zahrnujeme jak jednoduché deriváty benzenu, kyseliny benzeové a skořicové, tak i látky strukturně složitější, např. třísloviny a lignin. Většina přirozeně se vyskytujících fenolických sloučenin je přítomna ve formě konjugátů s monosacharidy či polysacharidy anebo se vyskytují jako funkční deriváty esterů a metylesterů. Fenolické látky můžeme nalézt napříč celou rostlinnou říší, ačkoliv mezi růstové regulátory řadíme pouze některé z nich (Balasundram et al., 2006).

Podle názvu je možné určit, že prekurzorem pro syntézu fenolických látek je aromatická aminokyselina fenylalanin (Obr.: 23), který je dále přeměňován na kyselinu skořicovou. Do její molekuly jsou zaváděny hydroxylové a metoxylové skupiny. Takto vzniklé látky mohou být následně polymerovány na lignin, kumariny či flavonoidy (Macháčková, 1998).



Obrázek 23: Fenylalanin (prekurzorů biosyntézy fenolických látek).

Převzato z: viz web 22

4.4.1 Fyziologické účinky fenolických látek

Protože se jedná o takto rozsáhlou skupinu, jsou také fyziologické účinky značně odlišné. Obecně lze říci, že fenolické látky hrají v rostlinách důležitou roli nejen při růstu, ale také jako ochrana před napadením rostlin predátory či patogeny. U ovoce a zeleniny ovlivňují jejich senzorické vlastnosti, tedy barvu, vůni atd. (Balasundram et al., 2006). V neposlední řadě nacházejí fenolické látky uplatnění při vnášení DNA do genomu rostlin

Pokud se bude mluvit o ovlivňování růstu rostlin fenolickými látkami, dojdeme k závěru, že působí jako antagonisté IAA. Tedy inhibují dlouhivý růst, který je IAA indukovaný. Jedním z vysvětlení je skutečnost, že deriváty kyseliny skořicové jsou přímými prekurzory ligninu. A lignifikace, neboli dřevnatění omezuje dlouhivý růst (Macháčková, 1998).

Mezi fenolické látky patří také kyselina salicylová (SA). Vyskytuje se také v kůře vrby (*Salix*), která se používá pro své léčebné účinky (působí protizánětlivě a dezinfekčně). V rostlinách významně ovlivňuje růst a vývoj (indukuje specifické změny v listové anatomii), fotosyntézu nebo transpiraci. Kyselina salicylová také zprostředkovává rostlinnou obranu při napadení patogenem. Je zapojena do signální kaskády vedoucí k tzv. *Systemic Acquired Resistance* (SAR). Po napadení rostliny se zvýší hladina SA v místě infekce. Takto vzniklá SA poté putuje floémem do neinfikovaných částí rostliny, kde vyvolá změny potřebné k získání rezistence. Tato rezistence je ovšem pouze přechodná a uchovává se v rostlině po dobu několika týdnů (Friedrich et al., 1995).

5. Obranné reakce rostlin

Popsat jednotlivé reakce rostlin na stres by bylo velmi náročné, i z důvodu nedostatečných informací. Vzhledem k tomu, že dosud neznáme zcela detailně jednotlivé fáze fyziologických pochodů u rostlin, není také úplně přesně objasněn podíl fytohormonů na stresových reakcích. Ovšem právě poznání těchto procesů je velmi důležité a to především k možnostem jejich následného využití např. v zemědělství. Z tohoto důvodu se tato práce bude dále, alespoň okrajově, zabývat otázkou praktického využití rostlinných hormonů. V obecné rovině zde bude také vysvětlená reakce rostlin na stres.

Rostliny se během svého života musí plně adaptovat na environmentální variabilitu svého biotopu, protože, na rozdíl od živočichů, nemají možnost se aktivně přemísťovat. A právě nepříznivé odchylky tohoto prostředí označujeme jako stresové faktory. Bývá obvyklé, že rostlina může být vystavena více stresovým faktorům zároveň. Podle druhu stresových faktorů může být rostlina vystavena stresu biotickému či abiotickému. Pod pojmem biotické stresové faktory si v podstatě můžeme představit vše „živé“. Patří sem např. bakterie, houby, viry, živočichové (např. hmyz, savci), ale také vzájemné ovlivňování (aleopatie, parazitizmus). Abiotické stresové faktory se dělí na fyzikální (vítr, nadměrné či nedostatečné záření, extrémní teploty) a chemické (nadbytek či nedostatek vody, těžké kovy, nadbytečné množství iontů solí, toxické látky, atd.).

Obranné faktory se z hlediska působení dělí na aktivní a pasivní. Mezi pasivní faktory zahrnujeme např. impregnaci buněčných stěn či silnou kutikulu na listech. Toto zabraňuje vlastnímu proniknutí jednotlivých stresových faktorů do rostliny. Pokud „selže“ pasivní obranný mechanismus, na řadu přichází mechanismus aktivní obrany. Dochází ke spuštění řetězce reakcí, který je označován jako stresová reakce (Obr.: 23).



Obrázek 24: Idealizovaný průběh stresové reakce.

Převzato z: Gloser a Prášil, 1998.

Na začátku působení stresového faktoru dochází k narušení základních rostlinných funkcí a buněčných struktur a nastává tzv. poplachová fáze. Pokud působení stresového faktoru nemá letální účinky, tedy je v souladu s přežitím rostliny, dochází k mobilizaci kompenzačních mechanismů a rostlina přechází do tzv. restituční fáze (Gloser a Prášil, 1998). Pro přenos signálu z místa napadení po celé rostlině a indukci vytvoření rezistence je potřeba mobilních molekul, které jsou schopny indukovat obranné mechanismy v dosud nenapadených částech rostliny (Heil a Ton, 2008). Kompenzační systémy umožňují zvýšit odolnost vůči danému stresovému faktoru, rostlina si vytvoří určitou odolnost a je tedy ve fázi maximální rezistence. Ovšem ne vždy je takto vytvořená odolnost trvalá. Při dlouhodobém vystavení rostliny stresu dochází k vyčerpání a tím i k poklesu rezistence. Toto je ovšem pouze obecný a velmi zjednodušený popis reakce rostlin na stres. Protože existuje velké množství stresových faktorů, je také stresová odpověď u rostlin velmi rozmanitá. Proto existuje velké množství odchylek od ideálního průběhu stresové reakce. Při reakci rostlin na stres je totiž důležitá nejenom délka působení stresových faktorů, ale také genetické vlastnosti rostliny, které se označují jako adaptační vlastnosti (Gloser a Prášil, 1998).

Při reakci rostlin na stres dochází také ke změnám aklimačním. Na rozdíl od adaptačních změn, jsou tyto relativně rychlé, protože nedochází ke geneticky

podmíněnému přizpůsobení celé rostliny. Samozřejmě, že tyto změny jsou druhově velmi rozdílné. Ale i zde existují určité podobnosti (Červenková, 2006). Jedná se o tzv. genově vázané řízení, kdy dochází k aktivaci určitých genů. Nemluvíme zde tedy o genové expresi jako takové, ale o aktivaci určitého „spícího“ genu působením stresového faktoru. Toto řízení může být spuštěno několika odlišnými mechanismy (Gloser a Prášil, 1998).

Jak již bylo výše zmíněno, reakce rostlin na stres jsou druhově velmi odlišné, ovšem i zde existují určité společné změny, které vedou ke zvýšení odolnosti rostlin. Těmito nejčastějšími společnými změnami jsou:

- tvorba osmoregulačních sloučenin, jako jsou cukry, jednoduché dusíkaté látky a polyalkoholy,
- na zvýšení odolnosti vůči působení stresového faktoru má vliv také tvorba a odstraňování reaktivních forem kyslíku,
- tvorba fytohormonů, z nichž se v největší míře jedná o etylen, kyselinu abscisovou, kyselinu jasmonovou, metyljasmonáty a polyaminy (což vyplývá z jejich fyziologického působení, zmiňovaného v předchozích kapitolách),
- v neposlední řadě je odpovědí na stres tvorba stresových proteinů, jejichž indukce je vázána na působení určitého stresového faktoru. Mezi tyto stresové proteiny patří HSP (heat-shock proteins), proteiny indukované chladem (cold-induced proteins), dehydratací (dehydration-induced proteins), patogeny (pathogenesis-related proteins, PRP) a proteiny indukované sníženou koncentrací kyslíku (anaerobic stress proteins, ASP) (Gloser a Prášil, 1998).

Gloser a Prášil se dále zabývají popisem jednotlivých stresových faktorů a obecnou reakcí rostlin na ně. Také si pokládají otázku, zda u rostlin existuje obecná stresová reakce, která by byla analogická obecnému adaptačnímu syndromu u živočichů (*general adaptation syndrom*). Bohužel odpověď na tuto otázku stále není jednoznačná a je předmětem dalšího výzkumu (Gloser a Prášil, 1998).

6. Rostlinné hormony v praxi

Jak vyplývá z předchozích kapitol, resp. popisu fyziologických účinků v rostlinách, fytohormony nabízejí rozsáhlé možnosti využití a to nejen v zemědělství. Nelze shrnout veškeré eventuality využití rostlinných hormonů do jedné kapitoly. Proto jsou níže uvedeny pouze některé nejdůležitější oblasti aplikace fytohormonů do praxe.

V Česku se o výzkum rostlinných hormonů a jejich praktické využití významně zasloužil Prof. Rudolf Dostál a následně také jeho žáci. Proto tato kapitola, čerpá také z poznatků a práce Prof. R. Dostála, které shrnul ve své publikaci „Harmonie v rostlinách“ Prof. Šebánek (Šebánek, 2004).

Při zkoumání problematiky využití fytohormonů v praxi, je možno nalézt největší uplatnění v zemědělství a v zahradnictví, především při zakořeňování stonkových řízků. V této oblasti mají zásadní význam auxiny, ať už přirozené či syntetické. Je zde využívána jejich vlastnost indukce větvení kořenů a zakládání kořenů adventivních. Ovšem ne u všech rostlin je tato „stimulace“ účinná. Šebánek uvádí, že kladné výsledky přinesla aplikace auxinů u řízků např.: angreštu (*Grossularia uva crisp*), břečťanu (*Hedera*), růže (*Rosa*) či broskvoně (*Prunus*). Na druhou stranu necitlivost vůči dodaným auxinům se projevila u řízků šácholanu (*Magnolia*), borovice (*Pinus*) či svídy (*Cornus*). Důležitá je ovšem také doba sběru řízků a stáří mateční rostliny. Vědci se také snažili prokázat zvýšení klíčivosti semen po nabobtnání v roztoku auxinů. Tyto pokusy nebyly prováděny pouze v Česku, ale také ve čtyřicátých letech v Německu. Ovšem výsledky nebyly průkazné. Bylo dokázáno, že pokud se semena nechají nabobtnat ve vodě, je jejich klíčivost srovnatelná s těmi, které byly ošetřeny použitím auxinů.

Ovšem kladně v tomto směru na semena působí další skupina hormonů – gibereliny (Šebánek, 2004). Této skutečnosti se využívá ve sladovnictví. Po sklizni není ječmen schopen klíčit, kvůli vysokému obsahu inhibičních látek v obilkách. Tomuto jevu říkáme „posklizňové dozrávání“. Tento proces jde výrazně zkrátit přidáním giberelinů do vody, ve které se obilky ječmene nechávají nabobtnat nebo aplikací postřiku na suché obilky. Ovšem vzhledem k některým nežádoucím účinkům je aplikace postřiku doporučována pouze při problémech se sladováním (více Procházka et al., 2000).

„Urychlovacích“ účinků giberelinů se ovšem využívá při získávání materiálu k výzkumu virových chorob brambor.

Pomocí fytohormonů můžeme také ovlivnit jakost ovoce. Při aplikaci rostlinných hormonů dochází k vyvinutí plodů bez oplození, tzv. partenokarpie. Takové ovoce je potom bez semen, např. réva vinná (*Vitis vinifera*).

Dosud fytohormony byly zmiňovány v souvislosti se stimulací fyziologických procesů v rostlinách. Ovšem, jak je zmíněno již na začátku práce, záleží především na koncentraci aplikovaných fytohormonů. Jako příklad je možno uvést auxiny. V povědomosti máme auxiny především jako stimulanty zakládání adventivních kořenů. Ale při zvýšené koncentraci působí jako selektivní herbicidy dvouděložných rostlin. Šebánek uvádí, že k tomuto objevu došlo více méně náhodou, když postřik aplikovaný na porost obilí měl příliš vysokou koncentraci. Následkem toho došlo k odumření dvouděložného plevele, především z čeledí brukvovitých (*Brassicaceae*), miříkovitých (*Apiaceae*), hvězdnicovitých (*Astraceae*) a bobovitých (*Fabaceae*).

Dále se rostlinné hormony používají v květinářství (prodloužení stonků vhodných k řezu, zvýšení množství květů). Ovšem nejčastěji se jsou fytohormony aplikovány při pěstování izolovaných rostlinných částí při kultivaci *in vitro*. V tomto případě jsou nezbytnou součástí kultivačních médií. Takto získaný materiál není kontaminovaný bakteriemi či viry a je možné ho použít při šlechtění rostlin (Šebánek, 2004).

V předchozí kapitole této práce jsou, v obecné rovině, uváděny reakce rostlin na stres. A to stres biotický a abiotický. Z důvodu časové náročnosti šlechtění rostlin, jsou v zemědělství využívány také tzv. antistresové látky. Ve většině případů se jedná o přírodní látky, fytohormonální a nefytohormonální povahy, které nezatěžují životní prostředí (Hnilička et al., 2010). Z důvodu zaměření předkládané práce, zde budou zmíněny pouze látky fytohormonální povahy. Jak vyplývá z předchozích kapitol, „základním“ stresovým hormonem je kyselina abscisová. Její fyziologické působení souvisí především s reakcí rostlin na vodní stres. Je biologickým indikátorem a její zvýšená koncentrace je prvním podnětem pro geny zajišťující reakci rostlin na nedostatek vody. Dalším stresovým fytohormonem je etylen a skupina fytohormonů-brassinosteroidy. Brassinosteroidy se v současné době dostávají do popředí zájmu a to

především pro jejich prokazatelný vliv na zvýšení výnosu zemědělských plodin, např.: kukuřice, rýže, cukrové řepy, ječmene, brambor, ale také bavlníku a čaje (Rao et al., 2002). Brassinosteroidy zvyšují odolnost rostlin vůči biotickým a abiotickým stresům, především vůči vysokým či nízkým teplotám, deficitu či nadměrnému zamokření půdy, zvýšené koncentraci těžkých kovů a pesticidů a vůči působení bakterií, virů a hub. Použití těchto látek, je vzhledem k jejich odbouratelnosti vhodné pro tzv. ekologické zemědělství a v konečném důsledku mohou vést např. ke snížení množství vody, potřebné pro závlahu (Hnilička et al., 2010).

Tímto se dostáváme k velmi zajímavému a medializovanému tématu a to jsou geneticky modifikované organizmy/potraviny. S těmito potravinami se setkáváme velmi často a také vědci se jimi dosti zabývají. Silné rozpaky tyto organizmy vyvolávají právě ve spojení se zemědělstvím. Avšak právě v této oblasti GMO⁵ nacházejí nečekaný rozvoj a následně také kladné uplatnění. Již na samotném počátku vývoje geneticky modifikovaných organismů stálo právě jejich možné využití pro zvýšení efektivity zemědělské produkce. Podle některých odborníků by totiž GMO mohly zmírnit či zcela vymýtit hladomory v rozvojových zemích. Pomocí nejnovějších poznatků by bylo možné „vyšlechtit“ takové rostlinné jedince, kteří by snesli extrémní podmínky, a ještě by vykazovali poměrně vysoké výnosy (např. kukuřice). Tímto by také mohlo dojít k úsporám energie a k lepšímu využití půdy. Navíc pomocí manipulace s genovým fondem plodiny, dokáží vědci již dnes zvýšit jejich nutriční hodnotu či odolnost vůči škůdcům, čímž se snižuje potřeba použití postřiků proti škůdcům (informační prohlášení ISFT, 2008, viz web: 23). Dalším problémem, který způsobuje poškození zemědělských plodin, je dlouhodobé vystavení působení chladu a mrazu. Postupem času dochází k vývoji klimatu na Zemi, což může vést ke změně skladby plodin a regionů jejich pěstování. Je tedy velmi aktuální nalézt možnosti zvýšení odolnosti rostlin vůči chladu a mrazu. Z tohoto důvodu probíhá intenzivní studium tzv. biomarkerů odolnosti⁶ (sem

⁵ Geneticky modifikovaný organismus (GMO) je organismus (kromě člověka) schopný rozmnožování, jehož dědičný materiál byl změněn genetickou modifikací provedenou některým z technických postupů stanovených zákonem.

⁶ Indikátor stavu organismu, může charakterizovat organismus zdravý, nemocný či jinak poškozený (Bláha et al. 2010).

patří některé fytohormony, např. etylen a kyselina abscisová) a hledání a mapování genů, zodpovědných za odolnost k nízkým teplotám. V současné době se velmi prohloubilo poznání mechanismů odolnosti rostlin vůči chladu a mrazu. Čímž se také zvýšila možnost využití markerů a řízení a přenosu genů vedoucích ke zvýšení stability odolnosti rostlin vůči nízkým teplotám (Prášil et al., 2010). Ovšem každá mince má dvě strany a také zde se vyskytují určitá rizika, která je možno rozdělit do dvou skupin:

- vliv na zdraví člověka a zvířat a
- důsledky pro životní prostředí (při uvolňování živých modifikovaných organismů do prostředí).

Do první skupiny patří především možná rizika toxicity či alergenity (tvorba nových toxinů a jejich přenos do jiného organismu, kde mohou vyvolat nečekané alergické reakce). Nepříznivé důsledky pro životní prostředí představuje např. křížení, které může vést ke vzniku agresivních plevelů nebo volně rostoucích rostlin, příbuzných rostlinám kulturním, jež mají zvýšenou odolnost k nemocem či vnějším stresům. Může dojít ke snížení biologické rozmanitosti v přírodě (např. nahrazení lokálních druhů a omezení organismů na ně vázaných), případně i k rozvrácení přirozené rovnováhy ekosystémů (v důsledku zvýšené konkurenční schopnosti geneticky modifikovaných organismů) (Roudná, 2008). Z předchozího textu tedy vyplývá, že také otázka následného ovlivnění ekosystému geneticky upravenými organismy není zanedbatelná. Je prokázáno, že dochází k interakcím mezi modifikovanými rostlinami a půdními mikroorganismy, přičemž může dojít ke změně biodiverzity těchto mikroorganismů a tím k ovlivnění daného ekosystému (Dunfield a Germida, 2004).

Otázka GMO je tedy velmi rozsáhlá a diskutovatelná. Samozřejmě uvést všechny okolnosti, klady a zápory pěstování takto upravených rostlin a využívání GMO je zdaleka nad rámec této bakalářské práce. Hlubší a komplexnější vhled do této problematiky přináší např. ISFT (Institute of Food Science & Technology) ve svém Informačním prohlášení z roku 2008 (viz web 23), či publikace „Současné možnosti fyziologie a zemědělského výzkumu přispět k produkci rostlin (vybrané kapitoly)“ od Bláhy et al. z roku 2010. Na druhou stranu už z uvedených skutečností vyplývá, že je nutná velká obezřetnost. V dlouhodobém horizontu nejsou dostatečně prokázané

důsledky používání nových technologií. Z těchto důvodů některé vyspělé státy přijaly legislativní opatření upravující rozvoj a zacházení s výsledky užití moderních biotechnologií. Bohužel v řadě zemí tato opatření chybí. V České republice se legislativní problematikou otázky GMO zabývá Ministerstvo životního prostředí. V roce 2004 byl pod jeho záštitou publikován komplexní přehled jak mezinárodních ustanovení, tak také závazků týkajících se České republiky (Doubková a Roudná, 2004). Současně jsou zde zveřejněny sborníky ze seminářů uspořádaných v rámci projektu UNEP/GFP, který je zaměřen na genetické modifikace a biologickou bezpečnost (viz web 24).

7. Praktická část

Z předchozího textu vyplývá, že otázka rostlinných hormonů je v současnosti velmi aktuální. Možnost rozhodovat již nemají pouze odborníci, ale také laická veřejnost. A aby bylo možné provádět zodpovědná rozhodnutí a to nejen v problematice GMO, je nutné mít dostatek informací o daném tématu. Proto je velmi důležité, již současným studentům, popř. žákům základních škol, zajistit dostatečné množství poznatků o problematice rostlinných hormonů a současně je dokázat srozumitelným způsobem zprostředkovat. Studenti, popř. žáci základních škol se s pojmem „fytohormony“ v běžné výuce často neseškávají. Z tohoto důvodu je možné zvolené úlohy aplikovat pouze pro demonstraci dějů, které v rostlinách probíhají a tímto způsobem studenty, popř. žáky seznámit s faktem o existenci látek, které ovlivňují fyziologické procesy v rostlinách.

K praktické části předkládané bakalářské práce náleží dva soubory pracovních listů. Jedná se o návody na přípravu pokusů, pomocí nichž je možné demonstrovat účinky fyziologického působení fytohormonů v rostlinách. Při výběru pokusů je dbáno na dostupnost materiálu a technickou nenáročnost. Každý soubor obsahuje shrnutí teoretických poznatků o dané problematice, seznam potřeb a pomůcek, postup práce a kontrolní otázky, aby měl pedagog možnost zpětné vazby. Popř. také obrazovou přílohu.

7.1 Barvení jodem jako důkaz přítomnosti cukru ve zrajícím ovoci

První úloha je zaměřena na demonstraci účinků etylenu při zrání ovoce. Během procesu zrání se uložený škrob, který není sladký, přeměňuje na cukr. Je to výsledek vývoje, kdy sladké ovoce slouží jako potrava živočichům a tím dochází k rozšíření semen v jejich trávicí soustavě. Při zrání se vytváří velké množství etylenu, který spouští metabolické dráhy a ty vedou k přeměně škrobu na cukr. Jod při přítomnosti škrobu zčerná. Tedy pokud plody nejsou zralé a obsahují hodně škrobu, budou na řezu černé. Zralé plody obsahují cukr, a proto zůstanou neobarvené.

Ovoce je barvené vodným roztokem jodu v jodidu draselném tzv. Lugolův roztok. Pokud není možnost připravit ho ve škole, může se nechat namíchat v lékárně, ovšem pouze na předpis. Přípravu roztoku není vhodné svěřovat žákům, popř. studentům SŠ, je tedy důležité ho již mít předpřipravený v dostatečném množství.

Na začátku hodiny se studenti, popř. žáci seznámí s teoretickými poznatky, které by jim měly sloužit k následnému vyhodnocení pokusu a zodpovězení kontrolních otázek. Podle pokynů provedou barvení ovoce a své výsledky porovnají s obrazovou přílohou a diskutují je.

- příprava: 15-20 min.
- délka průběhu pokusu (barvení ovoce): 3x2 min.

UPOZORNĚNÍ:

Při barvení jodem může dojít k potřísnění a obarvení kůže a šatstva. Proto je nutné používat ochranné pomůcky.

Cíl práce: Barvení jodem jako důkaz přítomnosti cukru ve zrajícím ovoci

Shrnutí teoretických poznatků:

Fytohormony umožňují rostlinám koordinovat metabolické a vývojové procesy v celém organismu (klíčení semen, dozrávání plodů, růst, rozmnožování). Také zprostředkování signálů z okolního prostředí se děje v rostlině pomocí fytohormonů.

Mají nezastupitelnou funkci jako přenašeči informací. Když je zachycen stimul z prostředí, jsou o něm informovány všechny části rostlin díky syntéze nebo změně poměru koncentrací jednoho či více fytohormonů. Pro výsledné působení není tedy důležitá aktivita nebo jen jejich množství, ale hlavně vzájemný poměr jednotlivých fytohormonů. Ty jsou definovány jako látky syntetizované na jednom místě, odkud jsou potom transportovány.

Etylen je jediný známý plynný hormon. Je syntetizován v rychle rostoucím pletivu (meristémy). I když je většina rostlinných hormonů transportována cévním systémem, etylen v tomto případě tvoří výjimku. Většina etylenu difunduje do mezibuněčných prostor a odtud do atmosféry. Má vliv na oddálení stárnutí rostlin, tzv. senescenci. Ovlivňuje také dozrávání plodů a růst rostlin.

Během procesu zrání se uložený škrob, který není sladký, přeměňuje na cukr. Je to výsledek vývoje, kdy sladké ovoce slouží jako potrava živočichům a tím dochází k rozšíření semen v jejich trávicí soustavě. Při zrání se vytváří velké množství etylenu, který spouští metabolické dráhy a ty vedou k přeměně škrobu na cukr.

Potřeby a pomůcky:

- ovoce v různé fázi zralosti (pro dostupnost je dobré jako model zvolit jablka nebo hrušky, jsou prodávány ne úplně zralé)
- skleněné nebo plastové misky (alespoň 5 cm hluboké)
- nůž a prkénko na krájení ovoce
- jodid draselný
- krystalický jod
- destilovaná voda.

Postup:

1) Nejprve připravte roztok k obarvení

- V 10 ml vody rozpustit 10 g jodidu draselného (KI)
- Do vzniklého roztoku přidat 2,5 g krystalického jodu (I)
- Vzniklý roztok doplnit na 1,1 l

2) roztok nalijte do misky do výšky přibližně 0,5-1 cm

3) rozřízněte jablko a ponořte ho řezem dolů do misky s roztokem a nechte asi 1-2 minuty působit

4) vyjměte a opláchněte vodou

5) porovnejte s fotkami (viz Obrazová příloha I, obr. 1-3) a určete, který plod byl nejvíce zralý a který nejméně.

Kontrolní otázky:

1) Fytohormony umožňují rostlinám koordinovat metabolické a vývojové procesy v celém organismu. Vyjmenujte alespoň tři procesy: **rozmnožování, klíčení semen, dozrávání plodů, růst**

2) Když je zachycen stimul z prostředí, jsou o něm informovány všechny části rostliny. K jaké změně u fytohormonů dochází? **syntéza, změna koncentrací**

3) Jak jsou definovány fytohormony? **jako látky syntetizované na jednom místě, odkud jsou potom transportovány**

4) Označte **SPRÁVNOU** odpověď:

a) fytohormony nejsou v rostlině transportovány

b) etylen má plynné skupenství

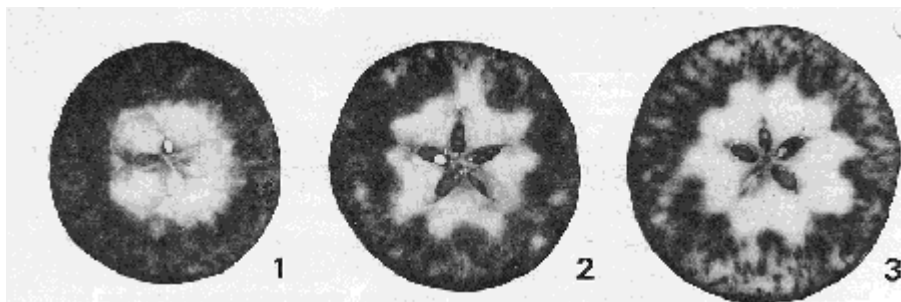
c) plody s nejvyšším obsahem cukru, po obarvení jodem, zčernají

d) škrob je sladký

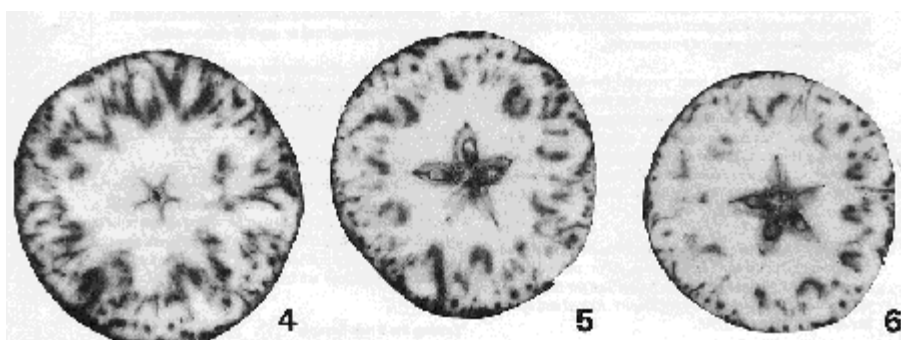
5) Vysvětlete pojem **SENESCENCE**.

- oddálení stárnutí rostlin

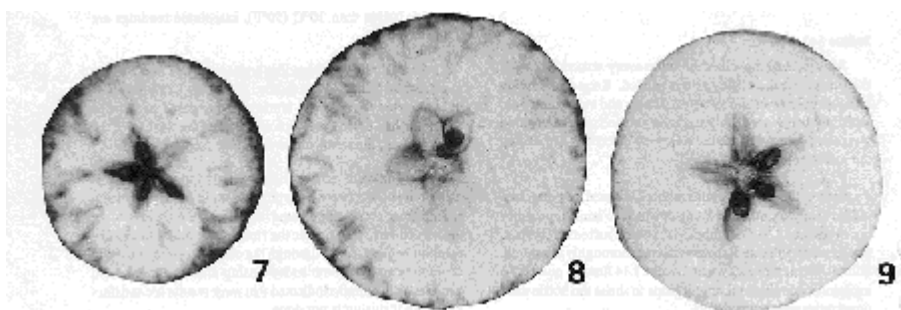
Obrazová příloha I : (obrázky převzaty 1-3 z: viz web: 25)



Obr. 1: Nezralé ovoce



Obr. 2: Zralé ovoce



Obr. 3: Přezrálé ovoce

7.2 Pozorování účinku působení světla na stáčení rostlin

Druhá úloha se zaměřuje na demonstraci účinku auxinů při jednostranném působení denního světla na rostliny. Při změně intenzity světelného záření auxiny zintenzivňují růst v odvrácené části rostliny. Tím dojde k ohybu nadzemní části rostliny směrem ke světlu – tzv. fototropizmus. Rostlina si tímto způsobem reguluje míru osvětlení v závislosti na dostupnosti světla a jeho umístění. Fototropizmus je jedním z mnoha rostlinných tropizmů. Tropizmy jsou růstové reakce rostlin vzhledem k vnějšímu podnětu. Fototropizmy můžeme rozdělit na:

- pozitivní → rostlina či její část se ohýbá směrem ke světlu
- negativní → na světlo reagující část se ohýbá směrem od světla.

Jedná se o dlouhodobý pokus, proto je možné ho rozdělit na dvě části. V první části si studenti, popř. žáci připraví (zasadí) rostliny a dostatečně velké krabice na zakrytí. Po celou dobu trvání experimentu je důležité dbát na dostatečnou zálivku. Pokud toto nebude pedagog obstarávat sám, je důležité na studenty, popř. žáky pravidelně upozorňovat. Samotná délka trvání experimentu závisí na zvoleném materiálu. Pokud zvolíme semena, potom se doba protáhne o 2-3 týdny, podle rychlosti klíčení rostlin. Z tohoto důvodu je lepší zvolit rostliny již předpěstované.

Na začátku hodiny se studenti, popř. žáci seznámí s teoretickými poznatky, které by jim měly sloužit k následnému vyhodnocení pokusu a zodpovězení kontrolních otázek. Podle pokynů zasadí rostliny do označených květináčů a vždy jeden zakryjí připravenou krabicí a druhý nechají jako kontrolu. Nejlépe je nechat květináče na místě s rovnoměrným působením denního světla. Po uplynutí dostatečně dlouhé doby (1 týden), studenti, popř. žáci krabice sundají a porovnájí s rostlinami, které nebyly zakryté.

- příprava: 15-20 min.
- délka průběhu pokusu: 1 týden

Cíl práce: Pozorování účinku působení světla na stáčení rostlin.

Shrnutí teoretických poznatků:

Fytohormony umožňují rostlinám koordinovat metabolické a vývojové procesy v celém organismu (klíčení semen, dozrávání plodů, růst, rozmnožování). Také zprostředkování signálů z okolního prostředí se děje v rostlině pomocí fytohormonů.

Mají nezastupitelnou funkci jako přenašeči informací. Když je zachycen stimul z prostředí, jsou o něm informovány všechny části rostlin díky syntéze nebo změně poměru koncentrací jednoho či více fytohormonů. Pro výsledné působení není tedy důležitá aktivita nebo jen jejich množství, ale hlavně vzájemný poměr jednotlivých fytohormonů. Ty jsou definovány jako látky syntetizované na jednom místě, odkud jsou potom transportovány.

Auxiny jsou považovány za nejdéle známé rostlinné hormony. Jsou syntetizovány ve stonkových vrcholech a mladých rostoucích listech. Auxiny na rostliny působí v několika ohledech:

- jsou důležité při tvorbě adventivních kořenů, což se využívá při zakořeňování rostlinných řízků
- při změně intenzity světelného záření auxiny zintenzivňují růst v odvrácené části rostliny. Tím dojde k ohybu nadzemní části rostliny směrem ke světlu – tzv. FOTOTROPIZMUS. Rostlina si tímto způsobem reguluje míru osvětlení v závislosti na dostupnosti světla a jeho umístění.

Fototropizmus je jedním z mnoha rostlinných tropizmů. Tropizmy jsou růstové reakce rostlin vzhledem k vnějšímu podnětu. Fototropizmy můžeme rozdělit na:

- pozitivní → rostlina či její část se ohýbá směrem ke světlu
- negativní → na světlo reagující část se ohýbá směrem od světla.

Potřeby a pomůcky:

- dva květináče
- předpěstované rostliny nebo semínka (hořčice, ředkvička)
- zemina
- voda
- lepenková krabice s prořízlým otvorem v horní části

Postup:

- 1) Do obou květináčů zasejte semínka nebo již předpěstované rostliny (v případě rostlin není nutné čekat, dokud semínka nevyklíčí)
- 2) Květináče umístěte tak, aby rostliny rostli na světle s rovnoměrnou intenzitou.
- 3) Při dostatečné velikosti rostlin, jeden květináč zakryjte lepenkovou krabíčkou tak, aby světlo pronikalo pouze vyřízlým otvorem (viz Obrazová příloha II, obr. 1). Druhý květináč ponechte nezakrytý. Bude sloužit jako kontrola.
- 4) Při dalším cvičení pozorujte ohyb rostlin a porovnejte s rostlinami v kontrolním květináči a diskutujte o příčině vzniklého jevu.

Kontrolní otázky:

- 1) Fytohormony umožňují rostlinám koordinovat metabolické a vývojové procesy v celém organismu. Vyjmenujte alespoň tři procesy: **rozmnožování, klíčení semen, dozrávání plodů, růst**
- 2) V jakých ohledech působí auxiny na rostlinu? **důležité při zakládání adventivních kořenů, fototropismus**
- 3) Jak jsou definovány fytohormony? **jako látky syntetizované na jednom místě, odkud jsou potom transportovány**

4) Když je zachycen stimul z prostředí, jsou o něm informovány všechny části rostliny.

K jaké změně u fytohormonů dochází? **syntéza, změna koncentrací**

5) Označte **SPRÁVNOU** odpověď:

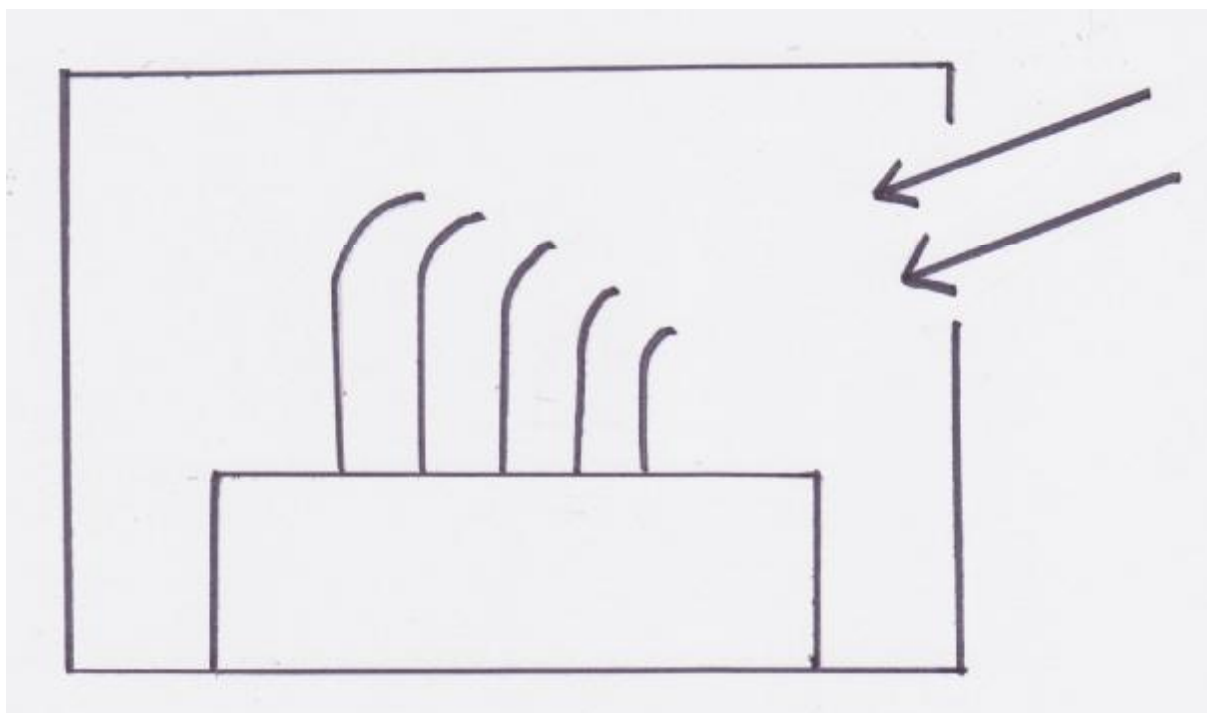
a) při změně intenzity světelného záření auxiny zpomalují růst v odvrácené části rostliny

b) při pozitivním fototropizmu se rostlina ohýbá směrem od světla

c) fytohormony nejsou v rostlině transportovány

d) tropizmy jsou růstové reakce rostlin

Obrazová příloha II:



Obr. 1: Umístění lepenkové krabice



Obr.2: Ilustrace fototropizmu

8. Závěr

Rostliny, stejně jako všechny živé organizmy, jsou harmonicky sladěným celkem. Stejně jako u živočichů, jsou také v rostlinách všechny části těla propojeny. Naše poznatky z fyziologie rostlin nejsou zdaleka úplné. Ovšem je jisté, že na koordinaci procesů, které v rostlinném těle probíhají, se nemalou měrou podílí právě fytohormony.

Fytohormony jsou vnitřními faktory na molekulární a buněčné úrovni. Koordinují metabolické a vývojové procesy v rámci celého rostlinného organismu. Jedná se o činnost jednotlivých souborů buněk a pletiv umístěných také ve vzdálených částech rostliny. Spolu s vnějšími faktory iniciují procesy růstu a diferenciací rostliny a synchronizují její vývoj se změnami prostředí. Kromě toho regulují intenzitu a směr růstu, metabolickou aktivitu a transport, ukládání a využívání živin. Které hormony se aktivují, závisí na vývojovém stadiu, na povaze vnějšího stimulu, na tom, která část rostliny stimul zachytila, a na době, kdy se tak stalo.

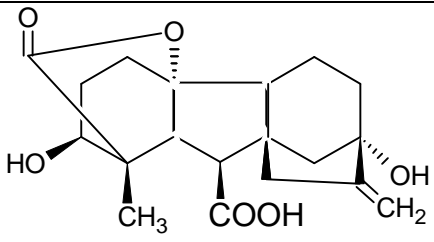
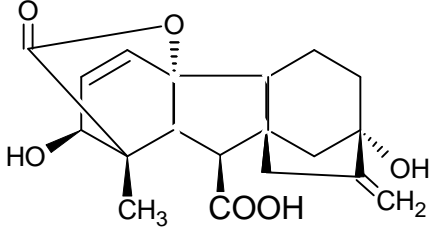
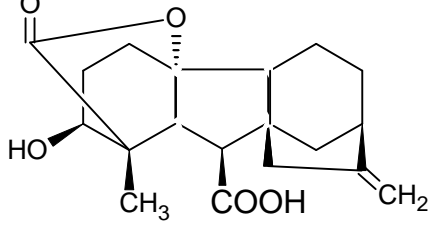
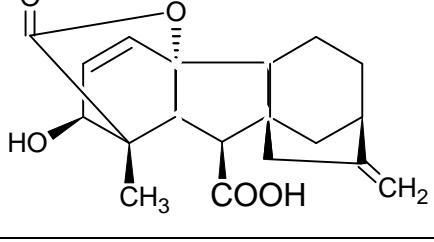
Nejsou známy přesné informace o počtu či druhu všech rostlinných hormonů. Ovšem naše znalosti a technické možnosti se neustále zdokonalují. Z tohoto důvodu, skupinu látek zvaných fytohormony, neustále rozšiřujeme.

Mezi nejvíce rozšířené a mezi skupiny, o kterých máme nejvíce poznatků patří auxiny, gibereliny a cytokininy, dále kyselina abscisová, brassinosteroidy a etylen. Tyto skupiny se vyskytují v naprosté většině rostlin. Dále se v rostlinách vyskytují látky s regulační aktivitou růstu, které však mezi fytohormony nezařazujeme. Ať už z důvodu nedostatečných poznatků, či výšky koncentrace jejich působení. Sem řadíme polyaminy, kyseliny jasmonovou, oligosachariny a fenolické látky.

Předkládaná bakalářská práce splnila vytyčený cíl, tedy přehledně a srozumitelně shrnout a přiblížit problematiku rostlinných hormonů. A to nejen studentům vysokých škol, ale také pedagogům a studentům čtyřletých a víceletých gymnázií, popř. žákům na základních školách. Samostatné kapitoly byly věnovány využití těchto poznatků v praktickém životě, především v zemědělství. Otázka GMO zůstává stále otevřená ovšem tato práce a uvedené literární zdroje slouží k zamyšlení nad touto problematikou.

9. Přílohy

Tab.1: Přehled nejdůležitějších giberelinů (převzato z: Macháčková, 1998)

Skupina	Zkratka	Vzorec
gibereliny	GA ₁	
	GA ₃	
	GA ₄	
	GA ₇	

10. Použitá literatura

Amasino, R. (2004): Take a cold flower. *Nature Genetics* 36: 111-112.

Bais, H. P, Ravishankar, G. A. (2002): Role of polyamines in the ontogeny of plants and their biotechnological applications. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 69: 1-34.

Bajguz, A., Tretyn, A. (2003): The chemical characteristic and distribution of brassinosteroids in plants. *Phytochemistry* 62: 1027-1046.

Bajguz, A. (2007): Metabolism of brassinosteroids in plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 45(2): 95-107.

Bajguz, A., Hayat, S. (2009): Effects of brassinosteroids on the plant responses to environmental stresses. *Plant Physiology and Biochemistry* 47: 1-8.

Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S. (2006): Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry* 99: 191 – 203.

Bewley, J. D. (1997): Seed Germination and Dormancy. *Plant Cell* 9: 1055-1066.

Bishop, G.J., Koncz, C. (2002): Brassinosteroids and plant steroid hormone signaling. *Plant Cell* 14: 97-110.

Bleecker, A. B., Kende, H. (2000): *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 16:1–18.

Boysen-Jensen P. (1913): Uber die Leitung des phototropischen Reizes in der Avenakoleoptile. *Berichte des Deutschen Botanischen Gesellschaft* 31:559-566.

Busov, V. B., Meilan, R., Pearce, D. W., Ma, C., Rood, S. B., Strauss, S. H. (2003): Activation Tagging of a Dominant Gibberellin Catabolism Gene (GA 2-oxidase) from Poplar That Regulates Tree Stature. *Plant Physiology* 132: 1283-1291.

Cedzich, A., Stransky, H., Schulz, B., Frommer, W. B. (2008): Characterization of Cytokinin and Adenine Transport in *Arabidopsis* Cell Cultures. *Plant Physiology* 148: 1857-1867.

Cetkovská, K. (2006): FRI a FLC - nejvýznamnější geny indukce kvetení u modelového objektu *Arabidopsis thaliana*. [online]. [cit. 2012-02-14]. Bakalářská práce. Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta. Vedoucí práce: Pavel Lízal. Dostupné z: http://is.muni.cz/th/106847/prif_b/

Creelman, R. A., Mullet, J. E. (1995): Jasmonic acid distribution and action in plants: regulation during development and response to biotic and abiotic stress. *Proc Natl Acad Sci USA* 92(10): 4114–4119.

Cohen, Y., Gisi U., Niderman, T. (1993): Local and Systemic Protection Against *Phytophthora infestans* Induced in Potato and Tomato Plants by Jasmonic Acid and Jasmonic Methyl Ester. *Phytopathology* 83: 1054-1062.

Cvikrová, M., Binarová, P., Fenolová, V., Eder, J., Macháčková, I. (1999): Reinitiation of cell division and polyamine and aromatic monoamine levels in alfalfa explants during the induction of somatic embryogenesis. *Physiologia Plantarum* 105: 330-337.

Červenková, S. (2006): Aklimační reakce rostlin na heterogenitu minerálních živin v půdním prostředí [online]. [cit. 2012-04-04]. Bakalářská práce. Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta. Vedoucí práce: Vít Gloser. Dostupné z: http://is.muni.cz/th/123964/prif_b/

Daeter, W., Slovik, S., Hartung, W. (1993): The pH-gradients in the root system and the abscisic acid concentration in xylem and apoplastic saps. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* 341(1295): 49-56.

Darwin, Ch. R., Darwin, F. *The Power of Movement in Plants*. Londýn 1880. [online]. [cit. 2012-03-20] Dostupné z: http://darwin-online.org.uk/pdf/1880_Movement_F1325.pdf

Divi, U.K., Krishna, P. (2009): Brassinosteroid: a biotechnological target for enhancing crop yield and stress tolerance. *New Biotechnology* 26: 131-136.

Doubková, Z., Roudná, M. (2004): *Legislativní opatření v oblasti biologické bezpečnosti*. Praha: Ministerstvo životního prostředí ČR, 2004. ISBN 80-7212-313-0

Dunfield, K.E., Germida, J.J. (2004): Impact of genetically modified cropson soiland plant-associated microbial communities. *Journal of Enviromental Duality*. 33: 806-815.

Fleming, A. J. (2006): Plant signalling: the inexorable rise of auxin. *Trends in Cell Biology*. 16(8): 397-402.

Flescher, E. (2005): Jasmonates-a new family of anti-cancer agents. *Anti-Cancer Drugs* 16(9): 911-916.

Friedrich, L., Vernooij, B., Gaffney, T., Morse, A., Ryals, J. (1995): Characterization of tobacco plants expressing a bacterial salicylate hydroxylase gene. *Plant Mol Biol* 29 (5): 959-968.

Friml, J. and Palme, K. (2002): Polar auxin transport - old questions and new concepts? *Plant Molecular Biology* 49(3-4): 273-284.

Fry, S. C., Aldington, S., Hetherington, P. R., Aitken, J. (1993): Oligosaccharides as Signals and Substrates in the Plant Cell Wall. *Plant Physiology* 103: 1-5.

Gallego-Giraldo, L., Ubeda-Tomás, S., Gisbert, C., García-Martínez, J. L., Moritz, T., Lopez-Díaz, I. (2008): Gibberellin Homeostasis in Tobacco is Regulated by Gibberellin Metabolism Genes with Different Gibberellin Sensitivity. *Plant Cell Physiol.* 49(5): 679-690.

Genetic Modification and Food (2008): [on-line]. [cit. 2012-3-26]. Dostupné z http://www.bezpecnostpotravin.cz/UserFiles/File/Kvasnickova/IFST_GM.pdf

Gloser, J., Prášil, I. (1998): Fyziologie stresu. In Fyziologie rostlin. Praha: Academia 1998. (1.vydání) ISBN 80-200-0586-2.

Haberer, G., Kieber, J. J. (2002): Cytokinins. New insight in classic phytohormone. *Plant Physiology* 128: 354–362.

Haubrick, L.L., Assmann, S.M. (2006): Brassinosteroids and plant function: some clues, more puzzles. *Plant Cell Environ* 29: 446-457.

Hedden, P., Kamiya, Y. (1997): Gibberellin biosynthesis: Enzymes, Genes and Their Regulation. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48:431–60

Heil, M., Ton, J. (2008): Long-distance signalling in plant defence. *Trends in Plant Science.*13: 264-272.

Hejtnák, V. et al. (2007): Fyziologie rostlin. Praha 2007. ISBN 978-80-231-1667-6.

Hirose, N., Takei, K., Kuroha, T., Kamada-Nobusada, T., Hayashi, H., a Sakakibara, H. (2008). Regulation of cytokinin biosynthesis, compartmentalization and translocation. *Journal of Experimental Botany* 59: 75-83.

Hnilička , F., Hniličková, H., Martinková, J., Bláha, L. (2010): Využití antistresových látek v zemědělství. In Současné možnosti fyziologie a zemědělského výzkumu přispět k produkci rostlin (vybrané kapitoly). Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby, 2010. ISBN 978-80-7427-023-9.

Hoza, I.; Kramařová, D. Potravinářská biochemie I. 1. vyd. Zlín: UTB ve Zlíně, 2007. ISBN 978-80 -318-295-3.

Ishi, Y., Kiyota, H., Sakai, S., Honma, Y. (2004): Induction of differentiation of human myeloid leukemia cells by jasmonates, plant hormones. *Leukemia* 18: 1413-1419.

Jiang, F., Hartung, W. (2008): Long-distance signalling of abscisic acid (ABA): the factors regulating the intensity of the ABA signal. *Journal of Experimental Botany*. 59(1): 37-43.

Kamínek, M. (1997): Cytokininy. In *Regulátory rostlinného růstu*. Praha: Academia 1997. ISBN 80-200-0597-8.

Kaur-Sawhney, R., Tiburcio, A. F., Altabella, T., Galston, A. W. (2003): Polyamines in plants: An overview. *Journal of Cell and Molecular Biology* 2: 1-12.

Kende, H. (1971): The Cytokinins. *International Review of Cytology* 31: 301-338.

Kögl, F., Erxleben, H., Haagen-Smit, A. J. (1933): *Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem.* 214: 241.

Kosař, K., Procházka, S. et al. (2000): *Technologie výroby sladu a piva*, Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, 2000. ISBN 80-902658-6-3.

Kováč, J. (1991) *Kapitoly z rostlinné fyziologie*, Ústí nad Labem: Pedagogická fakulta, 1991. ISBN 80-7044-021-X.

Leubner-Metzger, G. (2001): Brassinosteroids and gibberellins promote tobacco seed germination by distinct pathways. *Planta* 213: 758-763.

Lin, Z., Zhong, S., Grierson, D. (2009): Recent advances in ethylene research. *J. Exp. Bot.* 60 (12): 3311–3336.

Macháčková, I. (1997a): Auxiny. In *Regulátory rostlinného růstu*. Praha: Academia 1997. ISBN 80-200-0597-8.

Macháčková, I. (1997b): Etylen. In *Regulátory rostlinného růstu*. Praha: Academia 1997. ISBN 80-200-0597-8.

Macháčková, I. (1998): Růst a vývoj: růstové regulátory. In *Fyziologie rostlin*. Praha: Academia 1998. (1.vydání) ISBN 80-200-0586-2.

Matsushita, A., Furumoto, T., Ishida, S., Takahashi, Y. (2007): AGF1, an AT-Hook Protein, Is Necessary for the Negative Feedback of AtGA3ox1 Encoding GA 3-Oxidase. *Plant Physiology* 143: 1152-1162.

Montague, M. J, Koppenbrink, J. W, Jaworski, E. G. (1978): Polyamine metabolism in embryogenic cells of *Daucus carota*. *Plant Physiology* 62: 430-433.

Moon, J., Suh, S., Lee, H., Choi, K. R., Hong, C., Paek, N. C., Kim, S. G., Lee, I. (2003): The SOC1 MADS-box gene integrates vernalization and gibberellin signals for flowering in *Arabidopsis*. *Plant J.* 35: 613-623.

Nakajima, N., Shida, A., Toyama, S. (1996): Effects of brassinosteroid on cell division and colony formation of Chinese cabbage mesophyll protoplasts. *Jpn. J. Crop Sci.* 65: 114–118.

Nováček, F. *Fytochemické základy botaniky*. Olomouc: Fontána. ISBN 978-80-7336-457-1.

Nordström, A., Tarkowski, P., Tarkowska, D., Norbaek, R., Åstot, C., Doležal, K., Sandberg, G. (2004): Auxin regulation of cytokinin biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*: a factor of potential importance for auxin-cytokinin-regulated development. *PNAS*, 101(21): 8039 – 8044.

Olszewski, N., Sun, T., Gubler, F. (2002): Gibberellin Signaling Biosynthesis, Catabolism, and Response Pathways. *Plant Cell*. 14: 61–80.

Paál, A. (1919): Über phototropische Reizleitungen. *Ber. Deut. Bot. Ges.* 32: 499-502.

Prášil, I.T., Kosová, K., Vítámvás, P., Prášilová, P., Zelenková, S. (2010): Současné možnosti zvyšování odolnosti plodin vůči stresu mrazu a chladu. In *Současné možnosti fyziologie a zemědělského výzkumu přispět k produkci rostlin (vybrané kapitoly)*. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby, 2010. ISBN 978-80-7427-023-9.

Rao, S.S.R., Vardhini, B.V., Sujatha, E., Anuradha, S. (2002): Brassinosteroids-A new class of phytohormones. *Current Science*. 82(10): 1239-1245.

Roudná, M. (2008): Otázky kolem využívání geneticky modifikovaných organismů a mezinárodní pravidla. In *Genetické modifikace – možnosti jejich využití a rizika*. Praha: Ministerstvo životního prostředí ČR, 2008. ISBN 978-80-7212-493-0

Sala, C., Sala, F. (1985): Effect of brassinosteroid on cell division and enlargement in cultured carrot (*Daucus carota L.*) cells. *Plant Cell Rep.* 4: 144-147.

Salaš, P. (2003): Modernizace výukového procesu u předmětů ovocné, okrasné školkařství a ovocnářství. *Sborník přednášek z odborného semináře*. Lednice na Moravě, 2003. ISBN 80-7157-715-4.

Sauter, A., Davies, W. & Hartung, W. (2001): The long-distance abscisic acid signal in the droughted plant: the fate of the hormone on its way from root to shoot. *Journal of experimental botany*. 52(363): 1991-1997.

Slovik, S., Daeter, W. & Hartung, W. (1995): Compartmental redistribution and long-distance transport of abscisic acid (ABA) in plants as influenced by environmental changes in the rhizosphere - a biomathematical model. *Journal of Experimental Botany*. 46(289): 881-894.

Staswick, P. E., Tiryaki, I., Rowe M. (2002): Jasmonate Response Locus JAR1 and Several Related Arabidopsis Genes Encode Enzymes of the Firefly Luciferase Superfamily That Show Activity on Jasmonic, Salicylic, and Indole-3-Acetic Acids in an Assay for Adenylation. *Plant Cell* 14: 1405-1415.

Strnad, M. (1997): The aromatic cytokinins. *Physiol. Plantarum* 101: 674-688.

Šebánek, J. (2004): *Harmonie v rostlinách*. Praha: Academia, 2004. ISBN 80-200-1197-8.

Šebánek, J. (2010): *Historie fyziologie rostlinných pohybů se zřetelem k výzkumu na Mendelově univerzitě a dalších brněnských vědeckých pracovištích = History of the physiology of plant movements in view of research at Mendel University and other scientific institutions in Brno*. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2010. ISBN 78-80-7375-404-4.

Šetlík, Seidlová, Šantrůček. (2004): *Fyziologie rostlin* [on-line]. [cit. 2012-1-15].

Dostupné z

http://kfr.prf.jcu.cz/download/lectures/KFR220/KFR220_S02.pdf

Schmulling, T. (2008): Cytokinin deficiency causes distinct changes of sink and source parameters in tobacco shoots and roots. *J. Exp. Bot.* 59: 2659-2672.

Tabor, H., Rosenthal, S. M., Tabor, C. W. (1958): The Biosynthesis of Spermidine and Spermine from Putrescine and Methionine. *The Journal of Biological Chemistry* 233: 907-914.

Tanaka, M., Takei, K., Kojima, M., Sakakibara, H., Mori, H. (2006) Auxin controls local Cytokinin biosynthesis in the nodal stem in apical dominance. *The Plant Journal*., 45: 1028 – 1036.

Ueda, J., Kato, J. (1980): Isolation and Identification of a Senescence-promoting Substance from Wormwood (*Artemisia absinthium* L.). *Plant Physiology* 66: 246-249.

Velíšek, J. (2002): *Chemie potravin I*. Nakladatelství OSSIS, 2002. ISBN 80-86659-00-3.

Vick, B. A., Zimmermann, D. C. (1984): Biosynthesis of Jasmonic Acid by Several Plant Species. *Plant Physiology* 75: 458-461.

Wasternack, C. (2007): Jasmonates: An Update on Biosynthesis, Signal Transduction and Action in Plant Stress Response, Growth and Development. *Annals of Botany* 100:681-697.

Went, F.W. (1926): On growth accelerating substances in the coleoptile of *Avena sativa*. *Proc K Akad Wet Amsterdam* 30: 10–19.

Werner, T., Holst, K., Pors, Y., Guivarc'h, A., Mustroph, A., Chriqui, D., Grimm, B.,

Wilkinson, S., Davies, W. (2002): ABA-based chemical signalling: the co-ordination of responses to stress in plants. *Plant Cell and Environment*. 25(2): 195-210

Woodward, A. W. and Bartel, B. (2005): Auxin: Regulation, action, and interaction. *Annals of Botany* 95(5): 707-735.

Zhang, Y., Turner, J. G. (2008): Wound-Induced Endogenous Jasmonates Stunt Plant Growth by Inhibiting Mitosis. PLoS One 3(11):e3699.

doi:10.1371/journal.pone.0003699

web 1: http://projektalfa.ic.cz/hormony_pusob.htm

web 2: http://projektalfa.ic.cz/hormony_pusob.htm

web 3: http://kfr.prf.jcu.cz/download/lectures/KFR220/KFR220_S02.pdf

web 4: http://kfr.prf.jcu.cz/download/lectures/KFR220/KFR220_S02.pdf

web 5: <http://knol.google.com/k/plant-hormones> , <http://www.scbt.com/datasheet-279669-n-6-2-isopentenyl-adenine.html>

web 6: <http://www.wanjieinternational.com/agro/36.html>

web 7: http://kfrserver.natur.cuni.cz/lide/fatima/biochemici/7_hormony.pdf

web 8: http://kfrserver.natur.cuni.cz/lide/fatima/biochemici/7_hormony.pdf

web 9: http://kfrserver.natur.cuni.cz/lide/fatima/biochemici/7_hormony.pdf

web 10: <http://hplc1.sweb.cz/Amk/Formula/methionine.gif>

web 11:

http://www.google.cz/imgres?q=bakanae&hl=cs&biw=1311&bih=617&tbm=isch&tbnid=N5aGMg7RqXIXBM:&imgrefurl=http://agrin.jp/hp/inasaku/ikubyou_byougai.htm&docid=xcGwXdBV88IXAM&imgurl=http://agrin.jp/hp/inasaku/img/bakanae0.jpg&w=264&h=276&ei=r892T9-ED-qA4gSTsf3vDg&zoom=1&iact=rc&dur=296&sig=102346277081210361408&page=1&tbnh=123&tbnw=116&start=0&ndsp=21&ved=1t:429,r:8,s:0&tx=85&ty=74

web 12: <http://www.ask.com/wiki/Gibberellin>

web 13: http://www.salviaparadise.cz/clanky-rady-navody-kliceni-semen-vysev-c-254_255.html

web 14: <http://cbr.pbi.nrc.ca/abscisicacid/>

web 15: <http://vedajekrasna.cz/soutezni-galerie/vedecka-mikrofotografie?action%5Bsoutez%5D=detail&id=145>

web 16: <http://chemicke-listy.cz/Bulletin/bulletin261/brasi.html>

web 17: <http://www.sciencedaily.com/releases/2006/05/060505190907.htm>

web 18: <http://www.chemie-schule.de/KnowHow/Jasmons%C3%A4ure>

web 18:

http://www.medicalisotopes.com/display_product.php?catnum=27459&cat_id=142&alpha=J&caller=ABC&start=&end=

web 19: <http://io9.com/5863943/10-bizarre-names-and-strange-origins-of-real-molecules>

web 20: <http://www.cellular-products.com/Molecular-biochemical-reagent/Biochemical-reagent/Spermine/>

web 21: <http://chemistry.about.com/od/moleculescompounds/ig/Molecules-with-Strange-Names/Putrescine.htm>

web 22: <http://vydavatelstvi.vscht.cz/echo/organika/T0095.html>

web 23:

[http://www.ifst.org/science_technology_resources/for_food_professionals/information_statements/19508/Genetic Modification and Food](http://www.ifst.org/science_technology_resources/for_food_professionals/information_statements/19508/Genetic_Modification_and_Food)

web 24: http://www.mzp.cz/cz/geneticke_modifikace

web 25: http://www.sciencebuddies.org/science-fair-projects/project_ideas/PlantBio_p009.shtml