

Abstrakt

Jednou z obav při pěstování geneticky modifikovaných (GM) rostlin je nebezpečí jejich nekontrolovaného šíření. Možným nástrojem pro jejich kontrolu by teoreticky mohla být indukovaná RNA interference proti některému z životně důležitých genů. Po aplikaci indukční látky by došlo k umlčování exprese tohoto esenciálního genu a tím i k usmrcení GM rostliny rozšířené mimo vyhrazenou kultivační plochu.

Pro testování této strategie a indukci umlčování byly v této práci zvoleny geny pro dva klíčové enzymy dusíkového metabolismu, glutamátsyntázu (GOGAT) a glutaminsyntetázu (GS). GS zpracovává amonné ionty do podoby glutaminu, GOGAT pak přenáší amidovou skupinu z glutaminu na 2-oxoglutarát za vzniku dvou glutamátů. GS a GOGAT jsou hlavní cestou na zpracování amonných iontů, které mohou být ve zvýšené míře pro rostliny toxické a blokování jejich fixace při fotorespiraci vede k silné inhibici fotosyntézy.

Cílem této práce bylo popsat projevy umlčování genů pro GOGAT a GS u modelové rostliny *Arabidopsis thaliana*. Pro umlčování byly připraveny vlásenkové konstrukty pod konstitutivním nebo pod estradiolem-indukovatelným promotorem.

U vybraných transformantů nesoucích vlásenku proti *GOGAT* byly při aplikaci estradiolu v *in vitro* podmínkách pozorovány projevy umlčování tohoto genu projevující se jako chloróza a redukovaný vzrůst. Postřík estradiolem *ex vitro* se ukázal problematický, navození umlčování v rámci celé rostliny nebylo úspěšné. V případě GS byl pro umlčování vybrán především gen pro GS2, plastidovou isoformu, u níž nebyl u *A. thaliana* dosud popsán fenotyp knock-out mutanta a není tudíž jasná její úloha v metabolismu amonných iontů. Je možné, že mutace v *GS2* je letální anebo, že její úlohu může zajistit některá z cytosolických isoform GS1. V této práci byly charakterizovány fenotypové projevy snížené hladiny GS2, a to jednak u linií nesoucích konstrukt pro navození RNAi a jednak u promotorového mutanta získaného z veřejné kolekce, u něhož byla v rámci diplomové práce zjištěna snížená hladina transkriptu *GS2* zhruba na třetinu v porovnání s divokým typem. Snížení exprese *GS2* se projevilo menší biomasou, žlutějším zbarvením a změnami některých fotosyntetických parametrů. Tyto projevy byly aspoň částečně potlačovány v atmosféře se zvýšeným CO₂, *GS2* se tedy zřejmě podílí na fixaci amonných iontů při fotorespiraci.