

**Univerzita Karlova**  
**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



**Anna Kampová**

Jak květ reaguje na aktuální počasí?

Plant meteorereception

Bakalářská práce

Vedoucí práce: Mgr. Stanislav Vosolsobě

Praha, 2018

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 9. 5. 2018

Podpis

## **Poděkování**

Ráda bych poděkovala svému školiteli, Mgr. Stanislavu Vosolsobě, za cenné rady, trpělivost a čas, který mi věnoval při zpracovávání této práce.

## **Abstrakt**

Kvetení je klíčovou událostí v životním cyklu každé rostliny. Počasí má na tuto událost u jednotlivých druhů rostlin často různý účinek, může ovlivnit rychlost a dobu otevírání květu i jeho životnost. Doba otevření květu je velmi důležitá, pokud totiž rostlina vykvete tehdy, když panují nevhodné podmínky, může to pro ni, resp. pro její schopnost rozmnožit se, mít fatální následky. Květní lístky mohou mít důležitou roli v ochranně samčí fitness. Otevírání je regulováno fytohormony a jinými signálními dráhami – vernalizací, gibbereliny, fotoperiodou a dráhou na fotoperiodě nezávislou, totiž autonomní. Fytohormony a uvedené signální dráhy mohou určitým způsobem reagovat i na vlivy faktorů vnějšího prostředí, konkrétně teploty, světla, vzdušné vlhkosti a deště. Dále je s touto důležitou fází ve vývoji rostliny úzce spjata dehiscence prašníků, jejíž načasování a průběh ovlivňují úspěch rostliny při rozmnožování. Dehiscence je rovněž jevem, který může být regulován změnou vnějších podmínek i fytohormony, jejím hlavním spouštěčem je kyselina jasmonová. Vliv environmentálních faktorů na dehiscenci však nebyl podrobně prozkoumán.

**Klíčová slova:** kvetení, dehiscence prašníků, vnější vlivy prostředí

## **Abstract**

Flowering is a crucial event in a life cycle of every single plant. Various plant species are differently affected by weather in this time of their life cycle. Weather may have an impact on flower opening speed and timing and also on flower longevity. Timing of flower opening is very important. If flower opening takes place when weather conditions are unsuited, it can be for such plant terminal, or more precisely terminal for its ability to reproduce. Flower can be very important for male fitness protection. Flower opening is regulated by phytohormones and some other signal pathways – pathways of vernalization, gibberellins, photoperiod and an autonomous one which is independent from photoperiod. Phytohormones and regulation pathways mentioned above may respond to exogenous factors, namely temperature, light, air humidity and rain. Furthermore, an anther dehiscence is the key stage of flowering. Its timing and process have a huge effect on success of plant reproduction. It is also controlled by changing of weather conditions and by phytohormones, jasmonic acid is the main trigger of this process. Environmental factors influence on anther dehiscence was not examined in detail.

**Key words:** flower opening, anther dehiscence, environmental factors

# Obsah

1. Úvod .....	8
2. Stimulace kvetení – přechod do generativní fáze.....	10
3. Otvírání květu .....	12
3.1 Anatomie – epidermální buňky korunních lístků a jejich růst.....	12
3.2 Role teploty v otvírání květu .....	14
3.3 Vliv vzdušné vlhkosti a deště na kvetení .....	16
3.4 Jak na květ působí světlo.....	17
3.5 Fotoperiodismus – konkrétní důkaz o působení faktorů na regulaci kvetení na molekulární úrovni .....	18
3.6 Jak je kvetení regulováno fytohormony .....	21
4. Průběh dehiscence prašníku .....	24
4.1 Obecný princip dehiscence.....	24
4.2 Jakým způsobem fytohormony kontrolují dehiscenci prašníků .....	26
4.3 Vliv počasí na otvírání prašníků .....	29
4.4 Unikátní mechanismus na ochranu pylových zrn.....	29
5. Diskuze.....	30
6. Literatura .....	32

## Seznam zkratek

<i>AtSUC1</i>	protein; transportér sacharózy (sucrose) u <i>Arabidopsis thaliana</i>
<i>bHLH</i>	skupina transkripčních faktorů <i>basic Helix-Loop-Helix</i>
<i>BPE, BPEp</i>	gen <i>BIGPETAL</i> a jeho splice varianta
<i>CBFs</i>	gen <i>CRT/DRE binding factor</i>
<i>CCA1</i>	gen <i>CIRCADIAN CLOCK ASSOCIATED 1</i>
<i>CO</i>	gen <i>CONSTANS</i>
<i>DAD1</i>	gen <i>DEFECTIVE IN ANther DEHISCENCE 1</i>
<i>DcEXPA, EgEXPA</i>	homology genů pro expanzin u <i>Dianthus caryophyllus</i> a <i>Eustoma grandiflorum</i>
<i>DELLA</i>	geny rodiny růstových represorů, proteiny obsahují sekvenci aminokyselin aspartát, glutamát, leucin, alanin
<i>FLC, AtFLC, BrFLC</i>	gen <i>FLOWERING LOCUS C</i> a jeho homology u <i>Arabidopsis thaliana</i> a <i>Brassica rapa</i>
<i>FRI</i>	gen <i>FRIGIDA</i>
<i>GI</i>	gen <i>GIGANTEA</i>
<i>IAA</i>	kyselina indolyl-3-octová
<i>LD</i>	gen <i>LONG DAY</i>
<i>Lhcb</i>	<i>Light-harvesting chlorophyll a/b-binding</i> transkripční faktor
<i>LHY</i>	gen <i>LATE ELONGATED HYPOCOTYL</i>
<i>MYB26</i>	gen pro transkripční faktor rodiny <i>MYB</i>
<i>NAA</i>	kyselina 1-naftyloctová
<i>OPR3</i>	gen pro <i>12-Oxophytodienoate reductase 3</i>
<i>PCIB</i>	kyselina p-chlorofenoxyisomáselná (p-chlorophenoxyisobutyric acid)
phyB, Pfr, Pr	fytochrom B a jeho aktivní a pasivní forma
<i>PHYB</i>	gen <i>PHYTOCHROME B</i>
<i>PIF4</i>	gen <i>PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR 4</i>
<i>SOC1</i>	gen <i>SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS1</i>
<i>STS</i>	thiosíran stříbrný
<i>TIBA</i>	kyselina 2,3,5-trijodobenzoová
<i>TOC1</i>	gen <i>TIMING OF CAB EXPRESSION 1</i>
<i>XTH, DcXTH, InXTH</i>	xyloglukan endotransglykosyláza/hydroláza a geny jí kódující u <i>Dianthus caryophyllus</i> a <i>Ipomoea nil</i>

## 1. Úvod

Správné načasování otevření – a případně zavření – květu je pro rostlinu klíčové. To, jestli se květ otevře v pravou dobu, určuje, zda úspěšně splní své životní poslání – totiž jestli se rostlina zvládne rozmnožit. Květ se musí vytvořit a otevřít nejen ve správném roční období, ale i v příznivé denní době. Ale ani tehdy, když splní všechny tyto podmínky, není zaručeno, že rostlině bude umožněno rozmnožit se. Je tu totiž jeden rizikový faktor, který je vysoce nepředvídatelný. Počasí. Například fertilitu rýže *Oryza sativa* negativně ovlivňuje vysoká dopolední teplota v kombinaci s dalšími faktory prostředí, kde pak hraje doba otevření květu důležitou roli (Kobayasi et al. 2010; Tian et al. 2010). Fertilita a od ní se odvíjející tvorba semen, případně plodů, je z pohledu člověka velmi důležitá v zemědělství. To vysvětluje, proč je mnoho studií věnujících se květům prováděno právě na rýži, pro nás zcela klíčové plodině. Chování květu může hrát klíčovou roli v ochranně samčího fitness, kdy včasné zavření květu může zabránit ztrátě funkčních pylových zrn vlivem vlhkosti, a tedy snížení schopnosti rostliny rozmnožit se. Některé rostliny z jižní Afriky totiž zavírají své květy v reakci na snížení okolní teploty, což může být mj. indikátorem blížící se dešťové srážky (Hase et al. 2006). *Paris polyphylla* může pro změnu v rámci obrany před deštěm otevřené prašníky zavřít a následně znovu otevřít (Wang et al. 2009). Z těchto příkladů tedy vyplývá, že rostliny se snaží bránit před pro ně nepříznivými vlivy počasí, které by jim mohly zabránit v produkci potomstva.

Proces otevírání květu se ovšem neodehrává pouze pod vlivem již zmíněných abiotických faktorů. Tyto faktory ovlivňují otevírání květu prostřednictvím signálních drah na úrovni genů a proteinů. Geny zodpovídající za proces kvetení jsou součástí několika různých regulačních drah (např. Cheng et al. 2017). V případě, že místo vzniku signálu není i jeho cílem, slouží k jeho přenosu rostlinné hormony a regulátory (např. Imsabai & van Doorn 2013), které působí na geny v požadovaném místě – tedy v jiné části rostliny či jiné buňce. Předmětem zájmu této práce je zjistit, zda a jestli vůbec je známo, jakým způsobem působí abiotické faktory na molekulární signalizace, které kvetení regulují.

Nejzranitelnější fází kvetení je uvolňování pylu (Wang et al. 2009). Pyl se uvolňuje důsledkem dehiscence prašníků, což je složitý a komplikovaně regulovaný proces, proto se jím tato práce bude podrobně zabývat. Jakmile se květ otevře a dojde k dehiscenci prašníků, jsou pylová zrna vystavena zpravidla bez ochrany vlivům vnějšího prostředí, například právě dešti či vysoké vlhkosti, což může mít negativní vliv na rozmnožování rostliny (Hase et al. 2006). Aktivita prašníků je navíc krátkodobá, stejně tak životnost pylových zrn má relativně krátké trvání, proto musí být celá tato událost vzhledem k počasí dobře načasovaná. Pylová zrna různých druhů rostlin se navíc mohou lišit v obsahu vody a náchylnosti k vyschnutí.



Životnost květu a pylových zrn je tedy při vztažení k celkové délce životního cyklu rostliny zpravidla velmi krátká. Květy rostlin jsou na tento úsek svého života vybaveny různě. Například sedmikráska *Bellis perennis* (*Asteraceae*) má tyčinek mnoho a ty se navíc otevírají postupně ve vlnách, její květ se pak k večeru zavírá. Šance sedmikrásky na rozmnožení jsou poměrně vysoké. Naproti tomu tulipán *Tulipa × gesneriana* (*Liliaceae*) má tyčinek pouze šest a své květy k večeru rovněž zavírá. Květy rostlin čeledi *Fabaceae* mají sice tyčinek méně než květy rostlin čeledi *Asteraceae*, jsou ale dobře schované. Samčí fitness je v tomto případě poměrně dobře chráněna. Růže *Rosa canina* (*Rosaceae*) má tyčinek sice poměrně hodně, ale nefunguje u ní žádný mechanismus, kterým by je mohla před nebezpečím ochránit. V kontrastu s tím je unikátní mechanismus ochrany pylových zrn prašníků vráního oka u *Paris polyphylla* var. *Yunnanensis* (*Melanthiaceae*; více dále; Wang et al. 2009). Z výše uvedeného vyplývá, že květy rostlin jsou vysoce variabilní co do počtu tyčinek, tak do způsobu ochrany pylových zrn pomocí květních obalů, nebo jiným způsobem. Z pohledu této práce jsou samozřejmě nejzajímavější ty rostliny, které mají málo nechráněných tyčinek a nejsou samosprašné, například *Arabidopsis arenosa* (*Brassicaceae*). U rostlin s takovým květem by totiž bylo možné očekávat, že se počasím budou řídit nejvíce.

Květy jsou nicméně pro spoustu lidí důležité především z estetického hlediska. Není proto s podivem, že doba otevírání květů je klíčová pro květinářský průmysl. Možná i to je důvodem toho, proč je vliv vnějších faktorů na otevírání květu studován na velkém množství různých rostlin od kosatce (van Doorn et al. 2014) po šruchu (Ichimura & Suto 1998). Může to být i vysvětlením toho, proč řada studií, ze kterých tato práce čerpala, využívala buď celé řezané rostliny, nebo třeba i pouze poupata či květy. Tato skutečnost může být do budoucna poněkud nepraktická při porovnávání výsledků získaných z experimentů na celistvých rostlinách.

Cílem této práce bylo obsáhnout základní poznatky z vědeckých prací uplynulých let věnujících se problematice vlivu vnějšího prostředí na otevírání květů a jevům s tímto tématem souvisejícím. Záměrem bylo shrnout základní faktory, které ovlivňují otevírání květů a prašníků. Dalším cílem pak bylo zjistit, do jaké míry je dehiscence pod kontrolou rostliny a do jaké míry má na proces vliv vlhkosti vzduchu, či zda, a případně jak, může počasí ovlivňovat různé signální dráhy, které se podílejí na regulaci otevírání květů a prašníků.

## 2. Stimulace kvetení – přechod do generativní fáze

Načasování přechodu z vegetativní fáze do generativní fáze vývoje, tedy kvetení, je proces, který je pod vlivem jak faktorů vnějšího prostředí, tak i pod vlivem různých endogenních pochodů (Kim et al. 2007). Jedná se o klíčové období v životním cyklu rostliny (Ebine et al. 2012), které rozhoduje o tom, jak úspěšně se rozmnoží. Ovlivnění doby květu je zajímavé i z pohledu zemědělství, například oddálením kvetení lze zvýšit výnos z vegetativních pletiv rostlin rodu *Brassica* (Kim et al. 2007).

Pro lepší představu o tom, jak květ funguje, si nejprve podrobně rozebereme, jaká je vlastní podstata kvetení.

Existuje několik hlavních mechanismů – drah, objevených díky *Arabidopsis thaliana*, které fungují paralelně a u rostlin vyvolávají kvetení. Zaprvé se jedná o kontrolu kvetení závislou na vernalizaci – dlouhodobému působení nízkých teplot následované zahájením kvetení (Sheldon et al. 2000), dále je to kontrola závislá giberelinech a na změně fotoperiody (více viz. kap. 3.5; He & Amasino 2005 podle Cheng et al. 2017). Posledním způsobem, jak rostlina reguluje kvetení je tzv. autonomní dráha. Jedná se o regulaci kvetení, která je nezávislá na délce fotoperiody. Autonomní dráha s dráhou regulace kvetení vernalizací se kříží v genu *FLOWERING LOCUS C (FLC)* (Michaels & Amasino 1999; Sheldon et al. 2000; Ebine et al. 2012), který má zcela klíčovou roli, jelikož kóduje MADS-box transkripční faktor reprimující kvetení (Michaels & Amasino 1999). Autonomní dráha je do určité míry nezávislá, na druhou stranu například vernalizace může mít vliv právě na snížení množství transkriptu centrálního genu autonomní dráhy *FLC* (Michaels & Amasino 1999; Sheldon et al. 2000). Velké množství transkriptu je příčinou pozdějšího kvetení (Sheldon et al. 2000), proto je cílem autonomní dráhy potlačení exprese *FLC*. Jedná se o komplexní problematiku, která je podrobně shrnutá v recentní práci Cheng et al. 2017, samotné základy však objasňují starší práce, na které odkazuje nejen uvedená review.

Brukev *Brassica rapa* má několik genů, které jsou homologní právě *FLC* genu *Arabidopsis thaliana (AtFLC)*. Konkrétně se jedná o geny *BrFLC1 – BrFLC3*, jejichž zvýšená exprese v transgenní *Arabidopsis* vede k pozdějšímu nástupu kvetení. Nejbliže ke genu *AtFLC* má gen *BrFLC3* (Kim et al. 2007).

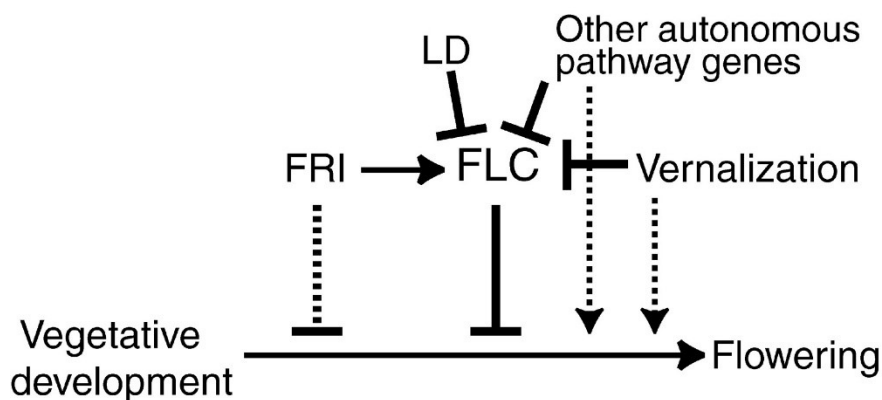
V autonomní dráze figurují i další geny, mezi které patří například *FRIGIDA (FRI)*. Tento gen je nepostradatelný pro aktivaci exprese genu *FLC* (Michaels & Amasino 1999; Choi et al. 2011). Mutanti *Arabidopsis fri* vykazují dřívější nástup kvetení společně s méně intenzivní expresí *FLC*. Dalším důkazem provázanosti drah je skutečnost, že vernalizace potlačuje funkci *FRI* a *FRI* zabraňuje fungování genů autonomní dráhy (Choi et al. 2011). U *Arabidopsis* jsou

také různé alely genu *FRI* zároveň hlavní příčinou variability času kvetení (Johanson et al. 2000).

Gen *FLC* a *FRI* tedy působí jako represory autonomní dráhy, naopak jako aktivátor této dráhy působí například gen *LONG DAY (LD)*, viz. obr. 1, a další. Rostliny s mutací v takovémto genu vykazují pozdější nástup kvetení (Lee & Amasino 1995).

Mezi geny propojující různé regulační dráhy kvetení se řadí například *SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS1 (SOC1)*. *SOC1* je transkripční faktor, který podporuje kvetení (Borner et al. 2000 podle Michaels & Amasino 2001). *SOC1* je negativním regulátorem dráhy vernalizace, potlačuje totiž geny *CBFs* (*CRT/DRE binding factors*), jejichž přílišná exprese zase pro změnu podporuje expresi *FLC* (Seo et al. 2009). Exprese genu *FLC* pak může stačit k tomu, aby pokleslo množství *SOC1* (Michaels & Amasino 2001), nicméně vzhledem k zapojení *SOC1* i v jiné dráze není *FLC* jediným, co expresi *SOC1* kontroluje. *SOC1* a *FLC* patří mezi hlavní geny, které zajišťují tzv. crosstalk mezi autonomní dráhou a dráhou vernalizace (Seo et al. 2009).

Důkazem toho, že regulace kvetení je skutečně komplikovaným procesem, je i prokázané propojení autonomní dráhy s vakuolární a endocytotickou dráhou. Právě v této transportní dráze má roli gen *SYP22*, který kóduje vakuolární *SNARE* protein, důležitý pro mechanické přiblížení váčku k cílové organelle (Ebine et al. 2012). Protein podle všeho hraje roli v polarizovaném transportu auxinu (Shirakawa et al. 2009 podle Ebine et al. 2012). Fenotypovým projevem mutantní rostliny *Arabidopsis thaliana syp22* je mimo jiné pozdní kvetení. Příčinou tohoto zpoždění je zvýšená exprese *FLC*, která vede k narušení autonomní dráhy. Na podporu hypotézy, že se gen *SYP22* podílí na regulaci kvetení skrz autonomní dráhu, je potřeba zmínit, že v odpovědích mutantů na aplikaci giberelinů, vernalizaci i změnu fotoperiody nebyly žádné výrazné abnormality (Ebine et al. 2012).



**Obrázek 1: Model interakce *FLC*, *FRI*, *LD* a vernalizace v rámci regulace kvetení autonomní dráhou.**

Tučné čáry značí vzájemné působení s *FLC*, naopak přerušované čáry poukazují na efekty, které má za následek absence *FLC*. Převzato z Michaels & Amasino 1999.

### 3. Otvírání květu

Ze všeho nejdříve je potřeba seznámit se s tím, co se děje před a během samotného otevření květu. Je známo, že otevření květu musí předcházet zvětšení velikosti korunních lístků, případně okvětí. Jaká je ale fyziologická podstata tohoto procesu? Následující kapitola uvádí několik základních principů, které vedou k otevření květu.

#### 3.1 Anatomie – epidermální buňky korunních lístků a jejich růst

Na korunních lístcích jihoafrické rostliny *Tweedia caerulea* je rozdílný počet epidermálních buněk na adaxiální (svrchní) a abaxiální (spodní) straně. Na adaxiální straně je jich více, a to po celou dobu od chvíle, kdy se objeví koncečky korunních lístků v ústí kalichu, až do doby úplného otevření květu. Počet pokožkových buněk nevykazuje žádný nárůst od chvíle, kdy jsou korunní lístky sice ještě svinuté, ale už nejsou schované v kalichu a jsou připraveny se otevřít. Růst korunních lístků před tím, než se květ otevře, je zapříčiněn dělením a růstem buněk. Ovšem v době, kdy se květ otevírá, se buňky už nedělí a pouze se zvětšují (Norikoshi et al. 2013). Rozdílný počet pokožkových buněk je logický vzhledem k tomu, že korunní lístky se „ohýbají“ směrem ven.

Naopak u růže *Rosa hybrida* ‚Sonia‘ nelze zcela přesně určit, kdy se buňky korunních lístků přestávají dělit. Počet pokožkových buněk na adaxiální straně lístku je větší a výrazně narůstá až do chvíle, kdy jsou korunní lístky skrz otevírající se kalich vidět. Zato množství abaxiálních pokožkových buněk, kterých je celkově méně, se výrazněji zvětšuje jen ve stádiu poupěte – intenzivní dělení pokožkových buněk na této straně ustává dříve. Ovšem počet buněk na adaxiální i abaxiální straně alespoň mírně narůstá až do plného otevření květu, je tedy nasnadě, že oproti předchozímu příkladu se dělení buněk nezastavuje ani v pokročilé fázi otevírání květu. I přesto, že dělení neustává, dochází v době před rozvinutím lístků především ke zvětšování plochy buněk, a to hlavně na abaxiální straně (Yamada et al. 2009). V obou uvedených případech tedy v pozdější fázi vývoje květu zodpovídá za růst korunních lístků hlavně zvětšování plochy pokožkových buněk.

Epidermálních buněk na adaxiální straně korunního lístku u jícnovky *Eustoma grandiflorum* je rovněž více než na abaxiální straně. Buňky na abaxiální straně ale mají větší plochu a jejich dělení ustává dříve než na adaxiální straně. U této rostliny bylo pozorování prováděno už na velmi mladých poupatech, proto je v periodě poupě – otevřený květ možné rozlišit až čtyři fáze vývoje korunních lístků: nejprve probíhá buněčné dělení a růst zároveň, pak se buňky hlavně dělí, poté buněčné dělení opět provází i růst, nakonec buňky už jenom

nabývají na velikosti. Buňky se tedy nedělí a nerostou po celou dobu stejně (Norikoshi et al. 2016).

V uvedených případech tedy lze najít shodu nejen ve vyšším počtu pokožkových buněk na adaxiální straně, ale hlavně v tom, že růst korunních lístků, který je nezbytný pro to, aby se květ mohl otevřít, v závěru probíhá především díky prodlužování buněk. Jinak se ale charakter buněčného dělení a expanze pokožkových buněk korunních lístků během otevírání květu liší podle druhu.

Během otevírání květu rostliny *Tweedia caerulea* rovněž dochází k nárůstu koncentrace fruktózy, glukózy a sacharózy v korunních lístcích. Osmotický potenciál tudíž klesá, což lze připsat právě nárůstu uvedených monosacharidů, následkem čehož je usnadněn tok vody do buněk. Tento přísun vody je spojen s růstem buněk, což je nezbytným předpokladem pro otevření květu (Norikoshi et al. 2013).

Na zvětšování velikosti buněk mají kromě snižujícího osmotického potenciálu vliv i různé enzymy a proteiny rozvolňující buněčnou stěnu. U karafiátu *Dianthus caryophyllus* bylo pomocí RT-PCR dokázáno, že geny pro expanzin (*DcEXPA1* a *DcEXPA2*) a xyloglukan endotransglykosylázu/hydrolázu (XTH; *DcXTH2* a *DcXTH3*) vykazují rozdílnou expresi ve vegetativní a v generativním pletivu. Tyto geny souvisí se růstem korunních lístků, k jejich expresi dochází právě během otevírání květu (Harada et al. 2011). Podobně je tomu i při otevírání květu jícnovky *Eustoma grandiflorum*, které je spojeno se změnou v čerstvé váze, míře růstu, barvě a tvaru korunních lístků, narůstá exprese genů právě pro expanzin a také XTH. Růst lístků v pozdějších fázích vývoje je provázen právě výrazným nárůstem intenzity rozvolňování buněčných stěn, což je v souladu se zvětšujícím se množstvím těchto proteinů právě v době, kdy rostlina začíná rozkvétat (Ochiai et al. 2013a). Působení methyl jasmonátu u této rostliny vede k dřívějšímu nástupu kvetení, což je spojeno s nárůstem exprese genů pro expanzin a XTH, a to především těsně před otevřením květu. Konkrétně se jedná především o geny *EgEXPA2*, *EgEXPA3* a *EgXTH1*, které se podílejí na růstu korunních lístků po celou dobu vývoje květu od poupěte do plně otevřeného květu. Míra otevření květu ani velikost korunních lístků ovšem nejsou ovlivněny. Dále se na regulaci jejich exprese podílí i ethylen a lze ji ovlivnit i syntetickým auxinem NAA. NAA rovněž pozitivně působí na expresi genů, ale nemá žádný vliv na vlastní otevírání květu (Ochiai et al. 2013b). U *Arabidopsis thaliana* má narušení biosyntézy jasmonátů za následek opoždění růstu korunních lístků i otevření květu (Ishiguro et al. 2001). U jícnovky *Eustoma* neměly žádný z uvedených efektů při stejném množství jako methyl jasmonátu a NAA například ani kyseliny abscisová a gibberelová (Ochiai et al. 2013b).

V případě *Arabidopsis thaliana* má gen *BIGPETAL* (*BPE*), kódující transkripční faktor skupiny *bHLH*, vliv na velikost korunních lístků. Konkrétně se jedná o splice variantu genu *BPEp*, která omezuje růst buněk. Exprese tohoto transkriptu je vázána na jasmonáty, a proto může být v rostlině *opr3* s mutací v syntéze jasmonátů negativně ovlivněna. Pokud nejsou jasmonáty v rostlině přítomny, *BPEp* není exprimován. Mutace vedoucí ke ztrátě funkce genu *OPR3* má za následek zvětšení velikosti korunních lístků a výrazný buněčný růst. Plocha korunních lístků kontrolní rostliny je přibližně o 71 % menší než u mutantní rostliny *opr3*. Aplikace exogenních jasmonátů může nedostatek endogenních jasmonátů nahradit a zabránit tak uvedenému fenotypovému projevu mutace (Brioudes et al. 2009).

Během vývoje květu jícnovky *Eustoma grandiflorum* je rovněž možné zaznamenat odlišný tvar epidermálních buněk adaxiální a abaxiální strany. Zatímco v prvním případě buňky s postupujícím časem zaujímají kuželovitý tvar s papilami, v druhé případě se jedná o úzké protáhlé buňky (Norikoshi et al. 2016). Rozdílný tvar buněk na obou stranách korunního lístku je možné pozorovat i u růže *Rosa hybrida* (Yamada et al. 2009). Z předchozích dvou uvedených prací vyplývá, že samotný tvar buněk na vlastním mechanismu otevírání květu nemá vliv. Tvar pokožkových buněk nebyl hlavním předmětem jejich zájmu.

Pokožkové buňky korunních lístků růže a jícnovky jsou v době, když je květ plně otevřen, vyplněny především vakuolou, a to ve srovnání s pokožkovými buňkami během vývoje květu, kdy bylo možné kromě vakuoly pozorovat například kulatá elektrondenzní tělíska (Yamada et al. 2009; Norikoshi et al. 2016).

Z výše uvedeného vyplývá, že růst korunních lístků je nezbytných předpokladem pro otevření květu.

### **3.2 Role teploty v otevírání květu**

#### *Jak rostliny vnímají teplotu*

Teplota prostředí, ve kterém se organismy vyskytují, je jedním z několika základních faktorů, které mají vliv na jejich fungování, růst a vývoj. U rostlin není znám žádný speciální receptor, kterým by mohly vnímat změny v okolní teplotě (Legris et al. 2016). V oblasti vnímání tepla rostlinami je lidské poznání této problematiky teprve na začátku. Kompletní mechanismus percepce teploty tedy zatím není znám, nicméně bylo zjištěno například to, že pro vnímání teploty jsou důležité fytochromy (Jung et al. 2016; Legris et al. 2016), jinak známe jako receptory světla (viz. kapitola 3.4). U *Arabidopsis* se jedná konkrétně o fytochrom B (phyB), dimer zaujímající formu aktivní (Pfr) či pasivní (Pr). Právě změna z aktivní na pasivní formu a vice versa je závislá nejen na světle, ale i na teplotě, jelikož aktivita phyB klesá s rostoucí teplotou. phyB je aktivován červeným světlem, inaktivován je infračerveným

světlem a vysokou teplotou (Halliday & Davis 2016; Legris et al. 2016). Nutno poznamenat, že nebyla pozorovaná žádná změna v expresi *PHYB* nebo v množství proteinu *phyB* jako odpověď na změnu teploty, jejíž efekt je tedy pravděpodobně přímý (Jung et al. 2016).

Jako příklad termosenzorické funkce fytochromů lze uvést skutečnost, že se podílejí na výše zmíněné termomorfogenezi. Ta je poháněna pomocí *PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR (PIF4)*, na jehož teplotně závislé regulaci se podílejí právě fytochromy, konkrétně aktivní forma Pfr, které potlačuje aktivitu *PIF4* (Jung et al. 2016).

O změně teploty ale rostlinu může také informovat například změna fluidity membrány, což je pravděpodobně nejhmataelnější důkaz toho, že rostliny na změnu teploty reagují. Lipidová dvojvrstva se například s nižší teplotou stává méně tekutou (Vigh et al. 1998), s vyšší teplotou naopak více tekutou, což může mít vliv na fungování rostliny. Změna teploty dále může vést ke změnám ve struktuře DNA (Wildes et al. 2011).

### *Vlastní vliv teploty*

Každá rostlina má svou specifickou teplotu, která je ideální pro začátek kvetení. *Boechea stricta* vykvete dříve při teplotě 18 °C, teplota 25 °C kvetení oddaluje (Anderson et al. 2011). U *Arabidopsis thaliana* je pro zahájení kvetení nejvhodnější dlouhý den, ale při krátkém dni pomůže mírné navýšení teploty z 23 °C až 27 °C (Balasubramanian et al. 2006). Ideální situace nastává tehdy, když je okolní teplota v rámci tzv. teplotního optima, jinak jsou rostliny vydané na pospas vnější teplotě. Jaký má tedy vnější teplota vliv na otevírání květů?

Důležitost správného načasování otevření květu může být klíčové například u některých kultivarů *Oryza sativa*, kde otevření květu brzo ráno vede k tomu, že květ není vysokou dopolední teplotou poškozen, a je tedy fertilní (Kobayasi et al. 2010). Vyšší teplota prokazatelně uspíší otevření květu. Brzké otevření květů lze vysvětlit hypotézou, že časně kvetení je reakcí na vysokou noční teplotu. K těmto závěrům se dospělo na základě pozorování několika různých kultivarů, působení sledovaných faktorů tedy bylo celkem variabilní. Dále bylo prokázáno, že velmi vysoká teplota snižuje fertilitu rýže (Kobayasi et al. 2010) a společně v kombinaci s vysokou vlhkostí a bezvětrím, vede k výrazným ztrátám ve tvorbě semen. Kombinace těchto faktorů podle všeho způsobuje to, že lata rýže se přespříliš zahřejí. (Tian et al. 2010).

U květu *Iris x hollandica* má vysoká teplota dobrý vliv na růst pedicelu a semeníku, což je u této rostliny nezbytným předpokladem toho, aby se květ mohl vůbec otevřít (van Doorn et al. 2014). Tento růst – a tedy otevření květu – je naopak inhibován nízkou teplotou. V tomto případě by se tedy vliv teploty na otevření květu mohl označit spíše jako nepřímý. Na druhou stranu *Portulaca* cv. ANR1 je příkladem rostliny, u které měla rostoucí teplota přímý efekt.

Zvýšení teploty bylo následováno rychlým a úplným otevřením květu. Tento efekt byl znásoben v případě, že byla rostlina vystavena světlu. Naopak vystavení chladu vedlo k tomu, že se květ začal zavírat (Ichimura & Suto 1998). Data z pokusů na *Iris* a *Portulaca* byla získaná na řezaných květinách, což se nesnadno zobecňuje pro celistvé rostliny.

Otevírání květů u vybraných rostlin z čeledí *Asteraceae*, *Aizoaceae*, *Neuradaceae* a *Oxalidaceae* je úzce vázané na teplotu. Tyto rostliny z pouštní oblasti v jižní Africe se kromě běžného otevírání květů i zavírají a mohou pochlubit i zajímavými pohyby korunních lístků, které jsou ale pod výrazným vlivem jiných vnějších faktorů, viz. dále. K samotnému otevření květů je potřeba, aby teplota překročila hranici 15 – 16 °C, což je tedy minimální dostačující podmínka, která musí být splněna. Důkazem je skutečnost, že se květy otevřely i tehdy, když bylo větrno, nebo pod mrakem, ale teplota byla stále více než uvedených 15 °C. Některé rostliny, např. *Tripteris oppositifolium* a *Ruschia subpaniculata*, se otevíraly brzo ráno, což znamená, že jejich minimální potřebná teplota je nižší než u ostatních rostlin. Nástup nízkých večerních teplot nebo příchod chladného počasí zpravidla vedl k rychlému zavření květů (Hase et al. 2006).

S teplotou rovněž souvisí i termín globálního oteplování. Na divoké brukvi *Brassica rapa* byla testována hypotéza, zda se s odstupem několika generací dokáže přizpůsobit zkrácené době, kdy jsou dobré podmínky pro to, aby mohla vykvést a rozmnožit se. Zkrácená a sušší sezóna byla následkem zvyšující se teploty, která postupně vedla k nástupu sucha. V dané oblasti se vyseletovaly takové rostliny, jejímž potomkům stačila prokazatelně kratší doba od vyklíčení k otevření prvního květu. Potomci sice nezvládnou vytvořit tolik zásob jako jejich předchůdci, ale je snad lepší mít málo zásob a stihnout vykvést, než s velkým množstvím zásob nestihnout ani otevřít květy (Franks et al. 2007). Neznamená to ale, že by snad sucho mělo vždy podpurný efekt na otevírání kvetení. Naopak například u *Iris x hollandica* je prokázáno, že stres ze sucha brání růstu pedicelu a semeníku, a tím pádem brání vykvetení (Çelikel & van Doorn 2012).

### 3.3 Vliv vzdušné vlhkosti a deště na kvetení

Ačkoli vlhkost je důležitým faktorem pro regulaci v otevírání prašníků, není vzdušná vlhkost zpravidla tím, co významně ovlivňuje chování květu, bývá spíše doprovodným faktorem, občas ale také nemá vůbec žádný pozorovatelný efekt (Ichimura & Suto 1998).

Otevírání květu u rostliny *Portulaca* cv. ANR1 je na vzdušné vlhkosti zcela nezávislé (Ichimura & Suto 1998).

Opakem toho jsou ale například již zmíněné rostliny z čeledí *Asteraceae*, *Aizoaceae*, *Neuradaceae* a *Oxalidaceae*. Snížení teploty, které může vést k zavření květu, může být



poměrně spolehlivým indikátorem blížící se srážky či nastupující mlhy. Na vybraných rostlinách byla testována hypotéza, že pohyby korunních lístků, které jsou závislé na teplotě, se vyvinuly jako snaha zabránit poškození pylových zrn, které by mohl způsobit déšť, mlha nebo rosa. Pokusy tuto již dříve vyslovenou hypotézu potvrdily. Citlivost pylových zrn jednotlivých rostlin na vlhko byla ale mezi rostlinami v rámci jednotlivých čeledí různá. Proto na základě získaných dat není možné bez pochyb prohlásit, že motivace rostlin zavírat květy je pouze vlhko a nic jiného (Hase et al. 2006).

Vlhkost jako taková tedy pravděpodobně nebude hybnou silou, která zavírá květy, ale spíše tím, kvůli čemu se květy zavírají. Ochrana samčí fitness je důležitá, protože se ztrátou funkčního pylu se snižuje šance na úspěšné rozmnožení. Navíc je možné, že květy ztrácí na atraktivitě tehdy, když následkem deště odměna pro opylovače zmizí. Proto je důležité pyl chránit, a je možné, že právě proto tyto rostliny své květy k večeru zavírají. Jedna z méně pravděpodobných teorií je, že rostliny by své květy mohly zavírat, aby tak například snížily atraktivitu květů před býložravci, např. ovce či antilopami, nebo aby se ochránily před hmyzem, který květům rostlin škodí. Ten je ale stejně pravděpodobně neaktivní právě tehdy, když jsou rostliny zavřeny. Toto alternativní vysvětlení toho, proč se rostliny zavírají, je tedy spíše chybné. Ochrana před herbivorií nemohla být primárním selekčním tlakem na zavírání květů. Stejně tak se fenomén zavírání květů určitě nevyvinul ze solidarity ke hmyzu, aby se měl za nepříznivého počasí kde schovat. Naopak hmyz spíše využil volnou niku, kterou byl zavřený květ (Hase et al. 2006).

### **3.4 Jak na květ působí světlo**

Světlo je důležitý faktor prostředí, který má vliv na fungování rostliny. Pro příjem informace, jaké světlo a v jaké intenzitě působí, slouží rostlinám různé typy receptorů. Kryptochromy jsou receptory pro modré a ultrafialové světlo, fytochromy jsou receptory pro červené a infračervené světlo. Tyto receptory mají důležitou roli ve světle regulovaném růstu a vývoji rostlin (Guo et al., 1998). Fytochromy, konkrétně phyB, mají navíc výše zmíněnou schopnost působit jako senzory teploty (Legris et al. 2016).

Světlo a jeho nedostatek může významně ovlivnit fungování květu. I když se na první pohled může zdát, že málo světla musí mít určitě negativní vliv, opak je pravdou. Zajímavým příkladem toho, kdy rostlina prosperuje navzdory nedostatku světla, respektive tmě je *Iris x hollandica*. Poupata řezaných rostlin, která byla po dobu tří dnů v nepřetržité tmě, se otevřela mnohem více než poupata, která byla po stejnou dobu vystavena působení dvanácti hodinového cyklu světlo/tma (van Doorn et al. 2014).



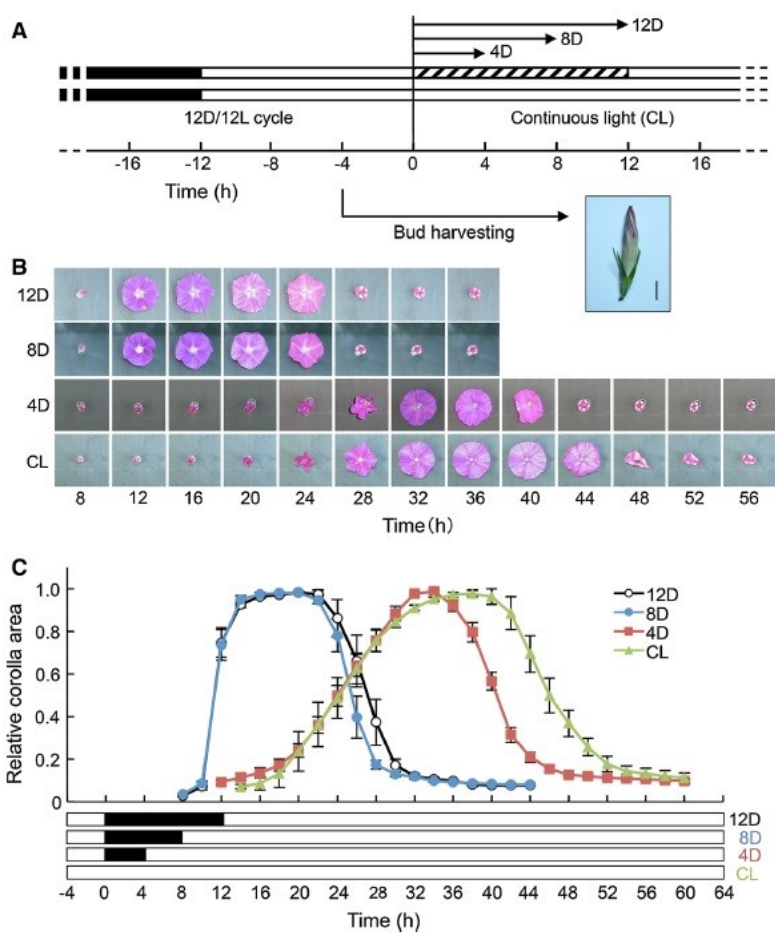
*Arabidopsis thaliana* je kvetení indukováno dlouhými dny a opožďuje se ve dnech krátkých (Fowler et al. 1999). Pro kontrolu kvetení spojenou s dobou, po kterou působí světlo, je dále určující i činnost genů *CONSTANS* (*CO*; Putterill et al. 1995) a *GIGANTEA* (*GI*; Fowler et al. 1999). Začátek kvetení je podporován dlouhou periodou, mutanti *constans* ale v těchto podmínkách kvetou později než rostliny bez mutace (Putterill et al. 1995). Expresí genu *GI* je pod dohledem cirkadiálních hodin rostliny. Výrazný výkyv v transkripci je 8 – 10 hodin po rozbřesku. Délka působení světla určuje intenzitu, načasování i délku doby, kdy je možné tento výkyv zaznamenat. Skutečnost, že je tento gen zapojen do kvetení vyvolaného změnou fotoperiody, je podepřena důkazem, že mutantní rostliny *gigantea* při vystavení dlouhé periodě světla (tzv. dlouhé dny) vykvétaly později než rostliny kontrolní. Tento gen má tedy rozdílný charakter exprese v závislosti na délce působení světla, tj. na dlouhých a krátkých dnech (Fowler et al. 1999).

Podstata výše zmíněných cirkadiálních hodin spočívá v expresi různých genů, která vykazuje vlastní periodicitu, která zůstane zachovaná i tehdy, když je rostlina ve tmě. Jedná se například o gen *CIRCADIAN CLOCK ASSOCIATED 1* (*CCA1*). Expresí genu je rytmická. Maximální hladina proteinu *CCA1* je u *Arabidopsis thaliana* při periodě 12 hodin světlo/12 hodin tma přibližně jednu hodinu po rozednění. Produkt genu *CCA1* dále ovlivňuje expresi dalších genů, např. pro transkripční faktor *Lhcb*, souvisejících s denním rytmem (Wang & Tobin 1998). Mezi další geny asociované s cirkadiálními hodinami patří dále například gen *LATE ELONGATED HYPOCOTYL* (*LHY*) (Schaffer et al. 1998).

S tímto tématem dále souvisí i tzv. circadian gating. Již bylo zmíněno, že termomorfogeneze je zajišťována transkripčním faktorem *PIF4*. Expresí tohoto genu se s rostoucí teplotou zvyšuje, ale působí na ni mj. cirkadiální hodiny. Právě protein těchto hodin *TOC1*, jehož exprese probíhá večer, přímo interaguje s *PIF4*, což může vést až k zastavení termomorfogeneze na konci dne. Vzájemné působení *TOC1* a *PIF4* zajišťuje vstup cirkadiálních hodin do regulace termomorfogeneze (Zhu et al. 2016).

Střídání světla a tmy je pro správné fungování rostliny nezbytná. Určitá doba bez světla je klíčová pro rychlé a normální fungování květu *Ipomoea nil*. Rychlost a míra otevření květu rostliny přímo závisí na době, po kterou byla rostlina ve tmě. K tomu, aby se tento květ otevřel je navíc nezbytné, aby korunní lístky povyroستly do délky (Shinozaki et al. 2014). Tento růst je způsoben prodlužováním buněk, které je mimo jiné zajištěno již zmíněným enzymem *XTH* (Fry et al. 1992). Nic z toho se ovšem nestane, pokud květu, resp. poupěti, nedopřálo alespoň osm hodin tmy. Shinozaki dokázal, že pokud bylo poupě po klasickém cyklu 12 hodin tma/12 hodin světlo umístěno do zpět do tmy jen na čtyři hodiny, nebo dokonce vystaveno nepřetržitému světlu, tak jeho otevření bylo extrémně pomalé, a ne vždy úplné, viz. obr. 3, str. 20. Kromě

toho, že došlo k potvrzení již dlouho známé skutečnosti, že otevření květu je velmi pomalé při krátké periodě tmy (Kaihara & Takimoto 1981 podle Shinozaki et al. 2014), bylo navíc zjištěno, že délka periody tmy souvisí s množstvím transkriptů *XTH* genů. Množství transkriptů *InXTH2 – InXTH4* začíná narůstat před koncem nebo s koncem osmihodinové periody tmy, což přesně odpovídá době, kdy se korunní lístky začínají rozvíjet. Množství těchto transkriptů rovněž koreluje s mírou otevření květu. Na druhou stranu množství transkriptů *InXTH1* výrazně narůstá již od začátku periody tmy, což odpovídá době, kdy se korunní lístky prodlužují. Zároveň bylo izolováno několik genů, u kterých množství jejich transkriptů pozitivně či negativně koreluje s průběhem otevírání květu. Tyto geny byly identifikovány jako homologní ke genům, které se podílejí například na chodu cirkadiálních hodin či na světelné signalizaci (Shinozaki et al. 2014).



**Obrázek 3: Následek působení různě dlouhého trvání tmy na otevírání a zavírání květů.**

Zkratky 12D, 8D a 4D odpovídají rostlinám ponechaných ve tmě po dobu dvanácti, osmi či čtyř hodin; zkratka CL odpovídá rostlinám, na které nepřetržitě svítilo světlo. **A.** Náčrt ukazující délku doby světla a tmy před a během experimentu. Oblasti prázdné – světlo, tmavé – tma. **B.** Časosběrné fotografie reprezentativních rostlin. **C.** Relativní plocha květu rostlin. Hodnoty jsou průměrem (plus/mínus SE) deseti (12D a 8D), osmi (4D) a sedmi (CL) rostlin. Pod grafem je uvedeno, jakým podmínkám byly rostliny vystaveny. Převzato z Shinozaki et al. 2014.

### 3.6 Jak je kvetení regulováno fytohormony

#### *Auxin*

Nejdéle známý a pravděpodobně i nejvíce prozkoumaný rostlinný hormon auxin na rostlinu působí v mnoha oblastech jejího vývoje. Jednou z oblastí je právě i otevírání květu.

V případě klasické modelové rostliny *Arabidopsis thaliana* má auxin na kvetení různé účinky. Narušení správného transportu auxinu, který může vést k nedostatku tohoto fytohormonu na požadovaném místě, může zapříčinit prodlevu začátku kvetení nebo poruchu ve vývoji květu; například srostlé korunní lístky, chybějící tyčinky nebo případně absence kališních lístků (Benková et al. 2003). Podle Aloni et al. 2006 je auxin fytohormonem, který je hlavním signálem kontrolujícím synchronizovaný vývoj květu, a tedy i otevření květu *Arabidopsis*. Orgány květu, které v danou produkují vysoké množství auxinu totiž mohou zbrzdit či dokonce zastavit vývoj sousedních květních orgánů, například dlouhivý růst korunních lístků je potlačen tehdy, když tyčinky produkují velké množství auxinu. V souladu s tím se naopak korunní lístky výrazně prodloužily v případě, když byly z vyvíjejícího se květu odstraněny čtyři ze šesti tyčinek. Rostoucí tyčinky podle všeho potlačují produkci IAA v korunních lístcích. Dále odstranění jednoho či dvou kališních lístků vedlo nejen ke zmenšení tyčinek, pestíku a korunních lístků, ale i ke zvýšení množství IAA právě v korunních lístcích. Správný vývoj květu, který, jak bylo zmíněno výše, kontroluje mj. auxin, je klíčový pro jeho otevření.

Již bylo zmíněno, že pro otevření květu *Iris x hollandica* je zcela nezbytné, aby pedicel a semeník povyroستly. Jak syntetický, tak nativní auxin, mají na tento růst jednoznačně pozitivní účinek. Tím pádem kladně ovlivňují i otevření květu, v roztoku bylo 2,25 mM auxinu. Tyto závěry byly vyvozeny z experimentu s exogenními auxiny, resp. auxiny přidanými do roztoku ve váze s rostlinami. Pokus byl ale proveden i s exogenními auxiny. Díky použití inhibitorů auxinu PCIB a TIBA, které brání jeho správnému účinku a transportu, je jasné, že u *Iris x hollandica* jsou endogenní auxiny faktorem, který omezuje růst pedicelu a semeníku, a tedy limituje otevření květu. Pokud totiž koncentrace inhibitorů v roztoku, ve kterém byla rostlina umístěna, překročila určitou hranici (konkrétně 0,8 mM), pak se růst pedicelu a semeníku zastavil a květ zůstal zavřený (van Doorn et al. 2013). Tato rostlina je tedy příkladem toho, že endogenní auxiny mohou být pro otevření květu naprosto nepostradatelné.

#### *Ethylen*

U *Arabidopsis thaliana* patří ethylen mezi faktory, které se podílí na nejzásadnější fázi ve vývoji rostliny. Ethylen rostlině umožňuje vykvést – přejít z vegetativní fáze do fáze generativní. Mutantní rostlina produkující výrazně více ethylenu než kontrolní rostlina do druhé

fáze vývoje přechází mnohem dříve, což odpovídá i menšímu počtu listů, které takováto mutantní *Arabidopsis* zvládne vytvořit. Květy se tvoří s předstihem a rostlina má kvetení rychleji za sebou. Naopak mutantní rostliny mající citlivost sniženou nebo žádnou vykvétají mnohem později než kontrolní (Ogawara et al. 2003).

Ethylen obvykle brání kvetení většiny kultivarů růží, v ojedinělých případech může mít ale i opačný účinek. Ethylen pozitivně ovlivňuje transkripci tzv. *DELLA* genů, růstových inhibitorů. *DELLA* protein se váže na promotor genu, který je zapojen v procesu syntézy buněčné stěny, a brání jeho fungování. Tím je omezen růst korunních lístků, což je překážkou v otevření květu (Luo et al. 2013 podle van Doorn & Kamdee 2014).

Fytohormon ethylen je známý například díky své schopnosti urychlit zrání plodů nebo kvůli svému vlivu na opadávání listů. Jak ale může působit na květ?

Právě toto bylo cílem zjistit při zkoumání rostlin, které byly a nebyly vystaveny stresu způsobeným nedostatkem vody. U řezaných rostlin *Iris x hollandica*, které byly uchovávány klasicky ve vodě, neměl ethylen na květ žádný negativní ani pozitivní efekt. A to ani tehdy, když bylo množství ethylenu nulové ani když během prvních dní kvetení množství ethylenu vzrostlo. Významnou roli měl ethylen naopak u dehydrovaných rostlin, u nichž nedostatek vody vedl k nárůstu množství ethylenu. Tento nárůst během dehydratace významně snížil růst pedicelu a semeníku, díky čemuž se květ nemohl otevřít. Důkazem o vlivu ethylenu byla aplikace STS, inhibitoru jeho aktivity. Ošetření tímto inhibitorem vedlo k potlačení efektu velkého množství ethylenu (Çelikel & van Doorn 2012). Lze tedy prohlásit, že ethylen, jehož množství překročilo únosnou mez, může mít ve výsledku negativní efekt na otevírání květu.

V případě rostliny *Chimomanthus praecox* mělo působení ethylenu za následek velmi rychlé otevření květu, ale také rychlý nástup senescence. Kontrolní aplikace ethylenového inhibitoru 1-methylcyklopropenu pro změnu způsobila pozdější začátek otevírání květu. Inhibitor rovněž způsobil, že se květ neotevřel úplně (Sui et al. 2015).

### *Další fytohormony*

Gibereliny působí na transkripci *DELLA* genů jako inhibitory, fungují s ethylenem antagonisticky (van Doorn & Kamdee 2014). Mutanti *Arabidopsis thaliana* postrádající gibereliny se projevují výrazně menšími korunními lístky, jejichž růstu bylo zabráněno právě proteiny *DELLA* (Cheng et al. 2004 podle van Doorn & Kamdee 2014).

Gibereliny mají pozitivní efekt na růst pedicelu a semeníku i na otevření květu *Iris x hollandica*. Kyselina jasmonová brání otevření květů tím, že inhibuje pohyb okvětních lístků. Kyselina abscisová nemá žádný významný efekt na růst pedicelu a semeníku, ani na otevření

květu, ale uspořádala nástup senescence květu. Naopak cytokininy senescenci pozdržely (van Doorn et al. 2013), ovšem senescence není předmětem zájmu této práce.

Kyselina abscisová, další z fytohormonů, například uspořádala otevření květu ale i senescenci u rostliny *Chimonanthus praecox*, naopak cytokinin zeatin otevření květu pozdržel. Jiný cytokinin ale významný efekt neměl, stejně tak kyselina gibberelová (Sui et al. 2015).

## 4. Průběh dehiscence prašníku

Další oblastí, která se k tématu této práce vztahuje, je problematika ochrany samčí fitness, která pochopitelně souvisí s dehiscencí prašníků. Doba, kdy se prašník otevře je důležitá, nevhodné počasí může totiž pylová zrna poškodit (Hase et al. 2006; Wang et al. 2009). Je nezbytné, aby rostlina pylová zrna uvolnila ve vhodnou chvíli, kdy má velkou šanci, že buď dojde k samosprášení, nebo kdy je naděje na přenos, alternativně k samosprášení. Ač se jedná o složitý proces, je důležité na tomto místě zmínit alespoň základní mechanismus, jakým dehiscence prašníků funguje. Pak je nejdůležitější otázkou, jaký je hlavní spouštěč dehiscence prašníků. Jedná se snad o čistě fyzikální proces vysychání stěn prašníků, kdy je uvolnění pylových zrn pouze otázkou času? Nebo rostlina reaguje na aktuální počasí, a podle toho dehiscenci ve vhodnou chvíli spustí? A jsou vůbec tyto skutečnosti prozkoumané? K zodpovězení těchto otázek poslouží poznání toho, jak je dehiscence regulovaná přes geny a fytohormony.

### 4.1 Obecný princip dehiscence

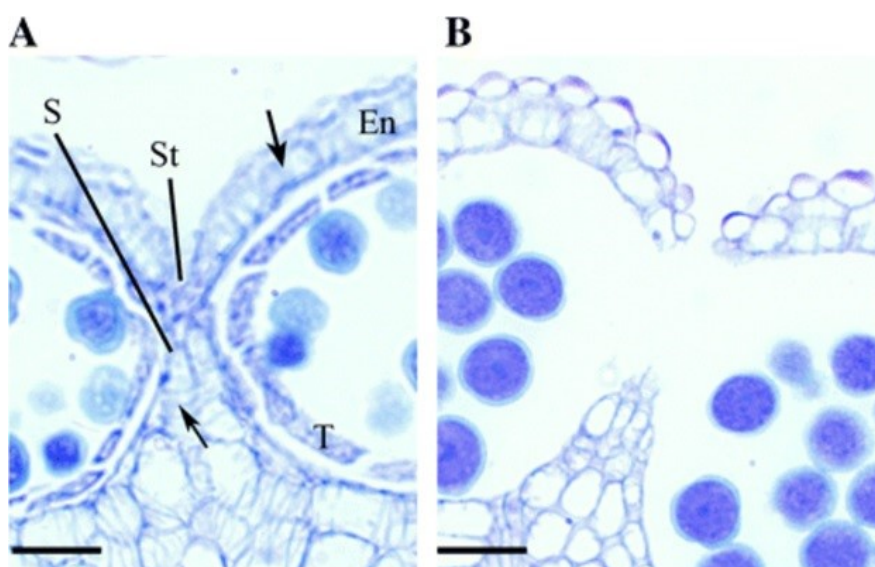
V prašnicích se nachází buňky, které procházejí odlišnou diferenciací a na dehiscenci prašníků se různou měrou podílejí. Jedná se o buňky septa, stomia (Matsui et al. 1999a), tapeta, epidermis či endotheция (Cecchetti et al. 2013).

Prašníky rýže *Oryza sativa* jsou tvořeny dvěma prašnými váčky, které jsou dohromady spojeny konektivem. Každý tento váček má dvě prašná pouzdra – kratší a delší, které jsou spolu propojeny pomocí septa a malých epidermálních buněk, kterým se říká stomium. Právě stomium je místo, kde se prašné váčky otvírají. Poté, co v apikální části praskne septum, pukne zde i stomium. V prostřední části prašného váčku stomium zůstává spojené, ale stěny prašníku jsou následkem tlaku pylových zrn vypouklé ven. Na bazální části, kde je osamocený konec delší části prašného váčku, sice není stomium, ale i tak se tam objevuje štěrbina, která se posléze zvětšuje. Stěny prašného váčku, které navazují na stomium a jsou srolovány dovnitř, se otočí ven a narovnají se. Sílou, která se podílí na prasknutí prašných váček, je tlak pylových zrn, které v odpovědi na otevření květu díky absorpci vody bobtnají, a tlačí tak na stěny prašných váček. Ovšem důležitou roli mají i buňky tvořící stomium. Tyto buňky tloustnou na straně orientované do středu, a pak praskají. Praskání těchto buněk tedy působí společně s tlakem bobtnajících pylových zrn na stomium a vede k jeho otevření v apikální štěrbiny i otvoru v bazální části prašného váčku. Při pozorování otevírání prašníků při různých hodnotách vzdušné vlhkosti se ukázalo, že roztržení septa a stomií je s vyšší vlhkostí úspěšnější, štěrbiny vznikající za těchto podmínek jsou ale relativně malé. Pro jejich rozšíření bylo potřeba vlhkost



snížit. K bobtnání pylových zrn a prasknutí septa je tedy potřeba vysoká vzdušná vlhkost, naopak pro prasknutí buněk v oblasti stomia je potřeba, aby buňky vyschly (Matsui et al. 1999a). Dále pak je prokázáno, že otevření květu bobtnání pylu vyvolává (Matsui et al. 1999b). Další pokusy Matsui a spol. navíc potvrzují, že bobtnání pylových zrn je klíčové pro prasknutí septa a otevření prašných váčků rýže.

U *Arabidopsis thaliana* se konečná fáze vývoje tyčinky skládá z několika událostí: prodlužuje se nitka tyčinky, dozrávají pylová zrna a u prašníků probíhá dehiscence. V případě poslední uvedené události je nezbytné, aby došlo k druhotnému tloustnutí – lignifikaci – buněk endothecia, bylo degradováno septum a nakonec i stomium, viz. obr. 4 (Goldberg 1993 podle Cecchetti et al. 2013).



**Obrázek 4: Příčný řez prašníkem *Arabidopsis thaliana*.**

**A.** Zobrazení oblasti prašného váčku, konkrétně septa a stomia. **B.** Oblast septa a stomia poté, co došlo k lýzi buněk a uvolnění mikrospor, původně uzavřených v oddělených prašných pouzdrech. K místům sekundárního tloustnutí, které lze pozorovat u endothecia, směřují šipky. En – endothecium; St – stomium; S – septum; měřítko – 50  $\mu\text{m}$ . Převzato z Wilson et al. 2011.

Výše zmíněné bobtnání pylových zrn ovšem není jedinou hybnou silou dehiscence prašníků, jak ostatně dávno prokázaly pokusy prováděné mimo jiné na *Gasteria verrucosa*, *Lilium hybrida* a *Lycopersicon esculentum*, ke kterým se ale odkazuje i Wilson et al. 2011. Bylo zjištěno, že prašníky zůstávají stále zavřené i ve chvíli, kdy je už septum prasklé, tapetum již nadržuje svůj tvar a stomium je otevřené. Stěny prašných váčků tvořené buňkami epidermis a endothecia, které jsou z jedné strany druhotně ztloustlé, totiž stále drží stěny prašného váčku stočené dovnitř. Proto, aby se ohnuly ven a uvolnily tak pylová zrna, je nezbytné, aby se uvedené buňky zbavily většiny vody, kterou obsahují (Keijzer 1987). Buňky epidermis

a endothecia se zbavují vody evaporací, která začne probíhat, když se květ otevře. Buňky se sraští, zmenší svou velikost. Rostlina tedy připraví prašníky k otevření, které je však dotaženo do konce až ve chvíli, kdy je jasné, že se květ opravdu otevře. Vysoká vzdušná vlhkost kolem prašníků může otevření zabránit (Keijzer 1987; Bonner & Dickinson 1989), na druhou stranu zahříváním lze otevření prašníků urychlit a to ještě před otevřením květu (Keijzer 1987).

Anatomie prašníků a princip otevírání je v hlavních rysech podobný u většiny krytosemenných rostlin, mezi druhy ovšem existují drobné rozdíly v načasování nebo v pořadí jednotlivých fází dehiscence atd. Příkladem může být *Nicotiana tabacum*, kde se nejprve musí otevřít květ, a teprve až poté se otevře stomium (Keijzer 1987)

#### 4.2 Jakým způsobem fytohormony kontrolují dehiscenci prašníků

Jak shrnul Wilson et al. 2011, dehiscence prašníků je několikastupňový proces zahrnující buněčnou diferenciaci, růst a degeneraci, spojenou se změnou ve vodním režimu v prašníku, která vede k uvolnění pylových zrn z prašníků.

Regulaci dehiscence řídí dále i fytohormony, a to auxin, ethylen, gibereliny či jasmonáty, (Rieu et al. 2003; Murray et al. 2003; Cecchetti et al. 2008; Wilson et al. 2011; Cecchetti et al. 2013).

##### *Auxin*

Tyčinky se u *Arabidopsis thaliana* vyvíjejí před korunními lístky, prašníky produkující velké množství auxinu IAA totiž pozastavují vývoj korunních lístků až téměř do chvíle, kdy se má květ otevřít. Podle všeho produkce auxinu probíhá až do chvíle uvolnění pylových zrn pouze v prašníku, naopak v nitce je produkci auxinu až do tohoto okamžiku bráněno. Místem, kde v prašnicích lze nalézt auxin ve velkém množství je tapetum, kde je IAA v počátcích vývoje prašníku produkována. Tapetum obklopuje zrající pylová zrna a IAA jim dodává. Vytvářející se pylová zrna tedy mají vysokou koncentraci IAA, což jim ve výsledku napomáhá při klíčení – díky IAA totiž může probíhat rychlý růst pylových láček (Aloni et al. 2006).

Auxin dále řídí načasování dehiscence prašníků tím, že kontroluje lignifikaci endothecia. U endothecia *Arabidopsis*, která má mutace pro receptory auxinu, dojde k lignifikaci mnohem dříve než u kontrolní rostliny, rovněž dehiscence proběhne s předstihem, dokonce i nitka je mnohem kratší (Cecchetti et al. 2008). Jakmile začne probíhat lignifikace endothecia, celkové množství auxinu v prašníku poklesne. Auxin podle všeho působí mj. skrze gen pro transkripční faktor *MYB26*, klíčový pro lignifikaci. Jeho zvýšená exprese je zodpovědná za výše zmíněné projevy mutací pro receptci auxinu (Cecchetti et al. 2013).

## Ethylen

V případě tabáku *Nicotiana tabacum* je vývoj prašníku a pylových zrn na ethylenu zcela nezávislý, alespoň o tom svědčí skutečnost, že mutantní rostliny, které nejsou k tomuto fytohormonu citlivé, mají prašníky vyvinuty správně a funkčnost pylových zrn není narušena. Degradace stomia a dehiscence prašníků ale už v pořádku nejsou, tyto události jsou totiž opožděny a neprobíhají synchronizovaně s otevřením květu rostliny. Ethylen je nezbytný ve fázi vývoje prašníků těsně před jejich dehiscencí, pravděpodobně napomáhá programované buněčné smrti buněk stomia. Je-li ethylen k dispozici a rostlina nemá porušeny receptory pro jeho vnímání, působí na dehiscenci prašníků kladně. Má tedy podle všeho podobnou roli v regulaci dehiscence prašníků v tabáku *Nicotiana tabacum*, jako má kyselina jasmonová v dehiscenci prašníků *Arabidopsis thaliana* (více viz 4.2 *Jasmonáty*; Rieu et al. 2003).

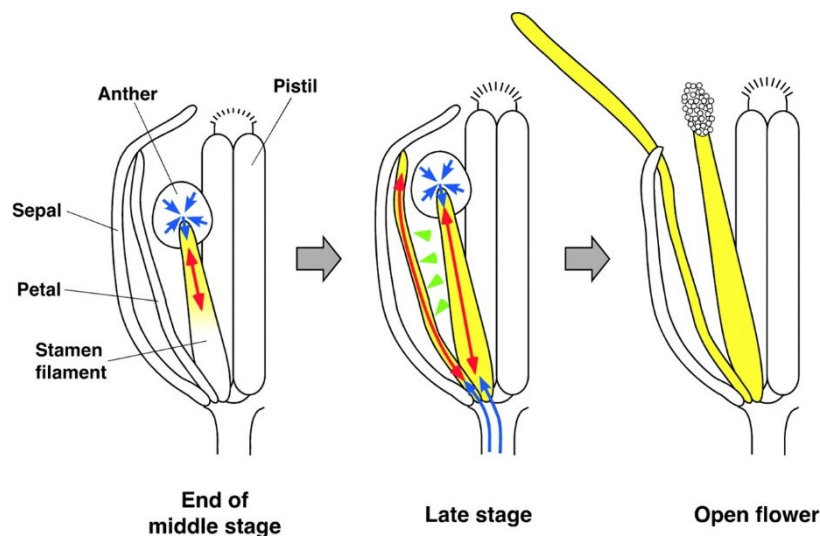
## Gibereliny

Mutantním rostlinám *Arabidopsis* trpícím nedostatkem giberelinů se špatně vyvíjejí tyčinky, což je jasný důkaz toho, že deficiencie tohoto fytohormonu má na rostlinu přímý vliv. To se projevuje například kratšími nitkami, což je pokládáno za výsledek omezení růstu buněk. Dále to může vést dokonce až k samčí sterilitě, gibereliny jsou totiž důležité pro vývoj pylových zrn, který se může bez giberelinů v určité fázi zastavit. Syntéza giberelinů za běžných okolností probíhá v tapetu či v nitce (Cheng et al. 2004 podle Wilson et al. 2011).

## Jasmonáty

Mutantní *Arabidopsis thaliana dad1* (*defective in anther dehiscence 1*) se od kontrolní rostliny neliší v degradaci tapeta ani v roztržení septa. Na starší práci zkoumající tento problém odkazuje opět Wilson et al. 2011. Prašníky mutantní rostliny ale v pozdější fázi procesu dehiscence nezežloutnou a korunní lístky a tyčinky nevyrostou. Jedná se o zdržení ve vývoji poupěte. Prašníky takové rostliny se neotevrou ani tehdy, když se otevře květ, což má pravděpodobně vliv i na pylová zrna, která nejsou zralá. Výsledkem této mutace tedy mohou být samčí sterilní rostliny. Protein *DADI* se totiž podílí na biosyntéze jasmonové kyseliny, důkazem je výrazně nižší množství jasmonátů a methyl jasmonátu v poupětech mutantní rostliny. Jasmonáty mj. regulují vodní režim v prašnicích. Mutanti *dad1* blokují transport vody z endothecia, konektivu a prašných pouzder do cévních svazků. To vede k tomu, že v prašníku zůstává voda, nedojde k jeho vysušení a stomium se neotevře. Aplikace methyl jasmonátu či kyseliny linolové může zvrátit projevy mutace (Ishiguro et al. 2001). Dále bylo prokázáno, že protein *AtSUC1*, transportér sacharózy, se akumuluje v oblastech obklopujících vodivá pletiva v konečné fázi dehiscence prašníku. Je možné, že tento protein napomáhá hromadění

sacharózy v uvedených oblastech, což vede ke zvýšenému příjmu vody daných pletiv (Stadler et al. 1999 podle Ishiguro et al. 2001). Kyselina jasmonová synchronizuje zrání pylových zrn, dehiscenci prašníků a otevření květu, viz. obr. 5 (Ishiguro et al. 2001).



**Obrázek 5: Model navrhuje synchronizovanou regulaci zrání pylových zrn, dehiscence prašníků a otevírání květu kyselinou jasmonovou.**

Oblasti vybarvené žlutě označují ty části rostliny, které aktivně přijímají vodu a prodlužují se v reakci na kyselinu jasmonovou. Dále pak červené šipky naznačují prodloužení orgánů květu, modré šipky znázorňují transport vody a postup kyseliny jasmonové reprezentuje zelená barva. Převzato z Ishiguro et al. 2001

V souladu s výše uvedeným je i tvrzení Cecchetti *et al.*, 2008, později podpořeno dalšími experimenty Cecchetti *et al.*, 2013, že velké množství jasmonové kyseliny je příčinou předčasné dehiscence prašníků *Arabidopsis thaliana*. Stejný výsledek pak má i předčasná lignifikace buněk endothecia.

Hlavní otázkou, na kterou je potřeba najít odpověď, je, kam se tedy ztrácí voda z prašníků – zda je to díky cévním svazkům v nitce, nebo snad evaporací průduchy, které jsou na prašnicích. V druhém případě by totiž vysoká vzdušná vlhkost, a tedy aktuální počasí, byla jasným limitujícím faktorem. Poslední možností, co by se s vodou v prašnicích mohlo stát, je její přemístění do pylových zrn. Kdysi se mělo za to, že se voda z prašníků při dehiscenci přesouvá do nektárií (Burck 1906), nicméně následné zkoumání toto nepotvrdilo (Schmid & Alpert 1977 podle Keijzer 1987) a výše uvedené práce na tuto otázku nepřinesly jasné a uspokojivé odpovědi. Je potřeba podotknout, že jednotlivé druhy rostlin mohou s vodou v prašnicích zacházet různými způsoby.

### 4.3 Vliv počasí na otevírání prašníků

Vybrané kultivary *Oryza sativa* jsou ukázkovým příkladem, kde je vidět, že vlhkost funguje především ve spolupráci teploty a světla, nikoli jako jediný hlavní činitel. Vyšší vlhkost sice vede určitému urychlení nástupu doby, kdy se květ začne otevírat, ale evidentně dřívějšího otevírání květu se dosáhne až kombinací těchto faktorů. Ač jsou testované kultivary ve svých vlastnostech velmi variabilní, k dřívějšímu otevření květu vždy vede vyšší teplota, zvýšená míra slunečního záření a vyšší vlhkost vzduchu. Byla ale vyslovena odvážná teorie, která ve zmíněném vztahu dává vzdušné vlhkosti celkem důležité místo. Pylová zrna jsou naplněná škrobem, který se v případě, že je noční teplota vyšší než obvykle, začne dříve přeměňovat na sacharidy, které začnou vsakovat vody, bobtnat, což vede k dehiscenci prašníků, a tedy dřívějšímu otevření květu. Kdyby byla nízká vlhkost vzduchu, tak by nebylo k dispozici dostatek vody ve vzduchu, kterou by pylová zrna mohly přijmout (Kobayasi et al. 2010).

### 4.4 Unikátní mechanismus na ochranu pylových zrn

S vodou souvisí i následující případ, který uvádí, jak rostlina může zajistit bezpečí pro pylová zrna. Pozoruhodný mechanismus, kterým rostlina zajišťuje ochranu samčí fitness, resp. pylových zrn, lze pozorovat u *Paris polyphylla* var. *Yunnanensis*. Tato rostlina sice během velmi dlouhé doby, kdy kvete, své květy nechává otevřené, ale je schopná zavřít a znovu otevřít své prašníky. Činí tak každé ráno a každý večer, čímž se snaží zajistit co možná nejmenší ztrátu funkčních pylových zrn. I když to samozřejmě není stoprocentní ochrana pylových zrn, je poměrně efektivní. Zavírání prašníků kontroluje světlo, vzdušná vlhkost nemá prakticky žádný vliv. Prokázanou příčinou zavírání prašníků jsou dopadající dešťové kapky, které vedou k velmi rychlému zavření prašníků, a to do patnácti minut od chvíle, kdy na prašníky začne dopadat voda. Po dešti jsou rostliny schopné opět otevřít své prašníky do padesáti minut. Životnost květu byla v případě, že byl v laboratorních podmínkách ušetřen deště, prodloužena až na cca. 34 dní. V laboratorních podmínkách byla rovněž prodloužena i životaschopnost pylu (Wang et al. 2009).

## 5. Diskuze

Předmětem této práce bylo zjistit, jaký vliv má počasí na květ, konkrétně na jeho otevření. Bylo potřeba zaměřit se na různé události, které s tímto dějem úzce souvisejí, nebo mu dokonce předcházejí. Důležitou oblastí, které byla věnována pozornost byla samčí fitness, byl konfrontován vliv počasí s dehiscencí prašníků.

Vznikem květu u rostlin začíná nejdůležitější část jejich životního cyklu, totiž generativní fáze. Na iniciaci kvetení se podílejí čtyři regulační dráhy, které se ale vzájemně kříží a ovlivňují, jedná se o tzv. crosstalk. Jedná se o regulační dráhu vernalizace, giberelinů, fotoperiody a poslední, ne však co do významu, je dráha autonomní. V rámci těchto drah je známo mnoho genů, kterými jsou uvedené dráhy realizovány, například se jedná o geny *FLC*, *FRI*, *LD*, *SOC1*, *CO* či *GI* (viz. kap. 2 a 3.5). Kvetení je regulováno fytohormony, například auxinem, ethylenem a gibereliny (viz. kap. 3.6). Faktory prostředí mají vliv na průběh kvetení, není však zcela jasné, do kterých signálních drah zasahují. Zvýšení teploty může například uspišit otevření květu (van Doorn et al. 2014), což se ještě umocní při působení světla (Ichimura & Suto 1998). Naopak na ochlazení mohou určité rostliny zareagovat zavřením svých květů, a pokud teplota nepřekročí alespoň minimální hranici, květy se otevřít nemusejí vůbec (Hase et al. 2006).

Světlo, respektive jeho nedostatek, může být limitujícím faktorem pro míru otevření květu (Ichimura & Suto 1998), nebo naopak vést k mnohem výraznějšímu otevření květu při delším uskladnění ve tmě než při působení klasického cyklu 12h světlo/ 12 hodin tma (van Doorn et al. 2014). Zvýšení intenzity slunečního záření dále může pozitivně působit na dobu nástupu kvetení (Kobayasi et al. 2010), nebo dokonce prodloužit životnost květu (Wang et al. 2009). Ukázkový, bohužel ale spíše ojedinělý, důkaz o vlivu některého z uvedených faktorů na molekulární pochody rostlin je vliv délky periody tmy na množství transkriptů genů *InXTH*. Ty jsou nezbytné pro prodlužování buněk korunních lístků, což je nezbytným předpokladem pro otevření květu povijnice *Ipomoea nil*. Nedostatečná doba tmy má za následek nedostatečnou transkripci genů pro *XTH* výsledkem je pomalé a nedostatečné otevření květu (Shinozaki et al. 2014).

Důležité je ale zmínit, že, i přes výše zmíněné účinky teploty, světla a tmy, tyto faktory na rostlinu nikdy nepůsobí samostatně, jejich účinky jsou provázané. Účinky uvedených faktorů jsou navíc vysoce variabilní, velmi se liší v závislosti na druhové příslušnosti pozorovaných rostlin. Nelze proto jednoznačně prohlásit například to, že nedostatek světla má na kvetení negativní vliv.

Vzdušná vlhkost a déšť jsou pak faktory počasí, které pro rostliny nejsou příliš pozitivní. Květy některých rostlin se podle těchto faktorů řídit nemusí vůbec (Ichimura & Suto 1998), jiné

ale mohou odvodit například z večerního poklesu teploty, že se blíží dešťová přeháňka, a květy zavřít (Hase et al. 2006). Příčinu toho chování lze hledat ve snaze rostliny zajistit, aby jí třeba právě dešť nepoškodil cennost, kterou disponuje – pylová zrna.

Pylová zrna je ve chvíli, kdy jsou zralá, potřeba dát k dispozici, aby mohlo proběhnout opylení a oplození. To se uskutečňuje díky dehiscenci prašníků, která zajistí přístupnost pylových zrn otevřením prašných váčků a pouzder, což je naprosto klíčový moment v životním cyklu každé rostliny. Jedná se o proces, jehož předpokladem je buněčná diferenciace, růst a následná degradace buněk prašníků (viz. kap. 4.1). Průběh dehiscence je samozřejmě regulován i fytohormony a může být narušen jejich nedostatkem či přebytkem. Fytohormony mohou negativně ovlivnit jednak správný vývoj tyčinky, ale i dobu dehiscence (viz. kap. 4.2).

Je ale vůbec dehiscence plně pod kontrolou rostliny? V dehiscenci totiž hraje důležitou roli i voda, kterou je pro otevření prašníku potřeba dostat pryč z jeho buněk. Existuje několik možností, jak se vody zbavit. Voda se může přesunout do pylových zrn z pletiv, které je obklopují. Bobtnání pylových zrn je zamýšleno jako jedna z hybných sil dehiscence. Dále by voda mohla být odváděna cévními svazky v nitce, nebo odparem průduchy v epidermis buněk prašníků. Právě v posledním uvedeném případě by to znamenalo, že průběh dehiscence je v kompetenci rostliny jen do určité chvíle. Odpar vody – závislý na vzdušné vlhkosti okolí – by se totiž řídil podle aktuálního počasí. Ovšem na otázky, zda se prašníky otevrou vždy, když pylová zrna dozrají a voda z buněk zmizí bez ohledu na aktuální stav abiotických faktorů, nebo zda dehiscence závisí na počasí a je tedy kontrolována rostlinou jen do určité chvíle, se nepodařilo najít jednoznačnou a jasnou odpověď. Zcela klíčovou roli v dehiscenci prašníků mají podle všeho jasmonáty, které se zdají být klíčovým konečným regulátorem tohoto děje.

Tato práce ukázala, že otevírání květů opravdu nelze studovat jen z pohledu vlivu počasí, je potřeba vzít na vědomí, že kvetení je složitý děj, skládající se z různých částí, které jsou spolu propojené a vzájemně se ovlivňují. Sebelepší podmínky v okolí květu jsou k ničemu, jestliže se květ neotevře z důvodu nedostatečně vyvinutých korunních lístků, což může být zapříčiněno nedostatečným prodlužovacím růstem epidermálních buněk, který lze ovlivnit fytohormony.

Hlavním cílem této práce bylo shrnout, co je v současnosti známo o vlivu počasí na květ. Vzhledem ke specifčnosti vybraného tématu bylo občas potřeba vyhledat i starší práce. Na základě prostudovaných prací lze prohlásit, že působení vnějších faktorů na květy rostlin má často odlišné důsledky lišící se druh od druhu. V navazující práci zaměřené na tuto problematiku bude důležitou oblastí zájmu vliv vzdušné vlhkosti na květ a v této souvislosti i na samčí fitness, především pak otázka ztráty vody z prašníků během dehiscence. Dále bude pozornost zaměřena na zkoumání toho, jak by mohla být například produkce jasmonátů v prašníku regulována environmentálními faktory.

## 6. Literatura

Aloni R, Aloni E, Langhans M, Ullrich CI. 2006. Role of auxin in regulating *Arabidopsis* flower development. *Planta*; 223:315–328.

Anderson JT, Lee CR, Mitchell-Olds T. 2011. Life-history qtls and natural selection on flowering time in *boechera stricta*, a perennial relative of *Arabidopsis*. *Evolution* (NY); 65:771–787.

Balasubramanian S, Sureshkumar S, Lempe J, Weigel D. 2006. Potent induction of *Arabidopsis thaliana* flowering by elevated growth temperature. *PLoS Genet*; 2:0980–0989.

Benková E, Michniewicz M, Sauer M, Teichmann T, Seifertová D, Jürgens G, Friml J. 2003. Local, Efflux-Dependent Auxin Gradients as a Common Module for Plant Organ Formation. *Cell*; 115:591–602.

Bonner LJ, Dickinson HG. 1989. Anther dehiscence in *Lycopersicon esculentum* Mill. I. Structural aspects. *New Phytol*; 113:97–115.

\* Borner R, Kampmann G, Chandler J, Gleißner R, Wisman E, Apel K, Melzer S. 2000. A MADS domain gene involved in the transition to flowering in *Arabidopsis*. *Plant J*; 24:591–599.

Brioudes F, Joly C, Szécsi J, Varaud E, Leroux J, Bellvert F, Bertrand C, Bendahmane M. 2009. Jasmonate controls late development stages of petal growth in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*; 60:1070–1080.

Burck W. 1906. On the influence of the nectaries and other sugar-containing tissues in the flower on the opening of the anthers. *Proc R Netherlands Acad Arts Sci*; 9:390–396.

Cecchetti V, Altamura MM, Brunetti P, Petrocelli V, Falasca G, Ljung K, Costantino P, Cardarelli M. 2013. Auxin controls *Arabidopsis* anther dehiscence by regulating endothecium lignification and jasmonic acid biosynthesis. *Plant J*. 74:411–422.

Cecchetti V, Altamura MM, Falasca G, Costantino P, Cardarelli M. 2008. Auxin



Regulates *Arabidopsis* Anther Dehiscence, Pollen Maturation, and Filament Elongation. *Plant Cell*; 20:1760–1774.

Çelikel FG, van Doorn WG. 2012. Endogenous ethylene does not regulate opening of unstressed *Iris* flowers but strongly inhibits it in water-stressed flowers. *J Plant Physiol*; 169:1425–1429.

\* Cheng H, Qin L, Lee S, Fu X, Richards DE, Cao D, Luo D, Harberd NP, Peng J. 2004. Gibberellin regulates *Arabidopsis* floral development via suppression of DELLA protein function. *Development*; 131:1055–1064.

Cheng JZ, Zhou YP, Lv TX, Xie CP, Tian CE. 2017. Research progress on the autonomous flowering time pathway in *Arabidopsis*. *Physiol Mol Biol Plants*; 23:477–485.

Choi K, Kim J, Hwang H-J, Kim S, Park C, Kim SY, Lee I. 2011. The FRIGIDA Complex Activates Transcription of FLC, a Strong Flowering Repressor in *Arabidopsis*, by Recruiting Chromatin Modification Factors. *Plant Cell*; 23:289–303.

van Doorn WG, Dole I, Çelikel FG, Harkema H. 2013. Opening of *Iris* flowers is regulated by endogenous auxins. *J Plant Physiol*; 170:161–164.

van Doorn WG, Dole I, Çelikel FG, Harkema H. 2014. Opening of cut *Iris x hollandica* flowers as affected by temperature, dry storage, and light. *Postharvest Biol Technol*; 89:40–43.

van Doorn WG, Kamdee C. 2014. Flower opening and closure: An update. *J Exp Bot*; 65:5749–5757.

Ebine K, Uemura T, Nakano A, Ueda T. 2012. Flowering time modulation by a vacuolar SNARE via FLOWERING LOCUS C in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS One*; 7:1–8.

Fowler S, Lee K, Onouchi H, Samach A, Richardson K, Morris B, Coupland G, Putterill J. 1999. GIGANTEA: a circadian clock-controlled gene that regulates photoperiodic flowering in *Arabidopsis* and encodes a protein with several possible membrane-spanning domains. *EMBO J*; 18:4679–88.

Franks SJ, Sim S, Weis AE. 2007. Rapid evolution of flowering time by an annual plant in response to a climate fluctuation. *Proc Natl Acad Sci USA*; 104:1278–82.

Fry SC, Smith RC, Renwick KF, Martin DJ, Hodge SK, Matthews KJ. 1992. Xyloglucan endotransglycosylase, a new wall-loosening enzyme activity from plants. *Biochem J*; 282:821–828.

\* Gamer WW, Allard HA. 1920. Effects of the relative length of night and day and other factors of the environment on growth and reproduction in plants. *J Agric Res*. 18:553.

\* Goldberg RB. 1993. Anther Development: Basic Principles and Practical Applications. *Plant Cell*; 5:1217–1229.

Guo H, Yang H, Mockler TC, Lin C. 1998. Regulation of flowering time by *Arabidopsis* photoreceptors. *Science*; 279:1360–1363.

Halliday KJ, Davis SJ. 2016. Light-sensing phytochromes feel the heat. *Science*; 354:832–833.

Harada T, Torii Y, Morita S, Onodera R, Hara Y, Yokoyama R, Nishitani K, Satoh S. 2011. Cloning, characterization, and expression of xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase and expansin genes associated with petal growth and development during carnation flower opening. *J Exp Bot*; 62:815–823.

Hase A Von, Cowling RM, Ellis AG. 2006. Petal movement in cape wildflowers protects pollen from exposure to moisture. *Plant Ecol*; 184:75–87.

\* He Y, Amasino RM. 2005. Role of chromatin modification in flowering-time control. *Trends Plant Sci*; 10:30–35.

Ichimura K, Suto K. 1998. Environmental Factors Controlling Flower Opening and Closing in a *Portulaca* Hybrid. *Ann Bot*; 82:67–70.

Imsabai W, van Doorn WG. 2013. Effects of auxin, gibberellin, and cytokinin on petal

blackening and flower opening in cut lotus flowers (*Nelumbo nucifera*). *Postharvest Biol Technol*; 75:54–57.

Ishiguro S, Kawai-Oda A, Ueda J, Nishida I, Okada K. 2001. The DEFECTIVE IN ANTHER DEHISCENCE1 Gene Encodes a Novel Phospholipase A1 Catalyzing the Initial Step of Jasmonic Acid Biosynthesis, Which Synchronizes Pollen Maturation, Anther Dehiscence, and Flower Opening in *Arabidopsis*. *Plant Cell*; 13:2191–2209.

Johanson U, West J, Lister C, Michaels S, Amasino R, Dean C. 2000. Molecular Analysis of FRIGIDA, a Major Determinant of Natural Variation in *Arabidopsis* Flowering Time. *Science*; 290:344–347.

Jung JH, Domijan M, Klose C, Biswas S, Ezer D, Gao M, Khattak AK, Box MS, Charoensawan V, Cortijo S, et al. 2016. Phytochromes function as thermosensors in *Arabidopsis*. *Science*; 354:886–889.

\* Kaihara S, Takimoto A. 1981. Effects of Light and Temperature on Flower-opening. *Plant Cell Physiol*; 22:215–221.

Keijzer CJ. 1987. THE PROCESSES OF ANTHER DEHISCENCE AND POLLEN DISPERSAL: I. THE OPENING MECHANISM OF LONGITUDINALLY DEHISCING ANTHERS. *New Phytol*; 105:487–498.

Kim SY, Park BS, Kwon SJ, Kim J, Lim MH, Park YD, Kim DY, Suh SC, Jin YM, Ahn JH, Lee YH. 2007. Delayed flowering time in *Arabidopsis* and *Brassica rapa* by the overexpression of FLOWERING LOCUS C (FLC) homologs isolated from Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*). *Plant Cell Rep*; 26:327–336.

Kobayasi K, Matsui T, Yoshimoto M, Hasegawa T. 2010. Effects of Temperature, Solar Radiation, and Vapor-Pressure Deficit on Flower Opening Time in Rice. *Plant Prod Sci*; 13:21–28.

Lee I, Amasino RM. 1995. Effect of Vernalization, Photoperiod, and Light Quality on the Flowering Phenotype of *Arabidopsis* Plants Containing the FRIGIDA Gene. *Plant Physiol*; 108:157–162.

Legris M, Klose C, Burgie ES, Rojas CC, Neme M, Hiltbrunner A, Wigge PA, Schäfer E, Vierstra RD, Casal JJ. 2016. Phytochrome B integrates light and temperature signals in *Arabidopsis*. *Science*; 354:897–900.

\* Luo J, Ma N, Pei H, Chen J, Li J, Gao J. 2013. A DELLA gene, RhGAI1, is a direct target of EIN3 and mediates ethylene-regulated rose petal cell expansion via repressing the expression of RhCesA2. *J Exp Bot*; 64:5075–84.

Matsui T, Omasa K, Horie T. 1999a. Mechanism of anther dehiscence in rice (*Oryza sativa* L.). *Ann Bot*; 84:501–506.

Matsui T, Omasa K, Horie T. 1999b. Rapid swelling of pollen grains in response to floret opening unfolds anther locules in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Prod Sci*; 2:196–199.

Michaels SD, Amasino RM. 1999. FLOWERING LOCUS C Encodes a Novel MADS Domain Protein That Acts as a Repressor of Flowering. *Plant Cell*; 11:949–956.

Michaels SD, Amasino RM. 2001. Loss of FLOWERING LOCUS C activity eliminates the late-flowering phenotype of FRIGIDA and autonomous pathway mutations but not responsiveness to vernalization. *Plant Cell*; 13:935–41.

\* Murray F, Kalla R, Jacobsen J, Gubler F. 2003. A role for HvGAMYB in anther development. *Plant J*; 33:481–491.

Norikoshi R, Imanishi H, Ichimura K. 2013. Changes in Cell Number, Osmotic Potential and Concentrations of Carbohydrates and Inorganic Ions in *Tweedia caerulea* during Flower Opening. *J Japanese Soc Hortic Sci*; 82:51–56.

Norikoshi R, Shibata T, Ichimura K. 2016. Cell Division and Expansion in Petals during Flower Development and Opening in *Eustoma grandiflorum*. *Hortic J*; 85:154–160.

Ochiai M, Matsumoto S, Maesaka M, Yamada K. 2013a. Expression of mRNAs and Proteins Associated with Cell-wall-loosening during *Eustoma* Flower Opening. *J Japanese Soc Hortic Sci*; 82:154–160.

Ochiai M, Matsumoto S, Yamada K. 2013b. Methyl jasmonate treatment promotes flower opening of cut *Eustoma* by inducing cell wall loosening proteins in petals. *Postharvest Biol Technol*; 82:1–5.

Ogawara T, Higashi K, Kamada H, Ezura H. 2003. Ethylene advances the transition from vegetative growth to flowering in *Arabidopsis thaliana*. *J Plant Physiol*; 160:1335–1340.

Putterill J, Robson F, Lee K, Simon R, Coupland G. 1995. The *CONSTANS* gene of *Arabidopsis* promotes flowering and encodes a protein showing similarities to zinc finger transcription factors. *Cell*; 80:847–857.

Rieu I, Wolters-Arts M, Derksen J, Mariani C, Weterings K. 2003. Ethylene regulates the timing of anther dehiscence in tobacco. *Planta*; 217:131–137.

Schaffer R, Ramsay N, Samach A, Corden S, Putterill J, Carré IA, Coupland G. 1998. The late elongated hypocotyl mutation of *Arabidopsis* disrupts Circadian Rhythms and the Photoperiodic Control of Flowering. *Cell*; 93:1219–1229.

\* Schmid R, Alpert PH. 1977. A TEST OF BURCK'S HYPOTHESIS RELATING ANTHER DEHISCENCE TO NECTAR SECRETION. *New Phytol*; 78:487–498.

Seo E, Lee H, Jeon J, Park H, Kim J, Noh Y-S, Lee I. 2009. Crosstalk between Cold Response and Flowering in *Arabidopsis* Is Mediated through the Flowering-Time Gene *SOC1* and Its Upstream Negative Regulator *FLC*. *Plant Cell*; 21:3185–3197.

Sheldon CC, Rouse DT, Finnegan EJ, Peacock WJ, Dennis ES. 2000. The molecular basis of vernalization: The central role of *FLOWERING LOCUS C* (*FLC*). *Proc Natl Acad Sci*; 97:3753–3758.

Shinozaki Y, Tanaka R, Ono H, Ogiwara I, Kanekatsu M, van Doorn WG, Yamada T. 2014. Length of the dark period affects flower opening and the expression of circadian-clock associated genes as well as xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase genes in petals of morning glory (*Ipomoea nil*). *Plant Cell Rep*; 33:1121–1131.

\* Shirakawa M, Ueda H, Shimada T, Nishiyama C, Hara-Nishimura I. 2009. Vacuolar

SNAREs function in the formation of the leaf vascular network by regulating auxin distribution. *Plant Cell Physiol*; 50:1319–1328.

\* Stadler R, Truernit E, Gahrtz M, Sauer N. 1999. The AtSUC1 sucrose carrier may represent the osmotic driving force for anther dehiscence and pollen tube growth in *Arabidopsis*. *Plant J*; 19:269–278.

Sui S, Luo J, Liu D, Ma J, Men W, Fan L, Bai Y, Li M. 2015. Effects of hormone treatments on cut flower opening and senescence in wintersweet (*Chimonanthus praecox*). *HortScience*; 50:1365–1369.

Tian X, Matsui T, Li S, Yoshimoto M, Kobayasi K, Hasegawa T. 2010. Heat-induced floret sterility of hybrid rice (*Oryza sativa* L.) cultivars under humid and low wind conditions in the field of Jiangnan Basin, China. *Plant Prod Sci*; 13:243–251.

Valverde F, Mouradov A, Soppe W, Ravenscroft D, Samach A, Coupland G. 2004. Photoreceptor Regulation of CONSTANS Protein in Photoperiodic Flowering. *Science*; 303:1003–1006.

Vigh L, Maresca B, Harwood JL. 1998. Does the membrane's physical state control the expression of heat shock and other genes? *Trends Biochem Sci*; 23:369–374.

Wang DK, Sun GF, Wang LF, Zhai S, Cen XJ. 2009. A novel mechanism controls anther opening and closing in *Paris polyphylla* var. *Yunnanensis*. *Chinese Sci Bull*; 54:244–248.

Wang ZY, Tobin EM. 1998. Constitutive expression of the CIRCADIAN CLOCK ASSOCIATED 1 (CCA1) gene disrupts circadian rhythms and suppresses its own expression. *Cell*; 93:1207–1217.

Wildes A, Theodorakopoulos N, Valle-Orero J, Cuesta-López S, Garden JL, Peyrard M. 2011. Thermal denaturation of DNA studied with neutron scattering. *Phys Rev Lett*; 106:1–4.

Wilson ZA, Song J, Taylor B, Yang C. 2011. The final split: The regulation of anther dehiscence. *J Exp Bot*; 62:1633–1649.

Yamada K, Norikoshi R, Suzuki K, Nishijima T, Imanishi H, Ichimura K. 2009. Cell Division and Expansion Growth during Rose Petal Development. J Japanese Soc Hortic Sci; 78:356–362.

Zhu JY, Oh E, Wang T, Wang ZY. 2016. TOC1-PIF4 interaction mediates the circadian gating of thermoresponsive growth in *Arabidopsis*. Nat Commun; 7:1–10.

---

\* sekundární citace