

## ZÁVĚRY

- I. Expresí *ipt* genu pro biosyntézu cytokininů pod senescenčně-specifickým *SAG12* promotorem byla u transgenních rostlin pěstovaných v živném roztoku se sníženou koncentrací nitrátu zpomalena senescence listů, zvýšen obsah bioaktivních cytokininů v listech, jakož i příjem nitrátu a aktivita nitrátreduktázy. Transgenní rostliny se však neodlišovaly od rostlin kontrolních v počtu a hmotnosti zrna pravděpodobně v důsledku zpomalení recyklace živin a metabolitů z listů do vyvíjejících se zrn. To je zřejmě v rozporu se strategií striktně monokarpických obilovin, která spočívá v rychlém přesunu látek do generativních sinků krátce po opylení.
- II. V reakci na časté vágní konstatování že fyziologické účinky cytokininů jsou závislé na genotypu a na různých interních faktorech jsme sledovali účinnost jednoho aromatického (3OHBAR) jednoho isoprenoidního (t-ZR) cytokininu na retenci chlorofylu v oddělných listových úsecích ovsa a pšenice. Účinnost obou cytokininů byla různá když byly aplikovány lokálně nebo na celý adaxilární povrch listového úseku. Listové úseky ovsa a pšenice vykazovaly různou rychlost příjmu [<sup>3</sup>H]t-ZR a [<sup>3</sup>H]3OHBAR, která byla velmi vysoká u pšenice a nižší, ale dlouhodobě se zvyšující u ovsa. Listové úseky obou druhů se rovněž lišily v metabolismu aplikovaného t-ZR, který byl v ovsu rychleji metabolisován na dihydrozeatin O-glukosid zatímco v pšenici převažovala jeho inaktivace konverzí na t-Z N9-glukosid. Isoprenoidní t-ZR více než 3OHBAR zvyšoval aktivitu cytokinin oxidázy/dehydrogenázy, kterou oba cytokininu více stimulovaly v listových úsecích ovsa než pšenice. Rozdíly v aktivitách obou cytokininů byly minimalizovány při jejich pulzní aplikaci a následně inkubaci listových úseků ve vodě.
- III. Xylémová šťáva z kořenů ovsa získaná po oddělení nadzemní části rostliny vykazuje aktivitu CKX, která je svázána s neglykosylovanou formou enzymu. Optimální pH pro aktivitu enzymu (8,5) je mnohem vyšší než pH xylémového exudátu z kořenů (6,1). Svědčí to o možném potlačení degradace cytokininů působením CKX během jejich společného transportu xylémovým tokem do nadzemní části rostliny. Publikovaná alkalizace xylémového exudátu v apoplastu listu a její zvýšení v reakci na nitrát a dostupnost vody může vytvářet vhodné podmínky pro metabolickou degradaci současně transportovaných cytokininů v listech a tím i pro snižování poměru cytokinin/ABA v místech s vysokou transpirací.
- IV. Současné stanovení aktivit CKX a ZRED v listech hrachu umožnilo srovnání uplatnění obou enzymů při regulaci hladin cytokininů a umožnilo nový pohled na regulaci hormonální homeostáze v rostlinách. Charakterizace CKX potvrdila existenci neglykosylované isoformy enzymu v listech hrachu a její relativně vysoké pH optimum (8,5). Přítomnost neglykosylované a/nebo velmi málo glycosylované isoformy CKX v rostlinách je poměrně neobvyklá a její zjištění v hrachu upozorňuje na možnost jejího obecnějšího výskytu v rostlinách, stejně jako na jejich potenciální uplatnění v některých genotypch luštěnin. Také detekce aktivity ZRED v listech jako vegetativních orgánech hrachu je nová. Dosud byla aktivita ZRED zjištěna pouze v embryích, (generativním orgánu) fazolu. Ačkoliv poměr ZRED a CKX aktivity kolísal, je zřejmý úzký vztah mezi konverzí cytokininů zeatinového typu katalyzovanou ZRED a degradací cytokininů působením CKX. Skutečnost, že ZRED katalyzuje konverzi cytokininů na formy, které nejsou substrátem pro CKX umocňuje potenciální roli ZRED v regulaci homeostáze cytokininů.
- V. V části práce věnované metodikám analýzy cytokininů bylo zjištěno, že modifikovaný extrakční roztok Bielského, ve srovnání s ostatními testovanými roztoky, významně potlačoval defosforylaci ribotidů a redukoval extrakci sloučenin snižujících relativní odpovědi vnitřních standardů (RISR) testovaných deuterovaných cytokininů. Čištění cytokininů pomocí extrakce na pevné fázi spojené s chromatografií na dvojfunkčním sorbentu se ukázalo jako vysoce účinné při odstraňování kontaminantů z extraktů vykazujících vysoké hodnoty RISR.