

4



5



6



7

Tereza Kozáková

## Interakce modrého světla a hormonu auxinu v růstu rostlin

Růst rostlin je proces, který ovlivňují vnější i vnitřní faktory. Z vnějších např. světlo, teplota a vlhkost, z vnitřních hormony (např. Živa 2001, 3: 105–106; 2007, 1 a 2; 2017, 4: 149–152), metabolismus či genetická informace. Poznatky o možnosti zásahu do přirozeného růstu rostlin, jinými slovy o využití těchto faktorů, se uplatňují v praxi např. v zemědělství. Interakce mezi světlem a hormony je již dlouho známa, ale na molekulární úrovni není zcela pochopena. Na tuto interakci jsme se proto zaměřili v mé středoškolské práci v rámci projektu Badatel (2015–16, viz rozhovor na str. XCVI–XCVII kuléru) zaštitěným Přírodovědeckou fakultou Univerzity Palackého v Olomouci a vypracovaném pod vedením prof. Martina Fellnera z Laboratoře růstových regulátorů téže univerzity.

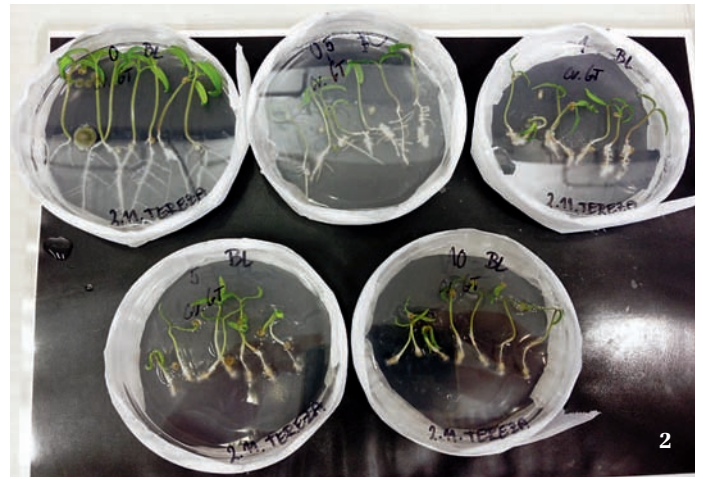
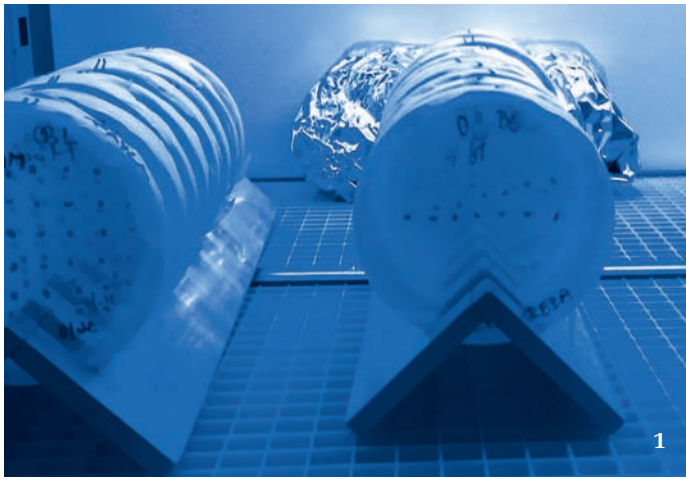
Je známo, že určité části světelného spektra ovlivňují růst rostlin více než jiné. Záleží na vlnové délce – čím kratší délka, tím vyšší energii světlo má a tím vykazuje i mírně větší vliv na rostlinu. Navíc u mod-

rého světla (vlnová délka 430–500 nm) je známo, že podporuje vegetativní růst rostliny, červené (625–800 nm) také, ale to se uplatňuje více u kvetení. Vybrali jsme si právě tyto dvě složky – modré a červené

světlo – a zkoumali jejich vliv na účinky fytohormonů auxinů regulujících rostlinný růst (blíže v Živě 2007, 1: 8–12 a 2013, 3: 102–104). Během experimentů jsme používali syntetický auxin 2,4-D, který má podobné účinky jako přirozené auxiny. Cílem pokusu bylo zjistit, jak je citlivost hypokotylu (prvního stonkového, poddélnoho článku rostliny) k externímu auxinu 2,4-D ovlivňovaná světlem, a dále jaká je role fytochromu B1 (receptoru červeného záření) v citlivosti rostlin k tomuto auxinu.

Syntetický auxin 2,4-D, chemicky kyselina 2,4-dichlorfenoxycetová, se v rostlině stejně jako jiné auxiny váže na auxinové receptory a spouští mechanismy vedoucí ke změně růstu – u celistvých (intaktních) rostlin konkrétně k inhibici (omezení) růstu. Tato vlastnost nezůstala bez povšimnutí a začal se proto používat jako herbicid (byl dokonce součástí směsi, kterou použila armáda USA během války ve Vietnamu, rozprašován pro zničení husté vegetace, tedy pro zpřístupnění terénu).

Experiment zahrnoval dva odlišné genotypy rostliny rajčete (*Solanum lycopersicum*) – kultivar GT jako kontrolní genotyp a mutantu *tri1* (*transient red light insensitive 1*), který nese mutaci v genu kódujícím apoprotein (ještě nefunkční bílkovinu, stane se aktivní až po navázání potřebné protestetické, nebilkovinné skupiny) fotoreceptoru fytochromu B1. Mutant *tri1* má proto nefunkční fotoreceptor fytochrom B1 pro



červené světlo projevující se sníženou citlivostí rostliny k této části spektra. Cílem experimentů bylo zjistit, zda světlo ovlivňuje citlivost hypocotylu k auxinu 2,4-D a jakou úlohu v tomto procesu hraje fotoceptor fytochrom B1.

### Od semen k výsledkům

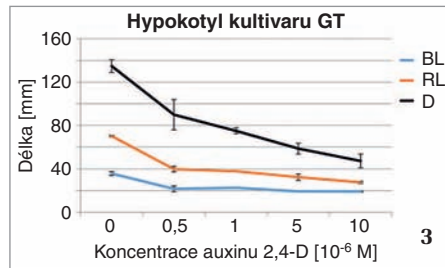
Experimentální část práce se uskutečnila v prostorách Laboratoře růstových regulatorů, která je společným pracovištěm Přírodovědecké fakulty UP a Ústavu experimentální botaniky AV ČR. Pokusům předcházela příprava média (živné půdy) označovaného MS (Murashige a Skoog 1962). Na médium bylo v prvním kroku ve sterilních podmínkách laminárního boxu neboli flowboxu vyseto 300 povrchově sterilizovaných semen od každého z pokusných genotypů rajčete. Semena klíčela bez přístupu světla – misky obalené v alobalu jsem uložila do automatické kultivační komory s nastavenou teplotou 23 °C.

V druhé fázi jsme připravili médium o pěti různých koncentracích auxinu 2,4-D – 0; 0,5; 1; 5 a 10  $\mu\text{mol/l}$ . Pro každou koncentraci bylo nachystáno 6 misek po 20 ml – tři pro každý genotyp, a každá pak pro jedno ze tří odlišných světelných prostředí (viz dále). Na misky s médiem o různých koncentracích auxinu jsem nanasla naklíčená semínka obou genotypů. Misky jsme rozdělili do tří skupin pro každý genotyp (jedna od každé koncentrace) – pro růst ve tmě (označena D, podle anglického darkness), v modrém světle (BL, blue light; obr. 1) a pro růst v červeném světle (RL, red light). Rostliny byly poté inkubovány 7 dní při teplotě 23 °C v růstové kultivační komoře s příslušným světelným režimem, misky skupiny D jsem opět obalila alobalem, aby k nim neproniklo světlo.

V poslední fázi pokusu byly všechny týden pěstované rostliny (obr. 2) přeneseny na černý papír, abychom je mohli snadněji pozorovat, a u každé jsem pravítkem změřila délku hypocotylu a kořene, s přesností na 1 mm. Průměry naměřených hodnot délek z jednotlivých koncentrací pro dané světlo byly zaneseny do grafu. Celý experiment byl zopakován třikrát během necelých dvou měsíců.

### Tlumí světlo vliv exogenního auxinu?

U hypocotylu kontrolního genotypu GT působení červeného světla (RL) vyvolalo zhruba 50% zkrácení hypocotylu (obr. 3), což je zřejmé z toho, že červená křivka do-



1 Semena rajčete (*Solanum lycopersicum*) přenesená na médium s auxinem a inkubovaná v kultivační komoře s modrým světlem

2 Rostliny rajčete kultivaru zvaného GT po 7denní kultivaci v modrém světle

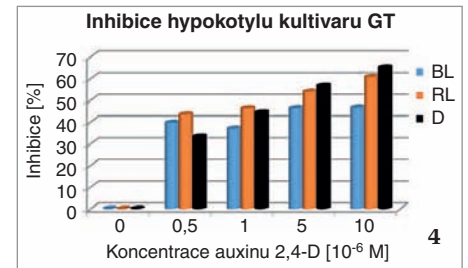
3 Výsledné délky hypocotylu kultivaru GT v závislosti na koncentraci přidaného auxinu 2,4-D. Bližší v textu

4 Vypočítaná inhibice růstu hypocotylu kultivaru GT v závislosti na koncentraci auxinu a světelných podmínkách. Hodnoty říkají, o kolik % je rostlina rostoucí při určité koncentraci auxinu kratší ve srovnání s rostlinou na médiu bez auxinu. Snímky a orig. T. Kozáková

sahuje přibližně polovičních hodnot černé křivky. Modré světlo pak omezovalo prodloužení hypocotylu více. Dále se ukázalo, že ve tmě auxin 2,4-D inhibuje prodloužení hypocotylu rajčete kultivaru GT, a to úměrně zvyšující se koncentraci. Vliv tohoto auxinu se ale lišil v závislosti na světelném prostředí. Vezměme si pro znázornění hodnoty při nejvyšší použité koncentraci (10  $\mu\text{M}$ ). Když se podíváme na poměr délky rostlin rostoucích bez vlivu auxinu a těch, na které jsme použili nejvyšší koncentraci, auxin nejvíce inhiboval rostliny ve tmě (asi 60% inhibice), dále pak v červeném světle (ca 50%) a nejmenší vliv měl v modrém světle (přibližně 40%).

Lepší porovnání výsledků umožňuje graf na obr. 4, který znázorňuje inhibiční účinek auxinu 2,4-D v jednotlivých koncentracích na prodloužení hypocotylu rostlin při zvolených světelných podmínkách. Vlivem světla dochází ke snížení citlivosti hypocotylu vůči exogennímu auxinu 2,4-D.

Abychom zjistili, zda vliv světla na citlivost hypocotylu k auxinu 2,4-D může být zprostředkovan fytochromem B1, použila jsem mutanta *tri1* s defektním fotoreceptorem fytochromu B1 (*phyB1*). Postupovala jsem stejně jako u kultivaru GT a podle pozorování rostliny *tri1* červené světlo



skutečně nevnímají – toto světlo totiž růst jejich hypocotylů výrazně neovlivňovalo. Citlivost k modrému světle si ale uchovály, jen se ukázalo, že inhibice růstu byla nižší (55%) než u kultivaru GT (70%). „Porucha“ receptoru červeného světla má tedy vliv i na vnímání modrého světla. Mimo jiné se zde opět potvrdilo, že auxin 2,4-D inhibuje růst hypocotylu. Ze získaných výsledků se dá obecně říci, že citlivost rostlin *tri1* k auxinu byla na modrém i červeném světle vyšší než u těch ve tmě.

Potvrdili jsme, že syntetický auxin 2,4-D zamezuje prodloužovacímu růstu intaktních rostlin. Novým výsledkem je, že světlo snižuje reakci hypocotylu k inhibičním účinkům exogenního auxinu. Kromě těchto hlavních výsledků byl potvrzen vliv světla na růst kořene, a to, že světlo tento růst podporuje.

### Otázky do budoucna

Na základě uvedených výsledků se otevírají možnosti pro další experimenty v této oblasti. Jednou z otázek, na niž by se dalo zaměřit, jsou mechanismy, kterými k inhibici růstu hypocotylu vlivem auxinu 2,4-D dochází. Touto problematikou se zabývala nedávno publikovaná práce Ludka Eyer a kol. (2016).

Dalším předmětem ke zkoumání je samotné působení světla. V tomto směru by se dalo pracovat na objasnění, zda světlo omezuje vazbu auxinů na jejich receptory nebo zda má např. přímý vliv na koncentraci auxinů v rostlině či na jejich transport.

V neposlední řadě se nabízí otázka, jaké mohou mít výsledky praktické využití? Výsledky experimentů pomohou odhalit, jak fyziologické procesy v rostlinách probíhají, a to i na molekulární úrovni. Detailní poznání těchto mechanismů dovoluje stále lépe porozumět životu rostlin a tyto poznatky pak prospěšně využít.

Použitou literaturu uvádíme na webových stránkách Živý.