

MASARYKOVA UNIVERZITA
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
ÚSTAV EXPERIMENTÁLNÍ BIOLOGIE



**Interakce fytohormonů a zvýšené teploty
v regulaci růstu rostlin**

Bakalářská práce

Jana Zemánková

Vedoucí práce: prof. Ing. Miloš Barták, CSc.

Konzultant práce: Mgr. Jan Novák, Ph.D.

Brno 2018

Bibliografický záznam

Autor: Jana Zemánková
Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita
Ústav experimentální biologie

Název práce: Interakce fytohormonů a zvýšené teploty v regulaci růstu rostlin

Studijní program: Experimentální biologie

Studijní obor: Speciální biologie, směr Experimentální biologie rostlin

Vedoucí práce: prof. Ing. Miloš Barták, CSc.

Konzultant práce: Mgr. Jan Novák, Ph.D.

Akademický rok: 2017/2018

Počet stran: 57

Klíčová slova: fytohormony, teplota, termomorfogeneze

Bibliographic entry

Author: Jana Zemánková
Faculty of Science, Masaryk University
Department of Experimental Biology

Title of Thesis: Interaction of the phytohormones and elevated temperature on plant growth regulation

Degree Programme: Experimental Biology

Field of Study: Special biology, Experimental Plant Biology

Supervisor: prof. Ing. Miloš Barták, CSc.

Academic Year: 2017/2018

Number of pages: 57

Keywords: phytohormones, temperature, thermomorphogenesis

Abstrakt

Teplota je jedním z hlavních abiotických faktorů, které na rostliny působí. Přináší rostlinám informace o okolních podmínkách a zároveň ovlivňuje jejich fyziologické procesy, růst a vývoj. Morfologické změny způsobené zvýšenou teplotou nazýváme termínem termomorfogeneze. Termomorfogeneze je řízena jak přímým působením teploty tak fytohormony, jejichž hladina je regulována teplotou. Fytohormony mohou v rámci regulace termomorfogeneze společně interagovat a tvořit složitější mechanismy. Jedním z nejvýznamnějších mechanismů je BAP/D modul, který propojuje fytohormony auxiny, brassinosteroidy, gibbereliny a transkripční faktor PIF4, který je také velmi důležitým prvkem v odpovědi na zvýšenou teplotu. Kromě BAP/D modulu existují i další mechanismy a interakce, které nejsou blíže prozkoumány. Odhalení těchto molekulárních mechanismů nám může pomoci lépe porozumět tomu, jak rostliny fungují při zvýšené teplotě. Tyto poznatky jsou v souvislosti s globálním oteplováním velmi důležité, jelikož dlouhodobé působení teploty způsobuje snižování výnosů zemědělských plodin. Na základě informací o fungování rostlin při zvýšené teplotě můžeme pomocí šlechtitelských procesů a genetického inženýrství zvýšit výnosy plodin. Tato práce shrnuje dosavadní poznatky o působení teploty na rostliny a mechanismy, kterými rostliny regulují růst a vývoj při zvýšené teplotě.

Abstract

Temperature is one of the main abiotic factors affecting plants. It provides informations about environmental conditions and also has direct impact on their physiological processes, growth and development. Elevated temperature induce specific morphological changes that we call thermomorphogenesis. Thermomorphogenesis is controlled by direct influence of the temperature and also by phytohormones whose levels and signaling is controlled by temperature. Phytohormone signaling can mutually interact and form complicated mechanisms in regulations of the response to increased temperature. One of the most important mechanism is BAP/D modul which connects phytohormones auxins, brassinosteroids, gibberellins and transcription factor PIF4 which is also very important element in the response to elevated temperature. Uncovering the molecular mechanisms driving plant responses to temperature can help us to improve yield of the important agricultural crops. This knowledge is important in

the context of global warming because long-term increase in temperature causes a decline in the crop yields. This work summarizes current knowledge about effect of temperature on the plants and mechanisms by which plants regulate growth and development at increased ambient temperature.



MASARYKOVA UNIVERZITA
Přírodovědecká fakulta

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Akademický rok: 2016/2017

Ústav: Ústav experimentální biologie
Studentka: Jana Zemánková
Program: Experimentální biologie
Obor: Speciální biologie
Směr: Experimentální biologie rostlin

Ředitel Ústavu experimentální biologie PřF MU Vám ve smyslu Studijního a zkušebního řádu MU určuje bakalářskou práci s názvem:

Název práce: Interakce fytohormonů a zvýšené teploty v regulaci růstu rostlin

Název práce anglicky: Interaction of phytohormones and elevated temperature on plant growth regulation

Oficiální zadání:

Zásady pro vypracování: 1. Bakalářská práce bude literárním přehledem poznatků o interakci fytohormonů a zvýšené teploty v regulaci růstu rostlin. V první části práce bude popsán obecný vliv zvýšené teploty na hladiny hormonů a jejich signalizaci. Další část, pak bude zaměřena na interakci fytohormonů a zvýšené teploty v regulaci růstu rostlin ve vegetativní fázi. 2. Student, -ka bude využívat doporučenou literaturu a dále bude vyhledávat a čerpat z aktuální odborné literatury vztahující k danému tématu. 3. Práci bude student, -ka vypracovávat a dávat k náhledu při pravidelných konzultacích, na kterých bude plánován další postup pro dokončení práce. Vedoucím práce je prof. M. Barták (OFAR PřF MU Brno) Konzultantem práce je Mgr. Jan Novák (ÚMBR, Mendelova univerzita, Brno) Doporučená literatura: 1. DAVIES P J. Plant hormones : biosynthesis, signal transduction, action!. 3. vyd. Dordrecht: Springer, 2004. 16 s. ISBN 978-1-4020-2684-3. 2. TORII K. The Arabidopsis Book. [online]. 2016. URL: <http://www.arabidopsisbook.org>. 3. FRANKLIN K, Wigge P. Temperature and Plant Development 1. Vyd. Wiley-Blackwell, 2014. 240 s ISBN: 978-1-118-30820-2 4. ZEIGER E, MOLLER I, TAIZ L. Plant physiology and development. Massachusetts: Sinauer Associates: 6. vyd. Sunderland, 2015. 761 s. ISBN 978-1-60535-255-8. 5. PROCHÁZKA S, KREKULE J, MACHÁČKOVÁ I. Fyziologie rostlin. Academia , 1998. 484 s. ISBN 80-200-0586-2.

Jazyk závěrečné práce: čeština

Vedoucí práce: prof. Ing. Miloš Barták, CSc.

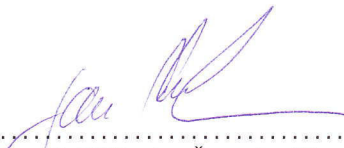
Datum zadání práce: 15. 11. 2016

V Brně dne: 9. 12. 2016

Souhlasím se zadáním (podpis, datum):


.....
Jana Zemánková
studentka


.....
prof. Ing. Miloš Barták, CSc.
vedoucí práce


.....
prof. RNDr. Jan Šmarda, CSc.
ředitel Ústavu experimentální
biologie

Poděkování

Ráda bych poděkovala mému vedoucímu práce panu prof. Ing. Miloši Bartákovi, CSc. za odborné vedení mé práce a panu Mgr. Janu Novákovi, Ph.D. za cenné rady, připomínky a pomoc při vypracování práce. V neposlední řadě bych ráda poděkovala mému partnerovi, rodině a přátelům, kteří mi byli a vždy jsou oporou.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem svoji bakalářskou práci vypracovala samostatně s využitím informačních zdrojů, které jsou v práci citovány

Brno 10.5. 2018

.....

Jana Zemánková

Obsah

Seznam použitých zkratek	10
1. Cíl	11
2. Úvod	12
3. Regulátory odezvy rostlin na zvýšenou teplotu	13
3.1. Auxiny	14
3.1.1. Biosyntéza auxinů	14
3.1.2. Signální dráhy auxinů	16
3.2. Brassinosteroidy	18
3.2.1. Biosyntéza brassinosteroidů	18
3.2.2. Signální dráhy brassinosteroidů	20
3.3. Gibereliny	23
3.3.1. Biosyntéza giberelinů	23
3.3.2. Signální dráhy giberelinů	25
4. Teplota	27
4.1. Termomorfogeneze	29
4.2. PIF4	30
5. Vliv zvýšené teploty na hladinu rostlinných hormonů a jejich signalizaci	33
5.1. Interakce zvýšené teploty a auxinů	33
5.2. Interakce zvýšené teploty a brassinosteroidů	34
5.3. Interakce zvýšené teploty a giberelinů	35

6. Interakce fytohormonů, transkripčních faktorů a teploty v regulaci růstu ve vegetativní fázi	37
6.1. Termomorfogenní projev: prodlužování hypokotylu	37
6.1.1. BAP/D modul	37
6.1.2. HLH/bHLH	40
6.2. Termomorfogenní projev: prodlužování kořene	42
7. Závěr	43
Seznam použité literatury	45

Seznam použitých zkratk

- ARF – faktor odpovědi auxinů – auxine response factor
- AUX – auxiny - auxine
- Aux/IAA – auxin/indol-3-acetonová kyselina - auxin/indole-3-acetic acid
- BAK1 – BRI1 asociovaný kinázový receptor - BRI1-associated receptor kinase
- BAP/D modul – BZR1, ARF6, PIF4 / DELLA
- BES1 – BRI1-EMS supresor 1 - BRI1-EMS supressor 1
- BIN2 – necitlivý k brassinosteroidům – brassinosteroid insensitive 2
- BK1 – inhibitor kinázy BRI1 - BRI1 kinase inhibitor 1
- BKS – signální kináza brassinosteroidů - BR-signaling kinases
- BL – brassinolid
- BR – brassinosteroidy - brassinosteroids
- BRI1 – necitlivý k brassinosteroidům 1 - brassinosteroid insensitive 1
- BSU1 – supresor BRI 1 - BRI suppressor 1
- BZR1 – rezistentní k brassinolidu 1 - brassinol-resistant1
- CDD – CUL4-DDB1^{COP10-DET1}
- COP – konstitutivní fotomormogeneze - constitutive photomorphogenic
- CYP79B – cytochrom P450 z rodiny 79B - CYTOCHROME P450 FAMILY 79B
- DET1 – de-etiolované 1 - de-etiolated 1
- ELF – brzy kvetoucí - early flowering
- GA – gibereliny – gibberellins
- GGDP – geranyl-geranyl difosfát – geranyl-geranyl diphosphate
- GID1 – necitlivý ke giberelinům DWARF1 - gibberellin insensitive DWARF1
- HY5 – dlouhý hypokotyl 5 - long hypocotyl 5
- IAA – kyselina indol-3-octová – indole-3-acetic acid
- IPA – indol-3-pyrohroznová kyselina - indole-3-pyruvic acid
- PIF – faktor interagující s fytochromem - phytochrome interacting factor
- PRE – rezistentní k paklobutrazolu - paclobutrazol resistant
- SAUR – malá nadregulovaná auxinová ribonukleonová kyselina - small auxin up RNA
- TIR1/AFB – inhibitor odpovědi na transport 1/ auxinový signální protein F-boxu - transport inhibitor response 1/auxin signaling f-box protein

1. Cíl

Vzhledem k přisedlému způsobu života většiny terestrických rostlin se musí rostliny v lokalitě svého růstu vyrovnávat se všemi biotickými a abiotickými vnějšími vlivy, které na ně působí. Mezi nejvýznamnější fyzikální faktory vnějšího prostředí patří zejména sluneční záření a okolní teplota. Zvýšená či snížená teplota má na rostliny různý vliv, moduluje důležité procesy v životním cyklu rostlin od klíčení, zakládání vegetativních a generativních orgánů, kvetení, tvorby plodů až po opad listů a odumření rostliny. Teplota nereguluje jen tyto procesy, ale má vliv i na rostlinné hormony. Zasahuje do jejich biosyntézy a signalizace. Rostlinné hormony se podílí na regulaci růstu rostlin a mimo jiné i na odpovědi rostlin na změny teploty prostředí, ve kterém rostou.

Tato bakalářská práce si klade za cíl shrnout současné poznání o vzájemných interakcích mezi teplotou jako externím faktorem a fytohormony v regulaci růstu a vývoje rostliny *Arabidopsis thaliana*. Formou literární rešerše je popsán vliv teploty na růst rostlin a její působení na biosyntézu a signalizaci fytohormonů, která je nastíněna v úvodní části práce. Práce se také zaměřuje na působení teploty a hormonů při růstu vegetativních částí rostlin.

2. Úvod

Jedním z nejdiskutovanějších světových témat dnešní doby je globální oteplování. Stěžejní je rychlost nárůstu průměrné teploty a dopady teplotních změn na životní prostředí. Za posledních sto let bylo zaznamenáno deset nejteplejších roků v posledních dvou dekadách. Zvyšující se průměrná teplota pomalu mění klima v jednotlivých částech naší planety, což vede k tání ledovců a tím i zvyšování se mořských hladin, odlišné salinitě vody, vysychání oblastí poblíž rovníkového pásu a mnoho dalších změn, které vedou mimo jiné k celkové změně skladby flory a fauny (zpráva IPCC, <http://www.ipcc.ch/report/ar5/wg1/>).

Rostliny i živočichové jsou nuceny nějakým způsobem reagovat na klimatické změny, jinak by mohly uhynout. Zvířata mají oproti rostlinám výhodu v tom, že mohou jednoduše utéct, změnit cílové lokality své migrace či začít migrovat. Rostliny jakožto většinou přisedlé organismy mají úlohu mnohem těžší. Vzhledem k jejich omezené schopnosti se pohybovat a tím pádem neschopnosti úkrytu před nepříznivými podmínkami, musí rostliny plasticky reagovat změnami nejen uvnitř svého vlastního rostlinného těla regulací fyziologických procesů, ale i změnami v morfologii a růstu.

Teplota je jeden z nejvýznamnějších abiotických vnějších vlivů, která trvale na rostliny působí. Při mírných výkyvech může teplota působit na rostliny pozitivně, avšak větší a náhlé výkyvy mohou způsobit u rostlin stres a indukují adaptační procesy. Se zvýšením průměrné teploty se pojí termín termomorfogeneze, což je soubor morfologických změn v rostlinném těle vyvolaných teplotou. Těmito změnami se rostliny přizpůsobují podmínkám s vyšší teplotou, aby se vyhnuly možným negativním působením zvýšené teploty (Quint *et al.*, 2006).

Působením globálního oteplování však celosvětově dochází ke snížení výnosů zemědělských plodin (Challinor *et al.*, 2014). Tato skutečnost přináší další světový problém v souvislosti s rychle rostoucí populací a zároveň nedostatečným množstvím obživy. Abychom mohli nějakým způsobem ovlivnit výnosy plodin, je potřeba detailně rozumět procesům, které následují po působení zvýšené teploty. Je známo, že reakce a míra odezvy na změnu teploty bývají zprostředkovány signálními drahami fytohormonů a transkripčními faktory. Tato práce si dává za úkol popsat reakce rostlin na zvýšenou teplotu, mechanismy reakce, interakce s fytohormony a jejich vliv na termomorfogenezi.

3. Regulátory odezvy rostlin na zvýšenou teplotu

Růst rostlin je regulován mnoha faktory, které lze rozdělit na vnější a vnitřní. Mezi nejvýznamnější vnější faktory patří světlo, teplo a zemská přitažlivost. K vnitřním faktorům řadíme rostlinné hormony a další látky s regulační aktivitou (Procházka *et al.*, 1998).

Integrace a vyhodnocení působení vnitřních a vnějších faktorů na rostliny vede k navození takového růstu, který je pro další vývoj rostlin optimální a vede k produkci životaschopného potomstva. V souvislosti s působením světla rozlišujeme skotomorfogenní a fotomorfogenní fenotypy rostlin. Ke skotomorfogenezi dochází při růstu rostlin za tmy. Tento vývojový program je určen klíčovými rostlinám, které začínají svůj růst většinou pod zemí a snaží se dostat co nejrychleji ke slunci, jakožto ke zdroji energie pro další růst a vývoj. Během této fáze růstu dochází k tvorbě apikálního háčku a prodlužování hypokotylů, semenáčky se nazývají etiolované. Po dosažení světla přepínají semenáčky na program fotomorfogeneze a stávají se de-etiolovanými. Růst a fenotyp semenáčků se mění, je inhibováno prodlužování hypokotylu a naopak indukován rozvoj děložních a následně pravých lístků.

Na semenáčky nepůsobí jen světlo, ale i teplo, které také ovlivňuje jejich fenotyp. Působením zvýšené teploty mohou mít rostliny odlišný fenotyp, než při růstu za optimální teploty. Morfologické změny v reakci na zvýšenou teplotu nazýváme termomorfogenezi. Do termomorfogenní odpovědi jsou zapojeny i již zmíněné vnitřní faktory, kterými jsou rostlinné hormony. Z dostupných pramenů je známo, že termomorfogenní odpovědi se účastní zejména fytohormony auxiny, brassinosteroidy a gibereliny (Stavang *et al.*, 2009a). Tyto fytohormony ovlivňují řadu vývojových procesů v rostlinách. Jedním z procesů je i růst. Fytohormony mohou působit samostatně anebo se mohou vzájemně ovlivňovat a to na úrovni biosyntetických a signalizačních drah. Z toho důvodu budou v následujících kapitolách krátce tyto hormony uvedeny a popsána jejich biosyntéza a signalizace.

3.1. Auxiny

Skutečnost, že existují fytohormony auxiny (AUX) a že mají vliv na růst rostlin, byla prokázána experimenty Fritze W. Went v roce 1926 při studiu fototropismu etiolovaných koleotilů ovsa. Chemická struktura auxinů byla identifikována v polovině 30. let 20. stol., prvním identifikovaným přirozeným auxinem byla kyselina indol-3-octová (IAA) (Pavlová *et Fischer*, 2011).

Dalšími přirozenými auxiny jsou kyselina indol-3-máselná (IBA), kyselina 4-chloridolyl-3-octová (4-Cl-IAA) a kyselina fenylloctová (PAA) (Pavlová *et Fischer*, 2011). Syntetické auxiny mají podobné vlastnosti jako přirozené auxiny. Kromě alkyltiokarbonátů mají všechny aromatický kruh a řadíme je ke slabým kyselinám. Syntetické auxiny dělíme do čtyř skupin: naftalenové kyseliny (α -naftylloctová kyselina), chlorfenoxykyseliny (kyselina 2,4-dichlorfenoxyoctová), benzoové kyseliny (2,3,6-trichlorbenzoová kyselina) a deriváty kyseliny pokolinové (picloram) (Procházka *et al.*, 2003).

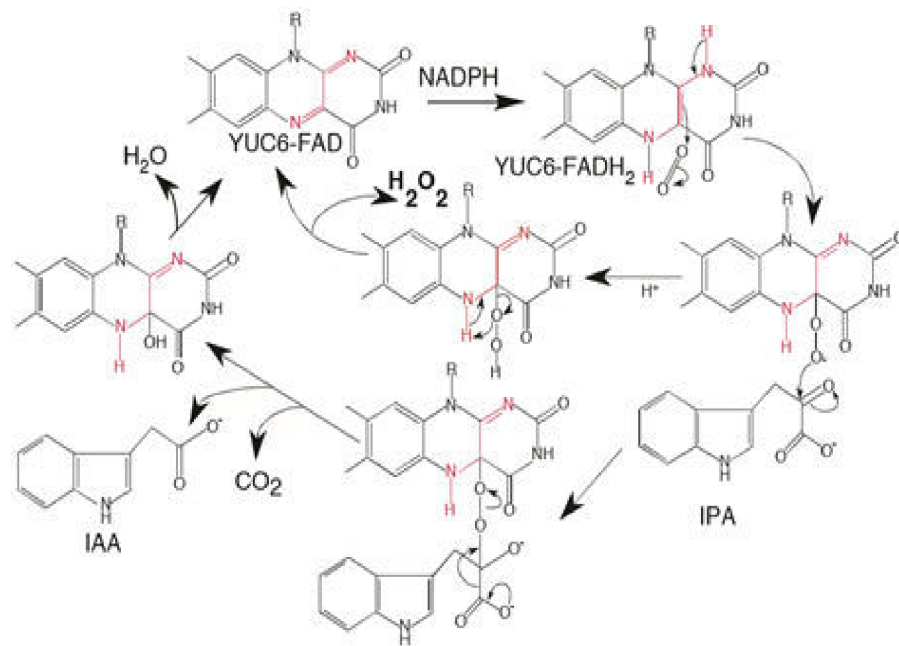
3.1.1. Biosyntéza auxinů

Biosyntéza auxinů probíhá *de novo* nebo z auxinových konjugátů. Mezi auxinové konjugáty řadíme estery IAA, IAA cukry, konjugáty IAA-aminokyselin a další. Konjugáty slouží pouze jako zásobní formy auxinů a jako meziprodukty biosyntézy auxinů (Woodward *et Bartel*, 2005). Volné IAA se z nich uvolňují hydrolýzou (Korasick *et al.*, 2013).

Biosyntéza *de novo* ve většině případů vychází z tryptofanu (Trp) a zahrnuje čtyři různé metabolické dráhy využívající různé prekurzory, dle kterých jsou biochemické dráhy pojmenovány: IPA (kyselina indol-3-pyrohroznová), IAM (indol-3-acetamid), TAM (tryptamin) a IAOx (indol-3-acetaloxim) (Woodward *et Bartel*, 2005).

V současné době již bylo ověřeno, že většina auxinů vzniká z Trp jsou syntetizovány dvoustupňovou IPA dráhou (Zhao *et al.*, 2014). Z Trp je pomocí enzymu aminotransferázy TAA1 přenesena aminoskupina na α -ketokyselinu, nejčastěji α -ketoglutarát, za vzniku IPA a glutamátu aminokyseliny (Štěpánová *et al.*, 2008; Tao *et al.*, 2008). Donorem aminů mohou být také aminokyseliny Phe, Tyr, Leu, Ala, Met a Gin, ale Trp je z nich dle biochemických analýz nejčastějším donorem (Tao *et al.*, 2008). IPA je

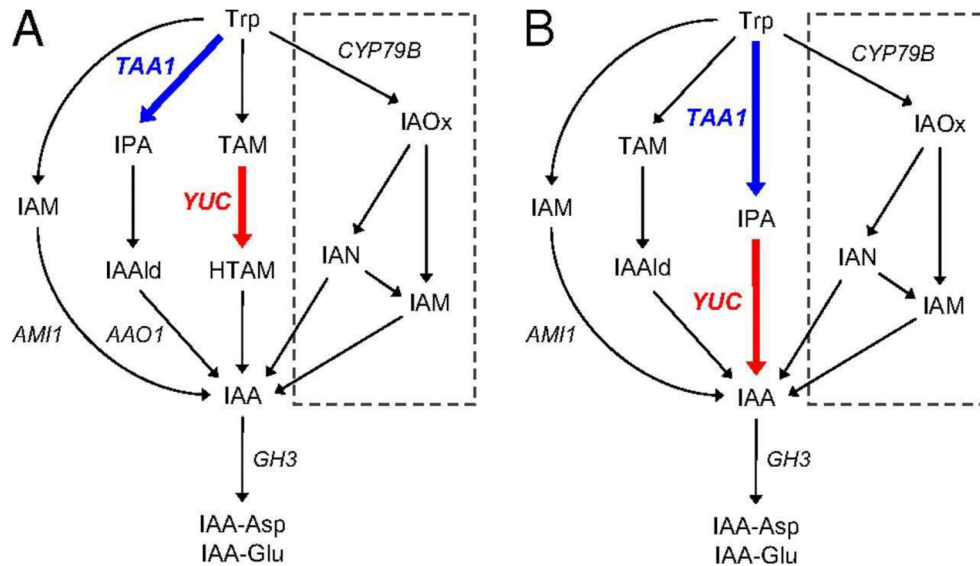
převedeno na IAA reakcí katalyzovanou proteinem YUCCA (YUC). Doposud nejvíce zkoumaným proteinem YUC byl YUC6, který je NADPH oxidázou. Reakce, kterou vzniká IAA z IPA a je katalyzovaná YUC6, se skládá z více menších kroků. Nejprve NADPH z YUC6 předá dva elektrony molekule FAD, ze které se tímto krokem stane FADH₂. FADH₂ reaguje s molekulárním kyslíkem za vzniku C4a-(hydro)peroxyflavinu. Oxidační dekarboxylací IPA C4a-(hydro)peroxyflavinem katalyzovanou YUC6 vzniká IAA (viz obr. č. 1; Zhao *et al.*, 2014).



Obrázek č. 1: Hlavní biosyntetická dráha IAA vycházející z Trp, regulovaná proteinem YUC. Převzato z Zhao *et al.*, 2014.

Reakcí FADH₂ s molekulárním kyslíkem vzniká peroxid vodíku, který řadíme k reaktivním formám kyslíku (ROS). ROS jsou pro rostlinné tělo velmi nebezpečné, podílejí se na mnoha fyziologických a patologických procesech. Nicméně vzhledem k nízkým hladinám auxinů není tento proces v produkci ROS oproti jiným metabolickým procesům významný.

Další zmiňované biosyntetické dráhy dle nejnovějších publikací nejsou významné, a proto jsou uvedeny schématicky v následujícím obrázku (obr. č. 2; Mashiguchi *et al.*, 2011).



Obrázek č. 2: Původní (a) a aktualizovaná (b) biosyntetická dráha auxinů. Hlavní biosyntetická dráha Trp – IPA – IAA je zprostředkována proteiny TAA a YUC (viz. kapitola výše). Vedlejší dráhy jsou IAM, TAM a IAOx. Ve dráze IAM hrají důležitou roli dva enzymy a to Trp monooxygenáza (Ia-aM), která mění Trp na IAM a IAM hydroláza (IaaH), která převádí IAM a IAA (Patten *et Glick*, 1996). Informace o dráze TAM byly dle nejnovějších poznatků opraveny a již není regulována transkripčním faktorem YUC, jak se původně myslelo (Mashiguchi *et al.*, 2011). Na biosyntetické dráze IAOx se podílí tři enzymy: CYP79B2, CYP79B3 a CYP83B. První dva oxidují Trp na IAOx (Mikkelsen *et al.*, 2000). Enzym CYP83B1 mění IAOx na její N-oxid (IAN) (Bak *et al.*, 2001), IAN je hydrolyzován nitrilázami, které jsou kódovány geny NIT (Bartel *et Fink*, 1994). Převzato z Mashiguchi *et al.*, 2011.

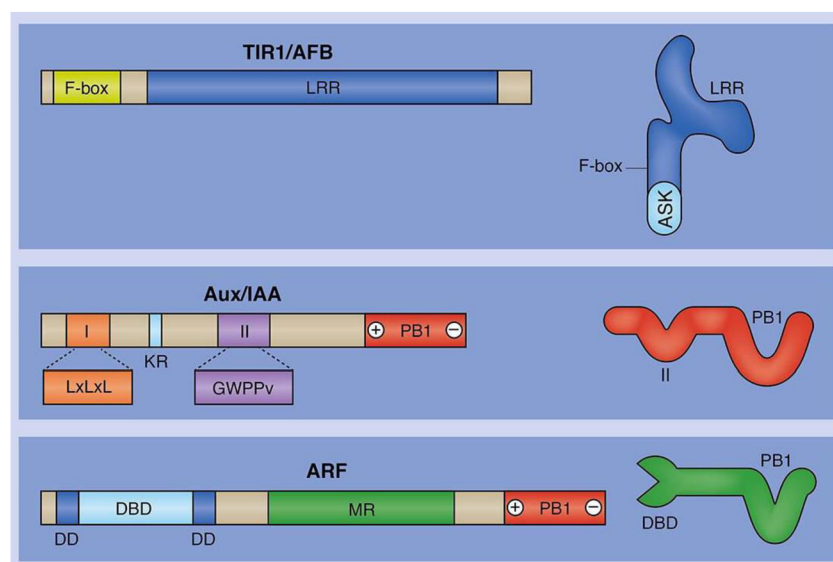
3.1.2. Signální dráhy auxinů

Signální dráhy auxinů vycházejí ze tří základních proteinových rodin, kterými jsou F-box TRANSPORT INHIBITOR RESPONSE 1/AUXIN SIGNALING F-BOX PROTEIN (TIR1/AFB) co-receptory auxinů, Auxin/INDOLE-3-ACETIC ACID (Aux/IAA) transkripční represory a AUXIN RESPONSE FACTOR (ARF) transkripční faktory (Lavy *et Estelle*, 2015). Tyto proteiny se skládají z více domén a oblastí důležitých pro signalizaci auxinů (viz obr. č. 3).

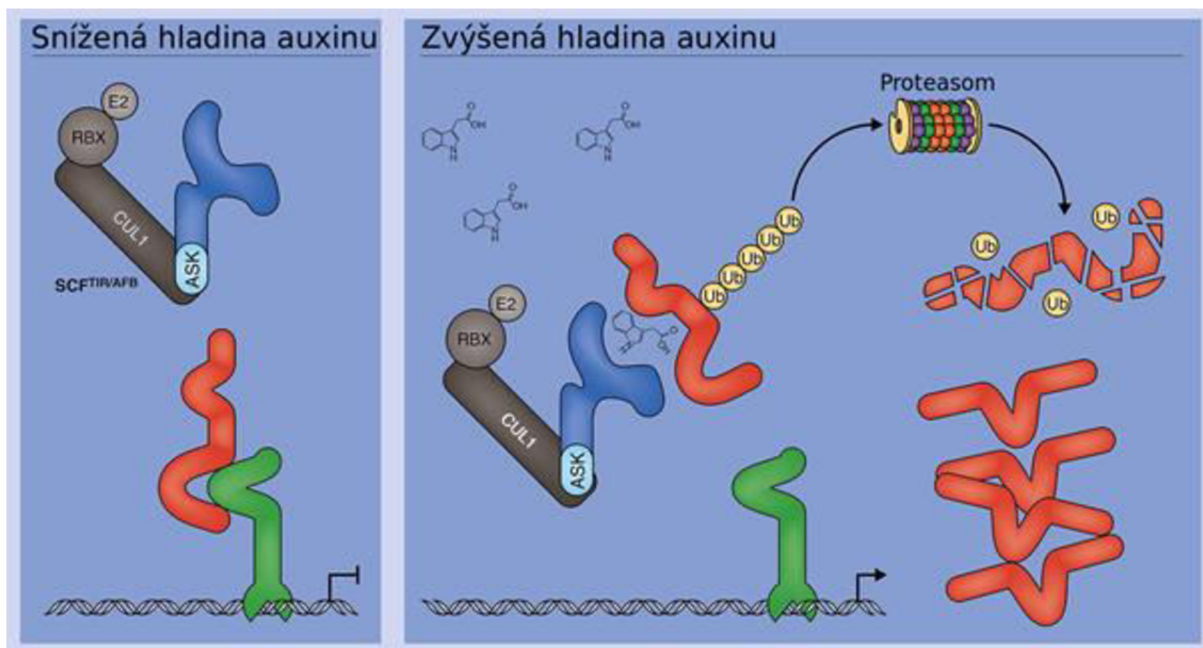
Proteiny TIR1/AFB jsou tvořeny F-boxem a doménou LRR, která představuje vazebná místa pro proteiny Aux/IAA (Lavy *et Estelle*, 2015). V případě zvýšení hladiny auxinů se TIR1/AFB vážou na transkripční represory Aux/IAA a zapříčiní jejich

polyubiquitylaci zprostředkovanou ubiquitinovou proteinovou ligázou E3 nazvanou $SCF^{TIR1/AFB}$, následně dochází k degradaci Aux/IAA (Salehin *et al.*, 2015). Proteiny Aux/IAA obsahují tři domény, a to leucinový EAR motiv v doméně I (Kagale *et Rozwadowski*, 2011), interní doménu II, která zahrnuje GWPP motiv, a C-terminální oblast, která zahrnuje Phox a Bem1 (PB1) doménu (Guilfoyle, 2015). Pomocí GWPP motivu interaguje s proteiny TIR1/AFB (Lavy *et Estelle*, 2015). Doména PB1 usnadňuje interakci s proteiny ARF (Vernoux *et al.*, 2011). Proteiny ARF se skládají z DNA-vázací domény (DBD) na N-konci, proměnlivé střední oblasti (MR) a C-terminální oblasti PB1 dimerizační domény podobně jako u Aux/IAA. ARF mohou tvořit homodimery ARF-ARF nebo heterodimery ARF-Aux/IAA pomocí domény PB1 (Han *et al.*, 2014). Při nízké hladině auxinů dochází k interakci mezi transkripčním represorem Aux/IAA a transkripčním faktorem ARF a odpověď na auxiny je potlačena (viz. obr. č. 4). Degradací Aux/IAA při zvýšené hladině auxinů dochází k uvolnění transkripčních faktorů ARF, které posléze mohou započít regulaci transkripce genů v odpovědi na zvýšenou hladinu auxinů. (Salehin *et al.*, 2015).

Genom rostliny *A. thaliana* kóduje celkem 6 proteinů TIR1/AFB a 29 Aux/IAA, různé interakce těchto proteinů mohou mít odlišné biochemické vlastnosti a tím pádem by mohly mít i odlišné fenotypové projevy. Tyto závěry jsou však prozatím jen domněnkami. (Salehin *et al.*, 2015).



Obrázek č. 3: Skladba hlavních proteinů zapojených do biosyntézy auxinů: co-receptor auxinů TIR1/AFB, transkripční represor Aux/IAA a transkripční faktor ARF. Upraveno dle Lavy *et Estelle*, 2015.



Obrázek č. 4: Mechanismy signálních drah auxinů při snížené (vlevo) a při zvýšené (vpravo) hladině auxinů. Upraveno dle Lavy *et Estelle*, 2015.

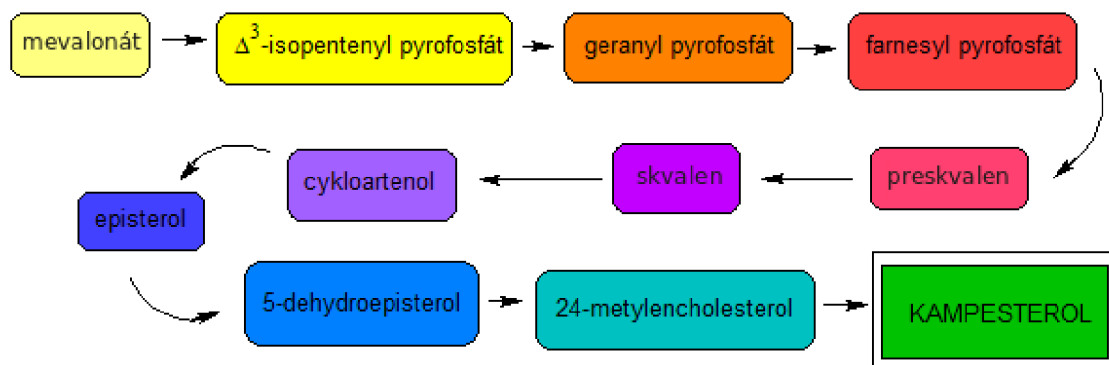
3.2. Brassinosteroidy

Brassinosteroidy (BR) jsou fytohormony steroidní povahy, které byly objeveny v roce 1970 Johnem W. Mitchelem v extraktu pylu z řepky olejné. Řadíme mezi ně brassinolid (BL), což je polyhydroxylovaný derivát 5- α cholestanu, a dalších 6 volných brassinostreoidů a několik jejich konjugátů (Hayat *et Ahmad*, 2011).

3.2.1. Biosyntéza brassinosteroidů

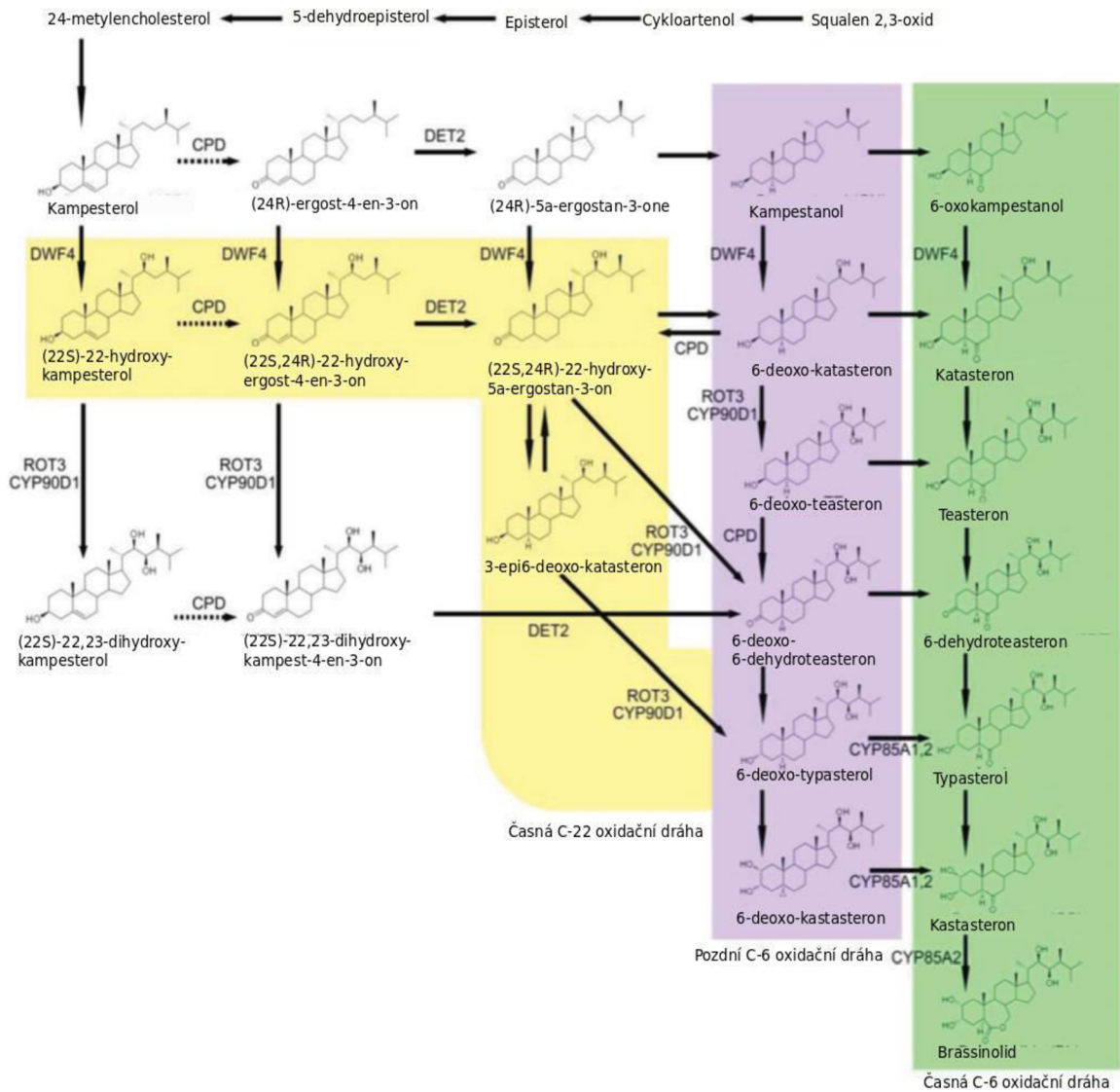
Biosyntéza brassinosteroidů vychází z prekursoru kampesterolu. Kampesterol je podobně jako ostatní rostlinné steroly syntetizován isoprenoidní biosyntetickou dráhou z mevalonátu.

Prekurzorem fytosterolů je cykloartenol, jehož podrobnou biosyntetickou dráhu lze zkratkovitě popsat následovně: začíná u mevalonátu, přechází přes Δ^3 -isopentenyl pyrofosfát, geranylpyrofosfát, farnesylpyrofosfát, preskvalen, skvalen až na cykloartenol. Z cykloartenolu dále vzniká sterol episterol, ze kterého je 5-dehydroepisterol a následně 24-metylencholesterol. V posledním kroku je metylencholesterol přeměněn na kampesterol (viz. obr. č. 5; Clouse, 2011).



Obrázek č. 5: Biosyntetická dráha kampesterolu. Upraveno dle Clouse 2011.

Konverze kampesterolu na brassinolid je velmi složitá a probíhá prostřednictvím série oxidací, redukcí, hydroxylací a epimerizací, kdy se často tyto dráhy kříží a je možné některé kroky obejít jinými paralelními dráhami. Rozlišujeme tři hlavní dráhy, kterými jsou časná C-22 oxidační dráha, pozdní C-6 oxidační dráha a časná C-6 oxidační dráha (viz. obr. č. 6) (Chung *et* Choe, 2013). Časná dráha C-22 byla objevena později než dvě předchozí, a to na základě nových poznatků o enzymu DWARF4 (DWF4), který katalyzuje přeměnu kampestanolu na 6-deoxo-katasteron nebo 6-oxokampestanol na katasteron. Bylo zjištěno, že tento enzym katalyzuje i reakce, které tvoří další meziproducty v biosyntetické dráze BR. Tyto meziproducty tvoří časnou C-22 dráhu (Fujioka *et* Yokota, 2003). Dalšími důležitými enzymy, které se na biosyntéze BR podílí jsou CARBOXYPEPTIDÁZA D (CPD), DE-ETIOLED 2 (DET2) a CYTOCHROMY P450 RODIN 90D1 a 85A1,2 (CYP90D1 a CYP851,2,). Dle analýzy srovnávající poměr výchozích látek a produktů v biosyntéze BR se DWF4 jeví jako nejdůležitější enzym v této biosyntetické kaskádě (Chung *et* Choe, 2013). Tyto výsledky potvrzují i výsledky u rostlin se zvýšenými hladinami DWF4. Fenotypy těchto rostlin odpovídají fenotypům rostlin se zvýšenou hladinou BR, především v projevu prodloužení hypokotylů a celkově vyššímu vzrůstu rostlin (Chung *et* Choe, 2013). Klíčovou roli DWF4 v biosyntéze BR potvrzují i mutanty v tomto genu, které vykazují sníženou hladinu BR, krátké hypokotyly, v dospělosti menší vzrůst a sníženou plodnost (Chung *et* Choe, 2013).



Obrázek č. 6: Biosyntetické dráhy brassinosteroidů, konkrétně brassinolidu vycházejí z kampesterolu. Upraveno dle Chung et Choe, 2013.

3.2.2. Signální dráhy brassinosteroidů

V signalizaci brassinosteroidů je receptorem BRASSINOSTEROID INSENSITIVE 1 (BRI1). BRI1 obsahuje tři hlavní domény: extracelulární doménu vázající ligand, doménu s jedním průchodem přes membránu a doménu cytoplazmatické kinázy. Při porovnání fenotypů mutantních rostlin v genu *BRI1* a mutantních rostlin v biosyntéze BR je zřejmé, že obě mutantní varianty vykazují téměř identický fenotyp, rostliny se chovají jakoby na ně brassinosteroidy nepůsobily. Konkrétně dochází ke opožděné senescenci, snížené plodnosti a vývoji nezávislém na světle. Na základě těchto výsledků můžeme BRI1 určit jako klíčový receptor pro brassinosteroidy (Wang *et al.*, 2001).

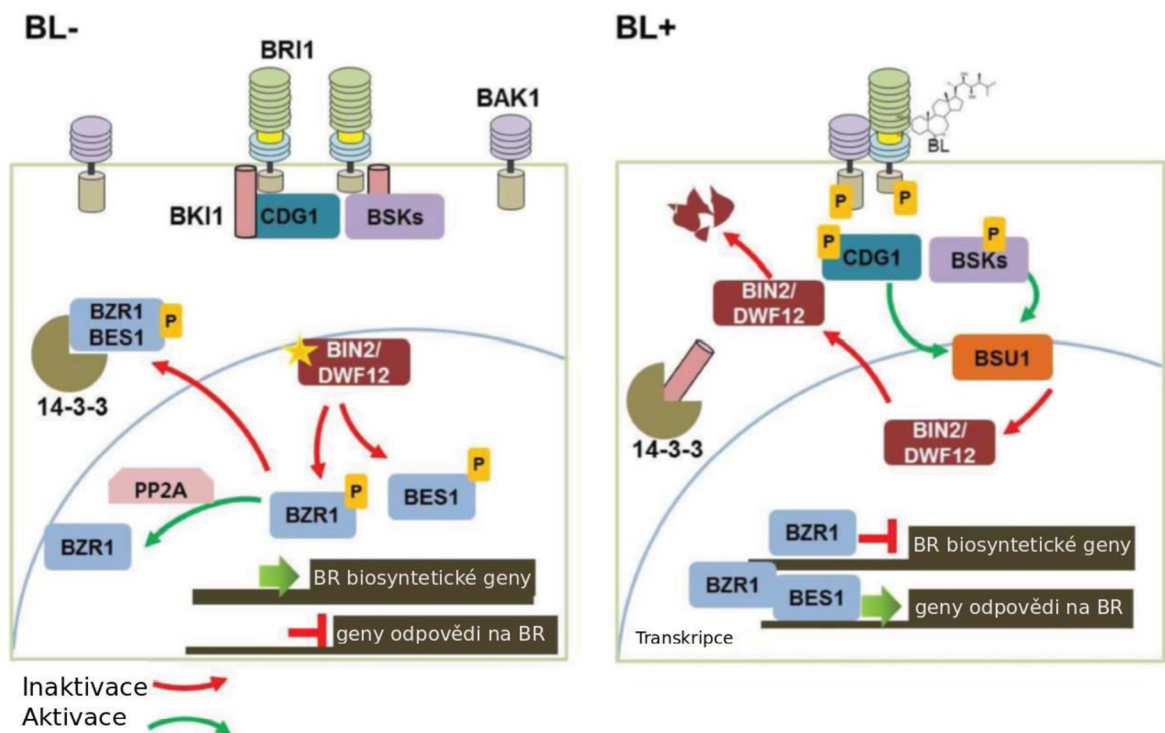
Signální dráhy BR jsou aktivovány přímou vazbou aktivních brassinosteroidů na extracelulární doménu BRI1. Heterodimerizací BRI1 se členy proteinové podrodiny SOMATIC EMBRYOGENESIS RECEPTOR KINASE (SERK) (patřící do rodiny LRR RLKs) vznikají heterooligomery SERK3 známé jako BRI1-ASSOCIATED RECEPTOR KINASE (BAK1) nebo například SERK4 zvaný BAK1-LIKE (BKK1) (Clouse, 2011). Vytvořením dimeru s BAK1 je stimulovaná kinázová aktivita BRI1, což je prvním krokem v signalizaci BR. Autofosforylací a transfosforylací mezi BRI1 a jeho ko-receptorem BAK1 se z BRI1 odděluje inhibitor BRI1 KINASE INHIBITOR 1 (BKI) (Wang *et al.*, 2008). Tento inhibitor je na BRI1 navázán jen při nízkých hladinách BR a jeho nepřítomností je BRI1 aktivní.

Po aktivaci receptoru BRI1 jsou aktivovány pozitivní regulátory BR signalizace, kterými jsou kinázové skupiny proteinů BR-SIGNALING KINASES (BSKs) (Tang *et al.*, 2008). BSK1 jsou serin/threoninové kinázy, které po aktivaci BRI1 fosforylují fosfatázu BRI SUPPRESSOR 1 (BSU1). Fosforylovaná BSU1 svou enzymatickou aktivitou inhibuje centrálního negativního regulátora BR signalizace, BRASSINOSTEROID INSENSITIVE 2 (BIN2). (Kim *et al.*, 2009)

Negativní regulátor BIN2 fosforyluje specifické aminokyseliny v transkripčních faktorech BRASSINOL-RESISTANT1 (BZR1) (He *et al.*, 2005) a BRI1-EMS SUPPRESSOR1 (BES1) (Yin *et al.*, 2005), které jsou nezbytné v regulaci genů zapojených v odpovědi na BR (Yu *et al.*, 2011). Při nízké hladině BR jsou fosforylované BZR1 a BES1 inaktivovány zachycením proteiny 14-3-3 (viz. obr. č. 7) (Ryu *et al.*, 2010). Při vyšší hladině BR není BIN2 aktivní a tím pádem nefosforyluje BZR1 a BES1. Tyto transkripční faktory se mohou hromadit v jádře a regulovat expresi stovek genů, které jsou zapojeny do signalizace BR, svou přímou vazbou na promotory těchto genů (Yin *et al.*, 2005). Na zvýšení hladiny aktivních forem BZR1 a BES1 se podílí i cytoplazmatická proteinová fosfatáza 2A (PP2A), která je defosforyluje (Tang *et al.*, 2011).

Mezi další pozitivní regulátory BR signalizace patří 6 proteinů z rozsáhlé proteinové rodiny bHLH zvaných PACLOBUTRAZOL RESISTANT 1-6 (PRE 1-6). Tyto proteiny jsou pozitivními regulátory jak GA (Lee *et al.*, 2006) tak i BR (Wang *et al.*, 2009) signálních cest. Transkripční faktor PRE1 je atypickým transkripčním faktorem, který nemá schopnost se vázat na DNA a interaguje s jinými faktory (Uniprot, <http://www.uniprot.org/uniprot/Q9FLE9>). Je schopen se vázat s IBH1 proteinem, který

vůči němu funguje antagosticky. Transkripční faktor BZR1 reguluje transkripci genů *PRE1* a *IBH1*; gen *PRE1* indukuje a gen *IBH1* inhibuje (Zhang *et al.*, 2009). *PRE1* je exprimován ve vysokých koncentracích v mladých tkáních, *IBH1* je exprimován ve vyšších koncentracích ve zralých tkáních. Oba proteiny antagonisticky regulují růst a prodlužování buněk v závislosti na BR. Někteří další členové rodiny bHLH jsou také pozitivními regulátory BR signalizace, jsou jimi ATBS1 INTERACTING FACTOR 1-4 (AIF 1-4) (Wang *et al.*, 2009).



Obrázek č. 7: Signální dráhy brassinosteroidů při snížené a zvýšené hladině brassinolidu. Upraveno dle Chung et Choe, 2013.

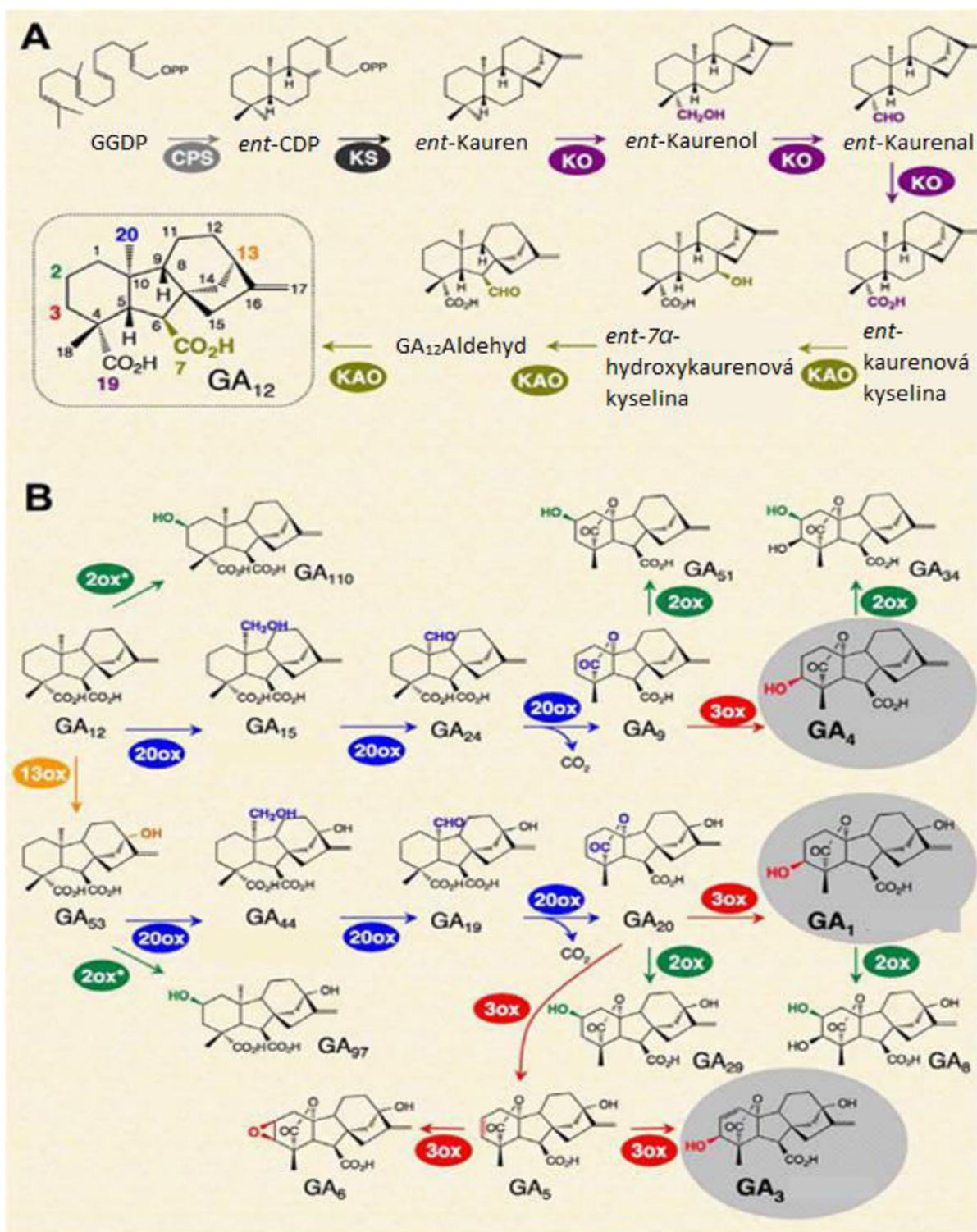
3.3. Gibereliny

Gibereliny (GA) jsou tetracyklické diterpenoidy s *ent*-giberelinovým skeletem. Rozlišujeme celkem 136 přirozených giberelinů a označeny jsou všechny GA a číslovkou dle pořadí, kdy byly objeveny. Jen některé GA jsou biologicky aktivní, ostatní jsou jen biosyntetickými meziprodukty nebo katabolity bioaktivních GA. Aktivní jsou například GA1, GA3, GA4 či GA7 (Hedden *et Philips*, 2000).

3.3.1. Biosyntéza giberelinů

Biosyntézu giberelinů můžeme rozdělit do tří fází: biosyntéza *ent*-kaurenu z geranyl-geranyl difosfátu (GGDP) v proplastidech, přeměna *ent*-kaurenu na GA₁₂ enzymatickou katalýzou monooxygenázy cytochromu P450 a výsledná tvorba C₂₀ a C₁₉-GA v cytoplazmě. GGDP je prekurzorem mnoha významných molekul, jako jsou GA, karotenoidy a chlorofyly. Biosyntéza GA je řízena několika geny (*GA1*, *GA2*, *GA3*, *GA4*, *GA5*), které kódují enzymy zapojené do jednotlivých biosyntetických kroků. GGDP je převedeno na *ent*-kauren ve dvoufázové reakci katalyzované enzymy *ent*-copalyl difosfát syntázou (CPS), která je kódovaná genem *GA1* (Sun *et Kamiya*, 1994) a *ent*-kauren syntázou (KS) kódovanou *GA2* (Yamaguchi *et al.*, 1998). Ve druhé fázi je *ent*-kauren katalyzován pomocí *ent*-kauren oxidázou (KO) a oxidu kinázové kyseliny (KAO) na GA₁₂ (viz. obr. č. 8A). Enzym KO je kódován *GA3* genem (Helliwell *et al.*, 1998). Ve třetí fázi může být GA₁₂ převeden na GA₅₃ 13-hydroxylací. Vzniklé GA₁₂ a GA₅₃ mohou být konvertovány na meziprodukty GA nebo přímo na různé typy GA, například GA₁, GA₃, GA₄, dvěma paralelními drahami, které zahrnují řadu oxidačních kroků katalyzovaných 2-oxoglutarát-dioxygenázami, GA20-oxidázami (GA20ox) a GA3-oxidázami (GA3ox) (viz. obr. č. 8B; Sun *et al.*, 2008). Gen *GA4* kóduje GA3ox1 (Chiang *et al.*, 1995) a GA20ox je kódován genem *GA5* (Phillips *et al.*, 1995).

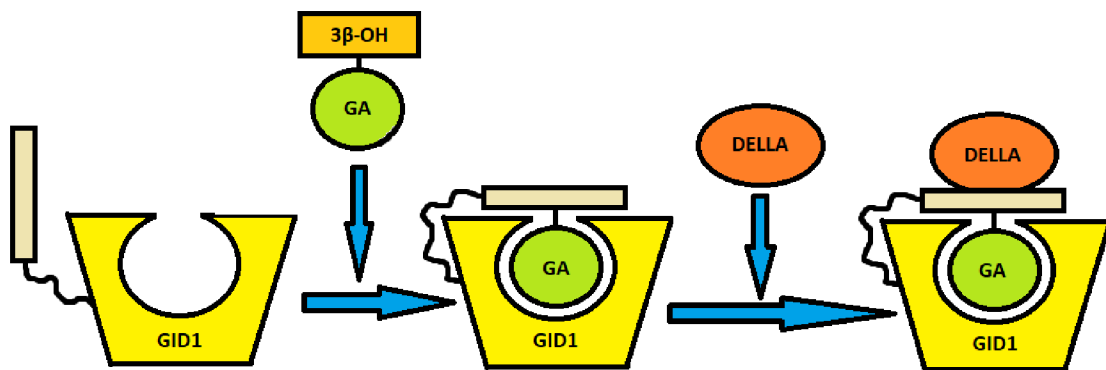
Hladinu bioaktivních GA určuje rychlost jejich syntézy a také jejich deaktivace. Deaktivace může být provedena několika způsoby. 2 β -hydroxylací, která je katalyzována GA 2-oxidázami (GA2ox), mohou být převedeny GA z aktivní na neaktivní formu (Sun, 2008). Mezi další deaktivující mechanismy patří například metylace, která byla ověřena u *Arabidopsis* (Verbanova *et al.*, 2007) a epoxidace, zjištěná u rýže (Zhu *et al.*, 2009).



Obrázek č. 8: Biosyntéza giberelinů: A – biosyntéza GA₁₂, ze kterého vychází biosyntéza ostatních GA; B – biosyntéza GA z GA₁₂. Upraveno dle Sun *et al.*, 2008.

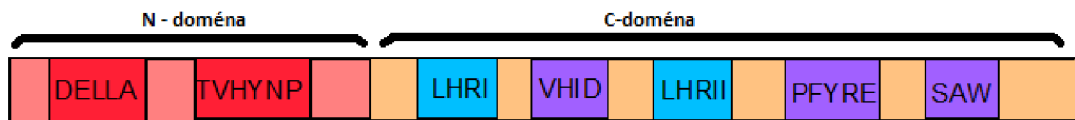
3.3.2. Signální dráhy giberelinů

Receptorem GA je GIBBERELLIN INSENSITIVE DWARF1 (GID1) (Ueguchi-Tanaka *et al.*, 2005). U modelové rostliny *A. thaliana* jsou známy tři receptory GA a to GID1A, GID1B a GID1C (Nakajima *et al.*, 2006). Na základě krystalografických studií bylo zjištěno, že GID1 obsahuje kapsu, do které se váže GA, a volnou N-terminální doménu, která má schopnost kapsu uzavřít (Murase *et al.*, 2008). Po navázání bioaktivního GA do kapsy se jeho C3-hydroxylová skupina spojí s Tyr31 zbytkem z GID1, což indukuje konformační změny na N-terminální doméně a kapsa se uzavře (viz. obr. č. 9). Uzavřením kapsy se stává receptor aktivním a může navázat DELLA protein (Murase *et al.*, 2008).



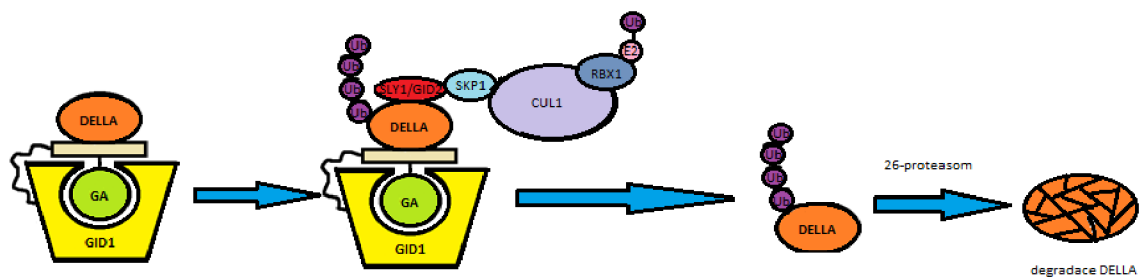
Obrázek č. 9: Tvorba GA-GID1-DELLA komplexu. Upraveno dle Davière *et Achard*, 2013.

DELLA proteiny jsou důležitými proteiny v regulaci GA signalizace. Na signální dráhu GA působí inhibičně a jsou schopny potlačit všechny typy GA odpovědi (Thomas *et Sun*, 2004). Proteinovou podrodinu DELLA řadíme do rodiny GRAS (Pysch *et al.*, 1999). Genom *Arabidopsis* kóduje pět DELLA proteinů: RGA, GAI, RGA-Like1 (RGL1), RGL2 a RGL3 (Tyrel *et al.*, 2004). N-terminální doména DELLA proteinů je regulační doménou v odezvě na GA a obsahuje domény DELLA (podle ní název DELLA proteiny) a TVHYNP doménu (Sun *et Gubler*, 2004). C-terminální doména zvaná GRAS (dle proteinové rodiny GRAS) se podílí na proteinových interakcích a u jiných proteinů této rodiny rovněž na transkripci. Doména GRAS se skládá ze dvou opakujících se leucinových heptád LHRI a LHRII a tří motivů: VHID, PFYRE a SAW (viz. obr. č. 10) (Bolle, 2004). To, zda se DELLA proteiny podílí rovněž přímo na vázání DNA a aktivaci transkripce, není dodnes potvrzeno (Davière *et Achard*, 2016).



Obrázek č. 10: Struktura DELLA proteinu. Upraveno dle Davière et Achard, 2013.

Po uzavření GA v kapse receptoru *GID1* se na tento komplex naváže DELLA protein svými doménami DELLA a TVHYNP a vytvoří tím GA-*GID1*-DELLA komplex, který je lokalizován v jádře (Willige *et al.*, 2007). Při snížené hladině GA dochází k akumulaci DELLA proteinů a potlačení GA odpovědi. Zvýšením hladiny GA se tvoří GA-*GID1*-DELLA komplex, který stimuluje degradaci DELLA proteinů přes proteasom 26 S. Degradace DELLA probíhá pomocí proteinů *GID2* a *SLY1*. Změna konformace DELLA umožní navázání *GID2* a *SLEEPY 1 (SLY1)*, což podporuje navázání E3 ubikvitin ligázy $SCF^{SLY1/GID2}$, která označí DELLA pro degradaci proteasomem 26 S (viz. obr. č. 11; Davière et Achard, 2013).



Obrázek č. 11: Degradace DELLA proteinu. Upraveno dle Davière et Achard, 2013.

Je známo, že DELLA interaguje s regulačními proteiny, například s PHYTOCHROME INTERACTING FACTORS (PIF) (de Lucas *et al.*, 2008). Při nízké hladině GA DELLA váže transkripční faktory PIF, které se nemohou vázat na promotory genů odpovědných za prodlužování hypokotylu. Po zvýšení hladiny GA dochází k degradaci DELLA a tím pádem k uvolnění PIF, které mohou regulovat prodlužování buněk hypokotylu (Davière et Achard, 2013).

4. Teplota

Rostliny patří do skupiny tzv. poikilotermních organismů, které nemají vnitřní regulaci teploty. Přesto musí na zvyšující se nebo snižující se teplotu určitým způsobem reagovat. Teplota přináší rostlinám informace o vnějším prostředí a zároveň sama o sobě na rostliny působí a ovlivňuje jejich růst.

Přirozené teplotní podmínky jsou pro organismy charakterizovány teplotním rozmezím 10°C nad a 10°C pod optimální teplotu v rámci teplot působících v jejich přirozeném prostředí (Chuchvalcová, 2012). Například pro modelovou rostlinu *A. thaliana* je známo růstové teplotní optimum mezi 12 a 27 °C (Wigge, 2013). Přirozené teploty pro rostliny jsou často vlivem střídání dne a noci a změny ročních období mírně překračovány, platí to především pro naše klimatické podmínky mírného pásu.

Mírné ochlazení nebo naopak oteplení může mít na rostliny pozitivní vliv. Změny teplot pomáhají rostlinám se orientovat v denních cyklech (cirkadiální hodiny) a v ročních obdobích. Rostliny pomocí změn nejen okolní teploty ale i dalších podnětů mohou předpovídat, jaké klimatické podmínky je v budoucnu čekají a mohou se na ně připravit (Wigge, 2013).

Zvýšená teplota může na rostliny působit přímým vlivem nebo nepřímo, kdy ovlivňuje hladinu látek s regulační aktivitou. Přímý vliv zvýšené teploty se projevuje jak na fyziologických procesech, tak na fenotypu rostlin. Zvýšená teplota má vliv například na rychlost asimilace uhlíku, což způsobuje zpomalování fotosyntézy. Konkrétně dochází ke zpomalování enzymu Rubisco, který katalyzuje fixaci uhlíku z CO₂ do organických sloučenin. Zvýšená teplota má velký vliv i na vývoj vegetativních částí rostlin. Působí indukčně na růst listů, především řapíku, a hypokotylu. Vyšší teploty, které působí do hranice teplotního optima pro danou rostlinu, působí pozitivně i na prodloužení kořenů, při překročení do vyšších stresových teplot tento efekt ustává (Gray *et* Brady, 2016).

Extrémně vysoké či nízké teploty působící nad nebo pod optimální teplotou pro růst rostlin způsobují stresové odpovědi. Teplotní stres může mít u rostlin různé podoby a projevy. Stresové teploty negativně působí na fyziologické procesy jako je například fotosyntéza, primární a sekundární metabolismus, fluiditu plazmatických membrán

a další (Zinn *et al.*, 2010). Teplotní stres nad teplotní optimum má vliv na vývoj rostlin v průběhu celé doby jejich vývoje a růstu. Má vliv na vývoj semen, kdy zpožďuje jejich germinaci (Essemine *et al.*, 2010). Ve vegetativní fázi zapříčiňuje redukcí růstu (Mittler *et al.*, 2012). V reprodukční fázi teplotní stres působí negativně na vývin květních pupenů nebo jejich nerozvití (Young *et al.*, 2004), může mít také vliv na kvalitu plodů (Ashraf *et Harris*, 2005).

Změnu okolní teploty rostlina detekuje na více úrovních, jejichž mechanismy jsou pravděpodobně vzájemně propojeny. Změnu teploty detekují v podstatě všechny buňky na povrchu rostlinného těla, protože zvýšená teplota přirozeně zrychluje kmitání molekul, což ovlivňuje stabilitu jednotlivých kompartmentů buňky. Teplota narušuje stabilitu DNA, RNA, proteinů, cytoskeletu, plazmatické membrány a dalších. U plazmatické membrány je zvyšována její fluidita, s čímž souvisí aktivace iontových kanálů. Konkrétně dochází k aktivaci kalciových kanálů, které jsou označovány za jeden z primárních teplotních senzorů rostlin (Saidi *et al.*, 2009). Nestabilita působí i na enzymatické reakce, což vyvolává do určité míry metabolickou nerovnováhu (McClun *et Davis*, 2010). Metabolická nerovnováha, ale i aktivace kalciových kanálů může způsobit akumulaci reaktivních druhů kyslíku (ROS) (Suzuki *et al.*, 2011). Zvýšená hladina ROS je jedním z indikátorů zvýšené teploty, potažmo teplotního stresu. V případě neredukování hladin ROS může nastat programová buněčná smrt (Doyle *et al.*, 2010). Na úrovni chromatinu je důležitým prvkem v odpovědi na teplotu histon H2A.Z. Nukleozomy H2A.Z jsou specifické oproti nukleozomům H2A tím, že obalují DNA těsněji, což způsobuje nedostupnost DNA pro transkripci. Zvýšená teplota však tuto těsnou vazbu rozvolňuje a tím DNA zpřístupňuje pro transkripční faktory (Kumar *et Wigge*, 2010). Jedním z transkripčních faktorů, který reguluje tento nukleozom je PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR 4 (PIF4). PIF4 po svém obsazení reguluje expresi genů reagujících na zvýšenou teplotu (Wigge, 2013).

Působení teploty je těsně provázáno s působením světla (Song *et al.*, 2015). Některé transkripční faktory zapojené do světelné odpovědi se účastní i reakce na teplotu (Song *et al.*, 2017). Společně reguluje teplota a světlo klíčivost rostlin, kvetení a reprodukci (Song *et al.*, 2012). Dle nejnovějších výzkumů jsou světelné a teplotní signály přijímány společným receptorem phyB (Legris *et al.*, 2016). Po třídní kultivaci při

stresových teplotách vykazují mutanti *phyB* mnohem větší toleranci k teplotám a vyšší procento přežití (Song *et al.*, 2017). Regulace informací z tohoto foto/termoreceptoru je pravděpodobně zprostředkována proteiny PIF4, PIF5 a HY5 (LONG HYPOCOTYL 5) (Song *et al.*, 2017). Cirkadiální hodiny na základě světelných podmínek určují rostlinám, ve které části dne se nachází a tím jim pomáhají se lépe orientovat v čase a připravit se na nadcházející podmínky (příchod dne, noci). Cirkadiální regulaci podléhají i transkripční faktory PIF4 a PIF5 (Nomoto *et al.*, 2012), které jsou zapojeny i do teplotní odpovědi a mohly by být jedním z faktorů propojující teplotu a cirkadiální rytmy.

4.1. Termomorfogeneze

Termín termomorfogeneze zahrnuje morfologické změny v rostlině, které jsou vyvolané zvýšením okolní teploty a jsou projevem adaptace k této teplotě (Quint *et al.*, 2016). Poprvé byl pojem termomorfogeneze použit v práci J.E. Erwina: Thermomorphogenesis in *Lilium longiflorum* z roku 1989 jako analogický termín k fotomorfogenezi (Erwin *et al.*, 1989).

Konkrétní projevy termomorfogeneze lze pozorovat především u vegetativních částí rostlin jako jsou kořeny, hypokotyl, řapíky listů, celková stavba listů (obr. č. 12). Zvýšená teplota podporuje prodlužování kořenů. Prodloužením kořenů se rostlina brání proti patogenům, snaží se udržet živinovou homeostázu a získává nedostupnou vodu (Martins *et al.*, 2017). Působením zvýšené teploty dochází i k prodlužování hypokotylů. K prodlužování hypokotylu dochází ve většině případů prodlužováním stávajících buněk. Prodlužování buněk je zahájeno aktivováním protonové pumpy na plazmatické membráně buněk. Aktivací protonové pumpy se transportuje větší množství H^+ iontů, které okyselují apoplast. Kyselost prostředí apoplastu zvyšuje aktivitu enzymů expansinů a xyloglukan endotransglukosylázy (XTH), které degradují buněčnou stěnu (Chapman *et al.*, 2012). Degradace buněčné stěny umožňuje její prodloužení a tím i prodloužení celé buňky. Prodloužením hypokotylu se dostává nadzemní část rostliny dále od vyhřáté půdy a zároveň má lepší možnosti ochlazení ve vyšších polohách pomocí proudění vzduchu (Quint *et al.*, 2016). U rostlin, které mají listy v přízemní růžici, například i modelová rostlina *A. thaliana*, zaznamenáváme prodlužování řapíků a vzpřímenější postavení listů (hyponastický růst) (Crawford *et al.*, 2012). Tyto morfologické změny

zmenšují projekční plochu rostliny, která je vystavena přímému slunečnímu záření, a podobně jako u hypokotylu se může rostlina dostat do oblasti s větším prouděním vzduchu. Listy rostlin se tedy mohou účinně ochlazovat a zmírní se tím vliv vysokých teplot (Crawford *et al.*, 2012). Při porovnání rostlin rostoucích v podmínkách teplotního optima a zvýšené teploty, je patrné, že rostliny pěstované při vyšších teplotách mají menší stomata a jejich listy jsou menší a tenčí. Morfologické změny na listu pravděpodobně opět podporují ochlazování rostliny (Crawford *et al.*, 2012).



Obrázek č. 12: Termomorfogenní fenotypy *A. thaliana* ve fázi klíční rostliny (a) a dospělého jedince ve vegetativní fázi (b). Převzato z Quint *et al.*, 2016.

4.2. PIF4

Nepostradatelným transkripčním faktorem při odpovědi na zvýšenou teplotu je PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR 4 (PIF4) (Stavang *et al.*, 2009a), který patří do rodiny transkripčních faktorů bHLH (Proveniers *et Zanten*, 2013). PIF4 je kromě odpovědi na teplotu zapojen i do signálních kaskád v odpovědi na změny světelných podmínek. Konkrétně má vliv na skotomorfogenezi semenáčků, prodlužování hypocotylů, vývoj chloroplastů apod. (Castillon *et al.*, 2007).

Hladina PIF4 je regulována na více úrovních. Na úrovni transkripce je regulace spjata s cirkadiálními hodinami rostlin a DET1-COP1-HY5 (DE-ETIOLATED 1, CONSTITUTIVE PHOTOMORPHOGENIC 1 a LONG HYPOCOTYL 5) regulačním mechanismem.

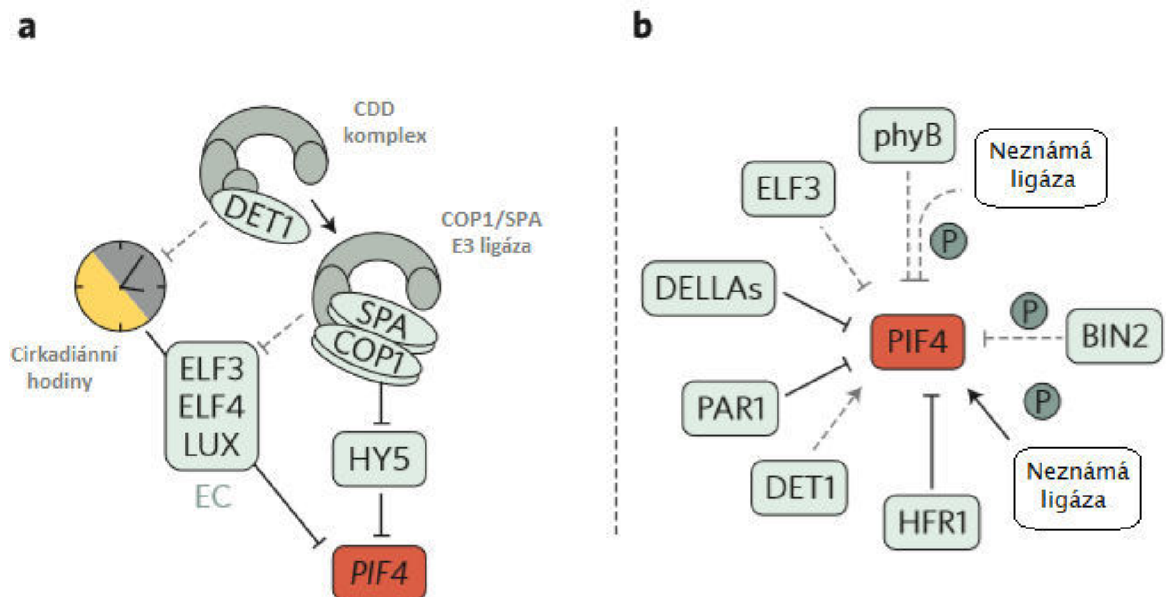
V souvislosti s cirkadiánními hodinami dochází k potlačování tzv. evening komplexů (EC), které zahrnují proteiny EARLY FLOWERING 3,4 (ELF3, ELF4) a LUX. Důležitým proteinem se zdá být ELF3, který při stinných podmínkách reguluje prodlužování hypokotylu (Jiménez-Gómez *et al.*, 2010). Z měření fyziologických parametrů a genové exprese vyplývá, že ELF3 je inhibítozem transkripčního faktoru PIF4 (Rashke *et al.*, 2015). Tyto výsledky se s drobnými odchylkami shodují s výsledky práce Box *et al.* z téhož roku. V této práci bylo analyzováno více ekotypů *A. thaliana* a prokazuje, že ELF3 vykazuje odlišné typy přirozeně se vyskytujících polymorfismů na úrovni kódování proteinů a exprese genu. Různé polymorfismy vedou k nestejnému prodlužování hypokotylů v důsledku zvýšené teploty, nejméně výraznou odpověď měl například ekotyp Col-0 (Box *et al.*, 2015). Z výsledků obou prací je patrné, že ELF3 je důležitým proteinem v termomorfogenezi.

Regulace pomocí komplexu DET1-COP1-HY5 je závislá na teplotě a světle. Na buněčné úrovni se DET1 spojuje s COP10 a DEMAGED DNA BINDING PROTEIN 1 (DDB1) do komplexu CUL4-DDB1 E3 ubikvitin ligázy CUL4-DDB1^{COP10-DET1} (CDD) (Yanagawa *et al.*, 2004). CDD komplex zvyšuje aktivitu komplexu CUL4-DDB1-COP1-SUPPRESSOR OF PHYTOCHROME A-105 E3 ubikvitin ligázy (COP1/SPA) (Nixdorf *et al.*, 2010). COP1/SPA má schopnost inhibovat HY5, který je negativním regulátorem elongace. Modulace hladiny HY5 probíhá prostřednictvím jeho proteasomální degradace, což vede k potlačení fotomorfogeneze a prodlužování hypokotylů ve tmě (Oyama *et al.*, 1997). Hladina proteinu HY5 se zvyšuje v chladných podmínkách (Catalá *et al.*, 2011) a snižuje při zvýšené teplotě (Toledo-Ortiz *et al.*, 2014). Při nízké teplotě je zvýšená hladina HY5 a zároveň se vylučuje COP1 z jádra (Catalá *et al.*, 2011), které potlačuje HY5 a vede tedy k prodloužení hypokotylů. HY5 inhibuje prodlužování hypokotylů buď přímou vazbou na geny v odpovědi na zvýšenou teplotu nebo vazbou na promotor PIF4 (Lee *et al.*, 2007), čímž inhibuje jeho expresi. Vazba na geny v odpovědi na teplotu je uskutečňována v úseku G-boxu, kde může být navázáno HY5, ale i PIF4. Tyto dva transkripční faktory mohou tím pádem soutěžit o stejná vazebná místa na genech v odpovědi na teplotu a vytvářet tak dynamický modul aktivace a inhibice transkripce těchto genů (Delker *et al.*, 2014). Všechny výše zmiňované kroky lze zahrnout do celistvé regulační kaskády DET1-COP1-HY5, která reguluje transkripci PIF4 při zvýšené teplotě (viz obr. č. 13a).

V rámci posttranslačních úprav upravuje hladinu PIF4 mnoho faktorů (viz obr. č. 13b).

Významným regulátorem jsou fytohormony, konkrétně brassinosteroidy a gibereliny. Při snížené hladině brassinosteroidů mohou kinázy BIN2 fosforylovat PIF4 během dne. Fosforylací je funkce PIF4 přes den omezena (Bernardo-García *et al.*, 2014). Gibereliny působí na PIF4 v rámci postranlačních úprav prostřednictvím proteinu DELLA. Bylo zjištěno, že DELLA proteinový represor GA (RGA) se váže na transkripční aktivátory PIF3 a PIF4 a tím zabraňuje jejich transkripční aktivitě (de Lucas *et al.*, 2008).

K inhibici PIF4 postranlačními úpravami dochází nejen fosforylací prostřednictvím BIN2, ale i přímou interakcí s fytochromy, konkrétně je fosforylováno fytochromem B (phyB). PhyB se podílí na tvorbě fototělísek (Kaiserli *et al.*, 2015). Fototělíška jsou útvary lokalizované v jádře a jejich funkcí je integrace světelného signálu a cirkadiánních hodin (Van Buskirk *et al.*, 2012). PIF4 má schopnost funkci fototělísek inhibovat. PIF se váže na tělíška a spouští jejich fosforylací a následnou degradaci ve světle (Al-Sady *et al.*, 2006). PIF4 má však schopnost se fosforylací vyvarovat, a to interakcí s proteinem DET1. Vazbou DET1 na PIF4 dochází ke stabilizaci PIF4, které nemůže být fosforylací degradováno (Shi *et al.*, 2015).



Obrázek č. 13: Regulace transkripce PIF4 (a), posttranslační regulace PIF4 (b). Upraveno dle Quint *et al.*, 2016.

5. Vliv zvýšené teploty na hladinu rostlinných hormonů a jejich signalizaci

Zvýšená teplota reguluje fyziologické procesy v rostlinách nejen přímým působením, ale má vliv i nepřímo, a to prostřednictvím regulace hladin rostlinných hormonů.

5.1. Interakce zvýšené teploty a auxinů

Auxiny jsou známé svým vlivem na prodlužování buněk v rostlinném těle. Jednou z prvních prací, která se zabývala mimo jiné vlivem zvýšené teploty na signální dráhy auxinů a reakce auxinů na zvýšenou teplotu, byla práce W.M. Gray (1998). V této práci byl sledován růst semenáčků *A. thaliana* při teplotách 20 a 29°C. Semenáčky rostoucí při vyšší teplotě vykazovaly výrazné prodloužení hypokotylů a řapíků a celkově rychlejší vývoj rostlin, například u postranních kořenů a nových listů byl zaznamenán jejich časnější růst o 1 až 2 dny dříve oproti semenáčkům rostoucím při 20 °C. Výzkum byl zaměřen také na etiolované semenáčky, kdy bylo prokázáno, že semenáčky rostoucí ve tmě za zvýšené teploty, neměly prodloužené hypokotyly. Tento výsledek poukazuje nejen na teplotní, ale i na světelnou závislost při prodlužování hypokotylu a možnost, že tyto dva abiotické vlivy mohou nějakým způsobem společně nebo antagonisticky ovlivňovat růst rostlin (Gray *et al.*, 1998). Za prodlužování hypokotylu v reakci na zvýšenou teplotu jsou zodpovědné auxiny. U semenáčků rostoucích při zvýšené teplotě 29 °C byly naměřeny vyšší hladiny IAA než u semenáčků rostoucích při 20 °C. Zvýšená hladina auxinů s největší pravděpodobností způsobila prodloužení hypokotylů (Gray *et al.*, 1998). Tuto skutečnost potvrzují i experimenty s transgenními rostlinami *pIAA4-GUS*, které jsou obohaceny o auxin-indukční reportéry *pIAA4-GUS*. U těchto rostlin byly zaznamenány při vyšší teplotě vyšší hladiny auxinů a výsledky poukazují na zapojení signálních drah auxinů (Gray *et al.*, 1998).

Jedním ze způsobů, jak teplota ovlivňuje hladinu auxinů, je působení transkripčního faktoru PIF4 (Stavang *et al.*, 2009a). PIF4 nasedá na promotory genů zapojených do biosyntézy auxinů, konkrétně geny *YUCCA 8 (YUC8)*, *CYTOCHROME P450 FAMILY 79B (CYP79B)* a *TRYPTOPHAN AMINOTRANSFERASE OF ARABIDOPSIS 1 (TAA1)* (Franklin *et al.*, 2011; Sun *et al.*, 2012). Indukce signalizace auxinů může vést ke zvýšení hladin signálních proteinů TIR1/AFB, které indukují transkripci genů *SMALL AUXIN*

UP RNA (SAUR), konkrétně *SAUR 19-24* a *SAUR 61-68*. Tyto geny regulují prodlužování buněk pomocí zvýšení aktivity protonové pumpy na plazmatické membráně. Auxiny ovlivňují prodloužení buněk i působením na expresi genů *EXPANSIN* a *XTH*, která vede ke zvyšování hladin enzymů expansin a XTH (Champman *et al.*, 2012) (viz. obr. č. 14).

5.2. Interakce zvýšené teploty a giberelinů

Mezi nejčastější fyziologické projevy giberelinů patří stimulace růstu stonku, klíčení semen, prodlužování hypokotylu a vliv na generativní růst rostlin. Právě prodlužování hypokotylu je jedním z projevů termomorfogeneze, na kterém se podílí jak auxiny a brassinosteroidy, tak gibereliny (Stavang *et al.*, 2009a). Aplikace paklobutrazolu, inhibitoru GA biosyntézy, zapříčinila, že se se zvyšující hladinou paklobutrazolu snižovala reakce na zvýšenou teplotu v podobě neprodužování hypokotylu v porovnání s kontrolními rostlinami. Podobné výsledky byly zjištěny u mutantní linie *ga1-3*, což prokázalo, že prodlužování hypokotylu v reakci na zvýšenou teplotu je závislé na GA (Stavang *et al.*, 2009a).

Pro zjištění, na jaké úrovni je hladina GA zvýšenou teplotou regulována, byla měřena míra exprese genů zapojených do biosyntézy GA, metabolismu GA a také hladina proteinu DELLA, který je inhibítozem signalizace GA (Stavang *et al.*, 2009a). Měření exprese genů zapojených do biosyntézy GA prokázalo zvýšenou expresi genů *AtGA20ox1* a *AtGA3ox1* v hypokotylech rostlin rostoucích při 29°C oproti rostlinám rostoucím při nižší teplotě 20°C (Stavang *et al.*, 2009a). Geny *AtGA20ox1* a *AtGA3ox1* působí indukčně v biosyntéze GA. Pro potvrzení faktu, že teplota zvyšuje hladiny GA na úrovni biosyntézy byl proveden experiment s mutantními rostlinami v těchto genech označených markerovým proteinem GUS. Za zvýšené teploty byla prokázána zvýšená hladina GA modrým zbarvením rostlin pomocí proteinu GUS (Stavang *et al.*, 2009a).

Teplota však může působit i na signalizaci GA. Tato skutečnost byla potvrzena experimentem s transgenními rostlinami v DELLA proteinu, které byly značeny markerovým proteinem GFP. Působením zvýšené teploty protein GFP ubýval, což značí i úbytek DELLA proteinů. Zda je úbytek DELLA proteinů způsoben přímým vlivem teploty bylo prokázáno dalším experimentem s transgenními rostlinami, které měly blokovanou

biosyntézu GA. Při zvýšené teplotě se nesnižovala hladina DELLA. Na základě těchto výsledků je zřejmé, že hladina proteinů DELLA není snižována přímo teplotou, ale zvyšující se hladinou GA, kterou indukuje zvýšená teplota (Stavang *et al.*, 2009a).

Později byla tato data potvrzena měřením bioaktivních hladin giberelinů GA1 u rostlin rostoucích za snížené denní teploty. Bylo prokázáno, že hladina aktivních GA1 závisí na teplotě (Stavang *et al.*, 2009b).

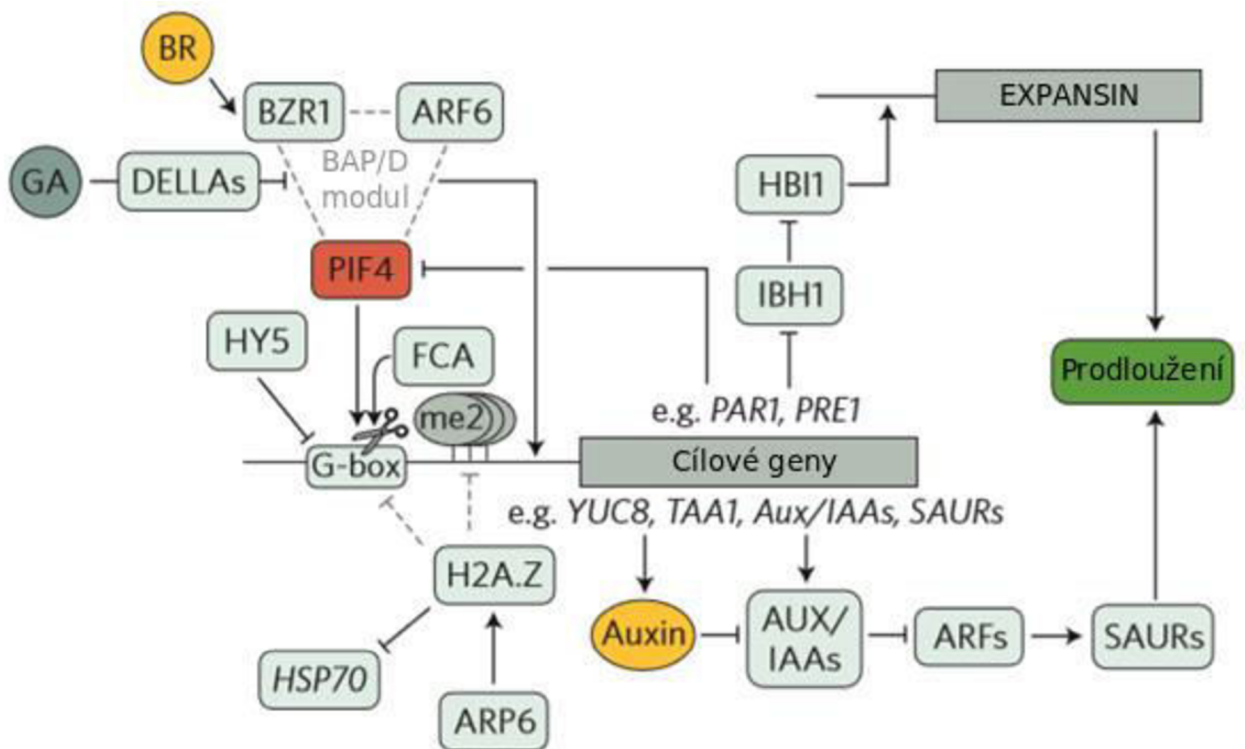
5.3. Interakce zvýšené teploty a brassinosteroidů

Brassinosteroidy působí v rostlinném těle na mnoho fyziologických a morfologických aspektů. Tyto fytohormony oddalují senescenci, způsobují hyperpolarizaci membrán, stimulují aktivitu ATPáz, mění orientaci kortikálních mikrotubulů, stimulují diferenciaci tracheálních elementů a v neposlední řadě podobně jako auxiny a gibereliny podporují epikotylové a hypokotylové prodloužení (Clouse, 2011). Hypokotylové prodloužení je jedním z projevů termomorfogeneze a je taktéž regulováno brassinosteroidy v odpovědi na zvýšenou teplotu (Stavang *et al.*, 2009a).

Zvýšená teplota působí jak na biosyntézu brassinosteroidů, tak na jejich signalizaci. Zvýšením teploty dochází ke zvýšení exprese genů *CPD* a *DWF4*, které jsou zapojeny do biosyntézy BR (Stavang *et al.*, 2009a). Působení na biosyntézu bylo také prokázáno experimentem, kdy byly zkoumány fenotypy termomorfogenních mutantních rostlin *okapi (opi)*. Tyto mutantní rostliny vykazovaly při zvýšené teplotě 29°C zkrácené hypokotylы oproti kontrolním rostlinám, byla v nich potlačena termomorfogeneze, avšak nebylo známo, jakým způsobem byla termomorfogeneze blokována. Mapováním genových sekvencí bylo odhaleno, že mutantní rostliny *opi3* mají mutace v sekvencích kódujících geny *DWF7*, *STE1*, *BUL1*, které jsou zapojeny do biosyntézy BR (Ibañez *et al.*, 2018). V mutantních rostlinách *opi7* byly odhaleny mutace v genu *ROT3/CYP90C*, který se zapojuje do biosyntézy BR ve fázi konverze tympasterolu na kastasteron (Ibañez *et al.*, 2018).

Měřením poměru defosforylovaných (aktivních) a fosforylovaných (neaktivních) forem signálních proteinů BZR1 a BES1 v hypokotylech *A.thaliana* rostoucí při zvýšené teplotě, byl prokázán vyšší poměr aktivních forem těchto proteinů. Teplota tedy

působí na signalizační proteiny BZR1 a BES1 (Stavang *et al.*, 2009a). Důležitým signalizačním proteinem se zdá být BZR1, který za zvýšené teploty interaguje s transkripčním faktorem PIF4. Dle výsledků práce Ibañez (2018) BZR1 reguluje transkripci PIF4 a tím se stávají BR nezbytné v termomorfogenní odpovědi.



Obrázek č. 14: Schéma regulace signálních drah fytohormonů v termomorfogenní odpovědi. Upraveno dle Quint *et al.*, 2016.

6. Interakce fytohormonů, transkripčních faktorů a teploty v regulaci růstu rostlin ve vegetativní fázi

Zvýšená teplota může růst rostlin ovlivňovat svým přímým působením, nepřímým působením na fytohormony, jak již bylo uvedeno v předešlé kapitole, či regulací růstu v rámci složitějších mechanismů. Detailnější analýzy prokázaly, že hormony a jejich signální dráhy nepůsobí nezávisle, ale mohou se vzájemně ovlivňovat, indukovat či inhibovat své účinky. Do těchto interakcí se zapojují nejen fytohormony, ale je zde zahrnuto působení dalších vnitřních a vnějších činitelů, kterými jsou transkripční faktory, působení tepla a světla. Všichni tito činitelé se podílí na regulaci transkripce genů, translace proteinů a posttranslačních úprav vedoucích k termomorfogenní fenotypové odpovědi rostlin.

6.1. Termomorfogenní projev: prodlužování hypokotylu

6.1.1. BAP/D modul

Jedním z nejvýznamnějších mechanismů rostlin v odpovědi na teplo je unikátní BAP/D modul. Název BAP/D je složen z počátečních písmen hlavních komponentů tohoto modulu, kterými jsou BZR1, ARF6, PIF4 a DELLA. Tento modul popisuje jedinečné propojení auxinů, brassinosteroidů, giberelinů a teploty, jehož výsledkem je regulace růstu hypokotylu. Existence a popis modulu byl poprvé uveden v práci Oh (2014).

V dostupných informacích o vlivu teploty na rostlinné hormony s následným termomorfogenním projevem prodloužení hypokotylu figurovali zejména fytohormony auxiny, brassinosteroidy a gibereliny a transkripční faktor PIF4. Pro nalezení společných interakcí mezi těmito látkami byly provedeny genomové analýzy cílových genů vybraných transkripčních faktorů. Zkoumanými transkripčními faktory zapojenými do auxinových drah byly ARF, kdy se jako nejvhodnější kandidát jevil ARF6, který reguluje prodlužování hypokotylu. Dále byly analyzovány transkripční faktory BZR1 zapojené do drah brassinosteroidů a PIF4. V genomu *Arabidopsis* mělo ARF6 celkem 2037 vazebných míst, která byla spojena s 2675 geny, které představují cílové geny ARF6. Vazebné cíle ARF6 zahrnovaly 40 genů z celkového počtu 49 genů indukovaných auxinem (Champman *et al.*, 2012) a pouze 1 z 16 genů, které inhibují odpověď na auxiny.

Z výsledků vyplynulo, že ARF6 má funkci transkripčního aktivátoru genů zapojených do auxinové odpovědi, kterými jsou například *Aux/IAA*, *PIN*, *PINOID* a také genů podporujících prodlužování buněk: *SAUR*, *PRE*, *BIM1*, *BEE1*, *HAT2*. Srovnáním vazebných cílů ARF6 s cíli BZR1 a PIF4 byla stanovena jejich míra překryvu. Vazebné cíle ARF6 se s BZR1 překrývaly v 51 %, s PIF4 v 71 % a míra překryvu všech tří analyzovaných faktorů byla 42 %. Tyto výsledky naznačují, že se tyto tři faktory vážou na velmi blízké geny, což zvyšuje možnost přímých interakcí mezi nimi. (Oh *et al.*, 2014). Na základě jiných experimentů bylo odhaleno, že BZR1 a PIF4 tvoří heterodimer (Oh *et al.*, 2012). Interagují společně prostřednictvím domén vázajících DNA a N-terminální domény PIF4 (Oh *et al.*, 2012). Heterodimer PIF4-BZR1 má hlavní funkci v aktivování genů, které se podílí na prodlužování buněk a zároveň potlačuje transkripční cesty pro vývoj chloroplastů. Heterodimer reguluje transkripční faktory GLK1 a GLK2 (Oh, 2012), které jsou klíčovými transkripčními faktory regulujícími fotosyntetický aparát (Waters *et al.*, 2009). Prodlužování hypokotylu probíhá pomocí BR signalizace nebo aktivací dalších transkripčních faktorů z rodiny HLH viz. podkapitola 6.1.2. (Oh *et al.*, 2012).

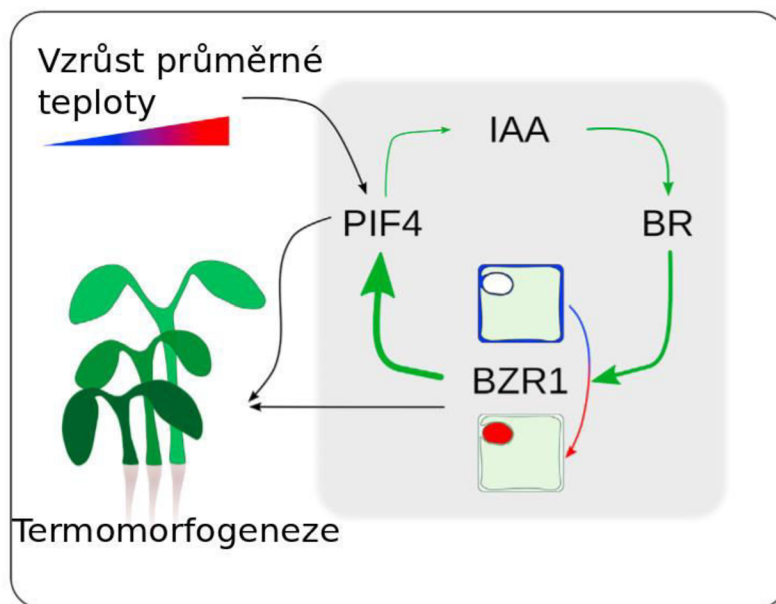
Prostřednictvím svých C-terminálních a středních domén interaguje ARF6 s C-terminální doménou BZR1 a s bHLH doménou PIF4. Interakce BZR1 s PIF4 zvyšuje schopnost ARF6 se navázat na cílovou DNA a také indukuje vazbu ARF6 na PIF4. BZR1, PIF4, ARF6 vzájemně regulují expresi velkého počtu genů a integrují BR, světlo a auxinové signály do společného transkriptomu. Jsou tedy schopny ovlivňovat růstové procesy samostatně či v kombinaci s ostatními členy této trojice. Všechny transkripční faktory mají zpětnovazebnou inhibici vlastních signalizačních drah, ale i křížové aktivace biosyntetických cest svých partnerů. Každá jejich negativní zpětná vazba reguluje jejich vlastní biosyntézu. (Oh *et al.*, 2014)

Vzhledem k tomu, že je známo, že gibereliny jsou podobně jako auxiny a brassinosteroidy zapojeny do termomorfogenních odpovědí na zvýšenou teplotu, byla snaha zařadit i gibereliny do BAP modulu. Významným negativním regulátorem hladiny giberelinů je DELLA protein. DELLA protein je schopen deaktivovat transkripční faktory BZR1 a PIF4 (de Lucas *et al.*, 2008). Také interaguje s transkripčním faktorem ARF6, kdy je schopen blokovat jeho vazbu na cílovou DNA. Interakcí s ARF6 je schopen inhibovat jeho vazbu na PIF4. Protein DELLA inhibuje interakce protein-DNA a protein-protein v

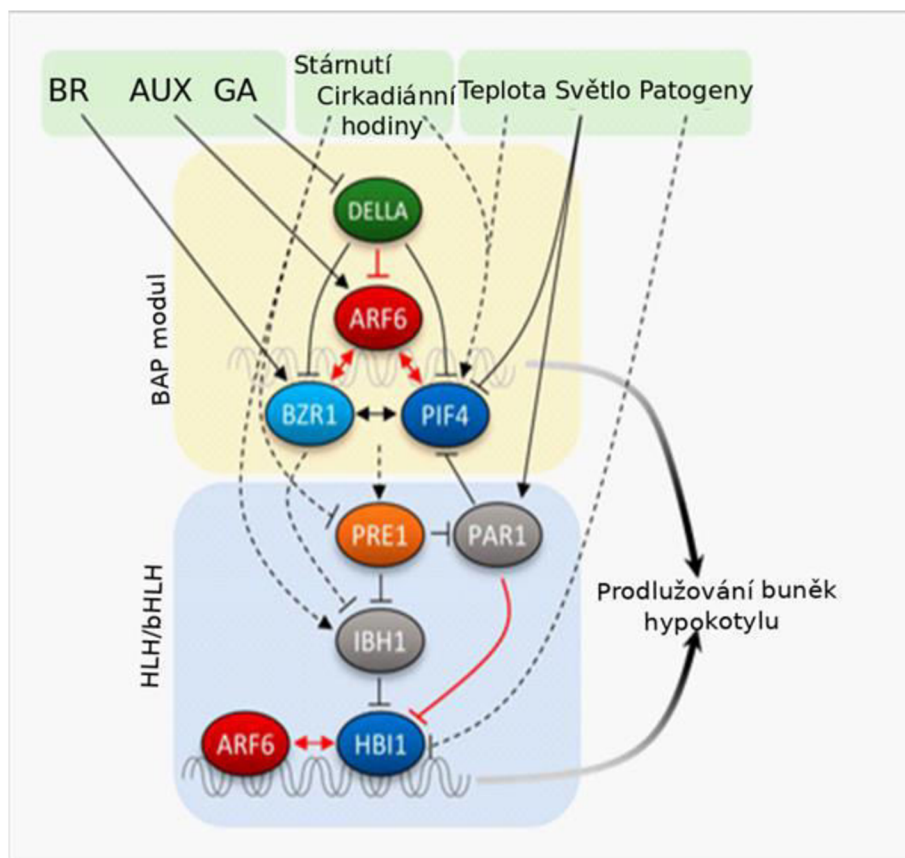
modulu BAP a poskytuje tím koordinovanou a kontrolu všech tří složek modulu BAP. BAP modul je tedy rozšířen o protein DELLA a nazván BAP/D modulem. (Oh *et al.*, 2014)

Modul na základě zmíněných vlastností tvoří ojedinělou centrální síť v regulaci růstu, která zahrnuje tři skupiny fytohormonů a vnější vlivy v podobě zvýšené teploty a světla (viz. obr. č. 16).

Dle nejnovějších poznatků týkající se transkripčního faktoru PIF4 byla objevena „smyčka“ mezi auxiny, brassinosteroidy a PIF4, která amplifikuje PIF4 signalizaci (Ibañez, 2018). Zvýšená teplota zvyšuje pomocí PIF4 hladinu auxinů, které interagují s brassinosteroidy. V reakci na interakci AUX a BR se transkripční faktor BZR1 stává aktivním svým přesunem z cytosolu do jádra. Aktivní BZR1 zahajuje transkripci genů způsobujících pozitivní termomorfologickou odpověď a zároveň pozitivně reguluje expresi PIF4, čímž zvyšuje jeho hladinu. Tímto mechanismem si PIF4 za zvýšené teploty sám reguluje svou hladinu a zároveň zvládá plnit svou úlohu při transkripci genů zapojených do termomorfogeneze (viz. obr. č. 15). (Ibañez *et al.*, 2018).



Obrázek č. 15: Mechanismus amplifikace PIF4 odpovědi. Upraveno dle Ibañez *et al.*, 2018.



Obrázek č. 16: Vazby jednotlivých kompartmentů BAP/D a HLH/bHLH modulu. Upraveno dle Oh *et al.*, 2014.

6.1.2. HLH/bHLH modul

Kromě významného BAP/D modulu existují i další složité mechanismy v regulaci odpovědi rostlin na teplotu. Jedním z nich je HLH/bHLH modul, který navazuje na BAP/D modul. HLH/bHLH modul zahrnuje proteiny z rodiny HLH: PACLOBUTRAZOL-REZISTANT 1 (PRE1), PHYTOCHROME RAPIDLY REGULATED 1 (PAR1) a bHLH: ILI1-BINDING BHLH 1 (IBH1), HOMOLOG OF BEE2 INTERACTING WITH IBH1 (HBI1) a transkripční faktor ARF6 (viz. obr. č. 16; Oh *et al.*, 2014). Proteiny bHLH jsou jednou z největších skupin transkripčních faktorů u eukaryot. Pro rostlinu *A. thaliana* je jich známo 170 (Carratero-Paulet *et al.*, 2010). Tvoří homodimery nebo heterodimery prostřednictvím HLH domény a vážou se na specifické sekvence DNA známé jako E-boxy nebo G-boxy (Toledo-Ortiz *et al.*, 2003).

Interakce BZR1 a PIF4 (součást BAP/D modulu), která podporuje prodlužování buněk, reguluje expresi genů *PRE* (Oh *et al.*, 2014). *PRE* je pozitivním regulátorem růstu a odpovědi na fytohormony GA (Lee *et al.*, 2006), BR, AUX, světlo a teplo (Oh *et al.*, 2012;

Chapman *et al.*, 2012). U *Arabidopsis* rozlišujeme celkem 6 PRE proteinů: PRE1/BNQ1, PRE2/BNQ3, PRE3/ ATBS1/TMO7, PRE4/BNQ3, PRE5 a PRE6/KDR (Bai *et al.*, 2012). Transkripce genů *PRE1*, *PRE5* a *PRE6* je indukována vysokou teplotou, a naopak inhibována světlem (Oh *et al.*, 2012). Tyto geny jsou cílovými geny transkripčních faktorů BZR1 (regulace brassinosteroidy) a PIF4 (regulace teplotou a světlem) (Oh *et al.*, 2012). Exprese těchto genů je nepřímo regulována i gibereliny. Při nízké hladině GA se zvyšuje hladina proteinu DELLA, inaktivuje heterodimer BZR1-PIF4, která reguluje expresi genů *PRE*.

HBI1 je také pozitivním regulátorem prodlužování buněk v reakci na BR, GA, teplotu a světlo. Protein HBI1 má domény, které se mohou vázat na G-box DNA a tím regulovat transkripci genů. Má schopnost se vázat přímo na promotory *EXPANSINU* a aktivovat jej. *EXPANSIN* má schopnost prodlužovat buňky, v případě HBI1 buňky hypokotylu a řapíku, rozvolněním buněčné stěny. (Bai *et al.*, 2012)

Dalším transkripčním faktorem zapojeným do tohoto modulu je IBH1. IBH1 nemá doménu pro vazbu na DNA, funguje tedy jako heterodimer s jiným transkripčním faktorem, který má schopnost se na DNA navázat. Váže se pomocí AS domény na HBI1 a touto vazbou jeho funkci inhibuje. IBH1 je negativním regulátorem prodlužování buněk. HBI1 může být aktivováno proteinem PRE1. PRE1 stejně jako IBH1 nemá doménu pro vazbu na DNA a váže se na jiné transkripční faktory. Jedním z jeho vazebných párů je IBH1. Vazbou PRE1 na IBH1 brání PRE1 vazbě IBH1 na HBI1. Těmito vzájemnými vazbami tvoří PRE, IBH1 a HBI1 řetězec antagonistických přepínačů, které regulují prodlužování buněk v reakci na řadu endogenních a exogenních signálů, kterými jsou AUX, BR, GA, teplota a světlo (Oh *et al.*, 2014).

Do této regulační kaskády je také zapojen protein PAR1, který interaguje s PRE1. Interakcí PRE1 s PAR1 dochází k inhibici PAR1. Při snížené intenzitě světla je transkripce PAR1 indukována PIF4 (Oh *et al.*, 2012). PAR1 má schopnost tlumit auxinovou odpověď přímou inaktivací transkripčních faktorů bHLH (Oh *et al.*, 2014), například je inhibátorem PIF4 (de Lucas *et Prat*, 2014).

Do modulu HLH/bHLH zasahuje i transkripční faktor ARF6 z BAP/D modulu, který interaguje s HBI1. ARF6 plní funkci ko-transkripčního regulátoru (Oh *et al.*, 2014).

6.2. Termomorfogenní projev: prodlužování kořene

Dalším důležitým termomorfogenním projevem je prodlužování délky kořenů. Dochází k prodlužování především hlavního kořene, a to prostřednictvím prodlužování buněk kořene, nikoliv zvětšeném počtu buněk v kořenové části (Martins *et al.*, 2017). Prodlužování kořenů má pravděpodobně odlišný mechanismus než prodlužování hypokotylů. Hlavním regulačním fytohormonem pro prodlužování hypokotylů jsou auxiny, není tomu však u kořenů, kde je hladina auxinů omezena a hlavní roli v prodlužování přebírají pravděpodobně brassinosteroidy (Martins *et al.*, 2017).

Brassinosteroidy ovlivňují odpovědi kořenů na zvýšenou teplotu pozitivně i negativně v závislosti na způsobu kultivace rostlin. K prodlužování kořenů dochází jak při krátkodobém, tak i při dlouhodobém zvýšení teploty. Do regulace prodlužování kořenů jsou zapojeny transkripční faktory BZR1, BES1 a receptorový protein BRI1 (Martins *et al.*, 2017).

Prodlužování kořenů při zvýšené teplotě je způsobeno mírou signalizace brassinosteroidů v kořeni. BRI1 je negativním regulátorem růstu kořenů, a tudíž jeho degradací dochází k prodloužení kořenových buněk (Martins *et al.*, 2017). Tato skutečnost byla potvrzena experimentem s mutantními rostlinami *bri1* s mutacemi v signalizaci BR. Mutantní rostliny *bri1* při teplotě 21 °C vykazovaly kratší kořeny než kontrolní rostliny, při zvýšené teplotě 26 °C však došlo k jejich výraznému prodloužení (Martins *et al.*, 2017). Výsledky experimentů s mutantními rostlinami *det2* a *dwf4* s mutacemi v genech pro biosyntézu BR naznačují, že změna v biosyntéze BR nemá vliv na prodlužování kořenů při zvýšené teplotě a proces je regulován zejména na úrovni signalizace (Martins *et al.*, 2017).

7. Závěr

Vědecké poznatky se na poli rostlinné fyziologie za posledních 20 let posunují mílovými kroky. Jednou z kapitol rostlinné fyziologie jsou rostlinné hormony, které regulují mnoho fyziologických procesů. V současné době jsou známy jejich funkce, biosyntetické a signalizační procesy a informace o jejich interakcích. Samostatně ale i ve vzájemné kooperaci zprostředkovávají reakce na působení vnějších a vnitřních vlivů a regulují odpověď rostlin na tyto podněty. Regulační mechanismy jsou však velmi složité a, i když jsou v současné době některé velmi dobře prostudovány, stále existuje mnoho drah, proteinů a interakcí, o jejichž existenci zatím ani nemusíme být obeznámeni.

Jedním z důležitých vnějších vlivů působících na rostliny je teplota. Téma teploty je v dnešní době velmi aktuální téma, a to z důvodu globálního oteplování. Na celé planetě se pomalu zvyšuje průměrná teplota atmosféry, která působí nejen na tání ledovců, ale i na živé organismy. Rostliny se se změnou okolních podmínek vyrovnávají pomocí fyziologických mechanismů a postupně se přizpůsobují. Je známo, že mírné zvýšení teploty (např. pro modelovou rostlinu *A.thaliana* do 29°C) na rostliny nepůsobí stresově a dokáží se této teplotě přizpůsobit bez toho, aniž by výrazně strádaly. Vliv zvýšené teploty však s sebou často přináší snížení produkce zemědělských plodin. Tento fakt by mohl mít pro lidskou populaci nepříjemné následky, a nejen z tohoto důvodu je potřeba zkoumat, jakým způsobem se rostliny teplotě přizpůsobují. Odhalením podrobných mechanismů v odpovědi na teplotu získáváme informace o tom, jakým způsobem rostlina v těchto podmínkách funguje. Tyto informace jsou velmi cenné pro budoucí šlechtění rostlin a ovlivňování jejich výnosů.

Dalším důležitým vnějším vlivem je působení světla. Novější studie poukazují na fakt, že teplotní a světelné signály jsou spolu úzce spjaty a sdílí některé signální dráhy. Do budoucna by bylo vhodné nestudovat odděleně působení teploty a světla, ale v návaznosti na dostupné informace výzkumy propojit.

V souvislosti s tímto tématem jsou zkoumány především fytohormony auxiny, gibereliny a brassinosteroidy, které jsou dle dostupných informací významnými hormony v teplotní odezvě a na které je zaměřena i tato práce. Vzájemně tyto tři skupiny fytohormonů interagují a ovlivňují se. Jedním z unikátních mechanismů regulovaných zvýšenou

teplotou, který propojuje tyto tři skupiny a transkripční faktor PIF4 (důležitý v odpovědi na teplotu) je BAP/D modul. BAP/D modul v odpovědi na zvýšenou teplotu reguluje expresi mnoha proteinů, které regulují růst rostlin, významný je v prodlužování buněk hypokotylu. Na tento modul navazují další moduly a volně se k němu připojují i další látky s regulační aktivitou. Zajímavým faktem je, že doposud nebyly do studia těchto mechanismů zapojeny fytohormony cytokininy. O cytokininech je známo, že regulují odpověď rostlin na teplotní stres. V souvislosti se zvýšenou teplotou však nejsou prozatím v žádné studii uvedeny. Tato skupina hormonů tedy otevírá nové možnosti ve výzkumu dopadu zvýšené teploty na rostliny a mohla by být předmětem například pro diplomovou práci.

Seznam použité literatury

- Al-Sady, B., Ni, W., Kircher, S., Schäfer, E., Quail, P.H. (2006). Photoactivated phytochrome induces rapid PIF3 phosphorylation prior to proteasome-mediated degradation. *Mol. Cell*, **23**: 439–446.
- Bai, M.Y., Fan, M., Oh, E., Wang, Z.Y. (2012). A triple helix-loop-helix/basic helix-loop-helix cascade controls cell elongation downstream of multiple hormonal and environmental signaling pathways in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, **24**: 4917–4929.
- Ashraf, M., Harris, P.J.C. (2005). Abiotic Stresses: Plant Resistance Through Breeding and Molecular Approaches. *Food Products Press*, Michigan university, počet stran: 725. ISBN: 9781560229643.
- Bak, S., Tax, F.E., Feldmann, K.A., Galbraith, D.W., Feyereisen, R. (2001). CYP83B1, a cytochrome P450 at the metabolic branch point in auxin and indole glucosinolate biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, **13**: 101–111.
- Bartel, B., Fink, G.R. (1994). Differential regulation of an auxin-producing nitrilase gene family in *Arabidopsis thaliana*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**: 6649–6653.
- Benjamins, R., Scheres, B. (2008). Auxin: the looping star in plant development. *Plant Biol.*, **59**: 443-465.
- Bernardo-García, S., de Lucas, M., Martínez, C., Espinosa-Ruiz, A., Davière, J.M., Prat, S. (2014). BR-dependent phosphorylation modulates PIF4 transcriptional activity and shapes diurnal hypocotyl growth. *Genes Dev.*, **28**: 1681–1694.
- Bolle, C. (2004). The role of GRAS proteins in plant signal transduction and development. *Planta*, **218**: 683-692.
- Box, M.S., Huang, B.E., Domijan, M., Jaeger, K.E., Khattak, A.K., Yoo, S.J., Sedivy, E.L., Jones, D.M., Hearn, T.J., Webb, A.A.R., Grant, A., Locke, J.C.W., Wigge P.A. (2015). ELF3 controls thermoresponsive growth in *Arabidopsis*. *Curr. Biol.*, **25**: 194–9.
- Calderón Villalobos, L. I. A., Lee, S., De Oliveira, C., Ivetac, A., Brandt, W., Armitage, L., Sheard, L. B., Tan, X., Parry, G., Mao, H., Zheng, N., Napier, R., Kepinski, S., Estelle, M.

- (2012). A combinatorial TIR1/AFB-Aux/IAA co-receptor system for differential sensing of auxin. *Nat. Chem. Biol.*, **8**: 477-485.
- Carretero-Paulet, L., Galstyan, A., Roig-Villanova, I., Martínez-García, J.F., Bilbao-Castro, J.R., Robertson, D.L. (2010). Genome-wide classification and evolutionary analysis of the bHLH family of transcription factors in *Arabidopsis*, poplar, rice, moss, and algae. *Plant Physiol.*, **153**: 1398–1412.
- Castillon, A., Shen, H., Huq, E. (2007). Phytochrome interacting factors: central players in phytochrome-mediated light signaling networks. *Trends Plant Sci.*, **12**: 514–521.
- Catalá, R., Medina, J., Salinas, J. (2011). Integration of low temperature and light signaling during cold acclimation response in *Arabidopsis*. *PNAS*, **108** (39): 16475-16480.
- Clouse, S.D. (2011). Brassinosteroids. *The Arabidopsis Book*, **9**: e0151.
- Covington, M. F., Panda, S., Liu, X.L., Strayer, C.A., Wagner, D.R., Kay, S.A. (2001). ELF3 modulates resetting of the circadian clock in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, **13**: 1305–1316.
- Crawford, A. J., McLachlan, D. H., Hetherington, A. M., Franklin, K. A. (2012). High temperature exposure increases plant cooling capacity. *Curr. Biol.*, **22**: R396–R397.
- Chaiwanon, J., Wang, W., Zhu, J.-Y., Oh, E., Wang, Z.-Y. (2016.) Information Integration and Communication in Plant Growth Regulation. *Cell*, **164**(6): 1257-1268.
- Challinor, A.J., Watson, J., Lobell, D.B., Howden, S.M., Smith, D.R., Chhetri, N. (2014). A meta-analysis of crop yield under climate change and adaptation. *Nat. Clim. Change*, **4**: 287-291.
- Champman, E.J., Greenham, K., Castillejo, C., Sartor, R., Bialy, A., Sun, T.-P., Estelle, M. (2012). Hypocotyl transcriptome reveals auxin regulation of growth-promoting genes through GA-dependent and -independent pathways. *PLOS ONE*, **7**(5): e36210.
- Chiang, H.H., Hwang, I., Goodman, H.M. (1995). Isolation of the *Arabidopsis* GA4 locus. *Plant Cell*, **7**: 195-201.
- Chung, Y., Choe, S. (2013). The Regulation of Brassinosteroid Biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant Sci.*, **32**(6): 396-410.

- Chuchvalcová L. (2012). Vliv teploty na vývoj rostlin: teplotní čas a jeho význam. Univerzita Karlova, p:34.
- Davière, J.M., Achard, P. (2013). Gibberellin signaling in plants. *Development*, **140**: 1147-1151.
- Davière, J.M., Achard, P. (2016). A Pivotal of DELLAs in Regulation Multiple Hormone Signals. *Mol. plant*, **9**(1): 10-20.
- de Lucas, M., Davière, J.M., Rodriguez-Falcon, M., Pontin, M., Iglesias-Pedraz, J.M., Lorrain, S., Essemine, J., Ammar, S., Bouzid, S. (2010). Effect of Temperature on Root and Shoot Development in Wheat Seedlings during Early Growth Stage. *Asian J. Plant Sci.*, **9**(6): 375-379.
- Delker, C., Sonntag, L., James, G.V., Janitza, P., Ibañez, C. (2014). The DET1–COP1–HY5 pathway constitutes a multipurpose signaling module regulating plant photomorphogenesis and thermomorphogenesis. *Cell Rep.*, **9**: 1983–1989.
- Doyle, S.M., Diamond, M., McCabe, P.F. (2010). Chloroplast and reactive oxygen species involvement in apoptotic-like programmed cell death in Arabidopsis suspension cultures. *J. Exp. Bot.*, **61**(2): 473–482.
- Fankhauser, C., Blazquez, M.A., Titarenko, E., Prat, S. (2008). A molecular framework for light and gibberellin control of cell elongation. *Nature*, **451**: 480–484.
- Facchini, P.J., Huber-Allanach, K.L., Tari, L.W. (2000). Plant aromatic L-amino acid decarboxylases: Evolution, biochemistry, regulation, and metabolic engineering applications. *Phytochemistry*, **54**: 121–138.
- Fahey, J.W., Zalcman, A.T., Talalay, P. (2001). The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry*, **56**: 5–51.
- Franklin, K.A., Lee, S.H., Patel, D., Kumar, S.V., Spartz, A.K., Gu, C., Ye, S., Yu, P., Breen, G., Cohen, J.D., Wigge P.A., Gray W.M. (2011). Phytochrome-interacting factor 4 (PIF4) regulates auxin biosynthesis at high temperature. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**: 20231–20235.

- Fujioka, S., Yokota, T. (2003). Biosynthesis and metabolism of brassinosteroids. *Annu Rev. Plant. Biol.*, **54**: 137–164.
- Gray, W.M., Ostin, A., Sandberg, G., Romano, C.P., Estelle, M. (1998). High temperature promotes auxin-mediated hypocotyl elongation in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**: 7197–7202.
- Gray, S.B., Brady, S.M., (2016). Plant developmental responses to climate change. *Dev. Biol.*, **419**: 64-77.
- Guilfoyle T. J. (2015). The PB1 domain in auxin response factor and Aux/IAA proteins: a versatile protein interaction module in the auxin response. *Plant Cell*, **27**: 33-43.
- Han, M., Park, Y., Kim, I., Kim, E.H., Yu, T.K., Rhee, S., Suh, J.Y. (2014). Structural basis for the auxin-induced transcriptional regulation by Aux/IAA17. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **111**: 18613-18618.
- Hayat, S., Ahmad, A. (2011). Brassinosteroids: A Class of Plant Hormone. *Springer*, Nizozemsko, počet stran: 462. ISBN: 978-94-007-0189-2.
- He, J.X., Gendron, J.M., Sun, Y., Gampala, S.S., Gendron, N., Sun, C.Q., Wang, Z.Y. (2005). BZR1 is a transcriptional repressor with dual roles in brassinosteroid homeostasis and growth responses. *Science*, **307**: 1634-1638.
- Hedden, P., Phillips, A.L. (2000). Gibberellin metabolism: new insights revealed by the genes. *Trends Plant Sci.*, **5**: 523-530.
- Helliwell, C.A., Sheldon, C.C., Olive, M.R., Walker, A.R., Zeevaart, J.A.D., Peacock, W.J., Dennis, E.S. (1998). Cloning of the *Arabidopsis ent*-kaurene oxidase gene GA3. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**: 9019-9024.
- Ibañez, C., Delker, C., Martinez, C. (2018). Brassinosteroids Dominate Hormonal Regulation of Plant Thermomorphogenesis via BZR1. *Curr. Biol.*, **28**: 1-8.
- Jiménez-Gómez, J.M., Wallace, A.D., Maloof, J.N. (2010). Network analysis identifies ELF3 as a QTL for the shade avoidance response in *Arabidopsis*. *PLoS Genet.*, **6**: e1001100.

- Kagale, S., Rozwadowski, K. (2011). EAR motif-mediated transcriptional repression in plants: an underlying mechanism for epigenetic regulation of gene expression. *Epigenetics*, **6**: 141-146.
- Kim, T.W., Guan, S., Burlingame, A.L., Wang, Z.Y. (2011). The CDG1 kinase mediates brassinosteroid signal transduction from BRI1 receptor kinase to BSU1 phosphatase and GSK3-like kinase BIN2. *Mol. Cell*, **43**: 561-571.
- Kim, T.W., Guan, S., Sun, Y., Deng, Z., Tang, W., Shang, J.X., Burlingame, A.L., Wang, Z.Y. (2009). Brassinosteroid signal transduction from cell-surface receptor kinases to nuclear transcription factors. *Nat. Cell Biol.*, **11**: 1254-1260.
- Korasick, D.A., Enders, T.A., Strader, L.C. (2013). Auxin biosynthesis and storage forms. *J. Exp. Bot.*, **64**: 2541–2555.
- Kumar, S.V., Wigge, P.A. (2010). H2A.Z-containing nucleosomes mediate the thermosensory response in *Arabidopsis*. *Cell*, **140**(1): 136-147.
- Lavy, M., Estelle, M. (2016). Mechanisms of auxin signaling. *Development*, **143**(18): 3226-9.
- Lee, J., He, K., Stolc, V., Lee, H., Figueroa, P., Gao, Y., Tongprasit, W., Zhao, H., Deng, X.W. (2007). Analysis of transcription factor HY5 genomic binding sites revealed its hierarchical role in light regulation of development. *Plant Cell*, **19**: 731-749.
- Lee, S., Yang, K.Y., Kim, Y.M., Park, S.Y., Kim, S.Y., Soh, M.S. (2006). Overexpression of PRE1 and its homologous genes activates Gibberellin-dependent responses in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.*, **47**: 591-600.
- Legris, M., Klose, C., Burgie, E.S., Rojas, C.C.R., Neme, M., Hiltbrunner, A., Wigge, P.A., Schäfer, E., Vierstra, R.D., Casal, J.J. (2016). Phytochrome B integrates light and temperature signals in *Arabidopsis*. *Science*, **354**: 897–900.
- Ljung, K., Bhalerao, R.P., Sandberg, G. (2001). Sites and homeostatic control of auxin biosynthesis in *Arabidopsis* during vegetative growth. *Plant J.*, **208**: issue 4.
- Ljung, K. (2013). Auxin metabolism and homeostasis during plant development. *Development*, **140**: 943-950.

Martins, S., Montiel-Jorda, A., Cayrel, A., Huguet, S., Paysant-Le Roux, Ch., Ljung, K., Vert, G., (2017). Brassinosteroid signaling-dependent root responses to prolonged elevated ambient temperature. *Nat. Comm.*, **8**(1): 309.

Mashiguchi, K., Tanaka, K., Sakai, T., Sugawara, S., Kawaide, H., Natsume, M., Hanada, A., Yaeno, T., Shirasu, K., Yao, H., McSteen, P., Zhao, Y., Hayashi, K., Kamiya, Y., Kasahara, H. (2011). The main auxin biosynthesis pathway in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**(45): 18512-7.

Mathur, J., Molnar, G., Fujioka, S., Takatsuto, S., Sakurai, A., Yokota, T., Adam, G., Voigt, B., Nagy, F., Maas, C., Schell, J., Koncz, C., Szekeres, M. (1998). Transcription of the *Arabidopsis CPD* gene, encoding a steroidogenic cytochrome P450, is negatively controlled by brassinosteroids. *Plant J.*, **14**: 593-602.

Mikkelsen, M.D., Hansen, C.H., Wittstock, U., Halkier, B.A. (2000). Cytochrome P450 CYP79B2 from *Arabidopsis* catalyzes the conversion of tryptophan to indole-3-acetaldoxime, a precursor of indole glucosinolates and indole-3-acetic acid. *J. Biol. Chem.*, **275**: 33712–33717.

Mittler, R., Finka, A., Goloubinoff, P. (2012). How do plants feel the heat? *Trends Biochem. Sci.*, **37**: 118–125.

Mizuno, T., Nomoto, Y., Oka, H., Kitayama, M., Takeuchi, A., Tsubouchi, M., Yamashino, T. (2014). Ambient temperature signal feeds into the circadian clock transcriptional circuitry through the EC night-time repressor in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.*, **55**: 958–976.

Murase, K., Hirano, Y., Hakoshima, T. (2008). Gibberellin-induced DELLA recognition by the gibberellin receptor GID1. *Nature*, **456**(7221): 459-63.

Nagata, N., Min, Y.K., Nakano, T., Asami, T., Yoshida, S. (2000). Treatment of dark-grown *Arabidopsis thaliana* with a brassinosteroid biosynthesis inhibitor, brassinazole, induces some characteristics of light-grown plants. *Planta*, **211**: 781-790.

Nakajima, M., Shimada, A., Takashi, Y., Kim, Y.C., Park, S.H., Ueguchi-Tanaka, M., Suzuki, H., Katoh, E., Iuchi, S., Kobayashi, M., Maeda, T., Matsuoka, M., Yamaguchi, I. (2006).

Identification and characterization of Arabidopsis gibberellin receptors. *Plant J.*, **46**: 880-889.

Nixdorf, M., Hoecker, U. (2010). SPA1 and DET1 act together to control photomorphogenesis throughout plant development. *Planta*, **231**: 825-833.

Nomoto, Y., Kubozono, S., Yamashino, T., Nakamichi, N., Mizuno, T. (2012). Circadian clock- and PIF4- controlled plant growth: a coincidence mechanism directly integrates a hormone signaling network into the photoperiodic control of plant architectures in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.*, **53**(11): 1950-1964.

Oh, E., Zhu, J.Y., Bai, M.-Y., Arenhart, R.A., Sun, Y., Wang, Z.Y. (2014). Cell elongation is regulated through a central circuit of interacting transcription factors in the *Arabidopsis* hypocotyl. *Elife* 3: e03031.

Oh, E., Zhu, J.Y., Wang, Z.Y. (2012). Interaction between BZR1 and PIF4 integrates brassinosteroid and environmental responses. *Nat. Cell Biol.*, **14**: 802–809.

Patten, C.L., Glick, B.R. (1996). Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. *Can. J. Microbiol.*, **42**: 207–220.

Oyama, T., Shimura, Y., Okada, K., (1997). The Arabidopsis HY5 gene encodes a bZIP protein that regulates stimulus-induced development of root and hypocotyl. *Genes Dev.*, **11**: 2983-2995.

Pavlová, L., Fischer, L. (2011). Růst a vývoj rostlin. *Karolinum*, Univerzita Karlova v Praze. Počet stran: 326. ISBN: 978-80-246-1913-2.

Phillips, A.L., Ward, D.A., Uknes, S., Appleford, N.E.J., Lange, T., Huttly, A., Gaskin, P., Graebe, J.E., Hedden, P. (1995). Isolation and expression of three gibberellin 20-oxidase cDNA clones from Arabidopsis. *Plant Physiol.*, **108**: 1049-1057.

Procházka, S. a kolektiv (2003). Fyziologie rostlin. *Academia*, Praha. Počet stran 484. ISBN: 80-200-0586-2.

Proveniers, M.C.G., van Zanten M. (2013). High temperature acclimation through PIF4 signaling. *Trends Plant Sci.*, **18**(2): 59-64.

- Pysh, L.D., Wysocka-Diller, J.W., Camilleri, C., Bouchez, D., Benfey, P.N. (1999). The GRAS gene family in *Arabidopsis*: sequence characterization and basic expression analysis of the SCARECROW-LIKE genes. *Plant J.*, **18**: 111-119.
- Quint, M., Delker, C., Franklin, K.A., Wigge, P.-A., Halliday, K.J., van Zanten, M. (2016). Molecular and genetic control of plant thermomorphogenesis. *Nat. Plants*, **2**: 15190.
- Rashke, A., Ibañez, C., Ullrich, K.K., Anwer, M.U., Becker, S., Glöckner, A., Trenner, J., Denk, K., Saal, B., Sun, X., Ni, M., Davis, S.J., Delker, C., Quint, M. (2015). Natural variants of ELF3 affect thermomorphogenesis by transcriptionally modulating PIF4-dependent auxin response genes. *BMC Plant Biol.*, **15**: 197.
- Ryu, H., Cho, H., Kim, K., Hwang, I. (2010). Phosphorylation dependent nucleocytoplasmic shuttling of BES1 is a key regulatory event in brassinosteroid signaling. *Mol. Cells*, **29**: 283-290.
- Saidi, Y., Finka, A., Muriset, M., Bromberg, Z., Wiss, Y.G., Maathuis, F.J., Goloubinoff, P. (2009). The heat shock response in moss plants is regulated by specific calcium-permeable channels in the plasma membrane. *Plant Cell*, **21**(9): 2829–2843.
- Salehin, M., Bagchi, R., Estelle M. (2015). SCF^{TIR1/AFB}-based auxin perception: mechanism and role in plant growth and development. *Plant Cell*, **27**(1): 9-19.
- Sasaki, A., Itoh, H., Gomi, K., Ueguchi-Tanaka, M., Ishiyama, K., Kobayashi, M., Jeong, D.-H., An, G., Kitano, J., Ashikari, M., Matsuoka, M. (2003). Accumulation of phosphorylated repressor for gibberellin signaling in an F-box mutant. *Science*, **299**: 1896-1898.
- Shi, H., Wang, X., Mo, Y., Tang, Ch., Zhong, S., Deng, X.W. (2015). Arabidopsis DET1 degrades HFR1 but stabilizes PIF1 to precisely regulate seed germination. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **112**: 3817–3822.
- Silverstone, A.L., Mak, P.Y.A., Casamitjana Martínez, E., Sun, T.-P. (1997). The new RGA locus encodes a negative regulator of gibberellin response in *Arabidopsis thaliana*. *Genetics*, **146**: 1087-1099.
- Song, Y., Gao, Z., Luan, W. (2012). Interaction between temperature and photoperiod in regulation of flowering time in rice. *Sci. China Life Sci.*, **55**: 241–249.

- Song, J., Liu, Q., Hu, B., Wu, W. (2015). Comparative transcriptome profiling of *Arabidopsis* Col-0 in responses to heat stress under different light conditions. *Plant Growth Regul.*, **79**:209–218.
- Song, J., Liu, Q., Hu, B., Wu, W. (2017). Photoreceptor phyB involved in *Arabidopsis* temperature perception and heat-tolerance formation. *Int. J. Mol. Sci.*, **18**: 1194.
- Stavang, J.A., Gallego-Bartolomé, J., Gómez, M.D., Yoshida, S., Asami, T., Olsen, J.E., García-Martínez, J., Alabadi, D., Blázquez, M.A. (2009a). Hormonal regulation of temperature-induced growth in *Arabidopsis*. *Plant J.*, **60**(4): 589-601.
- Stavang, J.A., Pettersen, R.I., Wendell, M., Solhaug, K.A., Junntila, O., Moe, R., Olsen, J.R. (2009b). Thermoperiodic growth control by gibberellin does not involve changes in photosynthetic or respiratory capacities in pea. *J. Exp. Bot.*, **16**(4): 1015 - 1029.
- Sun Y., Fan, X.Y., Cao, D.M., Tang, W., He, K., Zhu, J.Y., He, J.X., Bai, M.Y., Zhu, S., Oh, E., Patil, S., Kim, T.W., Ji, H., Wong, W.H., Rhee, S.Y., Wang, Z.Y. (2010). Integration of Brassinosteroid Signal Transduction with the Transcription Network for Plant Growth Regulation in *Arabidopsis*. *Dev. Cell.*, **19**: 765–777.
- Sun, J., Qi, L., Li, Y., Chu, J., Li, C. (2012). PIF4-mediated activation of YUCCA8 expression integrates temperature into the auxin pathway in regulating *Arabidopsis* hypocotyl growth. *PLoS Genet.*, **8**: e1002594.
- Sun, T. (2008). Gibberellin Metabolism, Perception and Signaling Pathways in *Arabidopsis*. *Am. Soc. Plant Biologists*, **6**: e0103.
- Sun, T.-P., Gubler, F. (2004). Molecular mechanism of gibberellin signaling in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.*, **55**: 197-223.
- Sun, T.-P., Kamiya, Y. (1994). The *Arabidopsis* GA1 locus encodes the cyclase *ent*-kaurene synthetase A of gibberellin biosynthesis. *Plant Cell*, **6**: 1509-1518.
- Swain, S.M., Tseng, T.-S., Thornton, T.M., Gopalraj, M., Olszewski, N. (2002). SPINDLY is a nuclear-localized repressor of gibberellin signal transduction expressed throughout the plant. *Plant Physiol.*, **129**: 605-615.

- Štěpánová, A.N., Robertson-Hoyt, J., Yun, J., Benavente, L.M., Xie, D.Y., Doležal, K., Schlereth, A., Jürgens, G., Alonso, J.M. (2008). TAA1-mediated auxin biosynthesis is essential for hormone crosstalk and plant development. *Cell*, **133**: 177–191.
- Toledo-Ortiz, G., Johansson, H., Lee, K.P., Bou-Torrent, J., Stewart, K., Steel, G., Rodríguez-Concepción, M., Halliday, K.J. (2014). The HY5-PIF regulatory module coordinates light and temperature control of photosynthetic gene transcription. *PLoS Genet.*, **10**: e1004416.
- Tang, W., Kim, T.W., Oses-Prieto, J.A., Sun, Y., Deng, Z., Zhu, S., Wang, R., Burlingame, A.L., Wang, Z.Y. (2008). BSKs mediate signal transduction from the receptor kinase BRI1 in *Arabidopsis*. *Science*, **321**: 557-560.
- Tang, W., Yuan, M., Wang, R., Yang, Y., Wang, C., Oses-Prieto, J.A., Kim, T.W., Zhou, H.W., Deng, Z., Gampala, S.S., Gendron, J.M., Jonassen, E.M., Lillo, C., Delong, A., Burlingame, A.L., Sun, Y., Wang, Z.Y. (2011). PP2A activates brassinosteroid-responsive gene expression and plant growth by dephosphorylating BZR1. *Nat. Cell Biol.*, **13**: 124-131.
- Tao, Y., Ferrer, J.L., Ljung, K., Pojer, F., Hong, F., Long, J.A., Li, L., Moreno, J.E., Bowman, M.E., Ivans, L.J., et al. (2008). Rapid synthesis of auxin via a new tryptophan-dependent pathway is required for shade avoidance in plants. *Cell*, **133**: 164–176.
- Thomas, S.G., Sun, T.-P. (2004). Update on gibberellin signaling. A tale of the tall and the short. *Plant Physiol.*, **135**: 668-676.
- Thornton, T.M., Swain, S.M., Olszewski, N.E. (1999). Gibberellin signal transduction presents the SPY who O-GlcNAc'd me. *Trends Plant Sci.*, **4**: 424-428.
- Tiwari, S.B., Hagen, G., Guilfoyle, T. (2003). The roles of auxin response factor domains in auxin-responsive transcription. *Plant Cell*, **15**: 533–543.
- Tiwari, S.B., Hagen, G., Guilfoyle, T.J. (2004). Aux/IAA proteins contain a potent transcriptional repression domain. *Plant Cell*, **16**: 533–543.
- Toledo-Ortiz, G., Huq, E., Quail, P.H. (2003). The *Arabidopsis* basic/helix-loop-helix transcription factor family. *Plant Cell*, **15**: 1749–1770.

- Tyler, L., Thomas, S.G., Hu, J., Dill, A., Alonso, J.M., Ecker, J.R., Sun, T.-P. (2004). DELLA proteins and gibberellin-regulated seed germination and floral development in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.*, **135**: 1008-1019.
- Ueguchi-Tanaka, M., Ashikari, M., Nakajima, M., Itoh, H., Katoh, E., Kobayashi, M., Chow, T.Y., Hsing, Y.I., Kitano, H., Yamaguchi, I., Matsuoka, M. (2005). GIBBERELLIN INSENSITIVE DWARF1 encodes a soluble receptor for gibberellin. *Nature*, **437**: 693-698.
- Van Buskirk, E.K., Nagatani, A.K., Chen, M. (2012). Photobodies in light signaling. *Plant Physiol.*, **158**: 52-56.
- Varbanova, M., Yamaguchi, S., Yang, Y., McKelvey, K., Hanada, A., Borochoy, R., Yu, F., Jikumaru, Y., Ross, J., Cortes, D., Je Ma, C., Noel, J.P., Mander, L., Shulaev, V., Kamiya, Y., Rodermel, S., Weiss, D., Pichersky, E. (2007). Methylation of Gibberellins by Arabidopsis GAMT1 and GAMT2. *Plant Cell*, **19**: 32-45.
- Vernoux, T., Besnard, F., Traas, J. (2010). Auxin at the shoot apical meristem. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, **2**: a001487.
- Vernoux, T., Brunoud, G., Farcot, E., Morin, V., Van Den Daele, H., Legrand, J., Oliva, M., Das, P., Larrieu, A., Wells, D., Guedon, Y., Armitage, L., Picard, F., Guyomarc'h, S., Cellier, C., Parry, G., Koumproglou, R., Doonan, J.H., Estelle, M., Godin, C., Kepinski, S., Bennett, M., De Veylder, L., Traas, J. (2011). The auxin signalling network translates dynamic input into robust patterning at the shoot apex. *Molecul. Sys. Biol.*, **7**: 508.
- Wahid, A., Gelani, S., Ashraf, M., Foolad, M.R. (2007). Heat tolerance in plants: An overview. *Environ. Exp. Bot.*, **61**: 199-223.
- Wang, X., Kota, U., He, K., Blackburn, K., Li, J., Goshe, M.B., Huber, S.C., Clouse, S.D. (2008). Sequential transphosphorylation of the BRI1/BAK1 receptor kinase complex impacts early events in brassinosteroid signaling. *Dev. Cell*, **15**: 220-235.
- Wang, H., Zhu, Y., Fujioka, S., Asami, T., and Li, J. (2009). Regulation of *Arabidopsis* brassinosteroid signaling by atypical basic helix-loop-helix proteins. *Plant Cell*, **21**: 3781-3791.
- Wang, X., Chory, J. (2006). Brassinosteroids regulate dissociation of BKI1, a negative regulator of BRI1 signaling, from the plasma membrane. *Science*, **313**: 1118-1122.

- Waters, M.T., Wang, P., Korkaric, M., Capper, R.G., Saunders, N.J., Langdale, J.A. (2009). GLK transcription factors coordinate expression of the photosynthetic apparatus in *Arabidopsis*. *Plant Cell.*, **21**: 1109–1128.
- Wigge, P.A. (2013). Ambient temperature signaling in plants. *Curr. Opin. Plant Biol.*, **23**:661-666.
- Willige, B.C., Ghosh, S., Nill, C., Zourelidou, M., Dohmann, E.M.N., Maier, A., Schwechheimer, C. (2007). The DELLA domain of GA INSENSITIVE mediates the interaction with the GA INSENSITIVE DWARF1A gibberellin receptor of *Arabidopsis*. *Plant Cell*, **19**: 1209-1220.
- Woodward, A.W., Bartel, B. (2005). Auxin: regulation, action, and interaction. *Ann. Bot.*, **95**:707-735.
- Yamaguchi, S., Sun, T.-P., Kawaide, H., Kamiya, Y. (1998). The GA2 locus of *Arabidopsis thaliana* encodes *ent*-kaurene synthase of gibberellin biosynthesis. *Plant Physiol.*, **116**:1271-1278.
- Yangawa, Y., Sullivan, J.A., Komatsu, S., Gusmaroli, G., Suzuki, G., Yin, J., Ishibashi, T., Saijo, Y., Rubio, V., Kimura, S. (2004). Arabidopsis COP10 forms a complex with DDB1 and DET1 in vivo and enhances the activity of ubiquitin conjugation enzymes. *Genes Dev.*, **18**: 2172-2181.
- Yin, Y., Vafeados, D., Tao, Y., Yoshida, S., Asami, T., Chory, J. (2005). A new class of transcription factors mediates brassinosteroid-regulated gene expression in *Arabidopsis*. *Cell*, **120**: 249-259.
- Young, L.W., Wilen, R.W., Bonham-Smith, P.C. (2004). High temperature stress of *Brassica napus* during flowering reduces micro- and megagametophyte fertility, induces fruit abortion, and disrupts seed production. *J. Exp. Bot.*, **55**: 485–495.
- Yu, X., Li, L., Zola, J., Aluru, M., Ye, H., Foudree, A., Guo, H., Anderson, S., Aluru, S., Liu, P., Rodermel, S., Yin, Y. (2011). A brassinosteroid transcriptional network revealed by genome-wide identification of BES1 target genes in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.*, **65**: 634-646.

Zhang, L.Y., Bai, M.Y., Wu, J., Zhu, J.Y., Wang, H., Zhang, Z., Wang, W., Sun, Y., Zhao, J., Sun, X., Yang, H., Xu, Y., Kim, S.H., Fujioka, S., Lin, W.H., Chong, K., Lu, T., Wang, Z.Y. (2009). Antagonistic HLH/bHLH transcription factors mediate brassinosteroid regulation of cell elongation and plant development in rice and *Arabidopsis*. *Plant Cell*, **21**: 3767-3780.

Zhao, Y. (2014). Auxin biosynthesis. *Am. Soc. Plant Biologists*, **12**: e0173.

Zhu, Y., Nomura, T., Xu, Y., Zhang, Y., Peng, Y., Mao, B., Hanada, A., Zhou, H., Wang, R., Li, P., Zhu, X., Mander, L.N., Kamiya, Y., Yamaguchi, S., He, Z. (2006). ELONGATED UPPERMOST INTERNODE encodes a cytochrome P450 monooxygenase that epoxidizes gibberellins in a novel deactivation reaction in rice. *Plant Cell*, **18**: 442-456.

Zinn, K.E., Tunc-Ozdemir, M., Harper, J.F. (2010). Temperature stress and plant sexual reproduction: uncovering the weakest links. *J. Exp. Bot.*, **61**(7): 1959–1968.

Internetové zdroje

IPCC. Climate change 2013: The physical science basis. Fifth assessment report. [Internet]. UNEP/WMO; Cit. 4.3.2018. <http://www.ipcc.ch/report/ar5/wg1/>.

Uniprot. UniProtKB - Q9FLE9 (PRE1_ARATH). [Internet]. Cit. 7.5.2018. <http://www.uniprot.org/uniprot/Q9FLE9>.