

Středoškolská odborná činnost 2008/2009
Obor 07 – zemědělství, potravinářství, lesní a vodní hospodářství

**Vliv brassinosteroidů na fotosyntetické a morfologické
charakteristiky různých genotypů kukuřice**

Autor: Zuzana Novosadová

Škola: Gymnázium Jiřího Gutha Jarkovského

Truhlářská 22
110 00, Praha 1

Školitel práce : RNDr. Olga Rothová
PřFUK v Praze

Praha 2008

Prohlašuji, že jsem předkládanou práci vypracovala samostatně pod vedením RNDr. Olgy Rothové a uvedla jsem v seznamu literatury veškerou použitou literaturu a další použité zdroje včetně internetu.

V Praze dne 20.9. 2008

Vlastnoruční podpis autora

Poděkování

Ráda bych poděkovala všem, kdo mi byli jakkoliv nápomocni při vypracování práce SOČ. Především bych chtěla poděkovat RNDr. Olze Rothové za pomoc a odborné konzultace. Dále celému týmu pracujícímu v genetické zahradě UK na Albertově: RNDr. Daně Holé PhD., RNDr. Marii Kočové CSc., zahradnicím za péči o pokusné rostliny. Mimo jiné bych chtěla poděkovat studentce Lence Fridrichové, která mi byla nápomocna při měření v terénu.

Zuzana Novosadová

1 Obsah

1	Obsah.....	4
2	Úvod.....	5
2.1	Přehled literatury.....	5
2.1.1	Fotosyntesa a fluorescence.....	5
2.1.1.1	Určení hodnot fluorescence a aktivity fotosyntesy.....	6
2.1.2	Fytohormony.....	6
2.1.3	Brassinosteroidy.....	6
2.1.3.1	Objev brassinosteroidů.....	7
2.1.3.2	Syntéza brassinosteroidů.....	7
2.1.3.3	Již provedené pokusy.....	8
3	Materiál a metodika.....	9
3.1	Materiál.....	9
3.2	Použitá technika.....	9
3.3	Výsev a postřiky rostlin.....	9
3.4	Měření morfologických a fotosyntetických parametrů.....	10
3.5	Tvorba grafů.....	10
4	Výsledky a diskuse.....	11
4.1	Morfologické charakteristiky – délka listů.....	11
4.1.1	Genotyp 2023 postřik ve stádiu růstu V3.....	11
4.1.2	Genotyp 2023 postřik ve stádiu růstu V5.....	14
4.1.3	Genotyp CE 704 postřik ve stádiu růstu V3.....	17
4.1.4	Genotyp CE 704 postřik e stádiu růstu V5.....	20
4.1.5	Genotyp 2023xCE 704 postřik ve stádiu růstu V3.....	23
4.1.6	Genotyp 2023xCE 704 postřik ve stádiu růstu V5.....	26
4.1.7	Celkové srovnání v rámci všech genotypů.....	29
4.1.8	Reakce na postřik brassinosteroidy ve stádiu růstu V3.....	30
4.1.9	Reakce na postřik brassinosteroidy ve stádiu růstu V3.....	30
4.2	Fluorescenční charakteristiky.....	31
4.2.1	Genotyp 2023.....	31
4.2.2	Genotyp CE 704.....	33
4.2.3	Genotyp 2023xCE 704.....	35
4.2.4	Celkové srovnání všech naměřených hodnot fluorescenční charakteristiky....	37
5	Závěr.....	38
5.1	Anotace.....	38
6	Seznam použité literatury.....	39

2 Úvod

Od roku 2006 jsem se začlenila díky projektu Otevřená věda do výzkumu brassinosteroidů u kukuřice *Zea mays L.* na Přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy.

Cílem mé práce bylo zjistit nakolik brassinosteroidy ovlivňují morfologické charakteristiky rostlin kukuřice a také jestli se mění fotosyntetická aktivita zkoumaných rostlin. Dále jsem zkoumala, jestli se dané charakteristiky mění i v závislosti na různých genotypech kukuřice. Vycházela jsem z předpokladu, že F_1 kříženci jsou odolnější.

2.1 Přehled literatury

2.1.1 Fotosyntesa a fluorescence

Proces získávání energie v rostlinném organismu. Uskutečňuje se v organelách nazývaných chloroplasty. Jde o semiautonomní organely nacházející se v některých rostlinných buňkách.

Je to proces při kterém se absorbuje sluneční záření a systémem excitace elektronů ve fotosystému I, fotosystému II a v Calvin-Bensově cyklu se energie fotonů přemění na využitelnou energii pro rostlinu.

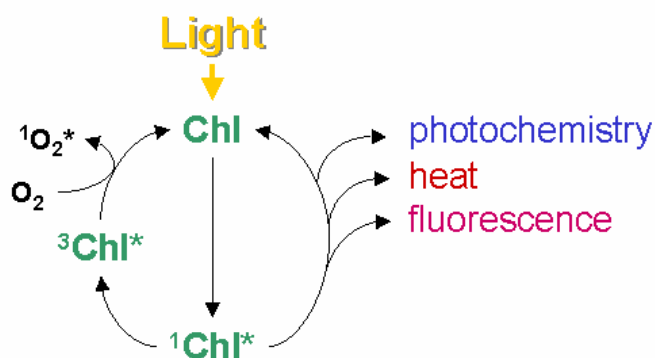
Fotosyntesu můžeme dělit na dvě světelné fáze a temnostní. Během světelné fáze dochází k zachycení sluneční energie, fotonů, a její přeměně na energii chemickou, která se akumuluje v ATP a $NADPH+H^+$. Světelná fáze probíhá na thylakoidní membráně.

Temnostní fáze probíhá ve stromatu chloroplastů a využívá produktů ze světelné fáze fotosyntézy. ATP a $NADH+H^+$ jsou zde použity pro fixaci vzdušného CO_2 a k zabudování uhlíku do sacharidů.

Ve světelné fázi fotosyntesy dochází k několika dějům. Nejdříve světlo ve formě fotonů zachytí fotoreceptory, kterými jsou chlorofyly a + b. Nejdůležitějším pigmentem je chlorofyl a, další barviva mají spíše ochrannou a pomocnou funkci.

Je jasné, že když dochází k excitaci, je nutné, aby došlo také k deexcitaci elektronů. K tomu dochází několika možnými způsoby. Energie se může využít v kaskádě navazujících reakcí fotosyntesy. Není to ovšem pravidlem. Zároveň v rostlinách probíhají dva další směry deexcitace. Energie může také přejít zpět do základního energetického stavu a tím vznikne teplo, nebo se energie vyzáří v podobě červeného záření – *fluorescence*.

V listech zdravých rostlin za příhodných podmínek je rozdělení těchto tří následujících: 80% je použito pro fotochemii – využití v dalších procesech fotosyntesy, cca. 15% je vyzářeno v podobě tepla a cca 3-5% je vyzářeno jako fluorescence. Při změně kvantového množství některé z těchto částí se výchylka projeví na ostatních. Účinnost fotosyntesy se proto dá lehce změřit na výtěžku fluorescence. Je-li výtěžek fluorescence nízký, je účinnost fotosyntesy vyšší a naopak. (ROHÁČEK et.al.)



Obr.1: mechanismus fotosyntesy (ETH)

2.1.1.1 *Určení hodnot fluorescence a aktivity fotosyntesy*

Po zatemnění rostliny na 20 minut je chlorofyl v klidovém stádiu a dráhy pro přenosy elektornů jsou čisté. Tento stav je označován jako F_0 . Následovně se přenosným fluorometrem ozáří plným osvětlením na dobu 1 sekundy a tím vzroste hodnota fluorescence z nulové, minimální hodnoty (F_0), na maximální hodnotu (označovanou jako F_m). Maximální kvantová účinnost fotosystému II. lze určit ze vztahu F_v/F_m přičemž $F_v = F_m - F_0$. Ve zdravých listech se hodnota F_v/F_m pohybuje okolo 0,8 nezávisle na druhu rostliny. Hodnoty nižší ukazují, že funkce PSII jsou poškozeny. Tato inhibice může být způsobena stresovými faktory působícími na rostlinu. (FRACHEBOUD 2006)

2.1.2 Fytohormony

Obecně vzato jsou fytohormony látky, které ovlivňují růst a vývoj rostlin. Vyskytují se přirozeně ve všech rostlinách. Používají se jako růstové stimulatory a ve vysokých koncentracích mohou působit jako herbicidy.

Rozdělují se na inhibitory a stimulatory růstu. Mezi stimulatory patří například cytokininy nacházející se v kořenech a auxiny, které se nachází na vrcholcích rostlin. Dále mezi ně patří gibereliny, které se nachází v nejmladších listech a kořenech. Mezi stimulatory patří i brassinosteroidy.

Mezi inhibitory růstu patří kyselina abscisová, která způsobuje opad listů a plodů. V době vegetačního klidu je odpovědná za potlačování rozvoje pupenů.

2.1.3 Brassinosteroidy

Brassinosteroidy jsou aktivní i v koncentracích 1000krát menších než auxin. Byly dříve považovány pouze za regulatory růstu, na konferenci v Japonsku byly roku 1998 zařazeny mezi fytohormony.

Činnost brassinosteroidů je velmi úzce spjata s působením hormonu auxinu. Jejich reakční dráhy v rostlinném organizmu se v určitém momentu sbíhají. Oba hormony mají ale jiné výsledné působení na rostlinu.

Působení brassinosteroidů ovlivňuje také změna poměru auxinu/cytokininu v rostlinných tkáních. (ONO et al, 2000).

2.1.3.1 Objev brassinosteroidů

Brassinosteroidy byly objeveny poměrně nedávno, ale již se podařilo prokázat jejich vliv na odolnost rostlin vůči stresu. Jsou schopné stimulovat růst rostliny především v počátečních stádiích, například při klíčení semen. Mohou také zvyšovat výnos a mají v rostlinném organizmu mnoho dalších dosud nezjištěných funkcí. Jde o přirozeně se vyskytující látky, fytohormony, proto se po exogenní aplikaci přímo na rostliny vyloučí jejich negativní dopad na přírodu a člověka.

Stále existuje mnoho nevyjasněných funkcí brassinosteroidů v rostlinách.

Brassinosteroidy byly objeveny na základě zjištění, že pylové extrakty stimulují růst rostlin. Látka, která tento efekt vyvolávala, byla pojmenována brassin. Při pozdějších výzkumech se prokázalo, že v brassinu je účinných látek obsaženo jen velmi malé množství. Aktivní složka brassinu byla pojmenována brassinolid a poprvé izolována vědci z Northern Regional Research Center. Současně s tímto objevem byla zjištěna jeho krystalová struktura (YOKOTA, 1999).

Brassinosteroidy byly nalezeny ve všech rostlinách, které byly podrobeny výzkumu. Jednoděložné i dvouděložné rostliny obsahují brassinosteroidy v některých svých orgánech. Jsou přítomny v extrémně nízkých koncentracích a jejich množství kolísá v závislosti na stáří tkáně a druhu rostliny. Nejvyšší koncentrace vůbec byla zaznamenána u pylu cypřiše (*Cupressus arizonica*). Jejich přítomnost byla prokázána i u některých nižších rostlin například u přesličky, játrovky a zelené řasy.

Dráhy přenosu signálu u brassinolidů nevyužívají cytoplazmatické steroidové receptory jako je to u živočichů a člověka. Jejich receptory jsou umístěny v plazmatické membráně a fungují na buněčném povrchu. Převádí tak extracelulární signály do buňky. (LI a CHORY, 1997).

2.1.3.2 Syntéza brassinosteroidů

Poprvé byla objasněna za použití kultury buněk barvínku (*Vinca*). Biosyntetická dráha brassinolidů může být rozdělena na syntézu sterolů a specifickou dráhu vedoucí od campesterolu k brassinolidu. Rostlinné steroly, jako například campesterol jsou důležitou součástí buněčných membrán. Slouží jako regulátory tekutosti a propustnosti membrány. Přímou ovlivňují aktivitu membránových proteinů včetně enzymů a složek signálních drah.

Mutace v genech, které kódují enzymy biosyntetické dráhy sterolů mohou výrazně ovlivnit vývoj rostliny. Mají přímý vliv na množství brassinolidu vyprodukovaném rostlinou.

Základní steroly pro biosyntézu brassinosteroidů jsou syntetizovány *in vivo* z cykloartenolu. Cykloartenol vzniká ze squalenu a je prvním cyklickým prekurzorem, ze kterého vzniká campesterol.

Přeměna membránového campesterolu na brassinolid se děje sérií redukcí, hydroxylací, epimerizací a oxidací. Nejdříve vzniká campestanol redukcí dvojné vazby u campesterolu. Dále se biosyntetická dráha dělí na časnou a pozdní oxidační větev. Tím vzniká 6-deoxocastasteron a přeměna oxo varianty na castasteron. Obě dráhy dále zahrnují postranní hydroxylaci.

Inhibitorů biosyntézy bylo doposud analyzováno pouze malé množství. První známý byl KM-01, který má ale omezené použití, protože v testech nebyl dostatečně aktivní. Dalším nalezeným inhibitorem byl brassinazol, který je v současné době nejznámější a nejpoužívanější. Jedním z cílových míst inhibice je hydroxylační krok přeměny 6-oxocampestanolu na cathasteron. Rostliny ošetřené tímto inhibitorem mají změněnou fotomorfogenezi a ve tmě vyvíjí pravé listy. Stupeň vývoje listu je závislý na koncentraci brassinazolu. Brassinazol nemá žádný vedlejší vliv kromě inhibice biosyntézy brassinosteroidů. Je vysoce specifický.

2.1.3.3 Již provedené pokusy

Aplikace 24-epibrassinolidu v době kvetení rostlin má většinou pozitivní vliv na tvorbu rostlin, na vývoj a růst klíčících rostlin v následné generaci. Udává se také, že podporuje vitalitu semen, která nejsou ve stádiu dormance.

Pokusy ukázaly, že postřik ve skleníku měl ve většině případů pozitivní výsledky podle počtu aplikací 24-epibrassinolidu.

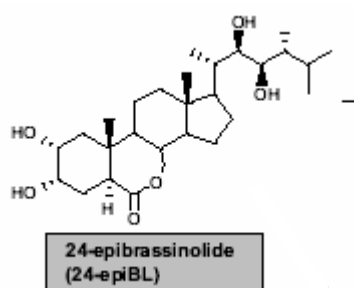
Podle výsledku z Výzkumného ústavu pícninářského v Troubsku existují plodiny reagující pozitivně i plodiny reagující střídavě, například při vystavení pokusných rostlin některému z abiotických stresorů. Analýza chemického složení u ošetřených standardních variant pokusné rostliny neukázala podstatné rozdíly v obsahu minerálních látek v rostlině. (BLÁHA et. al.2004)

3 Materiál a metodika

3.1 Materiál

Pokusné rostliny (*Zea mays L.*), se kterými jsem ve své práci pracovala, byly získány ve šlechtitelské stanici CEZEA v Čejči u Hodonína. K dispozici jsem měla inbrední rodičovské linie 2023 a CE704 a jejich křížence v první generaci (F1) 2023xCE704 (linie 2023 jako mateřský genotyp).

V experimentech byl používán přírodní 24-epibrassinolid (E), který byl získán pracovníky z Oddělení steroidů Ústavu organické chemie a biochemie AV ČR. Látka byla uchovávána v chladu. Pro potřebné pokusy byly připraveny vodné roztoky o koncentracích 10^{-8} M, 10^{-10} , 10^{-12} M a 10^{-14} M. Jako druhý postřik jsem používala syntetický analog casthasteronu (TO).



Obr.2: Strukturální vzorec 24-epibrassinolidu (BARTÁKOVÁ, 2006)

3.2 Použitá technika

Fotografie z postřiků a měření a další fotografie přístrojů byly pořízeny fotoaparátem Canon Power Shot A75.

Jako měřicí přístroj k určení aktivity fotosyntézy a hodnotám fluorescence byl použit nedestruktivní přenosný fluorometr OS30P, ADC Bio Scientific, Hoddesdon, Velká Británie.

Měření délky listů se provádělo krejčovským metrem.

3.3 Výsev a postřiky rostlin

Pokusné rostliny byly vysety dne 27.4. 2007 a jejich výsadba na pole byla uskutečněna dne 24.5.2007. Rostliny byly umístěny na dolní pole v areálu genetické zahrady UK na Albertově.

Postřiky rostlin pokusné plodiny byly prováděny ve dvou stádiích vzrůstu. Jako postřik byl použit E a TO uvedený výše. Konaly se v datech 8.6.2007 – stádium růstu označované V3 a dne 21.6.2007 – stádium růstu označované V5. Ke každé koncentraci bylo postřikáno 54 rostlin, které byly vybrány na různých místech stanoviště aby výsledná průměrná hodnota byla odpovídající.

3.4 Měření morfologických a fotosyntetických parametrů

K měření hodnot fluorescence bylo zapotřebí speciálního přenosného vybavení uvedeného v kapitole *použitá technika*. Nejdříve se na měřený list dal zatemňovací klip, který se na listu ponechal 15 minut. Pak se postupně ke každé rostlině přikládal měřicí kolík přístroje, který zanalyzoval hodnoty fluorescence. Hodnoty jsme zaznamenávali do tabulek, které jsme později použili pro tvorbu grafů.

Měření délky listů jsme prováděli pomocí krejčovského metru. Přiložili jsme nulovou hodnotu metru k listovému jazýčku a změřili jsme délku listu až k jeho špici. Vše jsme zaznamenali do tabulky.

Získané hodnoty jsme zprůměrovali a výsledné hodnoty jsme zaznamenali do tabulky a následně jsem vytvořila grafy.

3.5 Tvorba grafů

Grafy jsem vytvářela v programu Microsoft Excel. U grafů znázorňujících růst listů jsem určila průměr hodnot kontrolních rostlin jako hodnotu 100% a od této hodnoty jsem odpočítávala ostatní hodnoty rostlin s postřikem.

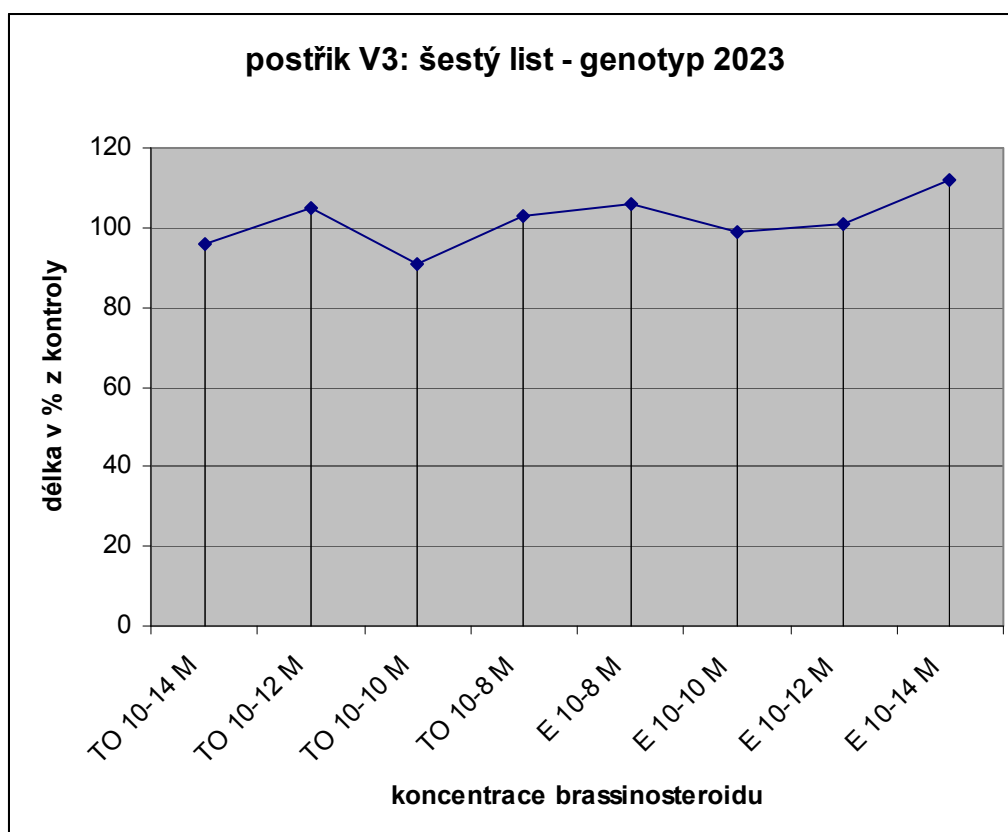
4 Výsledky a diskuse

4.1 Morfologické charakteristiky – délka listů

U pozorovaných rostlin různých genotypů (2023, CE 704, 2023xCE 704) byly srovnávány délky listů s hodnotami naměřenými u kontrolních rostlin.

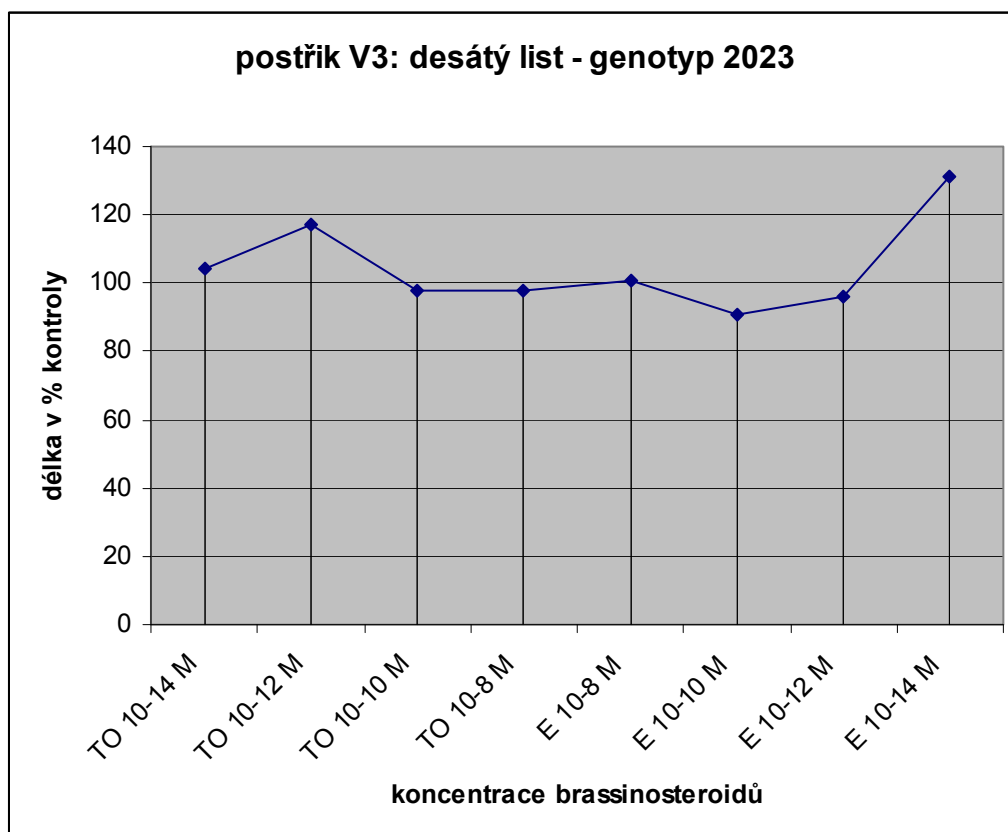
4.1.1 Genotyp 2023 postřík ve stádiu růstu V3

Hodnoty délek šestého listu u genotypu 2023 při postřikání rostliny ve stádiu V3 (viz Graf č.1) se pohybují kolem hodnot kontroly. Větší odchylku pozorujeme u koncentrace 10^{-14} M 24-epibrassinolidu. Jedná se o nejnižší použitou koncentraci. Tato reakce na postřík by ukazovala brassinosteroidy jako faktory prodlužující list, zkrácení listů bylo způsobeno pouze u dvou případů. U postřiku derivátem castasteronu o koncentraci 10^{-10} M a 10^{-14} M.



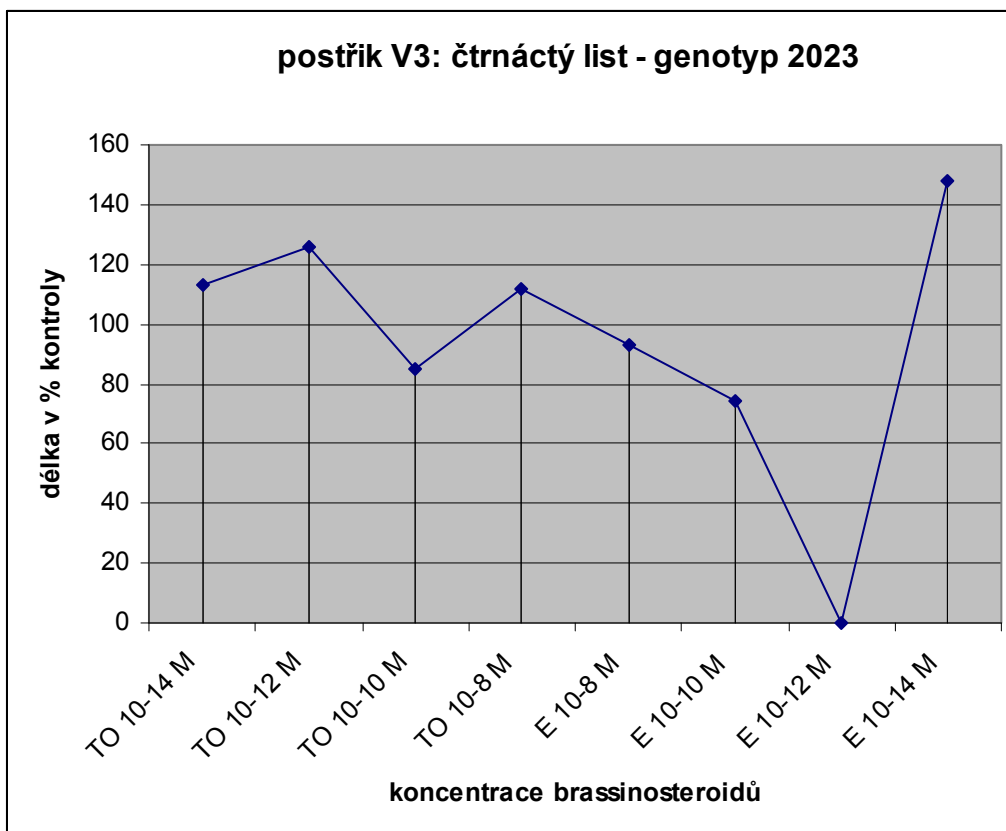
Graf č. 1: Délka 6. listu rostlin genotypu 2023 ošetřených koncentracemi 10^{-8} – 10^{-14} M postříky E a TO ve stádiu V3 vyjádřená v % kontroly.

Většina hodnot délek desátého listu u rostlin genotypu 2023 postříkaných ve stádiu V3 se pohybuje okolo hodnot délek naměřených u kontroly (viz Graf č.2). Výraznější reakce se objevila u nižší koncentrace postřiků. U postřiku TO 10^{-12} M byl prodloužení desátého listu o necelých 20% vzhledem ke kontrole. U postřiku E 10^{-14} M bylo zvětšení listu ještě patrnější – o 30%. Nižší koncentrace postřiků hodnoty oproti kontrole výrazněji nevychýlily.



Graf č.2: Délka 10. listu rostlin genotypu 2023 ošetřených koncentracemi 10^{-8} – 10^{-14} M postřiky E a TO ve stádiu V3 vyjádřená v % kontroly.

Čtyři hodnoty (viz Graf č.3) ukazují brassinosteroidy jako faktory způsobující větší růst listu (TO 10^{-14} M, TO 10^{-12} M, TO 10^{-8} M, E 10^{-14} M) a další čtyři hodnoty je ukazují jako inhibitory (TO 10^{-10} M, E 10^{-8} M, E 10^{-10} M, E 10^{-12} M). Nedá se tedy určit jednoznačně určit reakce čtrnáctého listu na postřik ve stádiu růstu V3. Zkrácení proběhlo z velké většiny u postřiku 24-epibrassinolidem než u derivátu castasteronu. Přímou souvislost absence listu s postřikem E 10^{-12} M ostatní hodnoty v grafu nedokázal proto ji lze připsat mechanickému poškození, jelikož rostlina byla pěstována v přirozeném prostředí na poli.



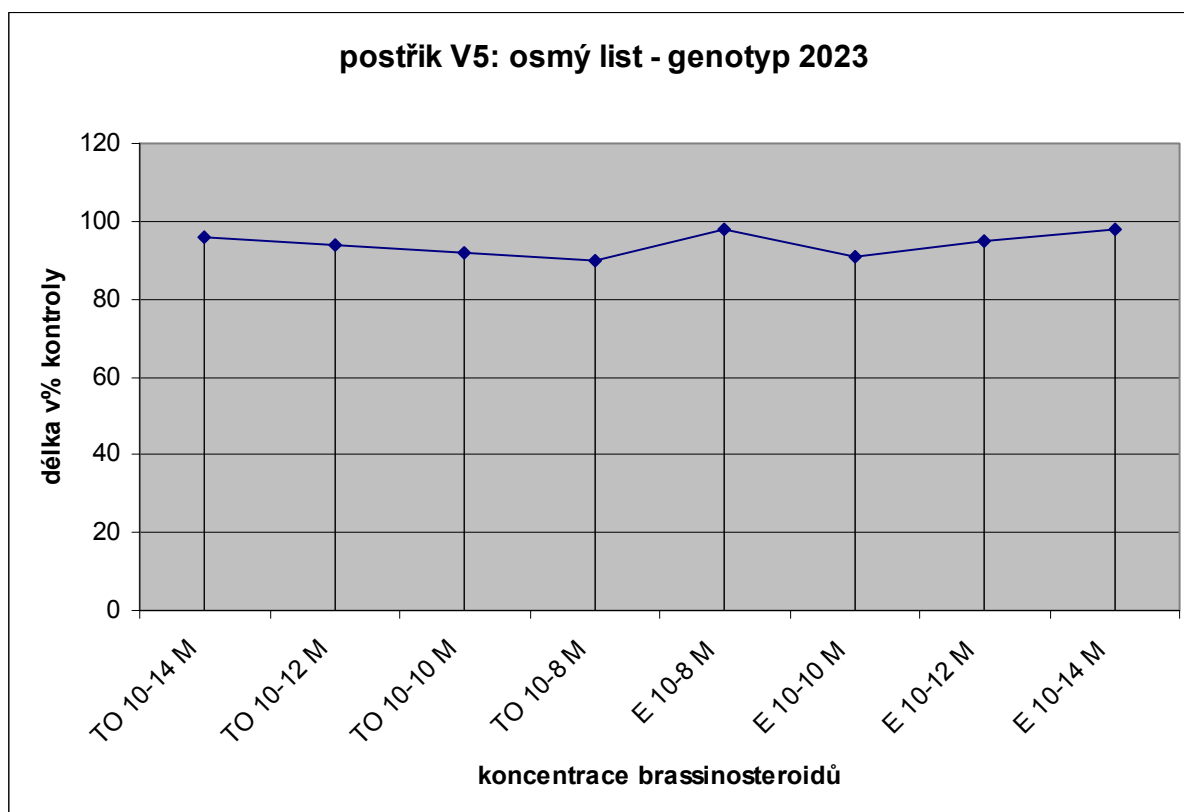
Graf č. 3: Délka 14. listu rostlin genotypu 2023 ošetřených koncentracemi 10^{-8} – 10^{-14} M postřiky E a TO ve stádiu V3 vyjádřená v % kontroly.

Při postřiku rostlin ve stádiu V3 lze u genotypu 2023 vypořádat výraznou reakci na postřik E 10^{-14} M. U délky šestého listu převýšila hodnota délky listu kontrolu o více jak 10% u desátého a čtrnáctého listu dokonce o více než 20 % v obou případech. U čtrnáctého listu se navýšení hodnoty pohybovalo okolo 50%. Ostatní koncentrace postřiků 24-epibrassinolidem vyvolaly spíše zkrácení listu oproti kontrole.

Postřik derivátem castasteronu ve většině případů vyvolal vznik delších listů, zejména v nižších koncentracích postřiků. Vzhledem k velkým odchylkám v jednotlivých výsledcích nelze přesně stanovit reakci na tento postřik.

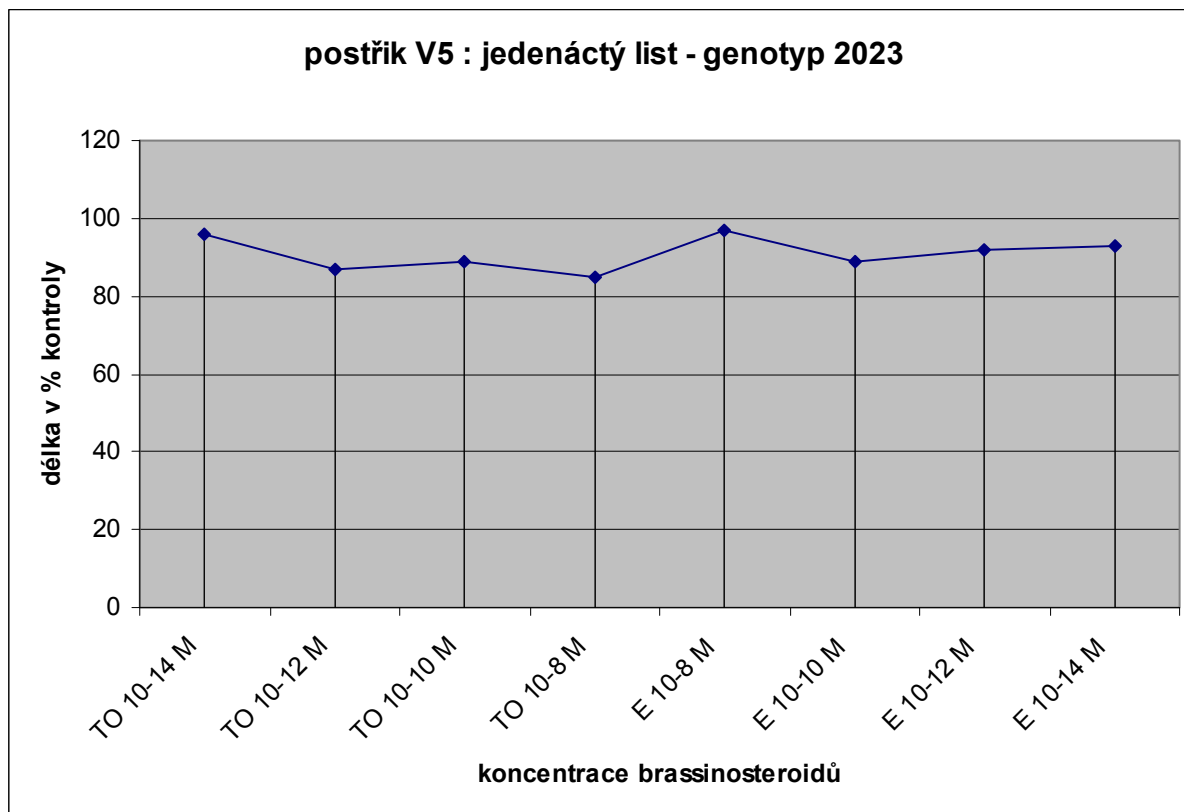
4.1.2 Genotyp 2023 postřik ve stádiu růstu V5

Všechny rostliny genotypu 2023 při postřiku V5 reagovaly zkrácením vzrůstu osmého listu (viz Graf č.4). Nejnižší koncentrace obou postřiků způsobily nejvyšší inhibici. Stejně jako postřik E 10^{-14} M vyvolal 2% zkrácení listu vzhledem k hodnotám kontroly i postřik E 10^{-8} M. Reakce na postřik E 10^{-8} M tvoří v tomto grafu výjimku. Celkově došlo u postřiku ve stádiu V5 rostlin genotypu 2023 ke zkrácování listu oproti délkám listu u kontroly vzhledem k rostoucí koncentraci použitých roztoků. V grafu je patrná nepřímá úměrnost mezi délkou listu a koncentrací postřiku.



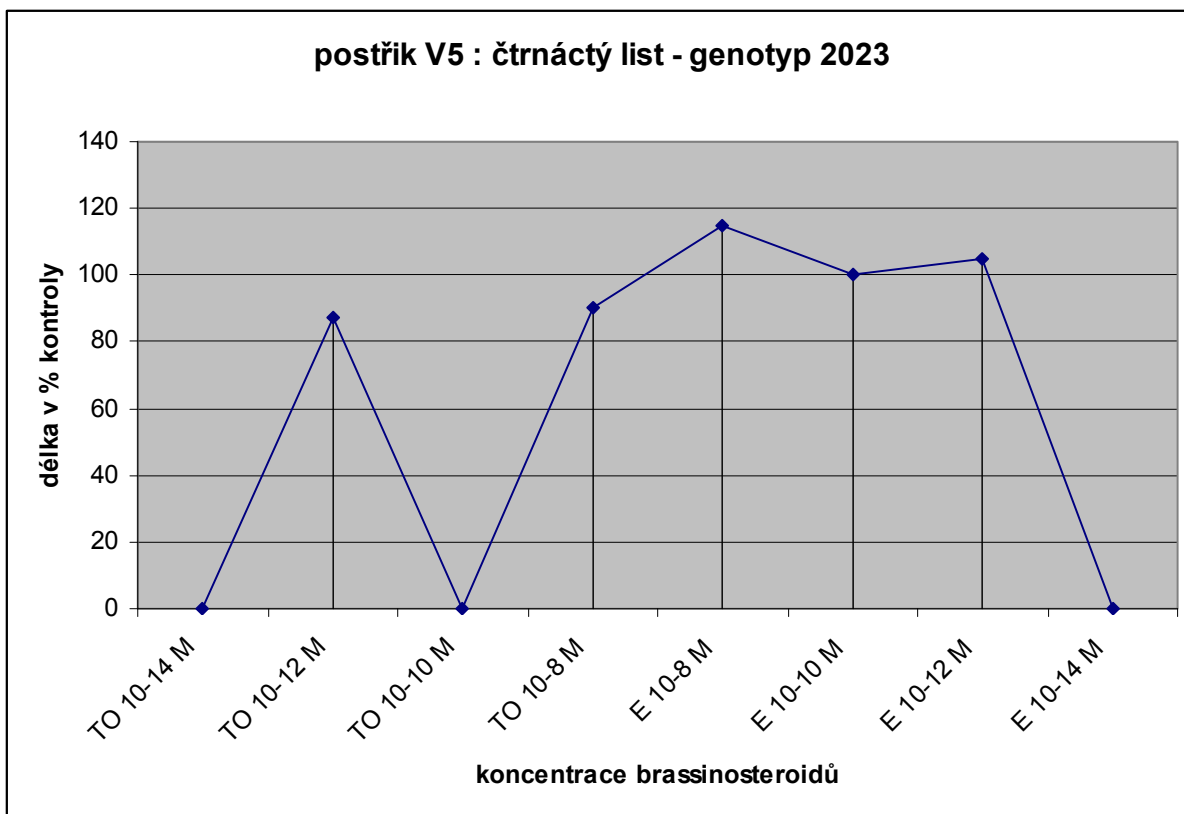
Graf č.4: Délka 8. listu rostlin genotypu 2023 ošetřených koncentracemi 10^{-8} – 10^{-14} M postřiky E a TO ve stádiu V5 vyjádřená v % kontroly.

Nepřímá úměrnost mezi růstem listu a koncentrací postřiku je očividná i u jedenáctého listu rostliny genotypu 2023 při postřiku ve stádiu růstu V5 (viz Graf č.5). Výjimku tvoří rostlina postříkaná E 10⁻⁸M. Způsobila nejmenší zkrácení růstu jedenáctého listu. U nejnižší koncentrace postřiku derivátem castasteronu bylabylo zkrácení jedenáctého listu výrazně menší než u stejné koncentrace postřiku 24-epibrassinolidem.



Graf č. 5: Délka 11. listu rostlin genotypu 2023 ošetřených koncentracemi 10⁻⁸ – 10⁻¹⁴ M postřiky E a TO ve stádiu V5 vyjádřená v % kontroly.

Pokusná rostlina genotypu 2023, při postřiku ve stádiu růstu V5 reagovala nejvýrazněji při koncentraci E 10⁻⁸M a to přibližně 15% nárůstem délky listu oproti kontrole (viz Graf č.6). Při koncentracích TO 10⁻¹⁴M, TO 10⁻¹⁰M a E 10⁻¹⁴M došlo k úplnému zkrácení listu, čtrnáctý list se zde vůbec nevyvinul. Tuto odchylku lze přičíst mnoha vnějším vlivům působícím na stanoviště.



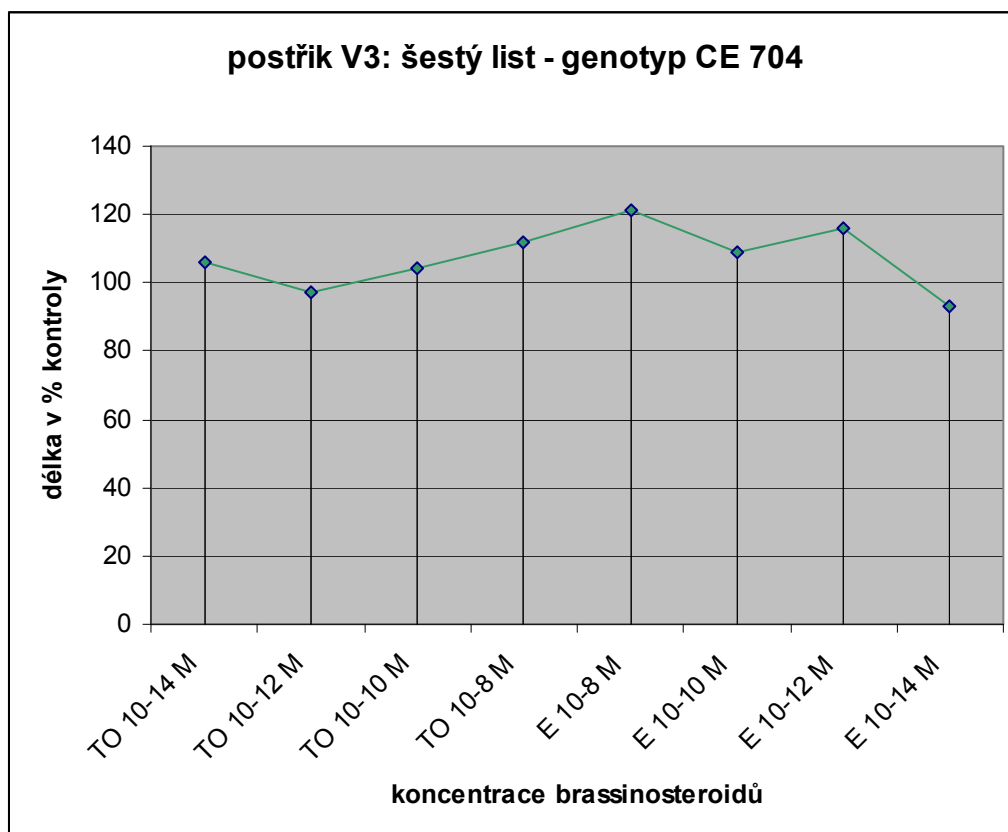
Graf č. 6: Délka 14. listu rostlin genotypu 2023 ošetřených koncentracemi 10^{-8} – 10^{-14} M postřiky E a TO ve stádiu V5 vyjádřená v % kontroly.

U všech tří listů rostlin genotypu 2023 při postřiku ve stádiu růstu V5 nejvíce reagovala na postřik E 10^{-8} M. Tento postřik reagoval u osmého a jedenáctého listu menší zkrácením listu oproti kontrole než ostatní koncentrace a u čtrnáctého listu reagoval 15% prodloužením listu oproti kontrole.

U osmého a jedenáctého listu lze vypočítat stejnou nepřímou úměru. Se zvyšující se koncentrací postřiku se délka listu snižuje.

4.1.3 Genotyp CE 704 postřik ve stádiu růstu V3

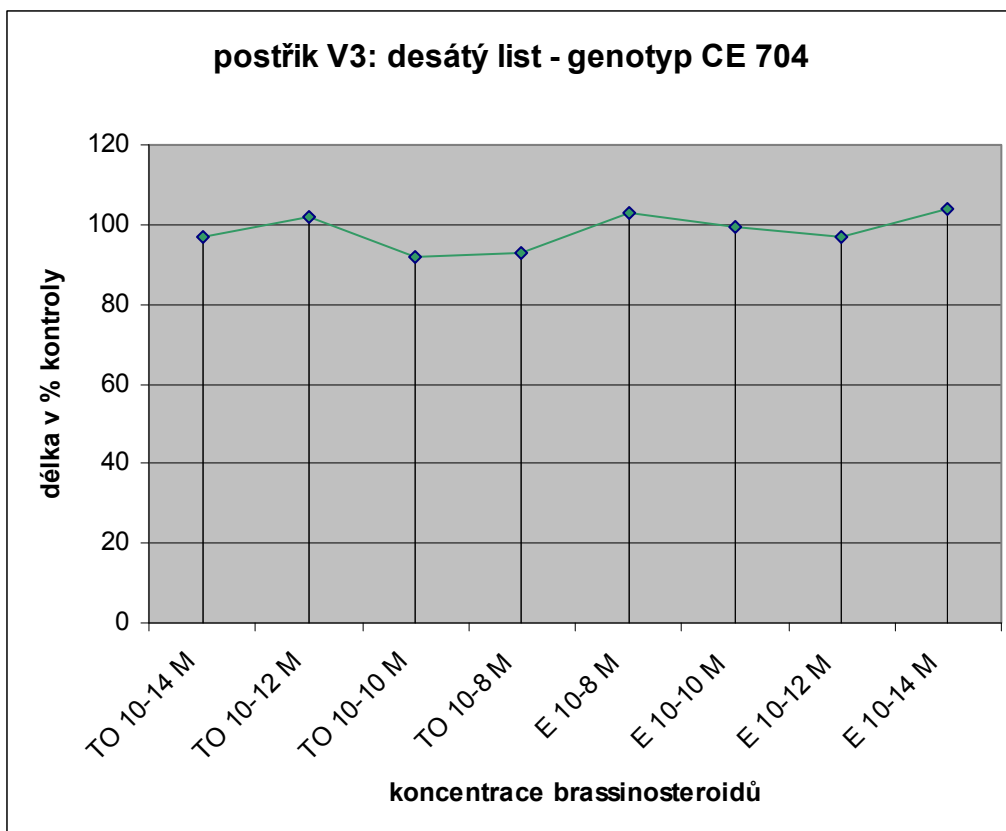
U rodičovského genotypu CE 704 je z grafu (viz Graf č.7)patrná výrazná reakce na postřik E 10^{-8} M a to prodloužením listů o více než 20% oproti kontrole. Celkově graf ukazuje na přímou úměrnost mezi zvyšováním koncentrace a prodlužováním listů u pozorovaných rostlin. Téměř všechny koncentrace obou brassinosteroidů (kromě E 10^{-14} M a TO 10^{-12} M) vyvolaly prodloužení šestého listu oproti kontrole.



Graf č. 7: Délka 6. listu rostlin genotypu CE 704 ošetřených koncentracemi 10^{-8} – 10^{-14} M postřiky E a TO ve stádiu V3 vyjádřená v % kontroly.

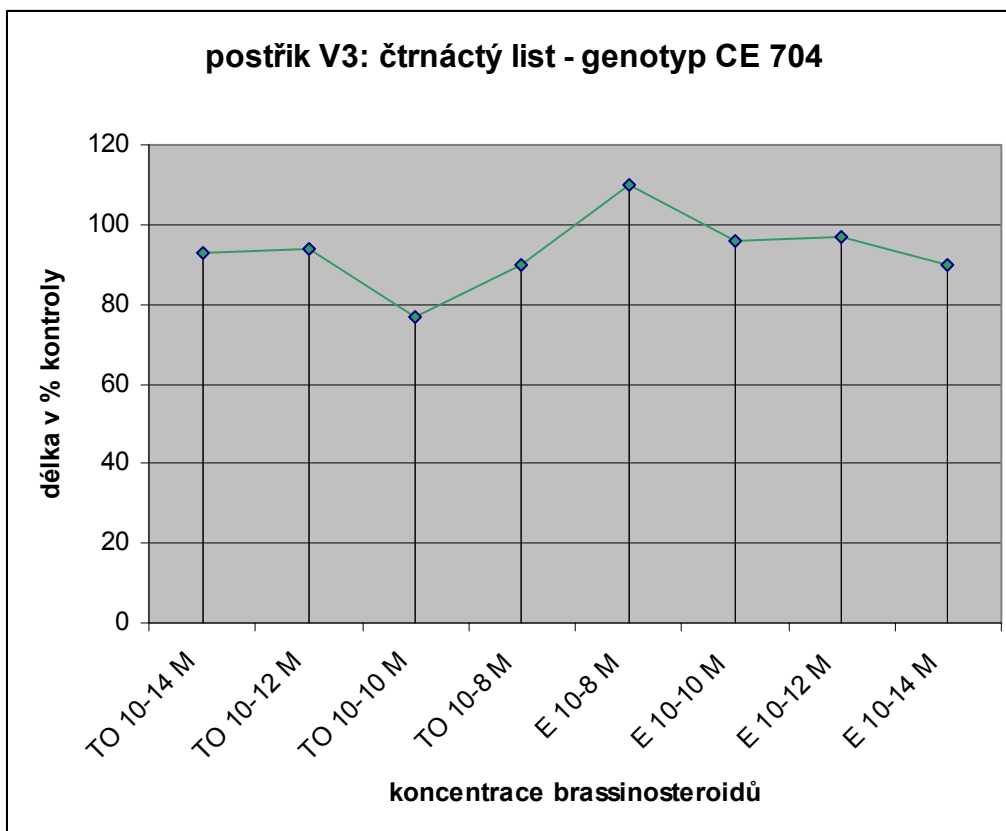
Z grafu je patrná výrazná reakce na koncentrace 24-epibrassinolidu 10^{-8} M a 10^{-14} M (viz Graf č.8). Většina koncentrací postřiku E vedla ke zkrácení listů oproti kontrole či se hodnoty pohybovaly poblíž hodnot kontrolní rostliny.

U postřiku TO se výraznější zkrácení projevilo u dvou nejvyšších koncentrací. U koncentrace 10^{-12} M se objevilo prodloužení listu o 2% proti kontrole.



Graf č. 8: Délka 10. listu rostlin genotypu CE 704 ošetřených koncentracemi 10^{-8} – 10^{-14} M postřiky E a TO ve stádiu V3 vyjádřená v % kontroly.

Kromě postřiku E 10^{-8} M byla reakce na postřik negativní – zkrácení listu oproti kontrolním rostlinám (viz Graf č.9). U postřiku 24-epibrassinolidem v koncentraci 10^{-8} M se projevilo zkrácením listů o 10% oproti hodnotám kontrolních rostlin. Nízké koncentrace postřiku TO vyvolaly u čtrnáctého listu genotypu CE 704 zkrácení listů.



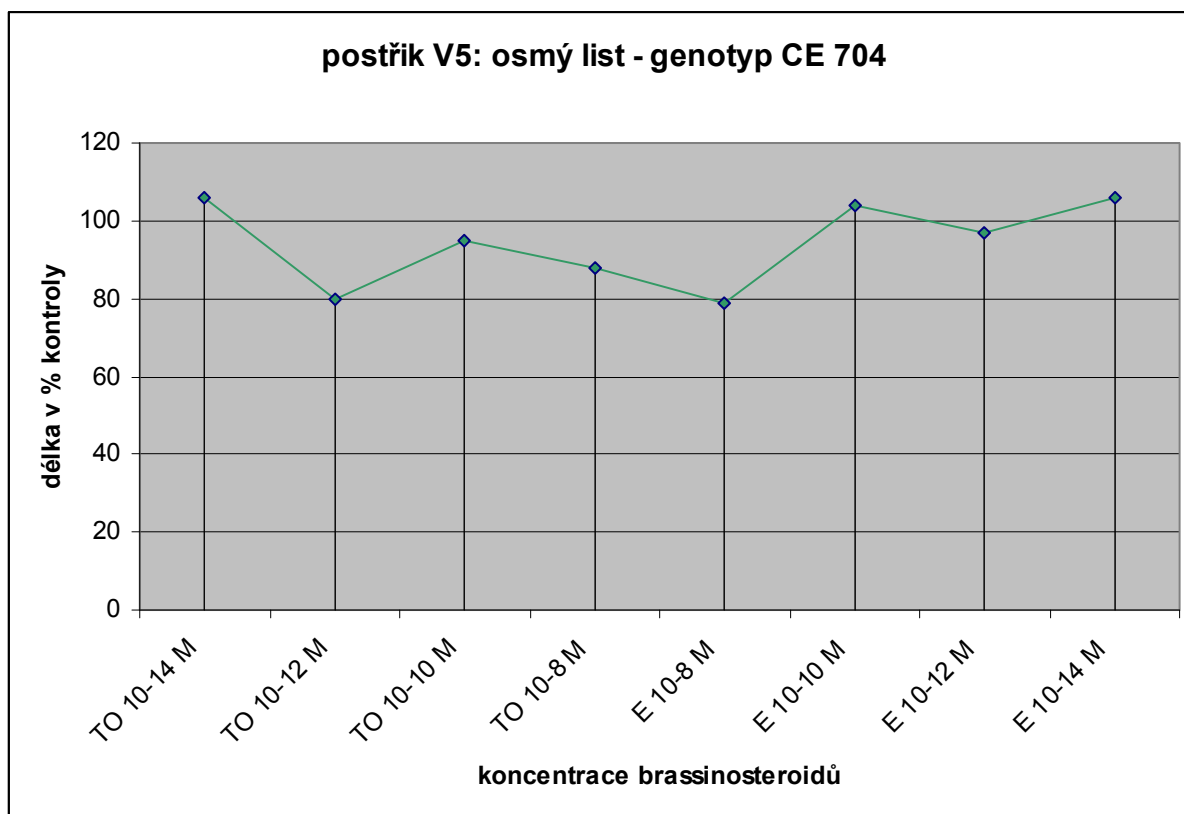
Graf č. 9: Délka 14. listu rostlin genotypu CE 704 ošetřených koncentracemi 10^{-8} – 10^{-14} M postřiky E a TO ve stádiu V3 vyjádřená v % kontroly.

U všech listů rostlin genotypu CE 704 ošetřených postřiky ve stádiu růstu V3 byla podobná reakce na dané koncentrace dvou použitých brassinosteroidů. U postřiku E 10^{-8} M se u všech listů projevilo výrazné prodloužení listů oproti ostatním hodnotám v grafech.

U dvou nejnižších koncentrací TO byla u všech listů výrazná větší zkrácení listů oproti kontrolním hodnotám v grafech.

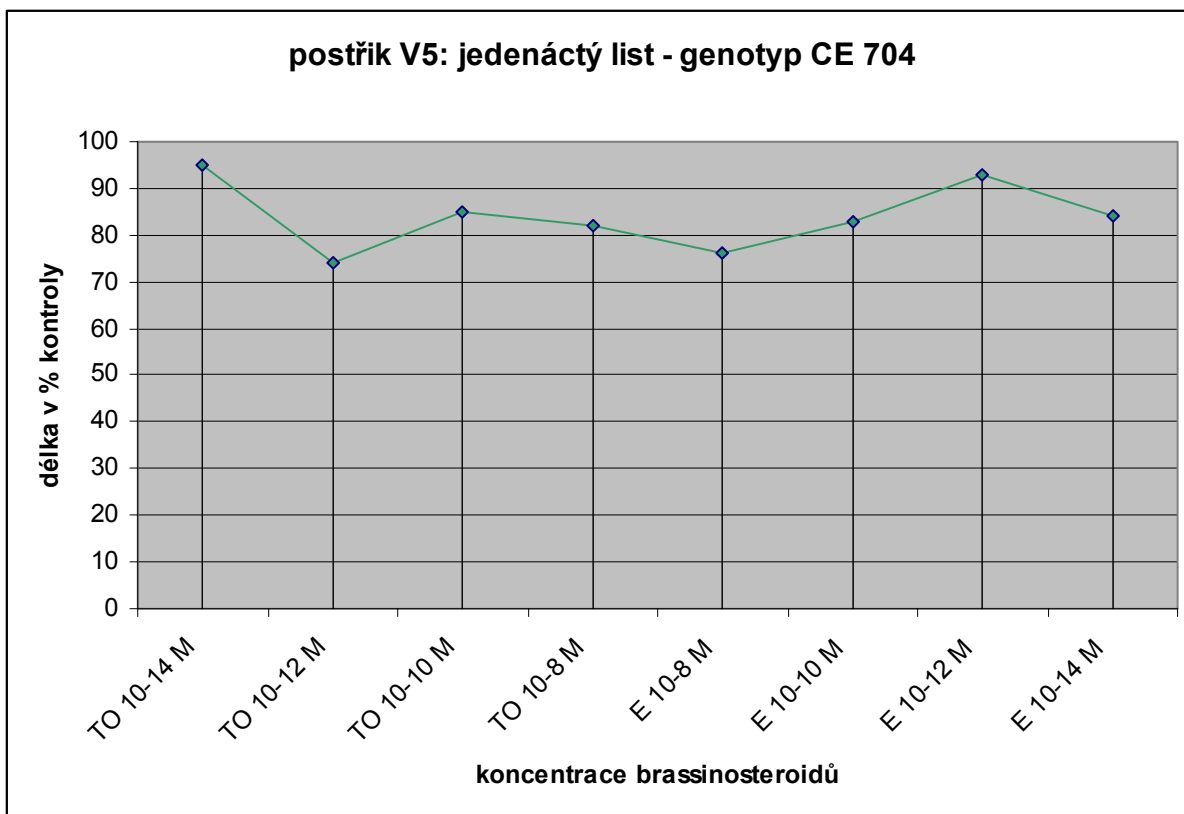
4.1.4 Genotyp CE 704 postřik ve stádiu růstu V5

U nejvyšší koncentrace 24-epibrassinolidu v užitém postřiku u osmého listu rostlin genotypu CE 704 nejvýrazněji projevilo zkrácení listů (20%) (viz Graf č.10). Prodloužení se projevilo u nejnižších koncentrací u obou druhů brassinosteroidů v postřicích. Postřik 24-epibrassinolidem ve většině případů vyvolal prodloužení listů oproti hodnotám kontrolních rostlin a naopak postřik derivátem casthasteronu vyvolal ve většině případů zkrácení listů.



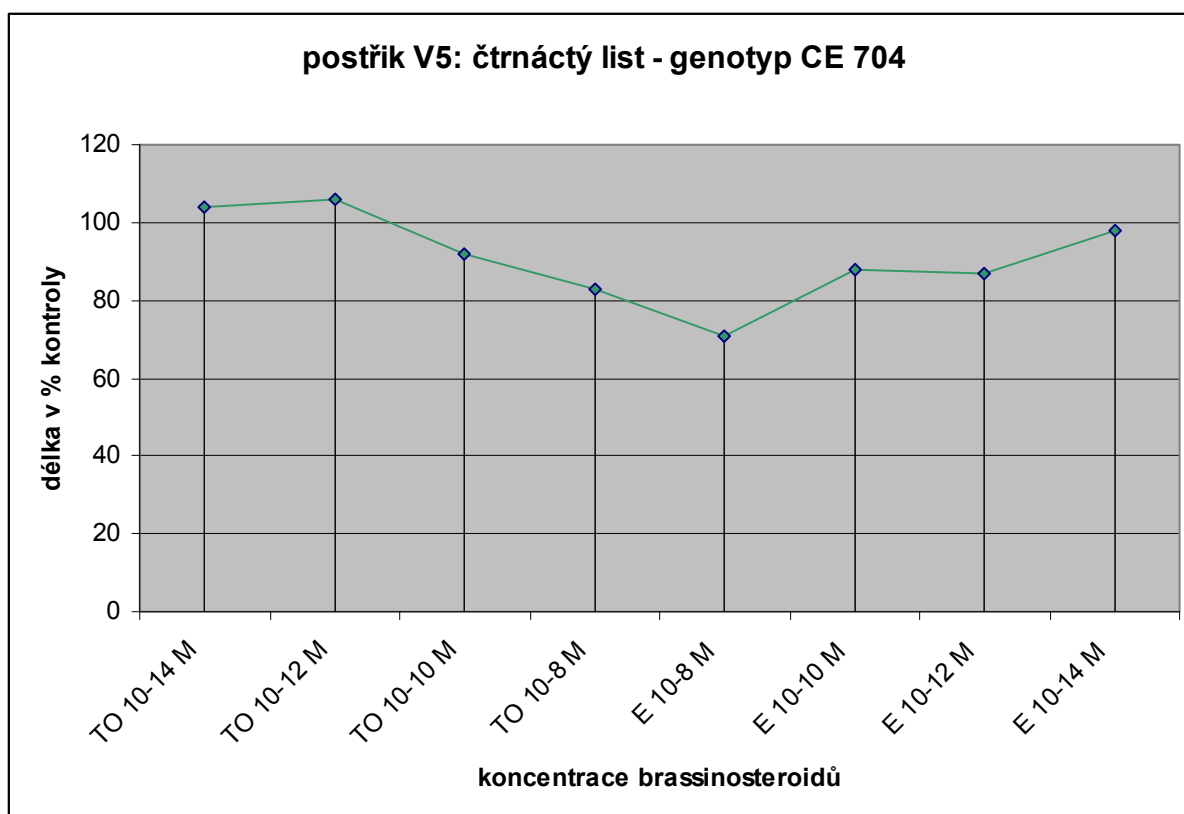
Graf č. 10: Délka 8. listu rostlin genotypu CE 704 ošetřených koncentracemi 10^{-8} – 10^{-14} M postřiky E a TO ve stádiu V5 vyjádřená v % kontroly.

Veškeré koncentrace obou brassinosteroidů vyvolaly u jedenáctého listu rostliny genotypu CE 704 při postřiku ve stádiu V5 zkrácení listů vzhledem k hodnotám kontrolní rostliny (viz Graf č.11). Nejvyšší zkrácení bylo zaznamenáno u postřiků TO 10^{-12} M a E 10^{-8} M. Nejnižší zkrácení vzhledem k hodnotám kontrolní rostliny se objevilo u postřiků E 10^{-12} M a TO 10^{-12} M – jedná se o jednu z nejnižších koncentrací.



Graf č. 11: Délka 11. listu rostlin genotypu CE 704 ošetřených koncentracemi 10^{-8} – 10^{-14} M postřiky E a TO ve stádiu V5 vyjádřená v % kontroly.

Největší zkrácení bylo u čtrnáctého listu zaznamenáno u postřiku E 10^{-8} M (viz Graf č.12). Prodloužení listů oproti kontrole se projevilo pouze u dvou postřiků TO 10^{-14} M a TO 10^{-12} M, tedy u dvou nejnižších koncentrací postřiku derivátem casthasteronu. U postřiků 24-epibrassinolidem bylo patrné zkrácení listů. Nejméně se zkrácení listů projevilo při nejnižší koncentraci.



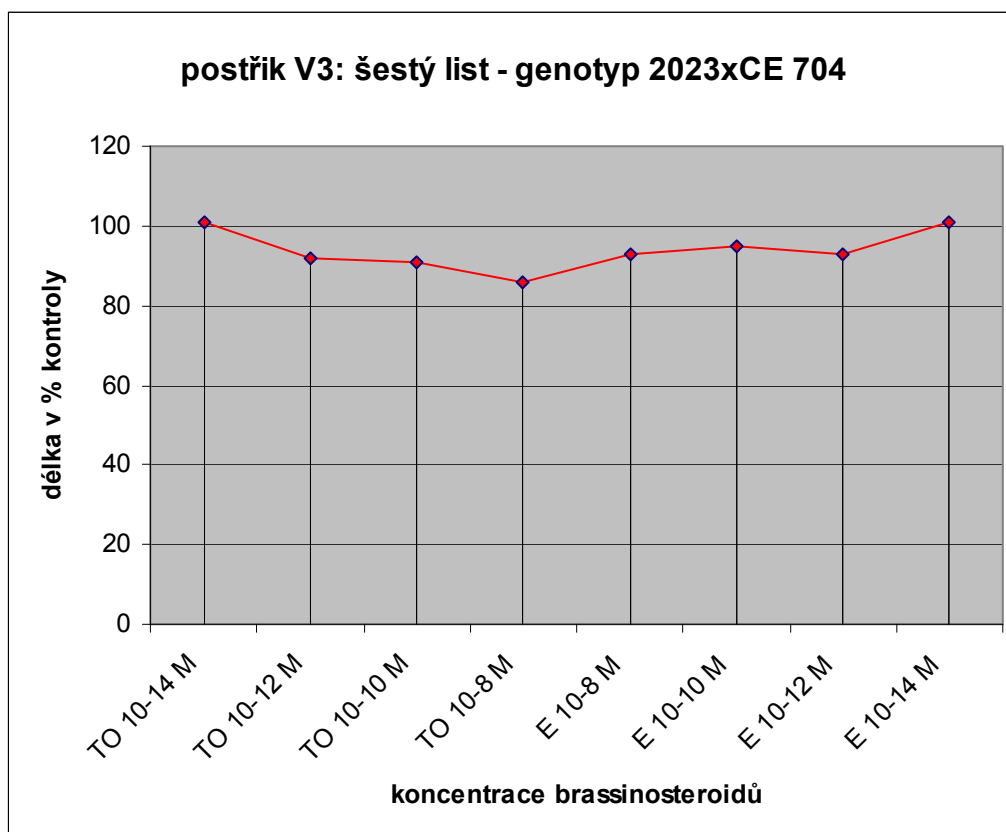
Graf č. 12: Délka 14. listu rostlin genotypu CE 704 ošetřených koncentracemi 10^{-8} – 10^{-14} M postřiky E a TO ve stádiu V5 vyjádřená v % kontroly.

U všech listů rostliny genotypu CE 704 při postřiku ve stádiu růstu V5 se projevila výrazná reakce na postřik 24-epibrassinolidem o koncentraci 10^{-8} M. U všech rostlin se tato koncentrace projevila výrazným zkrácením listů oproti kontrolním rostlinám.

Výrazná byla také reakce na postřik derivátem casthasteronu o koncentraci 10^{-14} M, čili o koncentraci nejmenší. Reakcí bylo u dvou listů prodloužení a u 11. listu nejmenší zkrácení listu oproti ostatním postřikům.

4.1.5 Genotyp 2023xCE 704 postřik ve stádiu růstu V3

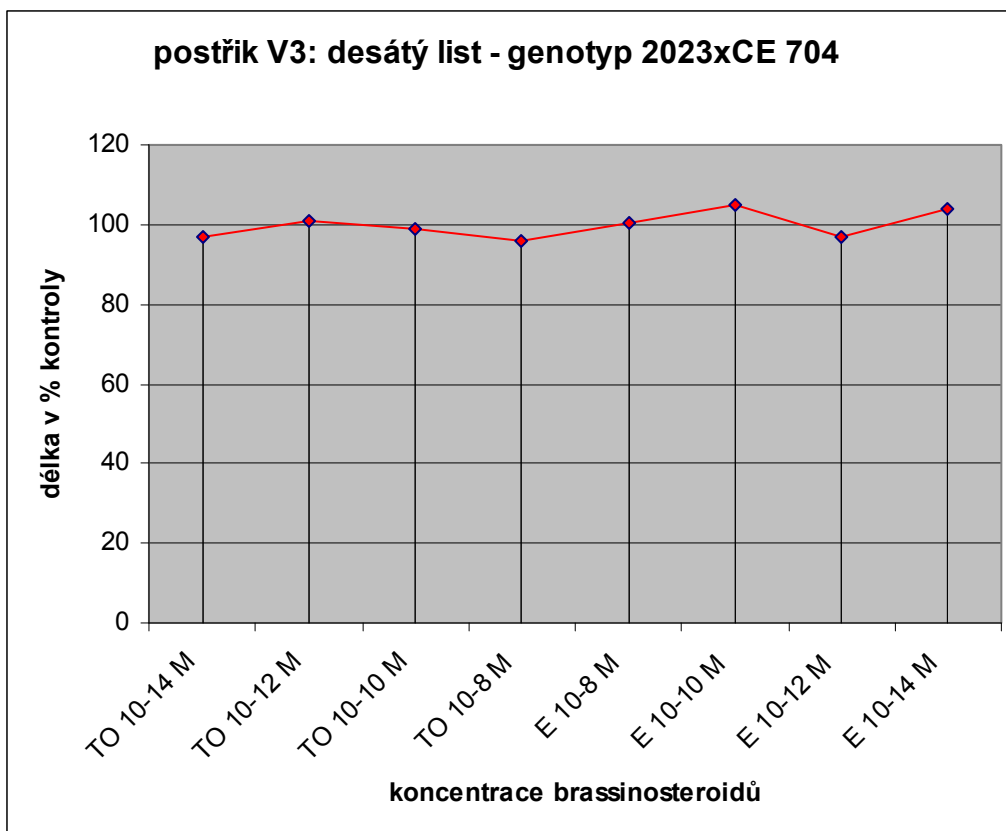
Z výsledků získaných pro rostliny genotypu 2023xCE 704 u 6. listu je patrná reakce na nejnižší koncentrace obou postřiků (viz Graf č.13). U obou se projevilo prodloužení listů. Hodnoty odpovídající dalším postřikům nabývají hodnot nižších než hodnota kontroly, tudíž rostlina na tyto koncentrace reagovala zkrácením listu. Nejvýraznější zkrácení listů lze pozorovat u postřiku TO 10^{-8} M což je nejvyšší použitá koncentrace.



Graf č. 13: Délka 6. listu rostlin genotypu 2023xCE 704 ošetřených koncentracemi 10^{-8} – 10^{-14} M postřiky E a TO ve stádiu V3 vyjádřená v % kontroly.

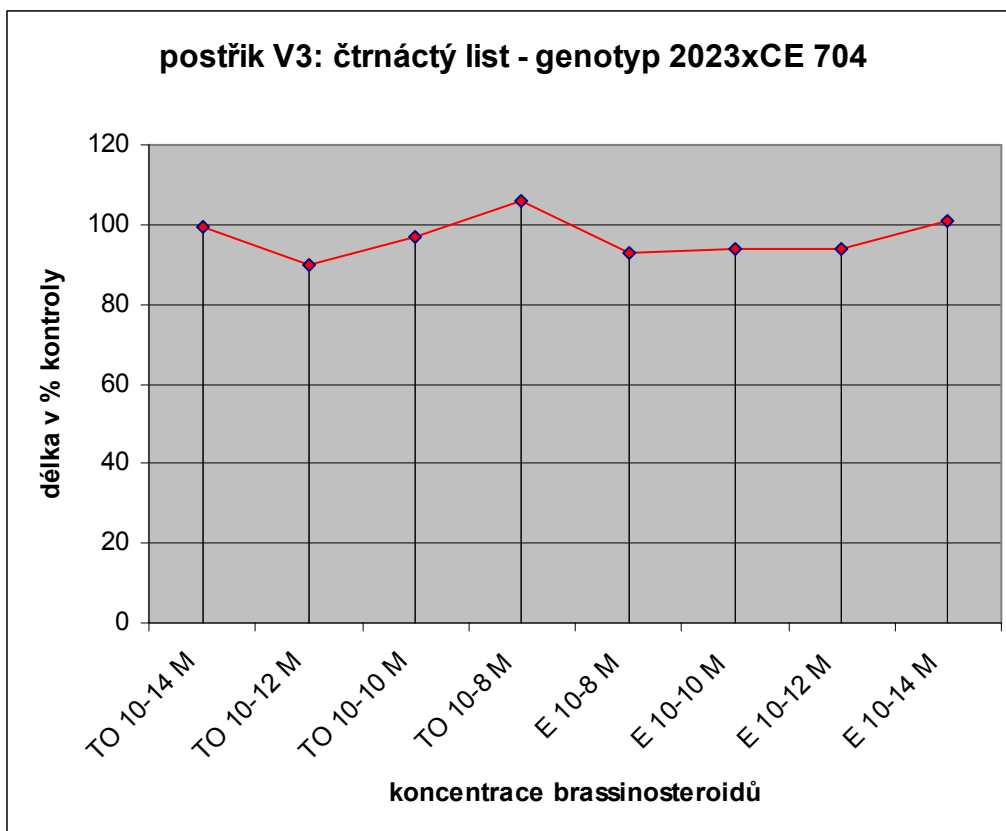
Desátý list rostlin genotypu 2023xCE 704 při postřiku ve stádiu růstu V3 reagovala na postřik TO 10^{-8} M zkrácením listů (viz Graf č.14). Míra zkrácení u tohoto postřiku byla oproti reakcím na ostatní použité postřiky nejvýraznější. Výraznější zkrácení listů nastalo také při postřiku TO 10^{-14} M a E 10^{-12} M. Jde o nejmenší koncentraci u derivátu castasteronu a o druhou nejmenší koncentraci u druhého použitého postřiku.

K prodloužení došlo u desátého listu pouze u dvou koncentrací a to u koncentrace E 10^{-10} M a E 10^{-14} M.



Graf č. 14: Délka 10. listu rostlin genotypu 2023xCE 704 ošetřených koncentracemi 10^{-8} – 10^{-14} M postřiky E a TO ve stádiu V3 vyjádřená v % kontroly.

Postřik $TO 10^{-8}M$ svou reakcí na čtrnáctém listu při postřikání rostlin genotypu 2023xCE 704 jasně vystupuje z ostatních naměřených hodnot a ukazuje největší prodloužení listu (viz Graf č.15). Další prodloužení listů, které se u čtrnáctého listu vyskytlo náleží rostlinám postřikáným $E 10^{-14}M$. Jedná se ale o výrazně menší prodloužení listu než u koncentrace $TO 10^{-8}M$. Nejvýraznější zkrácení listů oproti hodnotám kontroly se projevilo u postřiku $TO 10^{-12}M$.



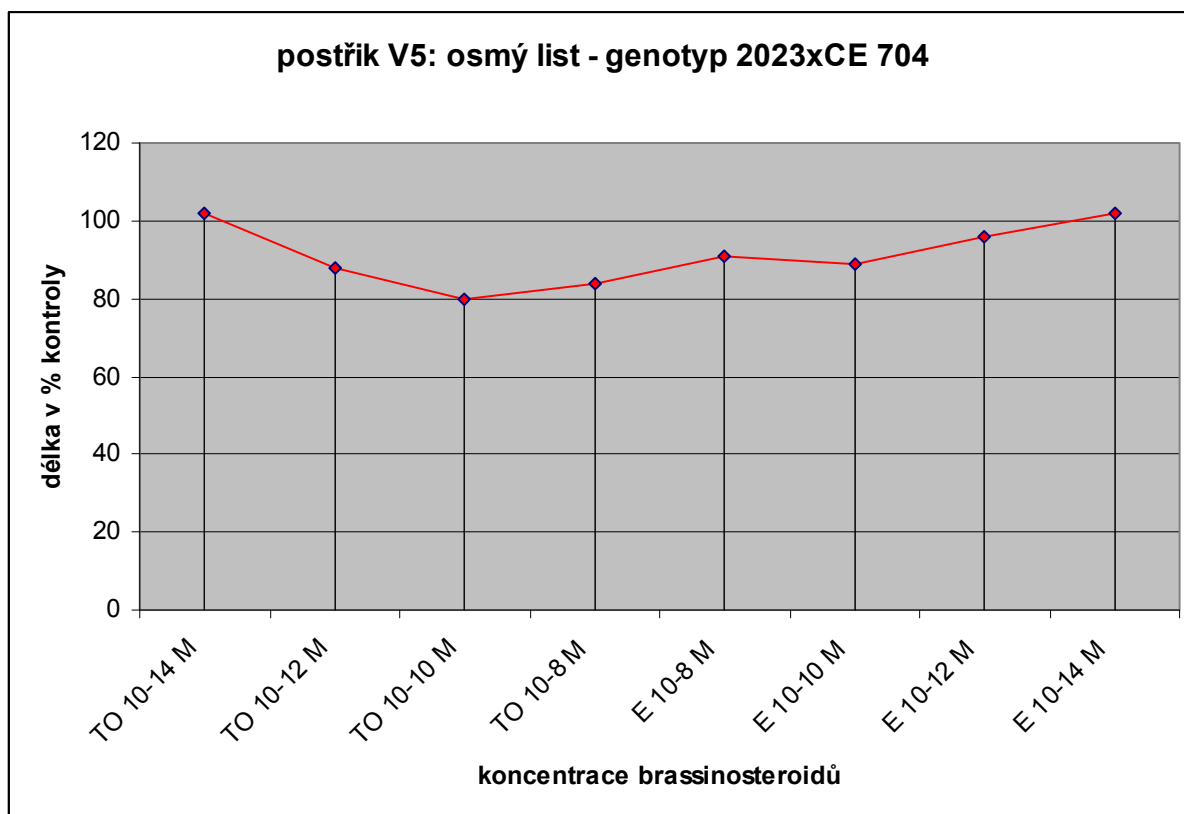
Graf č. 15: Délka 14. listu rostlin genotypu 2023xCE 704 ošetřených koncentracemi 10^{-8} – 10^{-14} M postřiky E a TO ve stádiu V3 vyjádřená v % kontroly.

Postřik TO 10^{-8} M působí na vyšší listová patra prodloužením listů ale u nižších pater vyvolává výrazné zkrácení listů. Nejvýraznější zkrácení při této koncentraci lze vyzorovat u šestého listu.

Prodloužení listů oproti hodnotám kontroly je u stejného postřiku dobře patrné u čtrnáctého listu, který určuje délku čtrnáctého listu.

4.1.6 Genotyp 2023xCE 704 postřik ve stádiu růstu V5

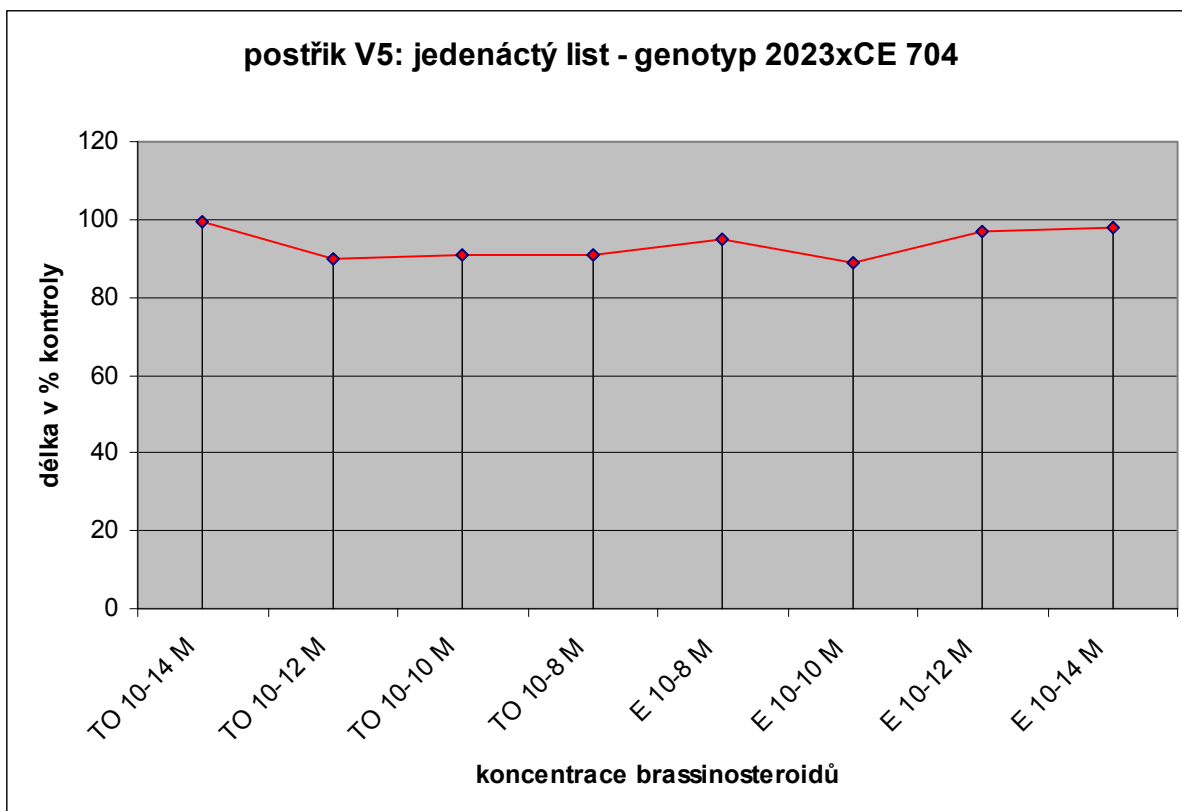
Hodnoty grafu tvoří téměř pravidelnou křivku (viz Graf č.16). Čím vyšší je koncentrace brassinosteroidů v postřiku tím je také výraznější zmenšení osmého listu u rostlin genotypu 2023xCE 704. Jediná hodnota vystupující z této křivky je u rostliny s postřikem E 10^{-8} M. U nejvyšších koncentrací obou brassinosteroidů se objevila drobná výchylka a došlo k malému zvětšení listu.



Graf č. 16: Délka 8. listu rostlin genotypu 2023xCE 704 ošetřených koncentracemi 10^{-8} – 10^{-14} M postřiky E a TO ve stádiu V5 vyjádřená v % kontroly.

Všechny postřiky o všech použitých koncentracích se u jedenáctého listu (viz Graf č.17) projeví zkrácením listů. Nejvýraznější zkrácení listu oproti kontrole (11%) bylo při postřiku E 10^{-12} M. Minimální zkrácení listů bylo zaznamenáno u postřiku TO o nejmenší použité koncentraci a hned poté následovala nejnižší koncentrace postřiku E.

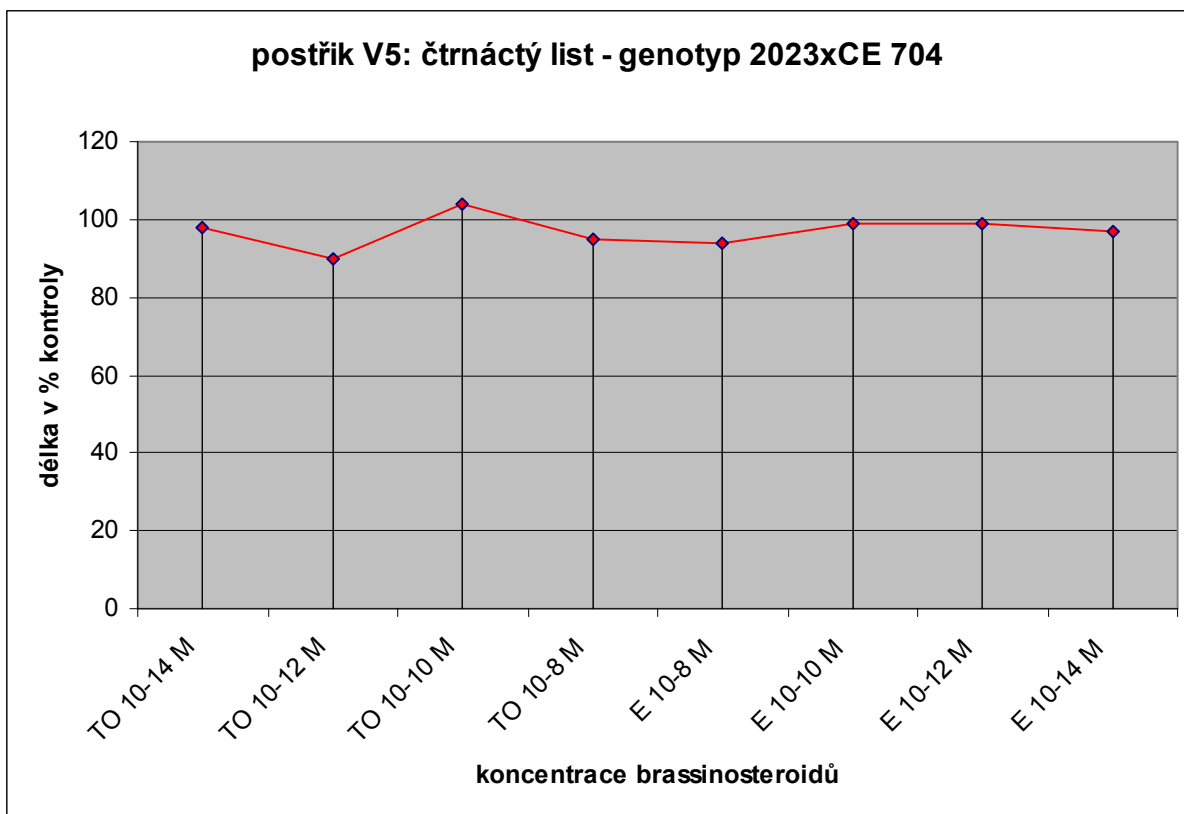
Na postřik E 10^{-8} M reagovala rostlina relativně malým zkrácením listu oproti jiným hodnotám grafu.



Graf č. 17: Délka 11. listu rostlin genotypu 2023xCE 704 ošetřených koncentracemi 10^{-8} – 10^{-14} M postřiky E a TO ve stádiu V5 vyjádřená v % kontroly.

Převážná většina postřiků vyvolala u čtrnáctého listu zkrácení listu oproti hodnotám kontroly (viz Graf č.18). Druhé nejvýraznější zkrácení listů vyvolal postřik E 10^{-8} M a hned za ním následuje ve stupnici nejvyšší použitá koncentrace TO.

Pouze při postřiku TO 10^{-10} M byla reakce na brassinosteroid opačná, došlo k prodloužení listů, avšak pouze o 4% oproti kontrole.



Graf č. 18: Délka 14. listu rostlin genotypu 2023xCE 704 ošetřených koncentracemi 10^{-8} – 10^{-14} M postřiky E a TO ve stádiu V5 vyjádřená v % kontroly.

U všech měřených listů rostlin genotypu 2023xCE 704 při postřiku ve stádiu růstu V5 převládalo zkrácení. Při postřiku TO 10^{-14} M byla reakce podobná u jedenáctého a čtrnáctého listu, a to minimální zkrácení oproti kontrole. U osmého listu dokonce hodnota nepatrně vyšší než hodnota kontrolní rostliny, tudíž se jedná o nepatrné prodloužení listu.

4.1.7 Celkové srovnání v rámci všech genotypů

U postřiku rostlin rodičovského genotypu **2023** ve stádiu V3 je jasná převaha hodnot převyšujících kontrolu, proto lze usuzovat prodloužení listů u většiny postřiků.

U postřiku ve stádiu růstu V5 převažuje zkrácení listů. U dvou nižších listů se dokonce nevyskytuje jediný případ prodloužení listu oproti kontrole.

Rostliny genotypu 2023 reagovaly při obou postřicích (V3 i V5) podobně. Při koncentraci $E\ 10^{-8}M$ došlo k prodloužení listů. U rostlin postříkaných ve stádiu růstu V5 se jedná o opravdu výrazný rozdíl vzrůstu oproti ostatním hodnotám. Při postřiku ve stádiu růstu V3 se reakce na tuto koncentraci projevila spíše zkrácením listu.

Rostliny druhého rodičovského genotypu **CE 704** všechny reagovaly svým růstem na postřik $E\ 10^{-8}M$. U postřiku rostlin ve stádiu V3 šlo o výrazné prodloužení listů a u rostlin postříkaných ve fázi růstu označené V5 se jednalo o viditelné zkrácení listů. Na tento postřik reagovaly rostliny postříkané ve fázi růstu V3 zcela opačně než rostliny postříkané ve fázi růstu V5.

Reakce na nejnižší koncentrace se vyskytovaly téměř u všech listů. U postřiku V5 se jednalo převážně o postřik derivátem castasteronu a u postřiku ve stádiu V3 o postřik 24-epibrassinolidem.

U obou postřiků (V3 a V5) se u jedenáctého a desátého listu rostlin genotypu **2023xCE 704** vyskytla velká reakce na postřik $E\ 10^{-10}M$. U postřiku ve stádiu V3 šlo o nejvýraznější zkrácení oproti kontrole a u postřiku ve stádiu V5 šlo o největší prodloužení listů.

U čtrnáctého listu u obou fází postřiků reagovaly nejvíce dvě nejvyšší koncentrace postřiku derivátem castasteronu. U obou případů se jednalo o prodloužení listů, která se shodně nacházela v okolí 5% nárůstu oproti kontrole. U těchto dvou listů je patrná stejná reakce na postřik $TO\ 10^{-12}M$ a to zkrácení listů oproti kontrole.

U šestého listu při postřiku rostlin ve stádiu růstu V3 a u osmého listu při postřiku ve stádiu růstu V5 lze vypořovovat shodnou reakci. Tzn. nejnižší koncentrace postřiků vyvolaly nejvýraznější zkrácení listů oproti kontrole.

Rodičovské linie výrazně reagovaly na postřik $E\ 10^{-8}M$. U genotypu 2023 bylo prodloužení listů výrazné při postřiku ve stádiu růstu V5 (u postřiku ve stádiu růstu V3 bylo reakcí zkrácení listů) a u genotypu CE 704 bylo prodloužení listů oproti kontrole naměřeno při postřiku ve stádiu růstu V3 (u postřiku ve stádiu růstu V5 bylo reakcí zkrácení listů). Rodičovské genotypy reagovaly antagonisticky. Z toho lze usoudit, že rostliny různých genotypů reagují na postřiky v různých stádiích růstu jinak, v tomto případě dokonce úplně opačně.

V generaci F_1 se výraznější inklinace k jedné z rodičovských linií projevila u měření jedenáctého listu při postřiku rostlin ve stádiu růstu V5 a desátého listu při postřiku ve stádiu růstu V3 kdy byla reakce na druhou nejvyšší koncentraci postřiku 24-epibrassinolidem obdobná jako u genotypu 2023.

Při postřiku ve stádiu růstu V5 se objevuje podobnost u reakcí osmých listů F_1 křížence a rodiče 2023.

U většiny měření se prodloužení listu (či v některých případech minimální zkrácení) projevilo u nejnižších užitých koncentrací postřiků. Tento fakt lze připsat tomu, že v rostlinách se přirozeně vyskytuje opravdu minimální koncentrace brassinosteroidů, proto při vyšších koncentracích docházelo k inhibicím.

4.1.8 Reakce na postřik brassinosteroidy aplikovaný na rostliny ve stádiu růstu V3

U měření desátého listu se nápadně podobá hodnotám naměřeným u rodičovského genotypu CE 704 a F₁ křížence. U listu čtrnáctého lze vyzorovat větší podobnost s druhou rodičovskou linií - 2023.

U šestého listu při postřiku 24-epibrassinolidem se projevila obdobná reakce u rodičovské linie 2023 a u křížence F₁ generace.

Oproti postřiku V5 se jednalo u postřiku V3 ve více případech o prodloužení listů. Z toho by se dalo usuzovat, že postřik v rannějším stádiu růstu rostliny je pro ni výhodnější z hlediska jejich výsledných morfologických charakteristik.

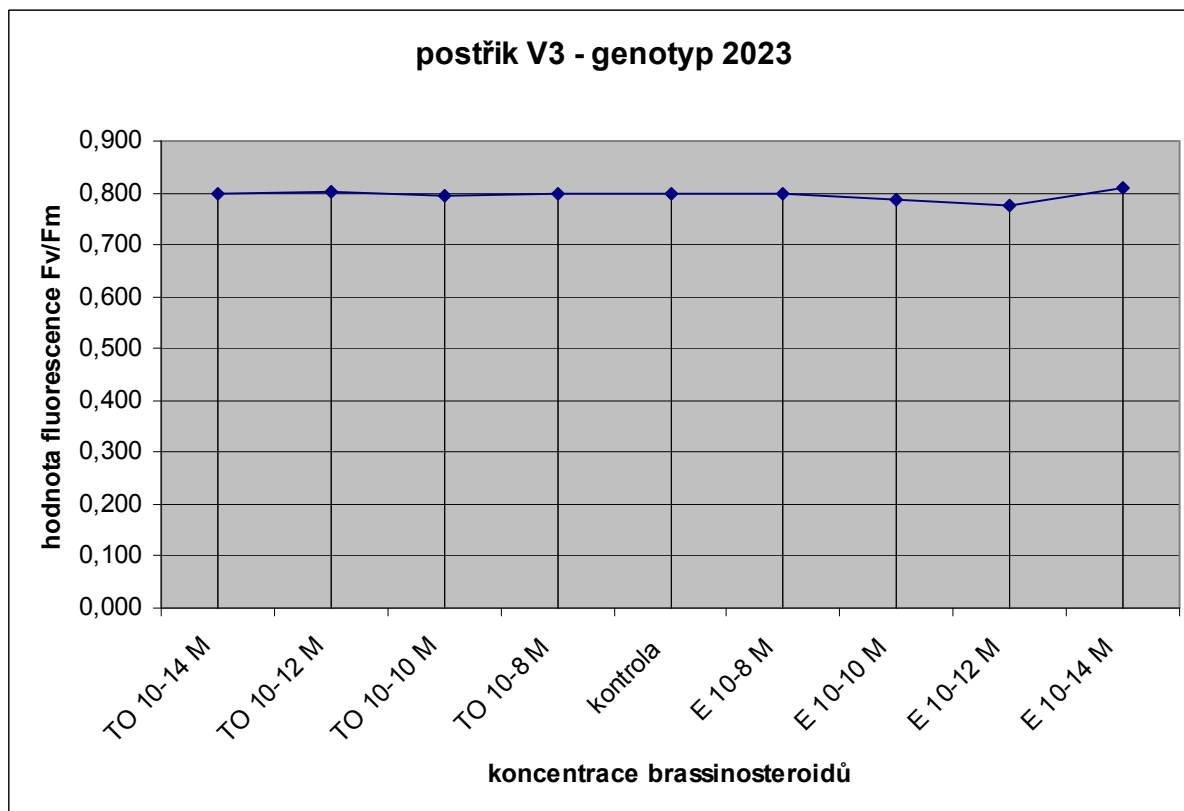
4.1.9 Reakce na postřik brassinosteroidy aplikovaný na rostliny ve stádiu růstu V5

V drtivé většině byla reakce na postřik ve stádiu V5 zkrácení listů. O prodloužení listů oproti kontrolní rostlině šlo pouze v několika případech.

U osmého a jedenáctého listu lze vyzorovat podobné hodnoty - čím nižší koncentrace brassinosteroidů tím větší prodloužení listů oproti kontrole. To lze připsat faktu, že za normálních podmínek se v rostlině vyskytují brassinosteroidy ve velmi nízké koncentraci, proto je pro rostlinu jednodušší přijímat nejnižší koncentraci a reagovat na ni v závislosti na jejich funkci v rostlině. Největší prodloužení listů oproti kontrole jsem zaznamenala u nejnižší použité koncentrace postřiku 24-epibrassinolidem.

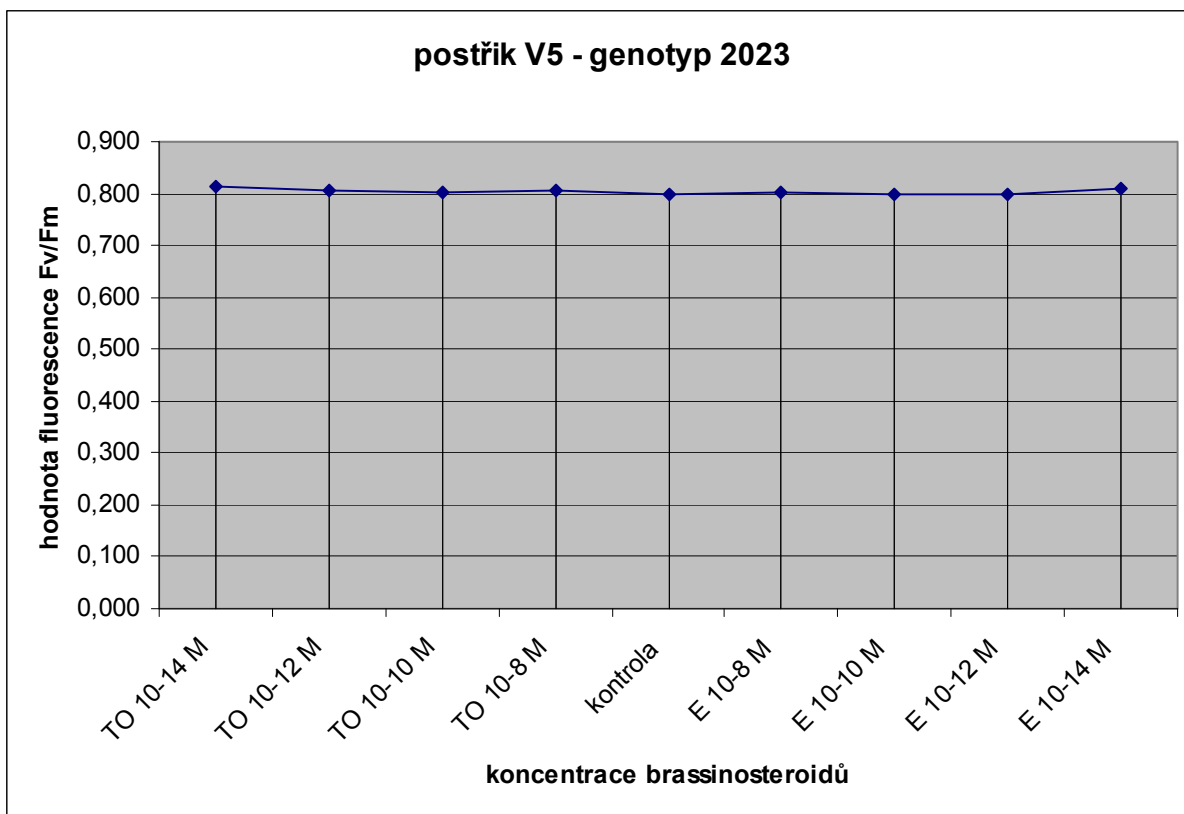
4.2 Fluorescenční charakteristiky

4.2.1 Genotyp 2023



Graf č. 19: Hodnoty fluorescence naměřené u rostlin genotypu 2023 při postřiku ve stádiu růstu V3.

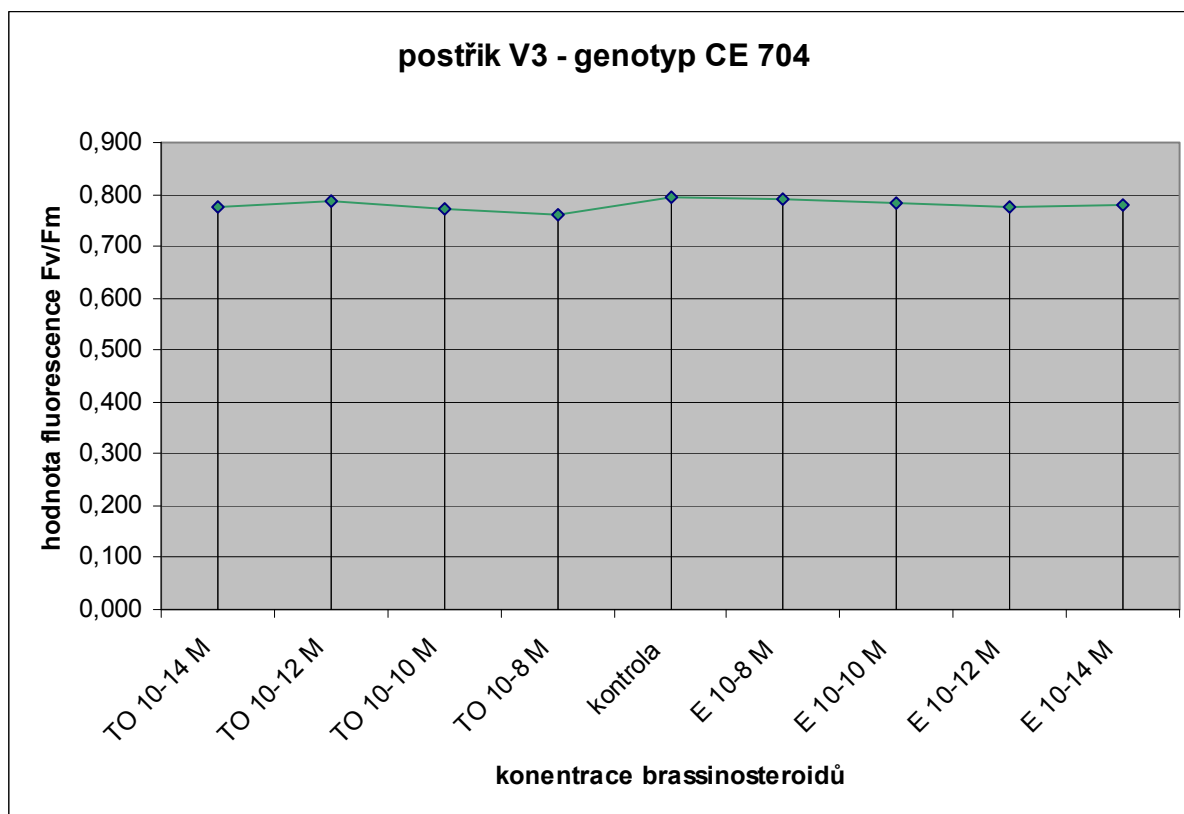
V grafu (viz. Graf č. 19) se nevyskytují žádné větší odchylky od standardní hodnoty 0,8, která odpovídá běžným hodnotám naměřeným u zdravých nepoškozených rostlin. Pouze u postřiku E 10^{-14} M se vyskytlo minimální zvýšení výtěžku fotosyntézy.



Graf č. 20: Hodnoty fluorescence naměřené u rostlin genotypu 2023 při postřiku ve stádiu růstu V5.

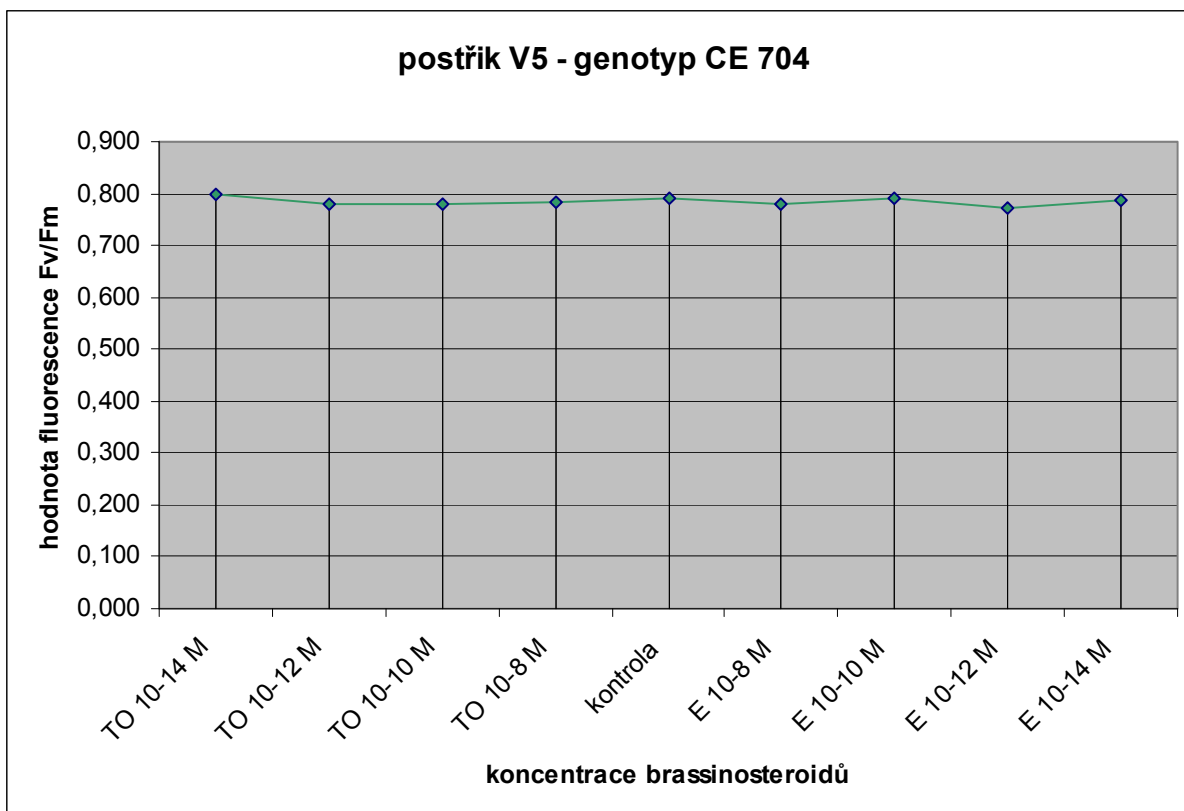
Při postřiku rostlin genotypu 2023 ve stádiu růstu V5 nedošlo k výraznějšímu zvýšení fotosyntetické aktivity (viz. Graf č. 20). Pouze u nejnižších použitých koncentrací obou postřiků došlo k minimálnímu zvýšení standardní hodnoty. Nejedná se o výraznou odchylku, jde o hodnotu běžnou pro nepoškozené rostliny.

4.2.2 Genotyp CE 704



Graf č. 21: Hodnoty fluorescence naměřené u rostlin genotypu CE 704 při postřiku ve stádiu růstu V3.

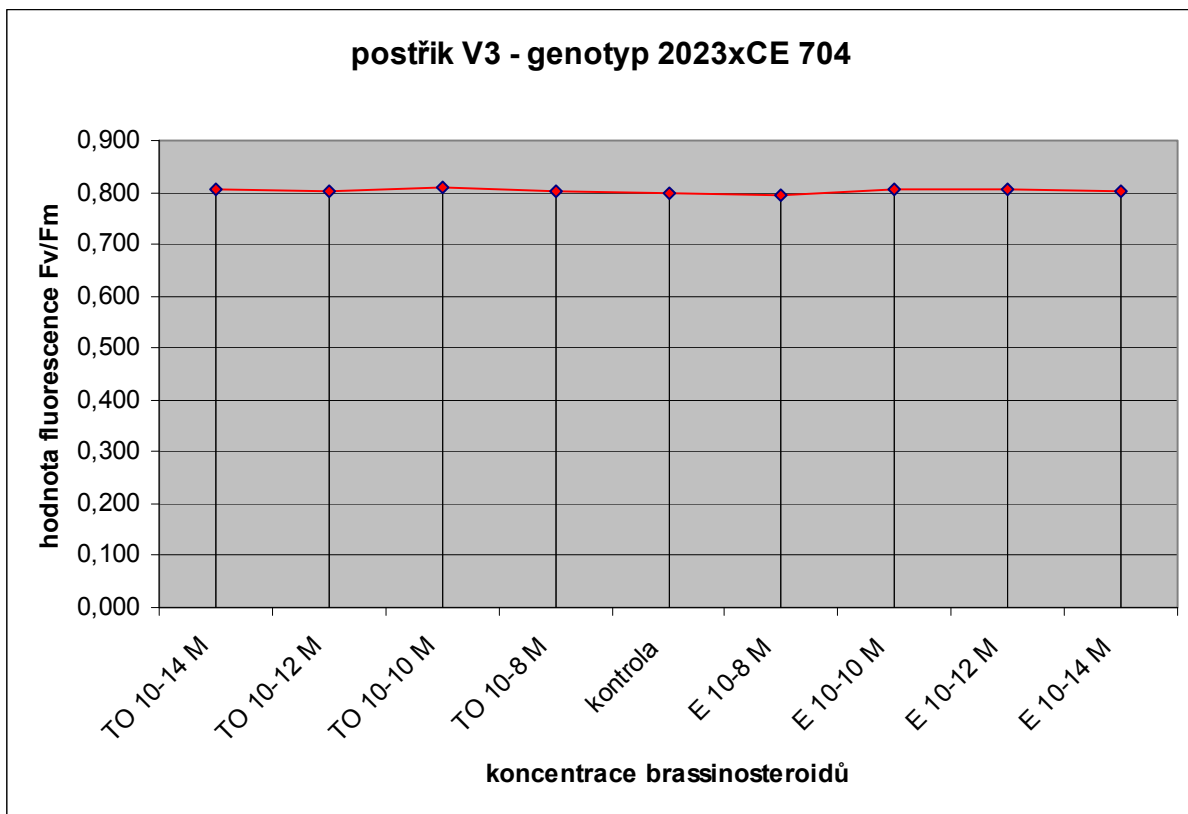
Rostlina genotypu CE 704, jedna z rodičovských linií, reagovala na postřik ve stádiu růstu V3 snížením výtěžku fotosyntesy (viz. Graf č. 21). Nejvyšší snížení bylo zaznamenáno při postřiku nejvyšší použitou koncentrací derivátu castasteronu. Ostatní hodnoty naměřené u rodičovského genotypu CE 704 se pohybují v okolí běžných hodnot pro nepoškozené rostliny.



Graf č. 22: Hodnoty fluorescence naměřené u rostlin genotypu CE 704 při postřiku ve stádiu růstu V5.

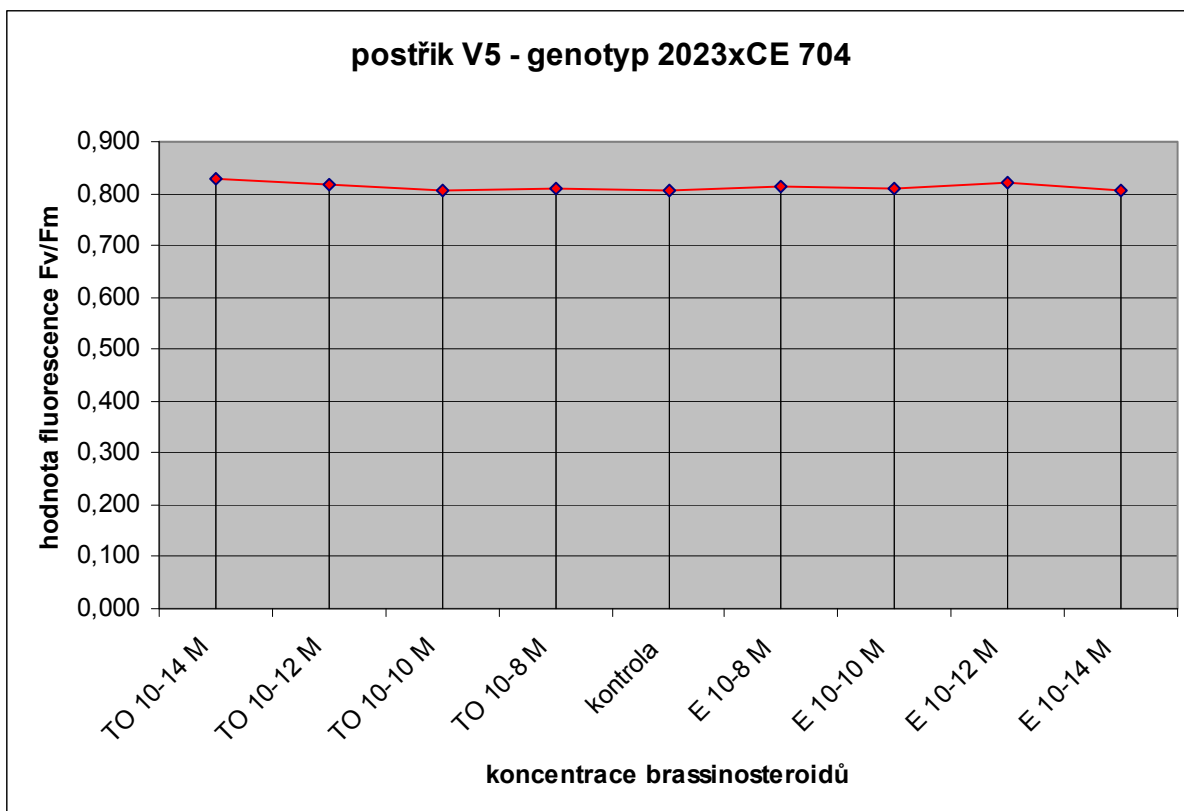
Při postřiku ve stádiu V5 se nejbližší normálním hodnotám dostala rostlina genotypu CE 704 (viz. Graf č. 22) při postřiku TO 10⁻¹⁴M. Ostatní hodnoty ukazují pouze minimální snížení aktivity fotosyntetických aparátů. Největší snížení naměřených hodnot F_v/F_m se objevilo při postřiku E 10⁻¹²M.

4.2.3 Genotyp 2023xCE 704



Graf č. 23: Hodnoty fluorescence naměřené u rostlin genotypu 2023xCE 704 při postřiku ve stádiu růstu V3.

Linie F₁ křížence (genotyp 2023xCE 704) na postřik různými koncentracemi brassinosteroidů ve stádiu V3 nijak výrazně nereagovala (viz. Graf č. 23). Všechny naměřené hodnoty se pohybují okolo normální hodnoty pro zdravé a nepoškozené rostliny.



Graf č. 24: Hodnoty fluorescence naměřené u rostlin genotypu 2023xCE 704 při postřiku ve stádiu růstu V5.

U rostlin křížence (viz. Graf č. 21). k jedinému odchýlení hodnoty od normálního stavu u nepoškozených zdravých rostlin došlo u nejnižší koncentrace postřiku derivátem castasteronu. Jedná se stále o minimální odchýlení od běžné hodnoty 0.8, nelze proto přesně určit žádnou souvislost s použitými postřiky.

4.2.4 Celkové srovnání všech naměřených hodnot fluorescenční charakteristiky

U hodnot naměřených u rostlin genotypu **2023** se objevila pouze minimální odchylka od normálních hodnot při postřiku 24-epibrassinolidem o koncentraci 10^{-14} M. Jednalo se u postřiků v obou stádiích růstu o mírné zvýšení účinnosti fotosyntesy.

Rodičovská linie, rostliny genotypu **CE 704**, reagovala výrazněji v obou stádiích postřiků – V3 i V5. Jednalo se o v naprosté většině případů snížení účinnosti fotosystémů.

Rostliny křížence **2023xCE 704** reagovaly na postřik minimálním zvýšením účinnosti fotosyntetických aparátů oproti normálním hodnotám. Při postřiku ve stádiu V5 byla reakce o trochu výraznější.

Genotyp CE 704 reagoval na oba postřiky snížením aktivity. Naopak genotyp 2023xCE 704 reagoval zvýšením (u postřiku V5 výraznější). Kříženec dokázal z postřiku fytohormony vytěžit více než rodičovské linie.

U všech výchylek se jedná o minimální rozdíly hodnot, mohlo se tedy jednat o odchylky v měřeních způsobené vnějšími vlivy.

Na postřik rostlin ve stádiu růstu **V3** byla reakce rostlin nevýrazná. U genotypu 2023 se hodnoty příliš nevychylovaly z hodnot normy a kontrolní rostliny (pouze ve dvou případech postřiku) a u genotypu 2023xCE 704 se jednalo pouze o minimální zvýšení aktivity. U genotypu CE 704 šlo o nevýrazné snížení aktivity PSII. Lze tedy určit, že postřik rostlin ve stádiu V3 neměl na výtěžek fotosyntézy výrazný vliv a hodnoty jsou v normě zdravých nepoškozených rostlin.

Na postřik ve stádiu V5 nejvíce reagovaly genotypy 2023 a 2023xCE 704 a to mírným zvýšením aktivity fotosyntetického aparátu. Největší zvýšení (i když stále minimální) se v těchto dvou případech projevilo u postřiku TO 10^{-14} M. Tuto tendenci lze připsat opět stejnému faktoru jako stimulaci růstu listů. Nejnižší koncentrace se přibližuje minimu brassinosteroidů, které se v rostlině přirozeně vyskytuje. Tudíž rostlina není nucena příliš vysokou koncentrací snížit aktivitu v důsledku obrany proti vnějšímu postřiku.

5 Závěr

Při měření morfologických charakteristik pokusných rostlin se mi podařilo zjistit, že reakce na postřiky v dřívějším stádiu růstu (označovaném V3) jsou kladnější než na pozdější postřik. Ve většině případů šlo o prodloužení listů. Rodičovské linie reagovaly na postřik ve stádiu růstu V3 více než kříženec.

Největší prodloužení, čili nejkladnější reakci na postřik jsem zaznamenala u postřiku 24 – epibrassinolidem ve stádiu růstu V3 při nejnižší použité koncentraci (10^{-14} M) u genotypu 2023. Ačkoliv je kříženec F_1 odolnější vůči vnějším vlivům, rodičovská linie 2023 prokázala větší prodloužení listů. Hodnoty křížence nebyly příliš odlišné od kontrolních rostlin. Podle mého je při tomto postřiku zemědělsky nejvýhodnější genotyp 2023.

Různé odchylky v měření (například úplná absence listu) lze připsat možnému mechanickému poškození na venkovním stanovišti, proto jsem tyto údaje v celkových hodnoceních grafů pominula.

U měření fotosyntetických charakteristik rostlin se nevyskytly směrodatné odchylky od normálního stavu v rostlinách. Pouze u rodičovského genotypu 2023 a u kříženecké linie se objevilo mírné zvýšení aktivity fotosyntesy při nejnižších postřicích. To potvrzuje mou domněnku, že rostliny se lépe vyrovnávají s nízkými koncentracemi brassinosteroidů, protože je to bližší množství těchto fytohormonů, které jsou v rostlině obsaženy.

5.1 Anotace

Ve své práci jsem chtěla zodpovědět otázky účinku postřiku brassinosteroidy na rostlinu. Brassinosteroidy se v rostlinách vyskytují v minimálním množství. Pro pokusy byly použity roztoky dvou brassinosteroidů 24-epibrassinolidu a derivátu castasteronu. Pro účely mé práce byly použity 4 koncentrace těchto dvou brassinosteroidů. Používala jsem 3 genotypy. Rodičovské linie 2023 a CE 704 a jejich křížence 2023xCE 704. Zkoumala jsem také vliv postřiků vzhledem ke genotypu, jaký má vliv na výslednou rostlinu.

Rostliny byly postřikány ve dvou stádiích růstu. Zkoumala jsem morfologické charakteristiky i charakteristiky fotosyntetické. Z morfologických charakteristik jsem si vybrala délku listu a jako charakteristiku fotosyntézy jsem použila hodnoty fluorescence. Hodnoty jsem v grafech porovnávala.

Práce potvrdila mou domněnku, rostliny dovedou profitovat především z nejnižších koncentrací postřiků, protože přirozené množství brassinosteroidů v rostlinách je minimální.

6 Seznam použité literatury

BARTÁKOVÁ, Jana. *Vliv brassinosteroidů na fotosyntetické, morfologické a výnosové parametry různých genotypů kukuřice*. [s.l.], 2006. 143 s. Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta. Diplomová práce

BLÁHA, Ladislav, GOTTWALDOVÁ, Pavlína, HNILIČKA, František. KOHOUT, Ladislav. Vliv aplikace 24-epibrassinolidu na vlastnosti rostlin a semen In KOHOUT , Ladislav. *Brassinosteriody 2004*. Praha : Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, 2004. s. 47-53. ISBN 80-86241-23-8.

ETH Agronomy and plant breeding [online]. 2005 [cit. 2008-04-08]. Dostupný z WWW: <<http://www.kp.ipw.agrl.ethz.ch/>>.

FRACHEBOUD, Yvan. *Using Chlorophyll Fluorescence to Study Photosynthesis*. [s.l.] : [s.n.], 2006. Dostupný z WWW: <<http://www.ab.ipw.agrl.ethz.ch/~yfracheb/flex.pdf>>. s. 1-3.

HNILIČKOVÁ, J., ŠÍŠA, M., KOHOUT, L. Syntéza nových brassinosteroidů s různými esterovými funkčními skupinami v poloze 17. In KOHOUT , Ladislav. *Brassinosteriody 2004*. Praha : Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, 2004. s. 1-4. ISBN 80-86241-23-8.

KOHOUT, Ladislav. New Method of Preparation of Brassinosteroids. *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*. 1994, vol. 59, no. 2, s. 457-460.
KOHOUT et al., 2005 ISSN 0010-0765

LI, J., and CHORY, J. (1997): A putative leucine-rich repeat receptor kinase involved in brassinosteroid signal transduction, *Cell*, 90: 701-713.

ONO, E. O., NAKAMURA, T., MACHADO, S. R., and RODRIGUEZ, J. D. (2000): Application of brassinosteroid to *Tabebuia alba* (Bignoniaceae) plants, *R. Bras. Fisiol. Veg.*, 12 (3): 187-194.

ROHÁČEK, Karel RnDr, CSc., SOUKUPOVÁ, Julie Mgr.,PhD. : Fluorescence, fotosyntéza a stress: Jak to spolu souvisí?

YOKOTA, T. (1999): The history of brassinosteroids: discovery to isolation of biosynthesis and signal transduction mutants, In: *Brassinosteroids Steroidal Plant Hormones* (Sakurai, A., Yokota, T., and Clouse, S.D., eds) Springer-Verlag, Tokyo: 1-20.