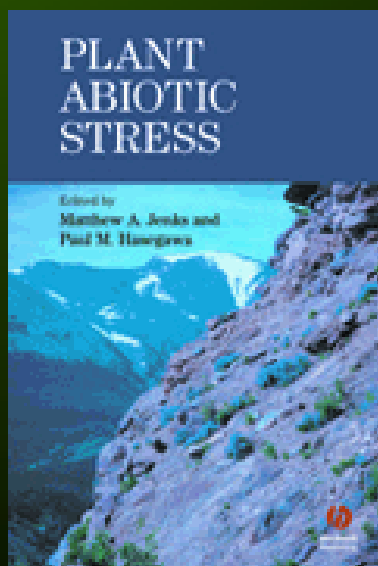


6) Reakce rostlin k abiotickým stresům

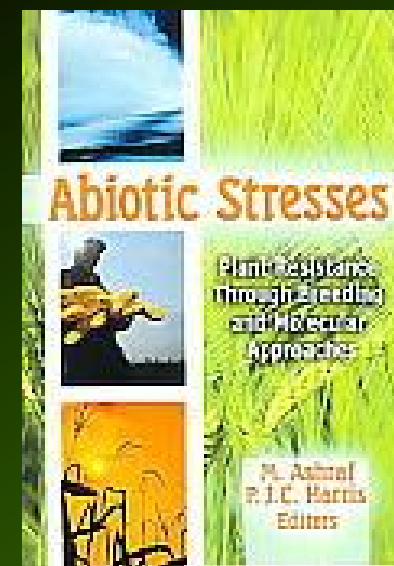
f) Tepelný stres a tepelný šok

g) Kyslíkový deficit



Jenks M *et al.* (2005)
Plant Abiotic Stress.
Blackwell Publishing

Ashraf M *et al.* (2005)
Abiotic Stresses. The
Haworth Press Inc.



f) Tepelný stres a tepelný šok

Pletiva se liší ve schopnosti tolerovat teploty:

Aktivně rostoucí a hydratovaná pletiva vyšších rostlin: do 45 °C

Pylová zrna: do 75 °C

Suchá semena: do 120 °C

Termotolerance – tolerance k vyšším teplotám indukovaná opakovaným vystavením rostliny subletálním teplotám

TABLE 25.3
Heat-killing temperatures for plants

Plant	Heat-killing temperature (C°)	Time of exposure
<i>Nicotiana rustica</i> (wild tobacco)	49–51	10 min
<i>Cucurbita pepo</i> (squash)	49–51	10 min
<i>Zea mays</i> (corn)	49–51	10 min
<i>Brassica napus</i> (rape)	49–51	10 min
<i>Citrus aurantium</i> (sour orange)	50.5	15–30 min
<i>Opuntia</i> (cactus)	>65	—
<i>Sempervivum arachnoideum</i> (succulent)	57–61	—
Potato leaves	42.5	1 hour
Pine and spruce seedlings	54–55	5 min
<i>Medicago</i> seeds (alfalfa)	120	30 min
Grape (ripe fruit)	63	—
Tomato fruit	45	—
Red pine pollen	70	1 hour
Various mosses		
Hydrated	42–51	—
Dehydrated	85–110	—

Source: After Table 11.2 in Levitt 1980.

Tepelný šok – vysoká teplota listu a vodní deficit



Fotosyntéza a respirace jsou inhibovány při vysokých teplotách

Fotosyntéza klesá před respirací

Fotosyntéza – fixace CO₂

Respirace – uvolňování CO₂

Teplotní kompenzační bod:

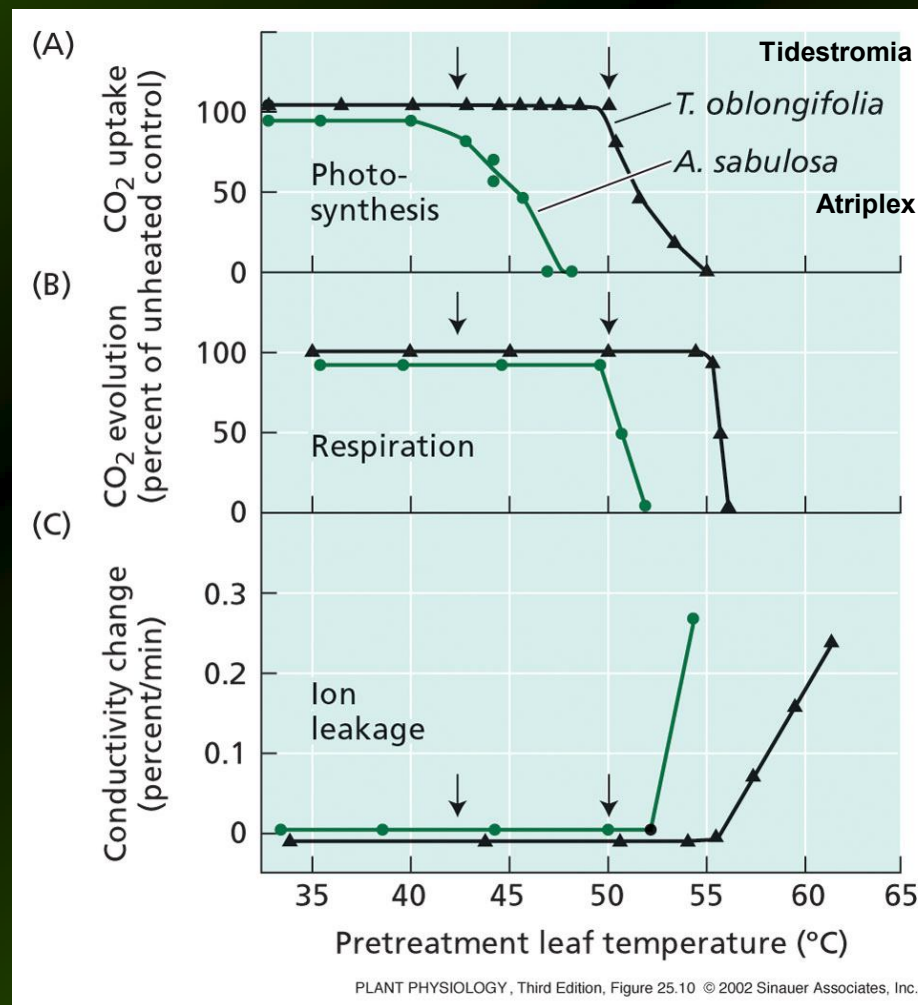
Teplota, při které je množství CO₂ fixováno fotosyntézou rovno množství CO₂ uvolněného respirací

Teplota > kompenzační bod

↓
Pokles C v rostlině

↓
C pro respiraci brán z rezerv

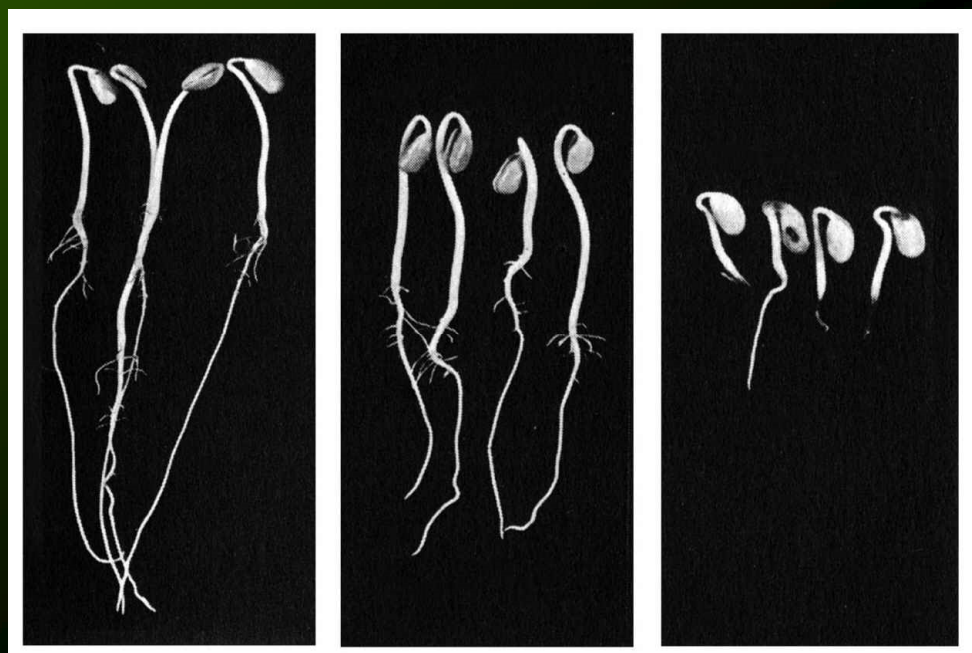
↓
Ztráta sladkosti plodů



Aklimatizace k teplotnímu stresu → syntéza nových proteinů

Vystavení vysokým, ale neletálním teplotám několik hodin před teplotním stresem

→ Schopnost přežít letální teploty



28°C

40°C => 45°C

28°C => 45°C

Aklimatizace rostlin
sóji

Atriplex sabulosa



Tidestromia oblongifolia



16 °C : *Atriplex* ~ 75 % normálního růstu
Tidestromia ~ špatný růst

45 °C : *Atriplex* ~ růst zastaven
Tidestromia ~ maximální růst



Rostliny adaptované k nízkým teplotám se aklimatizují špatně na vysoké teploty



Tepelný stres snižuje stabilitu membrány

Velká tekutost membrány koreluje se ztrátou fyziologických funkcí

Vysoká teplota



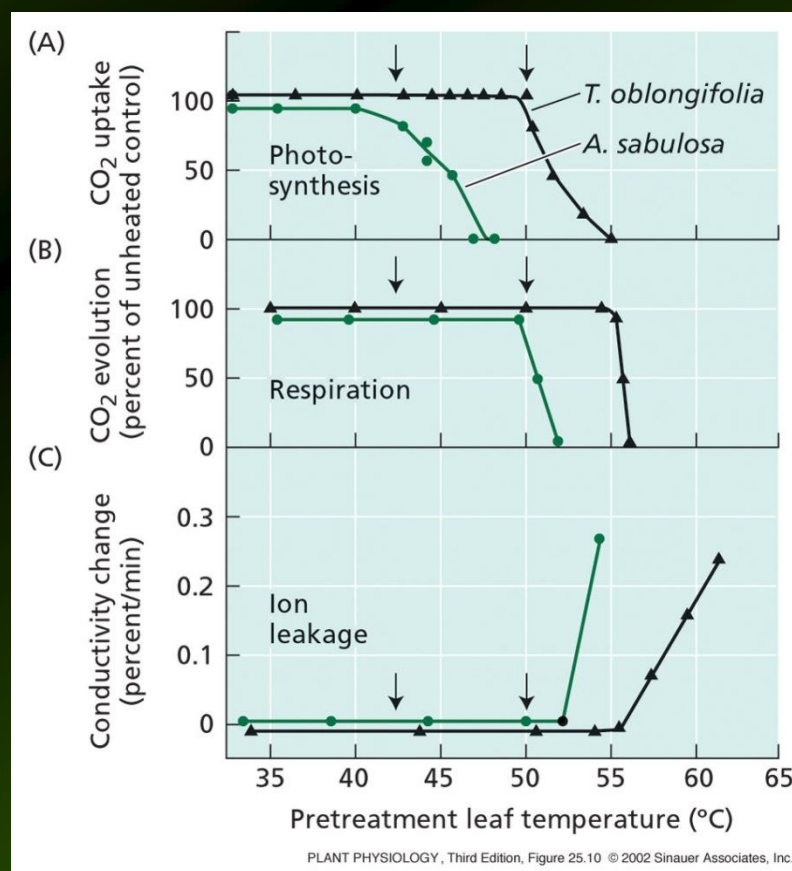
Snížení napětí vodíkové vazby a elektrostatické interakce mezi polárními proteiny



Modifikace membránové kompozice



Únik iontů z buňky



Narušení stability membrány



**Narušení aktivity elektronových
přenašečů a enzymů**



Inhibice fotosyntézy a respirace

Fotosyntéza – zvláště citlivá k vysokým teplotám

Teplota denaturace enzymů >> Teplota inhibice fotosyntézy

**V ranných fázích je inhibice fotosyntézy způsobena
destabilizací membrány, ne denaturací proteinů**



V přirozených podmínkách se rostliny chrání před nadměrným slunečním zářením:

- Tvorba trichomů
- Vytváření voskové vrstvy
- Rolování listů
- Vertikální růst listů
- Růst malých listů

Listový dimorfismus: *Encelia farinosa*

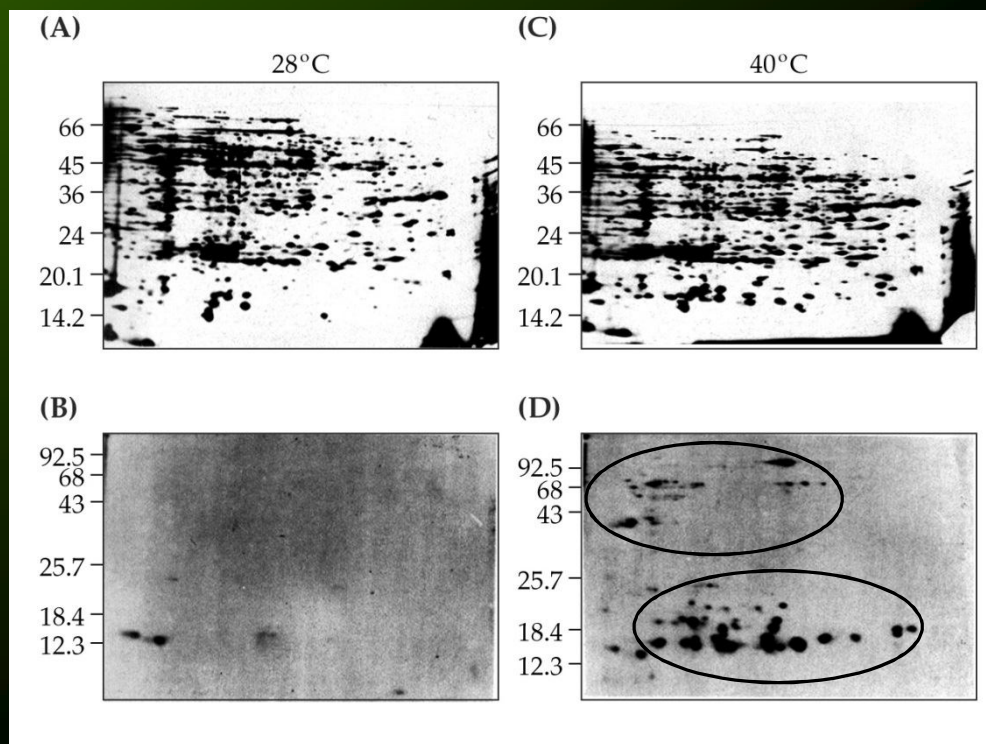
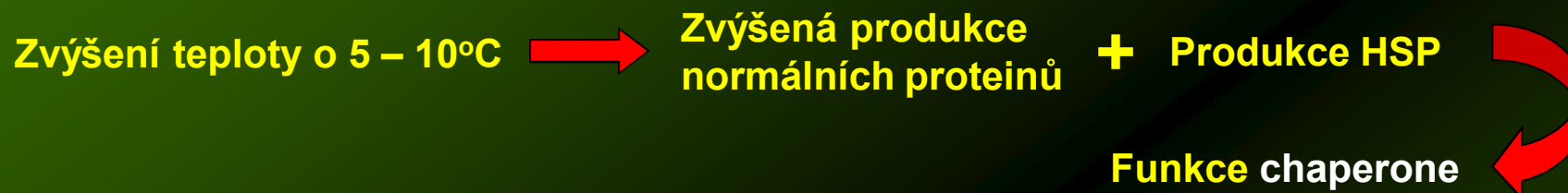


Léto



Zima

Heat – Shock Proteins (HSP)



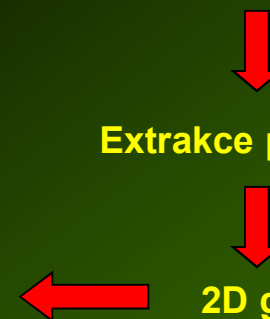
Vizualizace produkce HSP sóji na 2D gelu

Inkubace rostlin v přítomnosti ³H-leucinu při 28 a 40°C

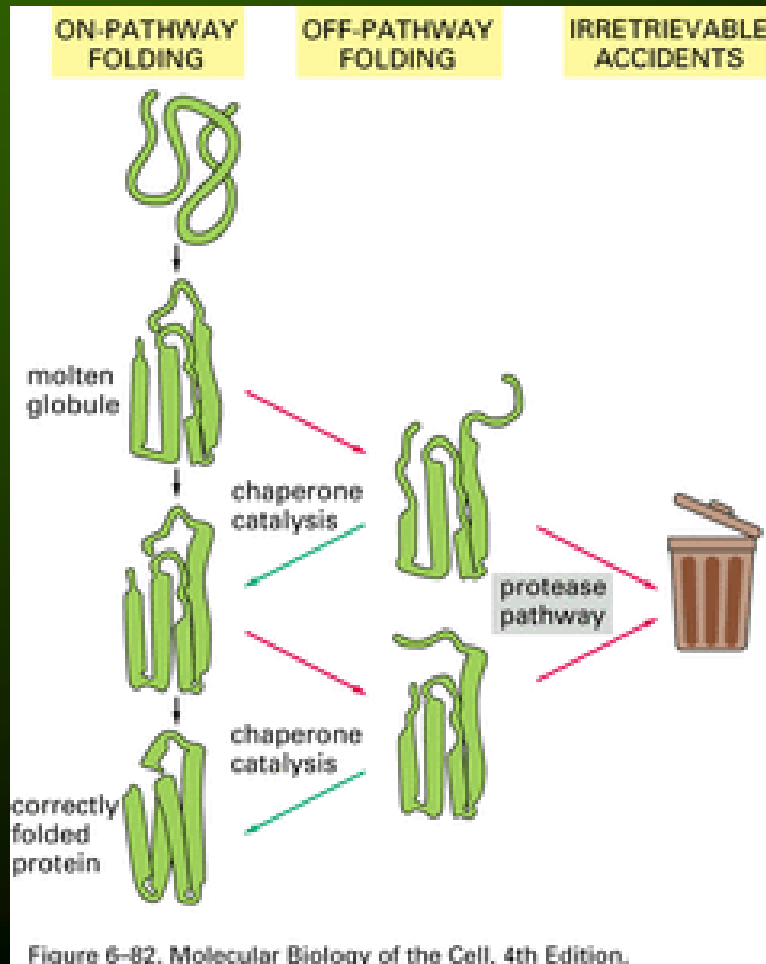
3 hod

Extrakce proteinů

2D gel



Chaperone - protein, pomáhající jiným proteinům před nežádoucím stočením, které vede ke vzniku neaktivních polypeptidů



Nově syntetizovaný protein se okamžitě stáčí do „žhavé globule“. Následné stáčení se děje pomalu a různými cestami. Zvýšení teploty mění stáčení proteinů. Chaperones korigují špatné stáčení proteinu.



Normální funkce proteinů

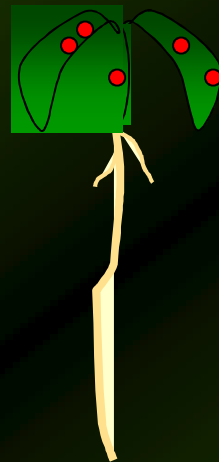
HSP – objeveny u *Drosophila*; identifikovány v dalších organismech, včetně člověka a rostlin

Komplementační studie mutantů: Mutant kvasinky s delecí v HSP104 => ztráta termotolerance

Komplementace zdravým *Arabidopsis* genem HSP100

Termotolerance kvasinky

25 °C : → 40 °C :



Tvorba HSP (30 – 50 typů)
(nová mRNA detekována po 3-5 minutách)

Degradace stávajících proteinů

HSP se tvoří i při postupném zvyšování teploty – v přírodě

HSP byly nalezeny i v nestresovaných rostlinách

Některé nezbytné proteiny jsou homologní s HSP

Typy HSP: 15 – 104 kDa

TABLE 25.4
The five classes of heat shock proteins found in plants

HSP class	Size (kDa)	Examples (Arabidopsis / prokaryotic)	Cellular location
HSP100	100–114	AtHSP101 / ClpB, ClpA/C	Cytosol, mitochondria, chloroplasts
HSP90	80–94	AtHSP90 / HtpG	Cytosol, endoplasmic reticulum
HSP70	69–71	AtHSP70 / DnaK	Cytosol/nucleus, mitochondria, chloroplasts
HSP60	57–60	AtTCP-1 / GroEL, GroES	Mitochondria, chloroplasts
smHSP	15–30	Various AtHSP22, AtHSP20, AtHSP18.2, AtHSP17.6 / IBPA/B	Cytosol, mitochondria, chloroplasts, endoplasmic reticulum

Source: After Boston et al. 1996.

PLANT PHYSIOLOGY, Third Edition, Table 25.4 © 2002 Sinauer Associates, Inc.

HSP 60, 70, 90, 100 – fungují jako chaperons, ATP-závislá stabilizace a stáčení molekul

HSP 90 – spojeny s hormonálními receptory v živočišných buňkách

Vyšší rostliny: smHSP, 15 – 30 kDa, 5 – 6 typů; cytozol, chloroplast, ER, mitochondrie – funkce není známa

Některé HSP jsou indukovány jinými stresy či faktory:

- Vodní deficit
- Hormon ABA
- Nízké teploty
- Zasolení

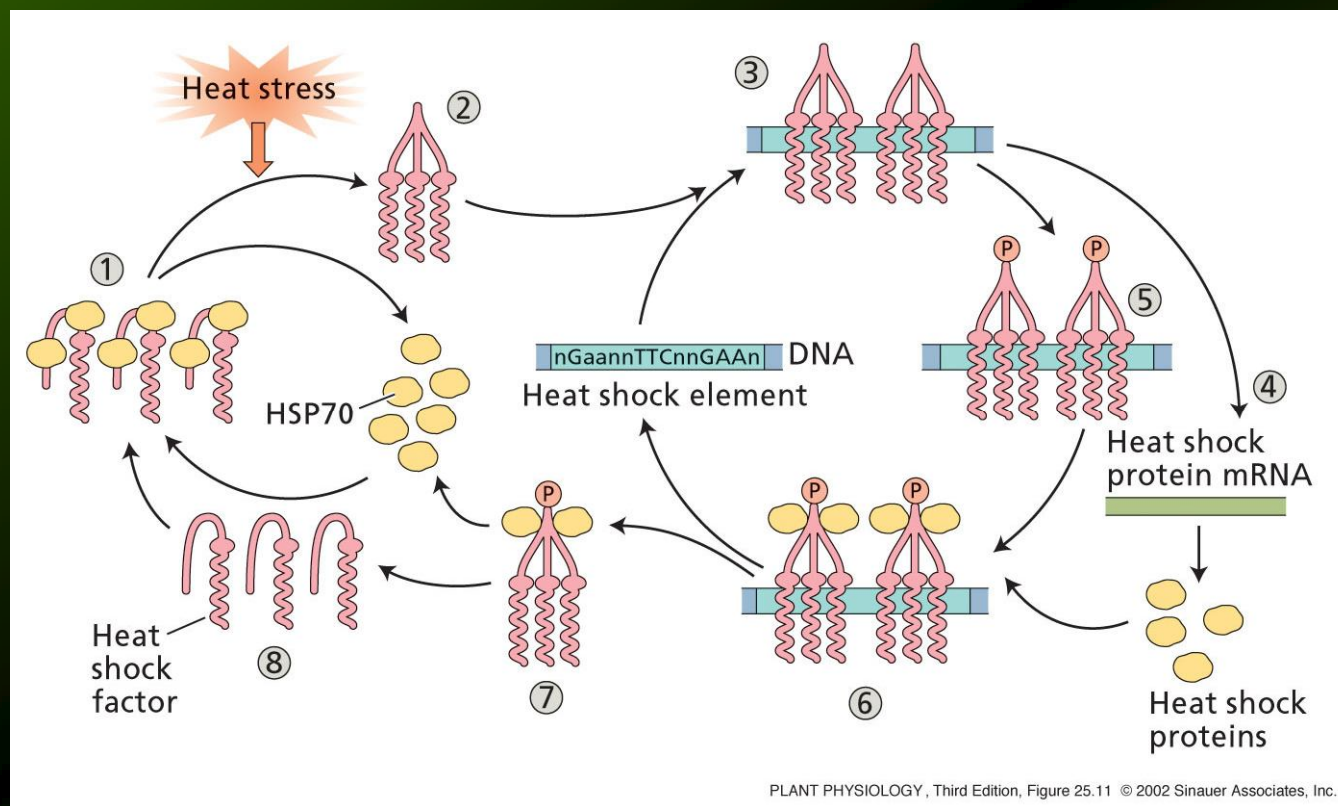
Buňky získávají cross-ochranu

Př. Plody rajčete vystaveny 30 °C, 48 hod akumulují HSP - získávají toleranci vůči chladovému stresu.

Všechny buňky obsahují molekulární chaperones, konstitutivně exprimovány a fungující jako HSP = heat-shock cognate proteins (proteiny příbuzné k HSP).

Množství těchto HSP se dramaticky zvyšuje při tepelném šoku; translace jiných proteinů je snížena či zastavena.

Tento tepelný šok je zprostředkován heat-shock factors (HSF) – specifické transkripční faktory



Heat-shock elements (HSE) – specifické DNA sekvence

HSP hrají nezbytnou roli v aklimatizaci k tepelnému šoku.

Důkazy:

- **Indukce tolerance rostlin k tepelnému stresu koreluje s indukcí akumulace HSP.**
- **Aktivace HSF indukuje konstitutivní syntézu HSP a zvyšuje termotoleranci.**
- **Transgenní rostliny *Arabidopsis* obsahující antisence DNA (redukuje HSP70 syntézu) ukazují redukovanou toleranci k tepelnému šoku**

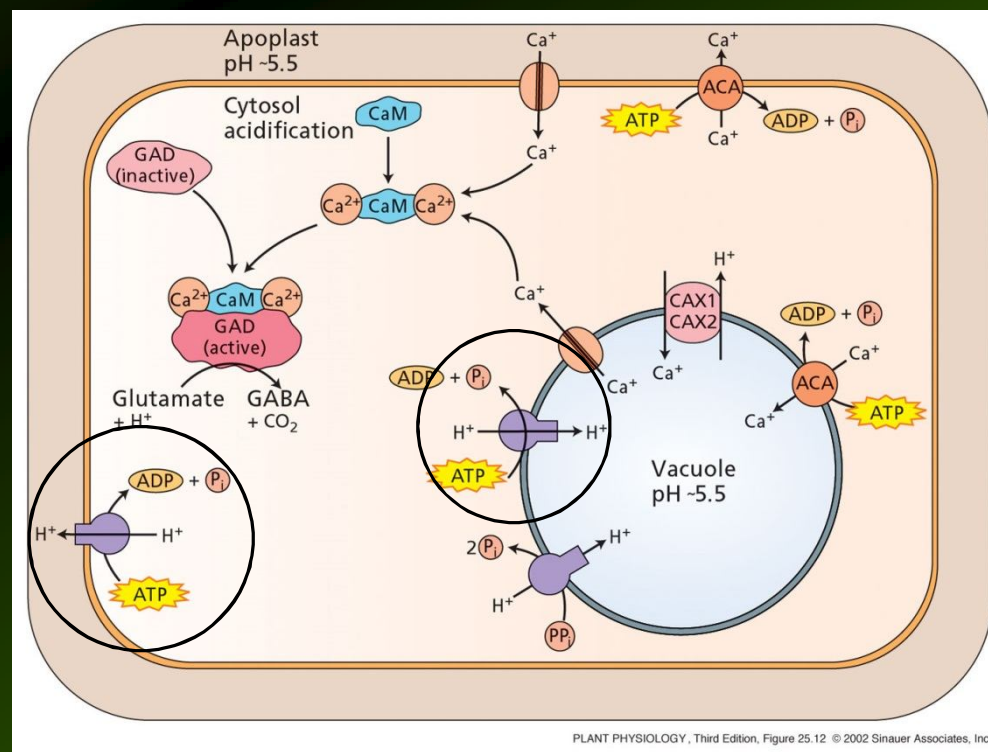
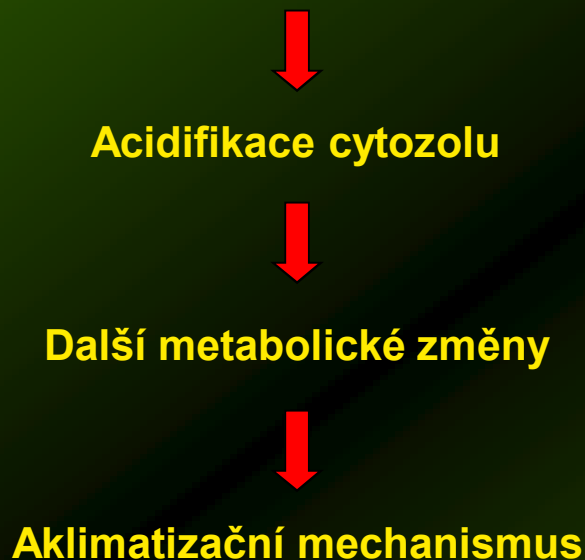


Ztráta schopnosti syntetizovat HSP70 vede ke ztrátě schopnosti termotolerance

Tepelný stres ovlivňuje fungování řady enzymů, které jsou součástí metabolických drah => akumulace metabolitů, redukce jiných metabolitů

Tepelný stres ovlivňuje metabolické reakce, které konzumují nebo produkují protony => vliv na H⁺-ATPázu

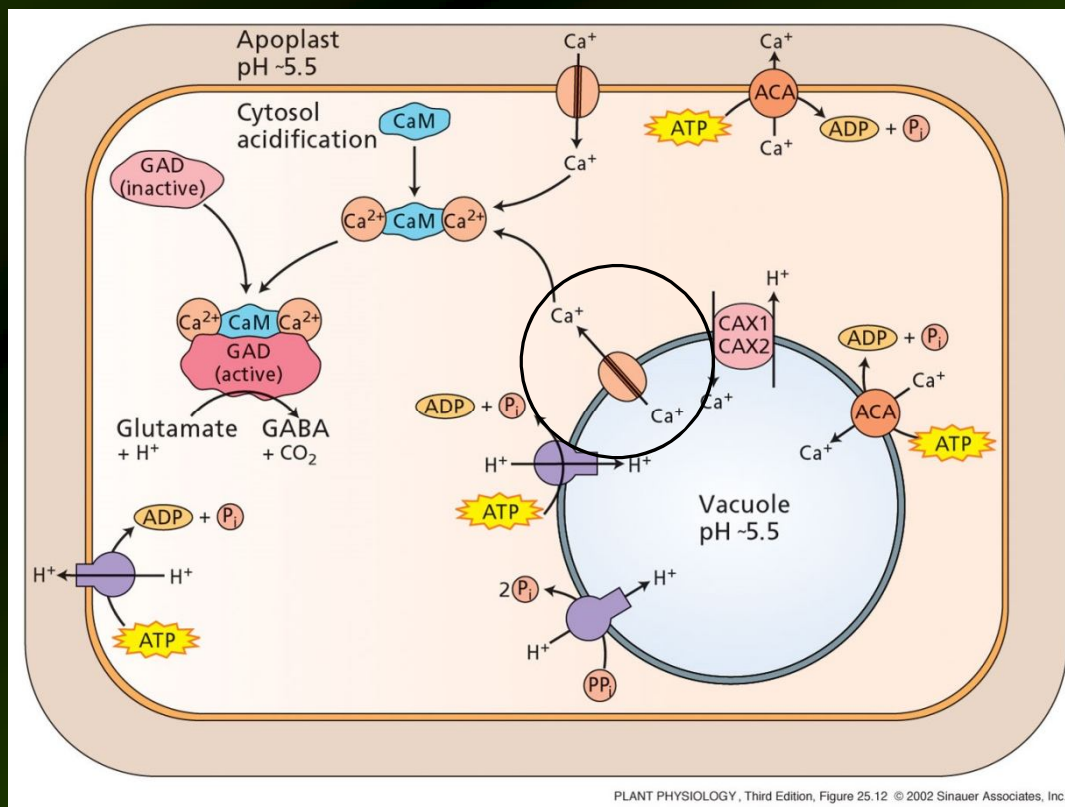
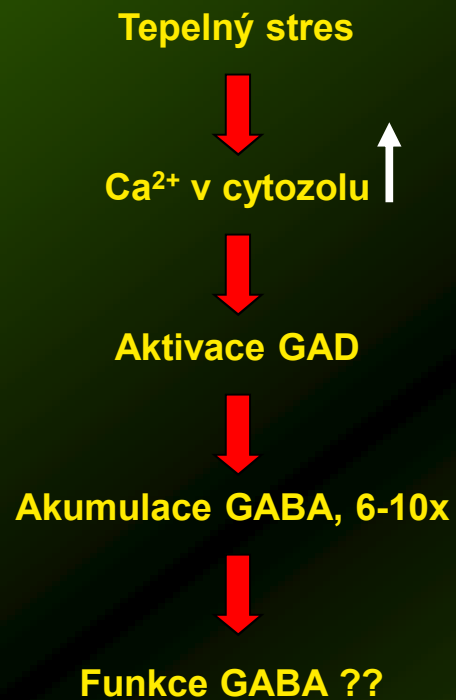
Tepelný stres redukuje aktivitu H⁺-ATPázy, která pumpuje H⁺ z cytozolu do apoplastu a do vakuol



Metabolická aklimatizace k tepelnému stresu – akumulace GABA (γ-aminobutyric acid)

GABA – „nepotřebná aminokyselina“; syntetizuje se z aminokyseliny L-glutamátu pomocí enzymu glutamát dekarboxylázy (GAD).

GAD – aktivita je modulována kalmodulinem (calmodulin, Ca²⁺ receptor)



Funkce GABA?

GABA – signální molekula i živočichů i rostlin; u rostlin se hladina GABA zvyšuje při mnoha stresech

GABA – funguje prostřednictvím transportéru ALMT



ALMT = receptor pro GABA

ALMT – aluminium-activated malate transporter

ALMT - aktivován anionty a inhibován vlivem GABA

Stress → GABA ↑



ALMT

Redukce ALMT



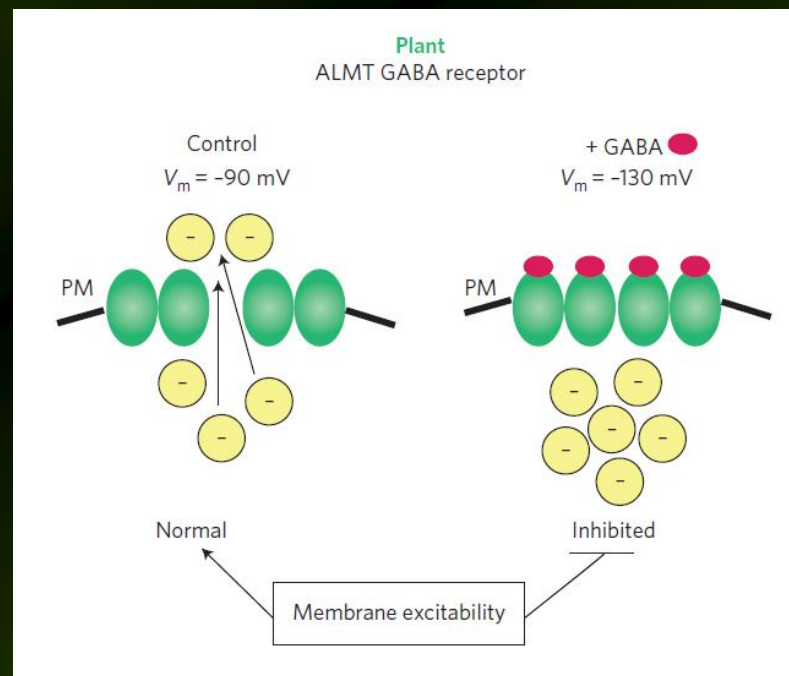
hyperpolarizace membrány
nízká excitabilita membrány



Prodlužování buněk a down-regulace genů zapojených
v tvorbě buněčné stěny a sekreci proteinů



Inhibice růstu



Update 2015

Ramesh SA et al. (2015) Nature Communications 6: 7879

Žárský V (2015) Nature Plants 1: 1-2

g) Kyslíkový deficit (anoxia)

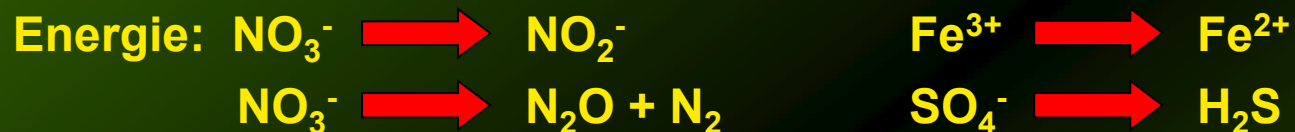
Pro aerobní respiraci rostlina přijímá kyslík především z půdy. Kyslík se v půdě vyskytuje až do hloubky několika metrů.

Při zatopení jsou vzduchové póry v půdě zaplněny vodou => nedostatek kyslíku, především při vyšší teplotě, když je potřeba kyslíku velká.

Anoxie vede k redukci růstu rostlin a vážným škodám v zemědělství

- rostliny citlivé k anoxii - hrách
- rostliny rezistentní k anoxii – rýže – adaptované přijímat kyslík náhradní cestou

Rozvoj anaerobních organismů v půdě při anoxii



Anaerobní organismy produkují bakteriální metabolity – kys. octová, kyselina máselná



- inhibice růstu rostlin
- zápach zatopené půdy

Kritický kyslíkový tlak – COP (critical oxygen pressure) – tlak kyslíku při kterém respirační rychlost je poprvé zpomalena kyslíkovým deficitem.

Kořenové špičky – vysoce aktivní => respirační rychlost vysoká, kyslíkový tlak vysoký

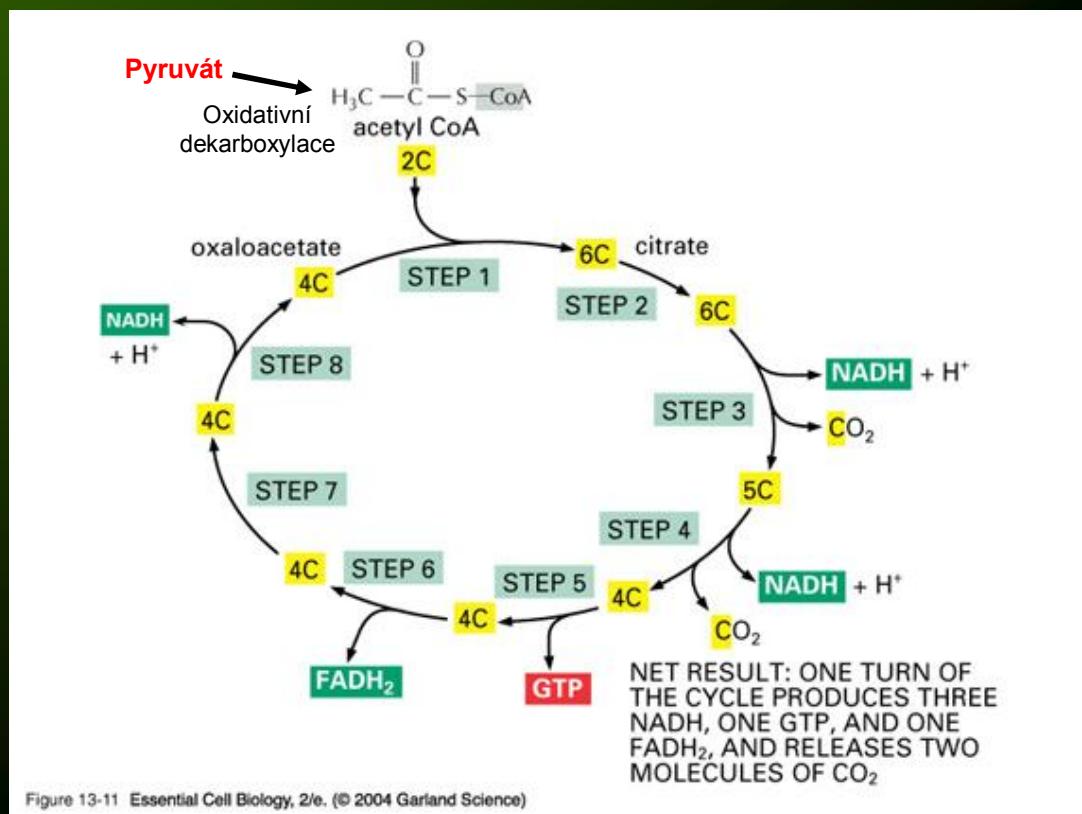
Starší zóny kořene – dospělé vakuolizované buňky => respirační rychlost nízká, kyslíkový tlak nízký

Koncentrace $O_2 < COP$ → Střed kořene - anoxický či hypoxický



- zastavení elektronového transportu
- zastavení oxidativní forforylace
- zastavení Krebsova cyklu

Krebsův cyklus (cyklus kyseliny citronové) – vznik NADH oxidací acetyl skupin na CO₂; NADH (stejně jako FADH₂) – přenašeč vysokoenergetických elektronů a vodíku; energie uchovávaná v těchto elektronech je použita pro syntézu ATP v procesu oxidativní fosforylace (přenos e⁻ na O₂, vznik ATP z ADP a P)



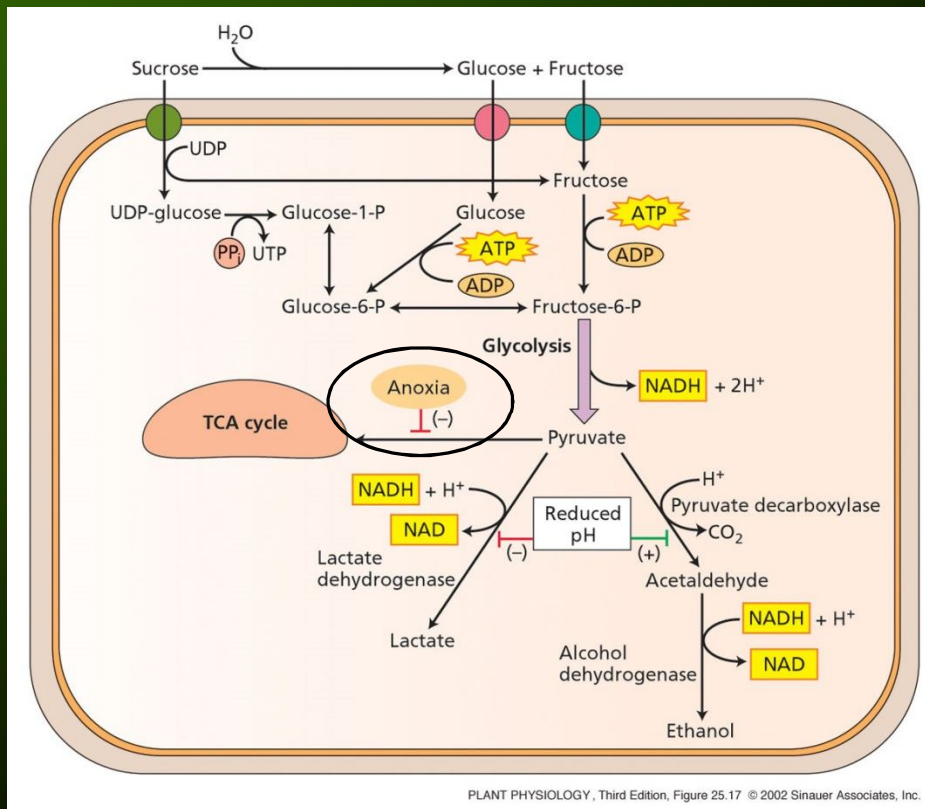
V Krebsově cyklu vzniká:

- 2 molekuly CO₂
- 3 molekuly NADH
- 1 molekula GTP
- 1 molekula FADH₂

NADH – nicotinamide adenine dinucleotide

FADH₂ – reduced flavin adenine dinucleotide

Při kyslíkovém deficitu nemůže docházet k přenosu e^- na $O_2 \Rightarrow$ nedochází k oxidativní fosforylaci \Rightarrow nevzniká ATP. ATP může vznikat fermentací (kvašením) pyruvátu.



PLANT PHYSIOLOGY, Third Edition, Figure 25.17 © 2002 Sinauer Associates, Inc.

Kořeny fermentují pyruvát nejprve pomocí laktát dehydrogenázy (LDH) - mléčné kvašení

Produkce H^+ při glykolýze vede ke snížení pH \Rightarrow LDH přestává fungovat



Nízké pH aktivuje pyruvát dekarboxylázu



Alkoholové kvašení

2 moly ATP z 1 molu hexózy

Aerobní respirace:
36 molů ATP z 1 molu hexózy



Anoxie – nedostatek ATP

Alkoholové kvašení - velká spotřeba H^+ \Rightarrow zvyšování pH

Schopnost přežít anoxii \leftarrow Mléčné kvašení

Anoxické či hypoxické kořeny nemají dostatek energie k podpoře fyziologických procesů probíhajících ve stonku.

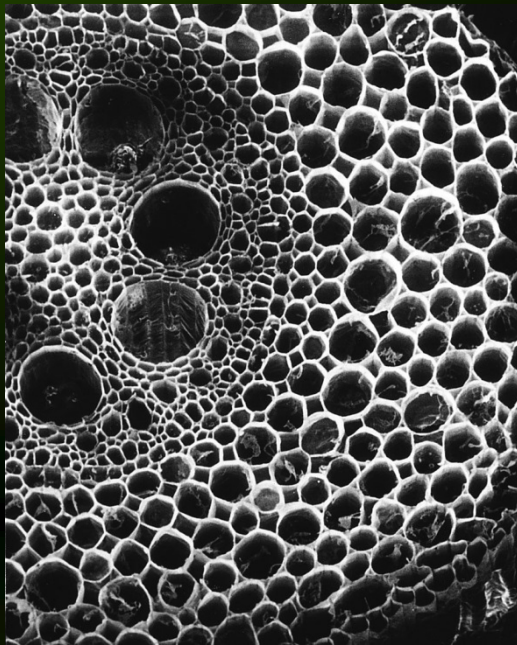
Neschopnost kořenů absorbovat minerální látky a transportovat je do xylému vede k nedostatku iontů v listech => předčasné stárnutí

Hypoxie stimuluje produkci ACC (prekurzor etylénu) v kořenech. ACC putuje do xylému, kde je konvertován na etylén.

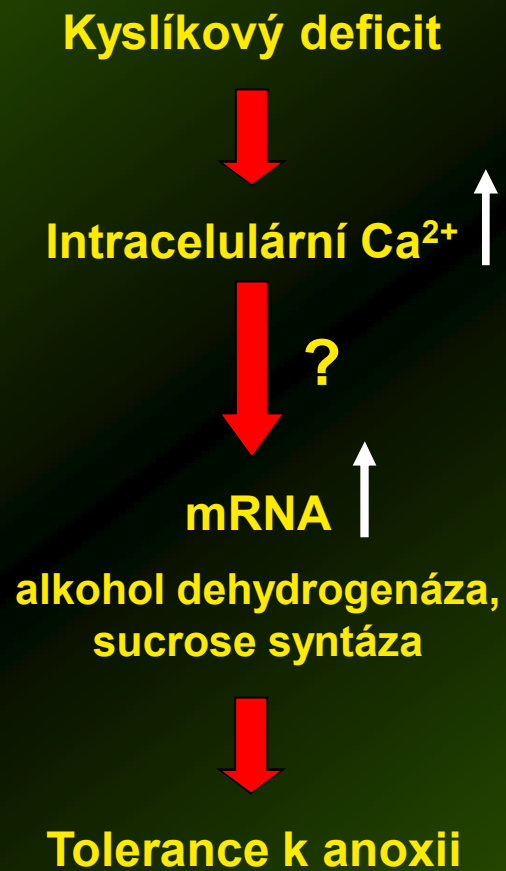
Anoxie indukovaná zatopením stimuluje produkci ABA, která je transportována do listu a indukuje uzavření stomat.

Náhradní cesty příjmu kyslíku při anoxii

- v ponořených částech rostliny endogenní etylén indukuje prodlužování petiolů listů => list se dostává nad hladinu => příjem kyslíku (podobně rýže)
- vznik aerenchymu – hypoxie v kořenech stimuluje tvorbu etylénu. Etylén zvyšuje cytozolickou koncentraci Ca^{2+} , což indukuje smrt některých buněk v kortexu, jejich oddělení od sebe a vznik aerenchymu



Signální dráha vnímání anoxie – málo známa



MBR

