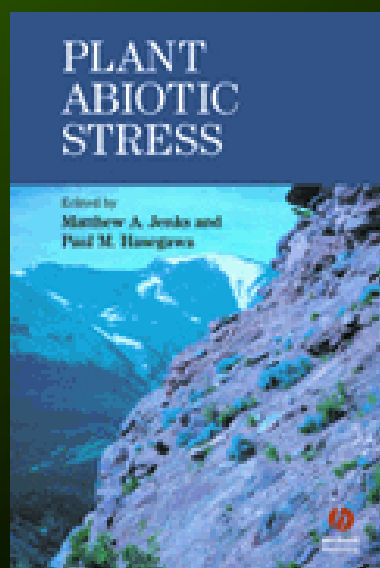


## 10) Reakce rostlin k abiotickému stresu

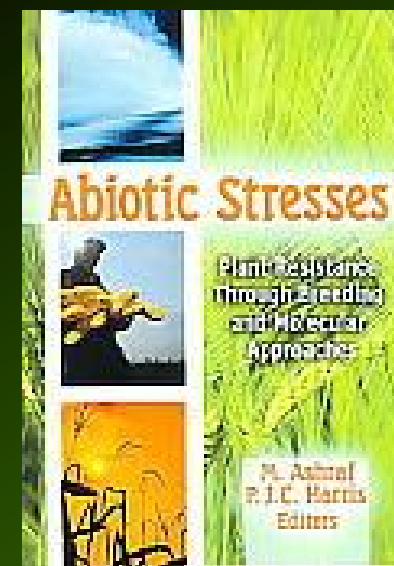
f) Tepelný stres a tepelný šok

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 CO<sub>2</sub>

Respirace – uvolňování CO<sub>2</sub>

### Teplotní kompenzační bod:

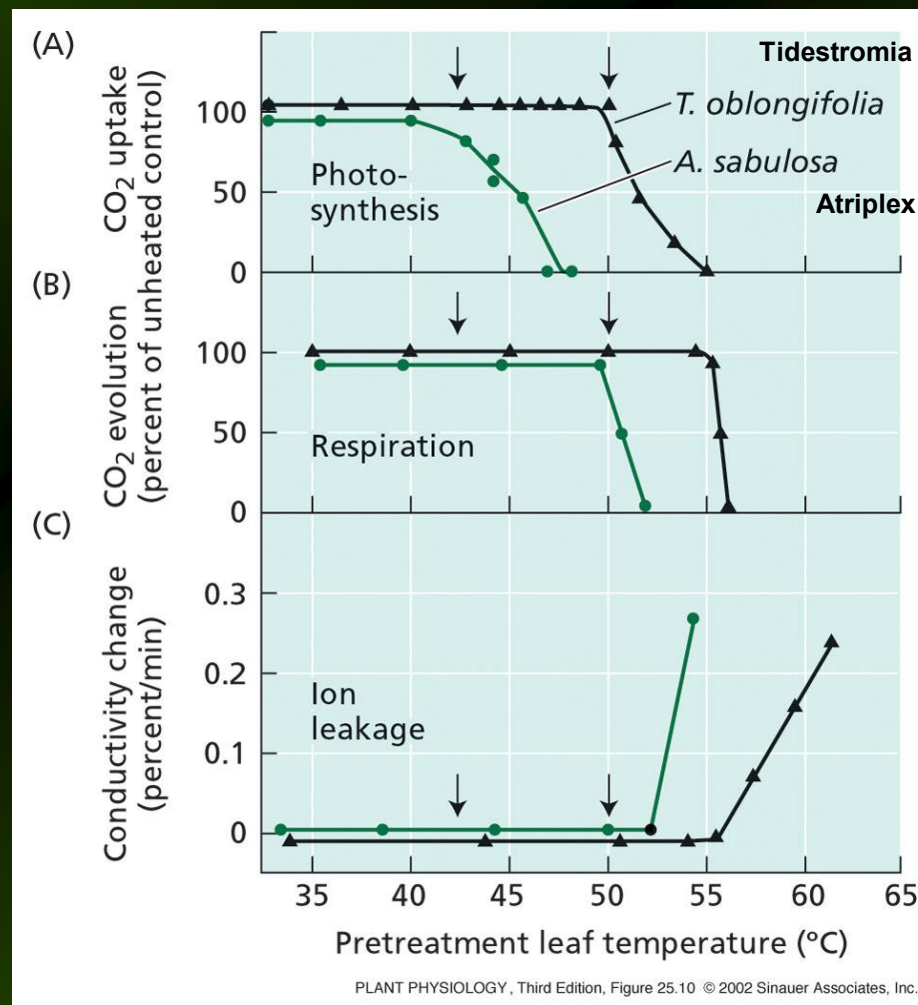
Teplota, při které je množství CO<sub>2</sub> fixováno fotosyntézou rovno množství CO<sub>2</sub> uvolněného respirací

Teplota > kompenzační bod

↓  
Pokles C v rostlině

↓  
C pro respiraci brán z rezerv

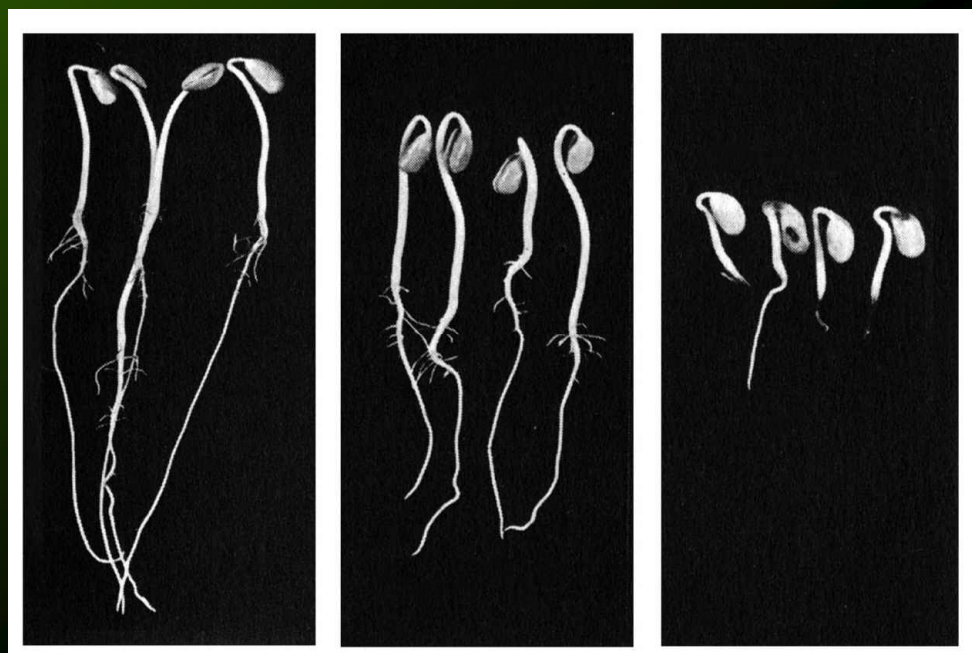
↓  
Ztráta sladkosti plodů



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



RVR

*Atriplex sabulosa*



*Tidestromia oblongifolia*



California

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



6

## Tepelný stres snižuje stabilitu membrány

## Velká tekutost membrány koreluje se ztrátou fyziologických funkcí

Vysoká teplota



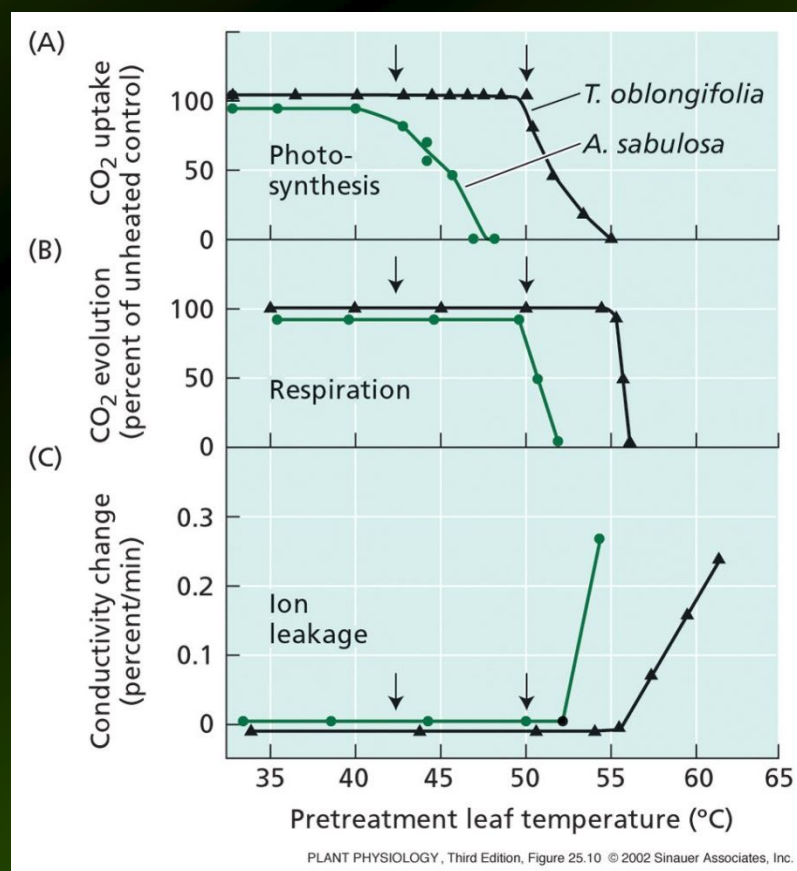
Snížení napětí vodíkové vazby  
a elektrostatické interakce mezi  
polárními proteiny



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*



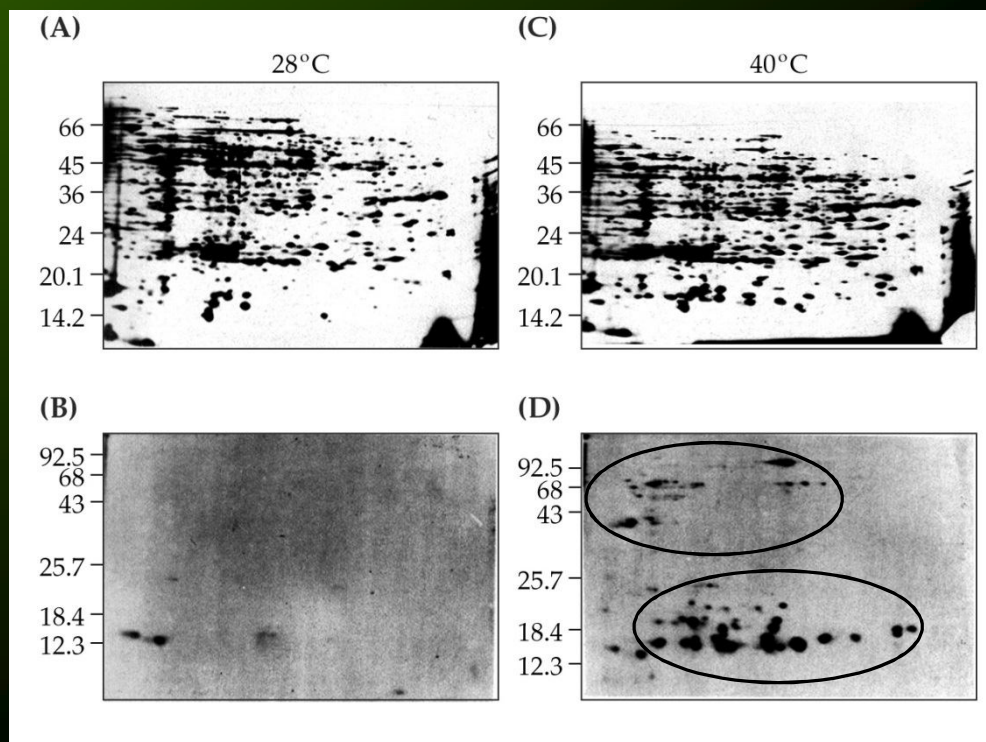
Léto



Zima

# Heat – Shock Proteins (HSP)

Zvýšení teploty o 5 – 10°C → Zvýšená produkce normálních proteinů + Produkce HSP  
Funkce chaperone



Vizualizace produkce HSP sóji na 2D gelu

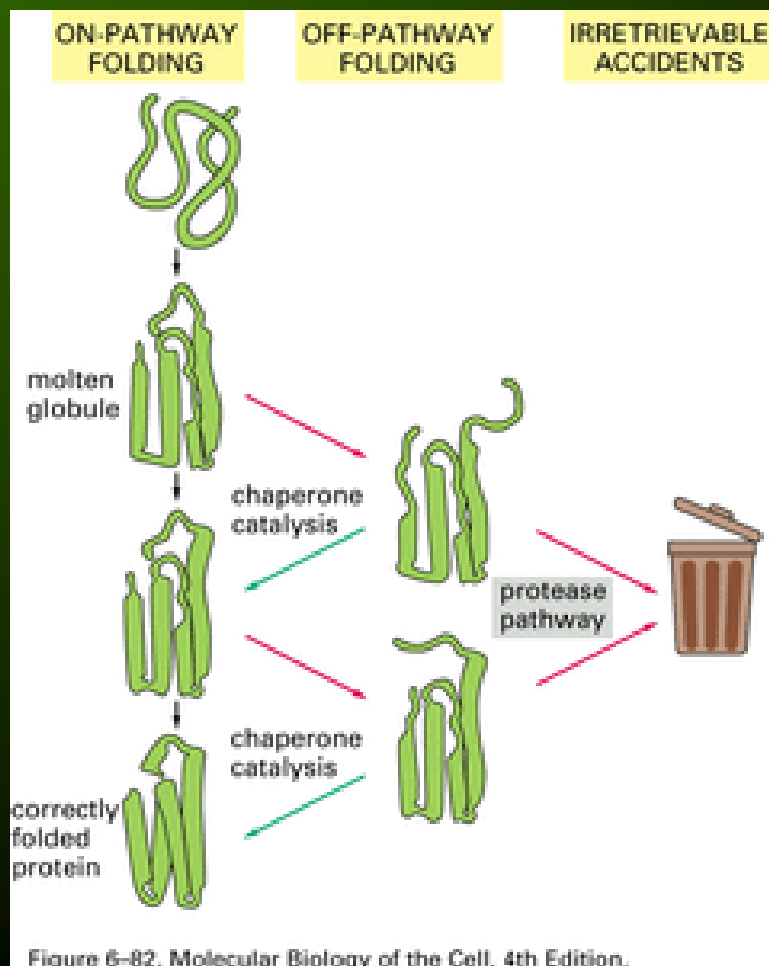
Inkubace rostlin v přítomnosti <sup>3</sup>H-leucinu při 28 a 40°C

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.



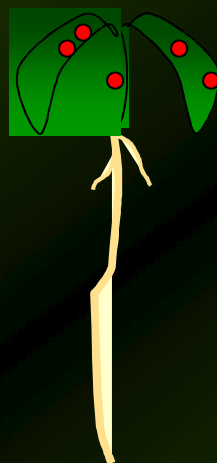
**Normální funkce proteinů**

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

25 °C : → 40 °C :



Termotolerance kvasinky

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

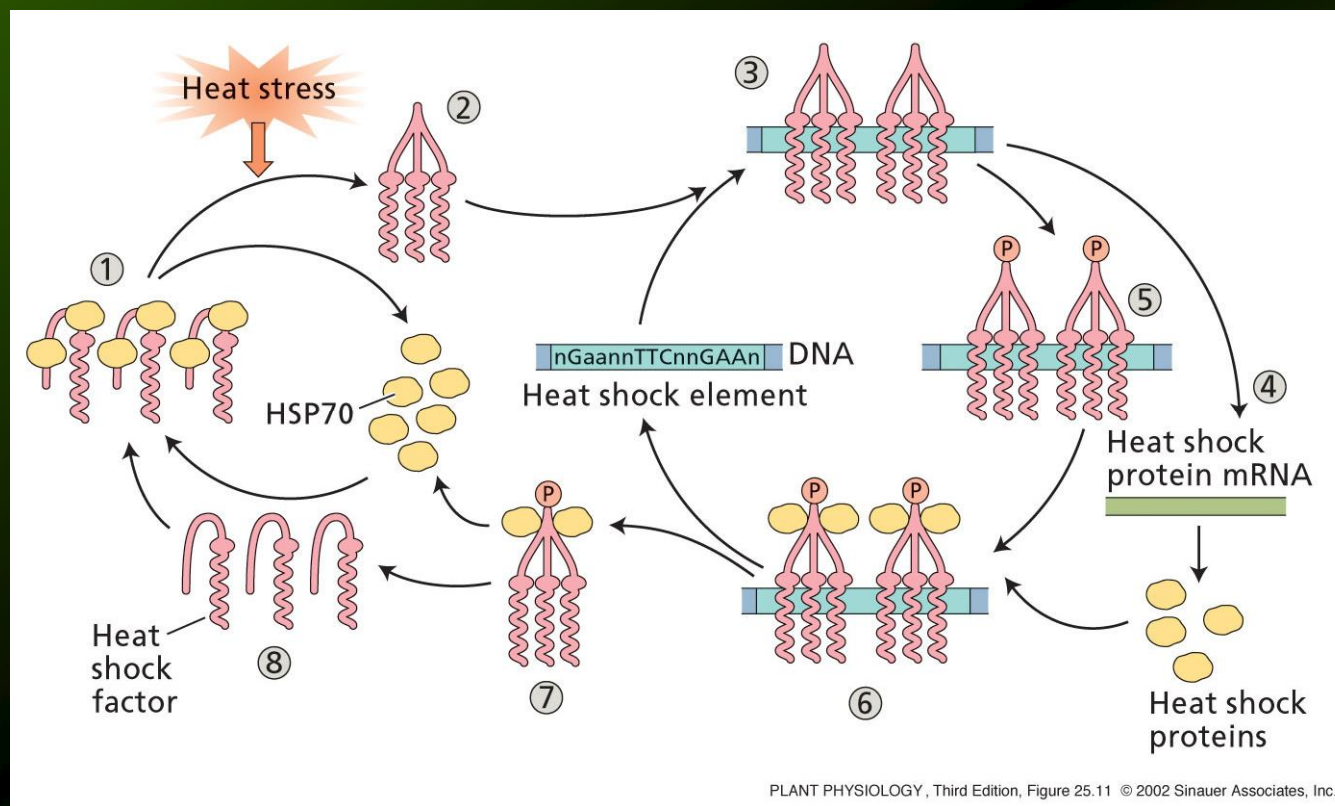
**Buňky získávají cross-ochranu**

**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



**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

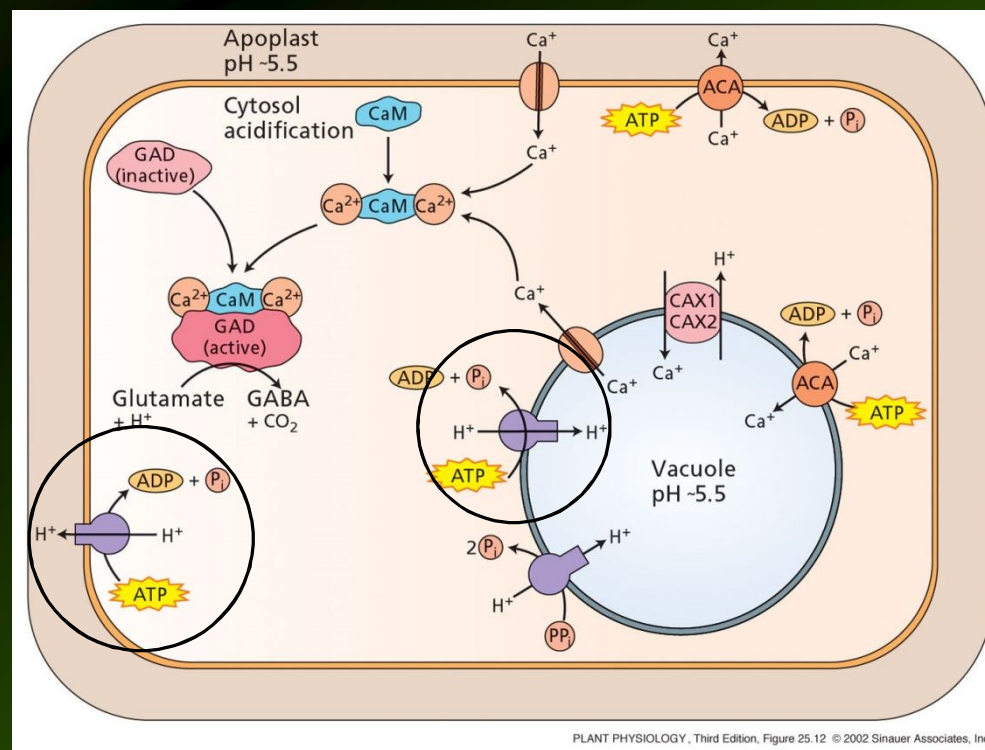
Tepelný stres ovlivňuje metabolické reakce, které konzumují nebo produkují protony => vliv na H<sup>+</sup>-ATPázu

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

↓  
Acidifikace cytozolu

↓  
Další metabolické změny

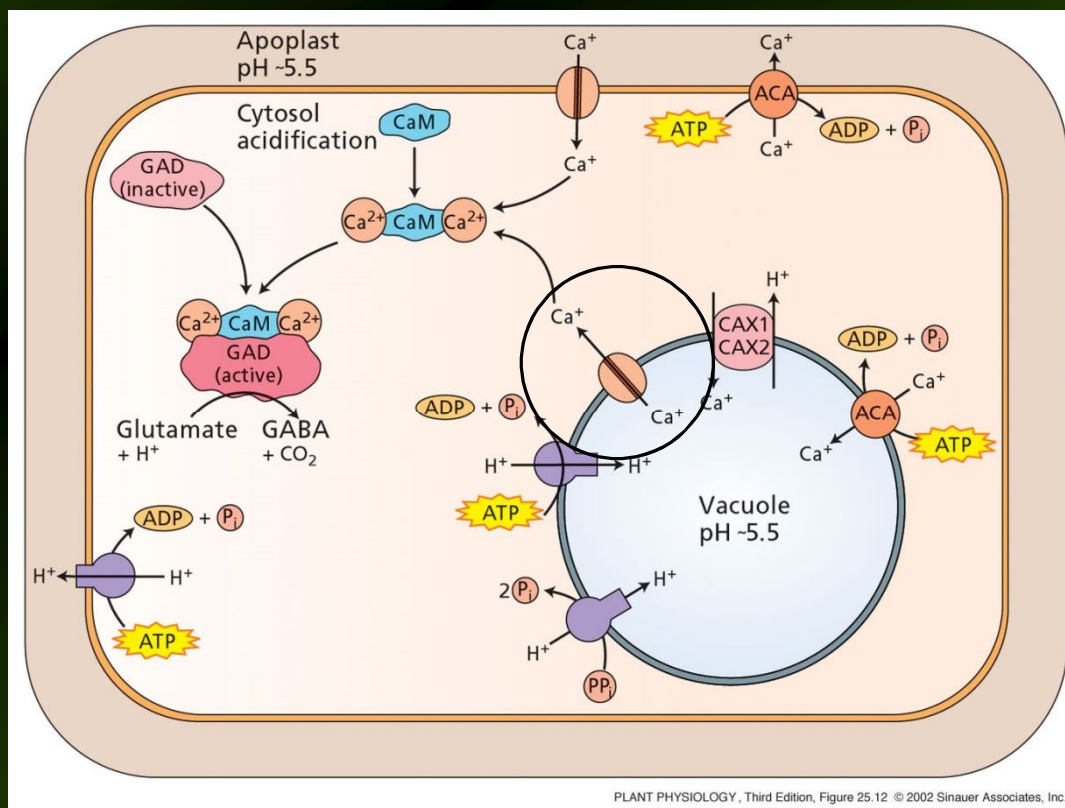
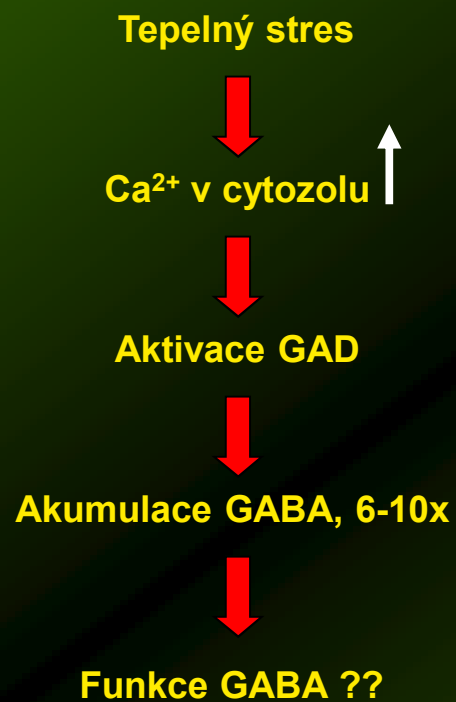
↓  
Aklimatizační mechanismus



## 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,  $\text{Ca}^{2+}$  receptor)





## g) Kyslíkový deficit (anoxia)

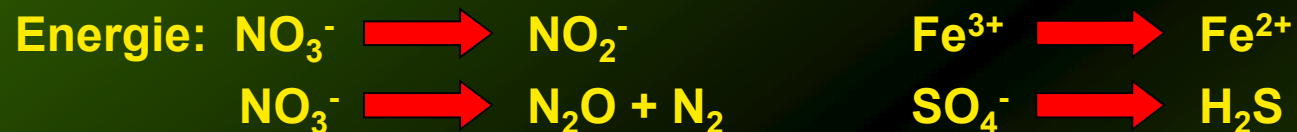
Pro aerobní respiraci rostlina přijímá kyslík především z půdy. Kyslík se v půdě vyskytuje až do hloubky několika metrů.

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**

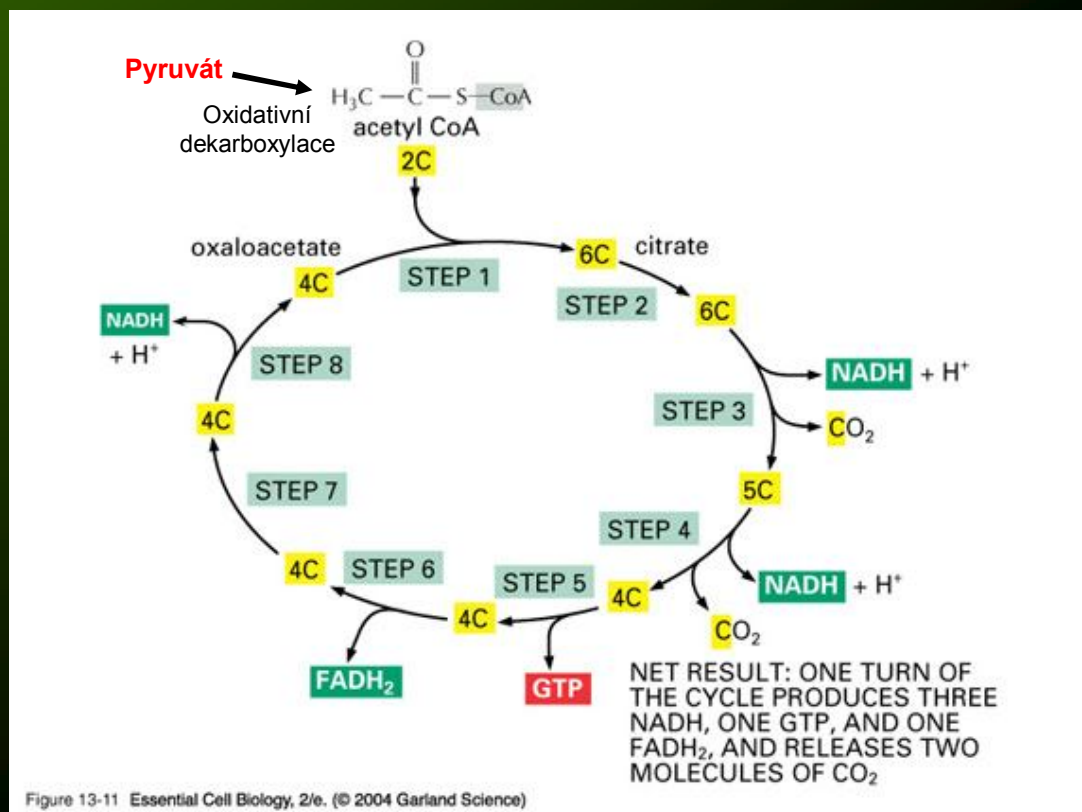
**Starší zóny kořene – dospělé vakuolizované buňky => respirační rychlost nízká, kyslíkový tlak nízký**

**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  $\text{CO}_2$ ; NADH (stejně jako  $\text{FADH}_2$ ) – přenašeč vysokoenergetických elektronů a vodíku; energie uchovávaná v těchto elektronech je použita pro syntézu ATP v procesu oxidativní fosforylace (přenos  $e^-$  na  $\text{O}_2$ , vznik ATP z ADP a P)**



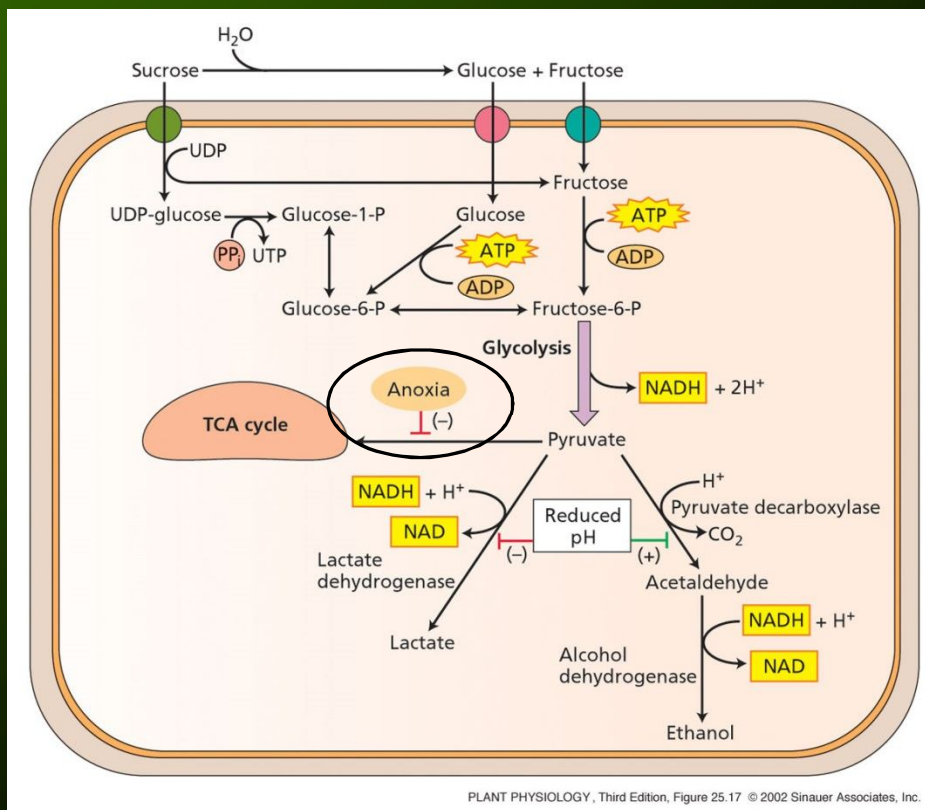
**V Krebsově cyklu vzniká:**

**2 molekuly  $\text{CO}_2$**   
**3 molekuly NADH**  
**1 molekula GTP**  
**1 molekula  $\text{FADH}_2$**

NADH – nicotinamide adenine dinucleotide

$\text{FADH}_2$  – 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.



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.**

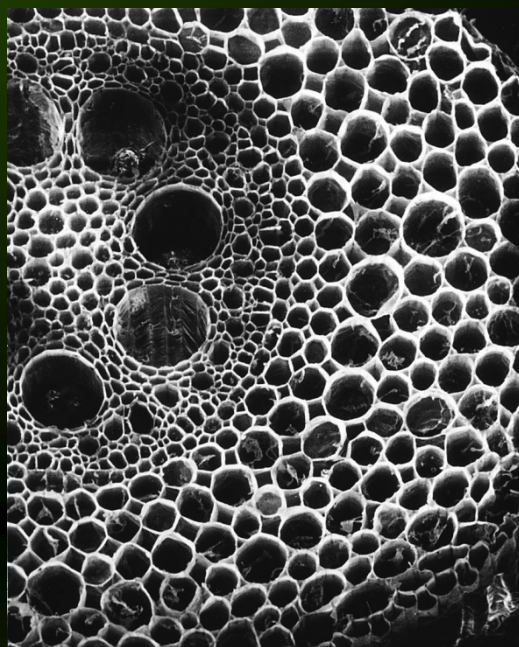
**Neschopnost kořenů absorbovat minerální látky a transportovat je do xylému vede k nedostatku iontů v listech => předčasné stárnutí**

**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  $\text{Ca}^{2+}$ , což indukuje smrt některých buněk v kortexu, jejich oddělení od sebe a vznik aerenchymu



## Signální dráha vnímání anoxie – málo známa

