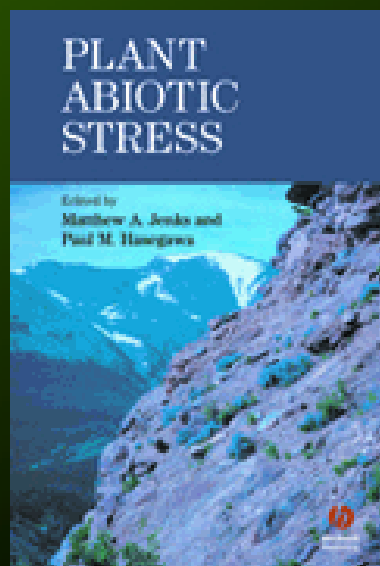


4) Reakce rostlin k abiotickému stresu

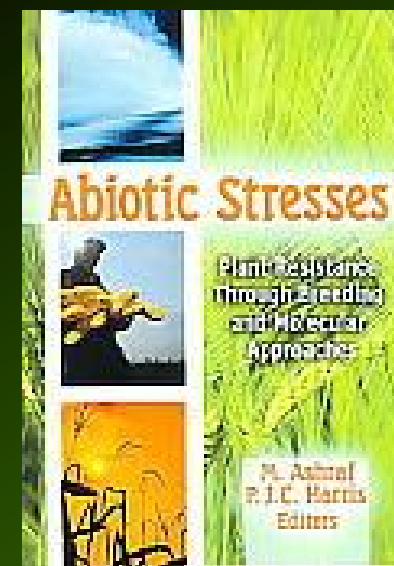
f) Tepelný šok

g) Kyslíkový deficit



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

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



<http://www.haworthpress.com/store/product.asp?sku=5288>

<http://www.blackwellpublishing.com/book.asp?ref=1405122382>

f) 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:

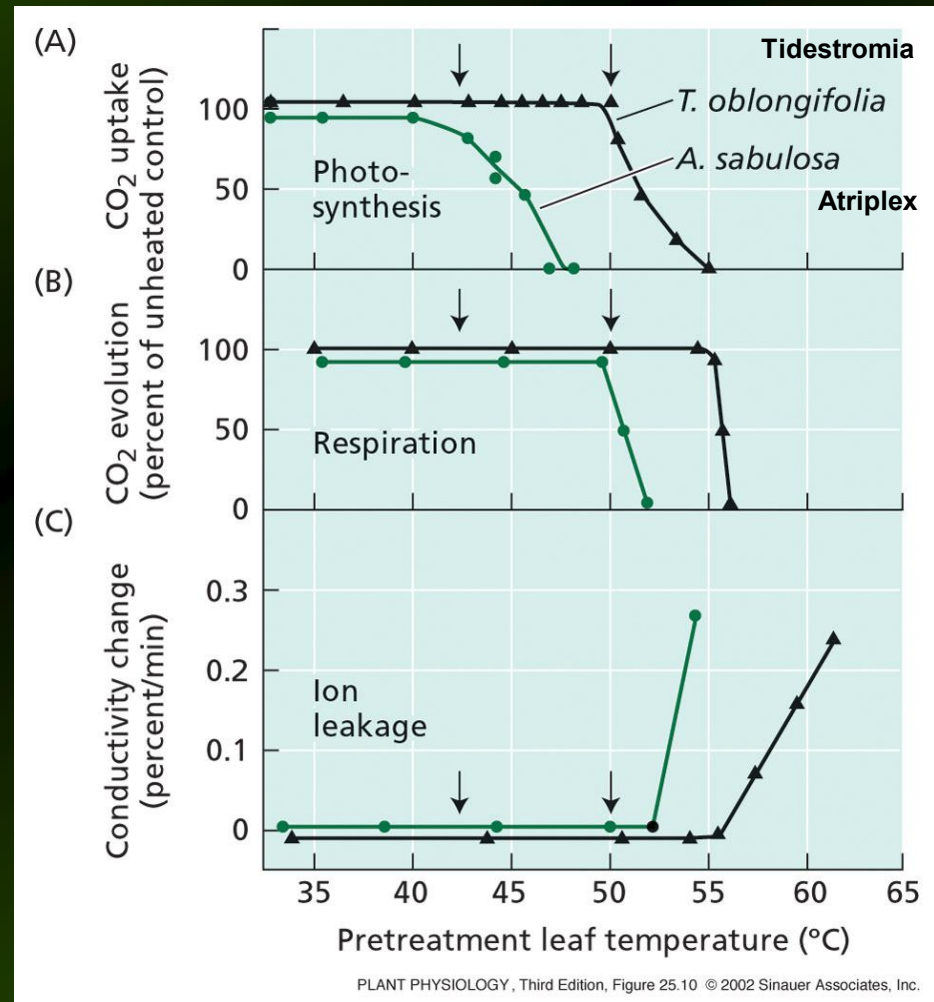
Teplota, při které je množství CO₂ fixováno fotosyntézou rovno množství CO₂ uvolněného respirací

Teplota > kompenzační bod

↓
Pokles C v rostlině

↓
C pro respiraci brán z rezerv

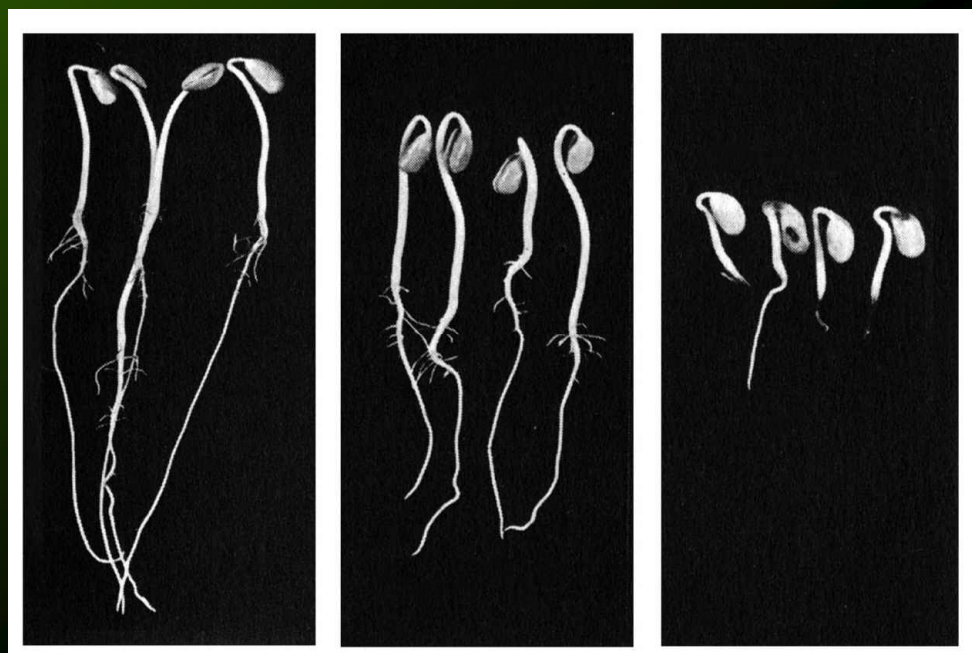
↓
Ztráta sladkosti plodů



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

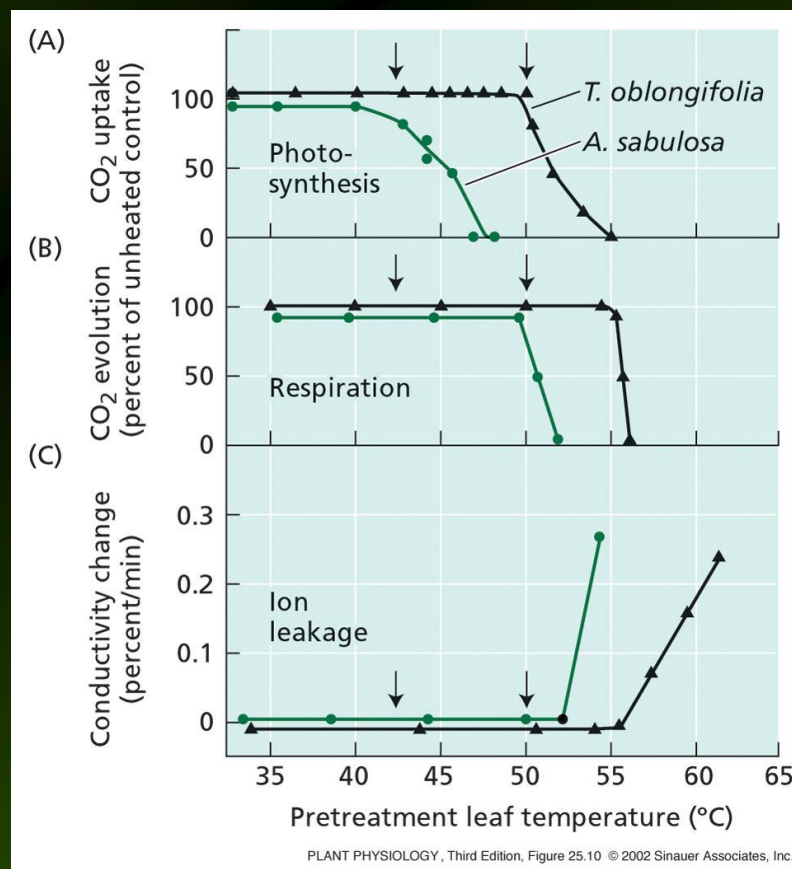
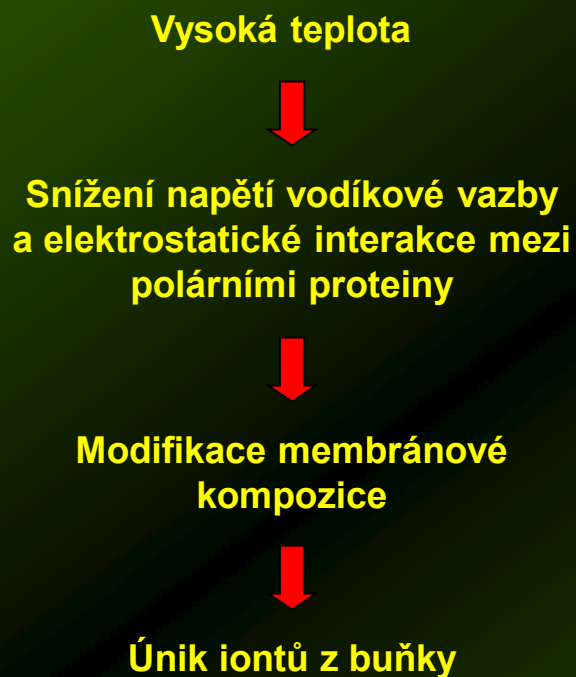


Rostliny adaptované k nízkým teplotám se aklimatizují špatně na vysoké teploty



Tepelný stres snižuje stabilitu membrány

Velká tekutost membrány koreluje se ztrátou fyziologických funkcí



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*

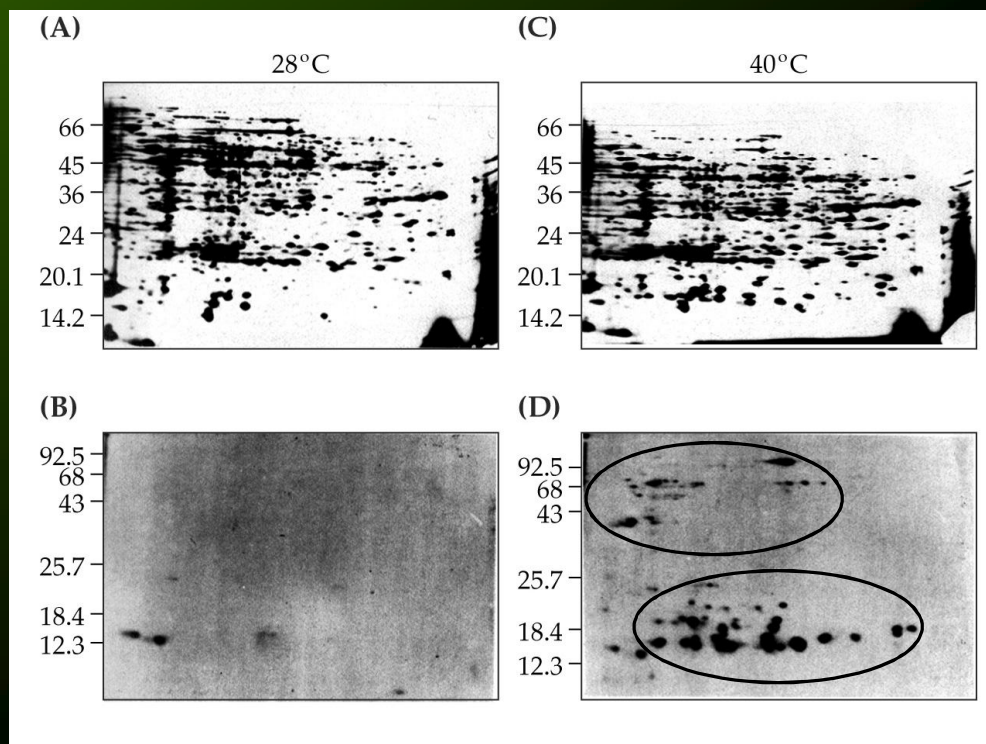
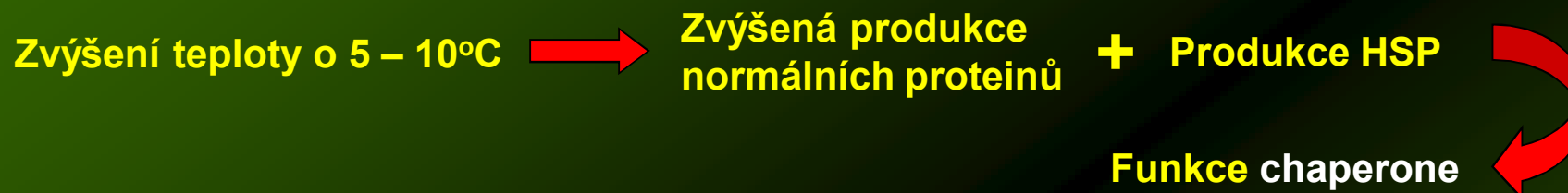


Léto



Zima

Heat – Shock Proteins (HSP)



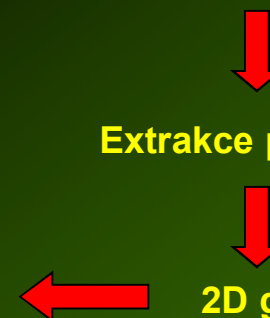
Vizualizace produkce HSP sóji na 2D gelu

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

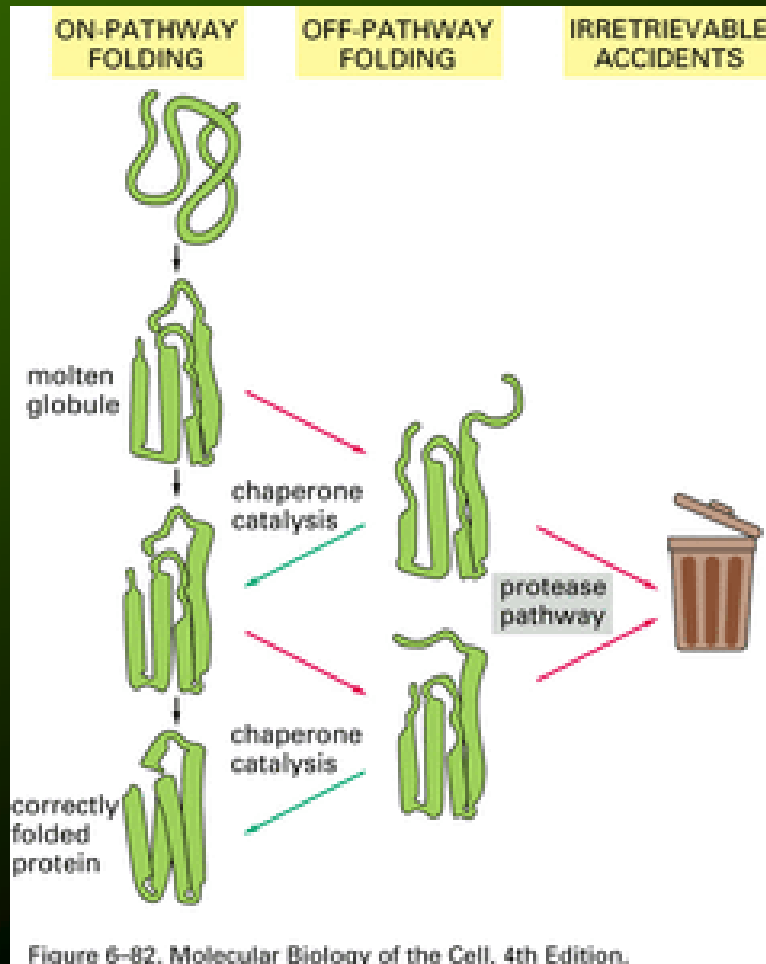
3 hod

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

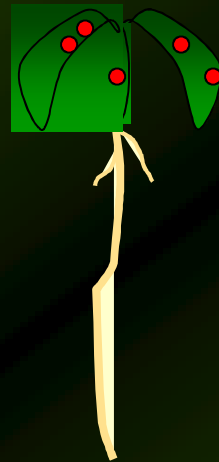
HSP – objeveny u *Drosophila*; identifikovány v dalších organismech, včetně člověka a rostlin

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

Některé HSP asistují při transportu polypeptidů přes membránu

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

Buňky s indukovanými HSP ukazují tepelnou toleranci

Některé HSP jsou indukovány jinými stresy či faktory:

- Vodní deficit
- Hormon ABA
- Nízké teploty
- Zasolení

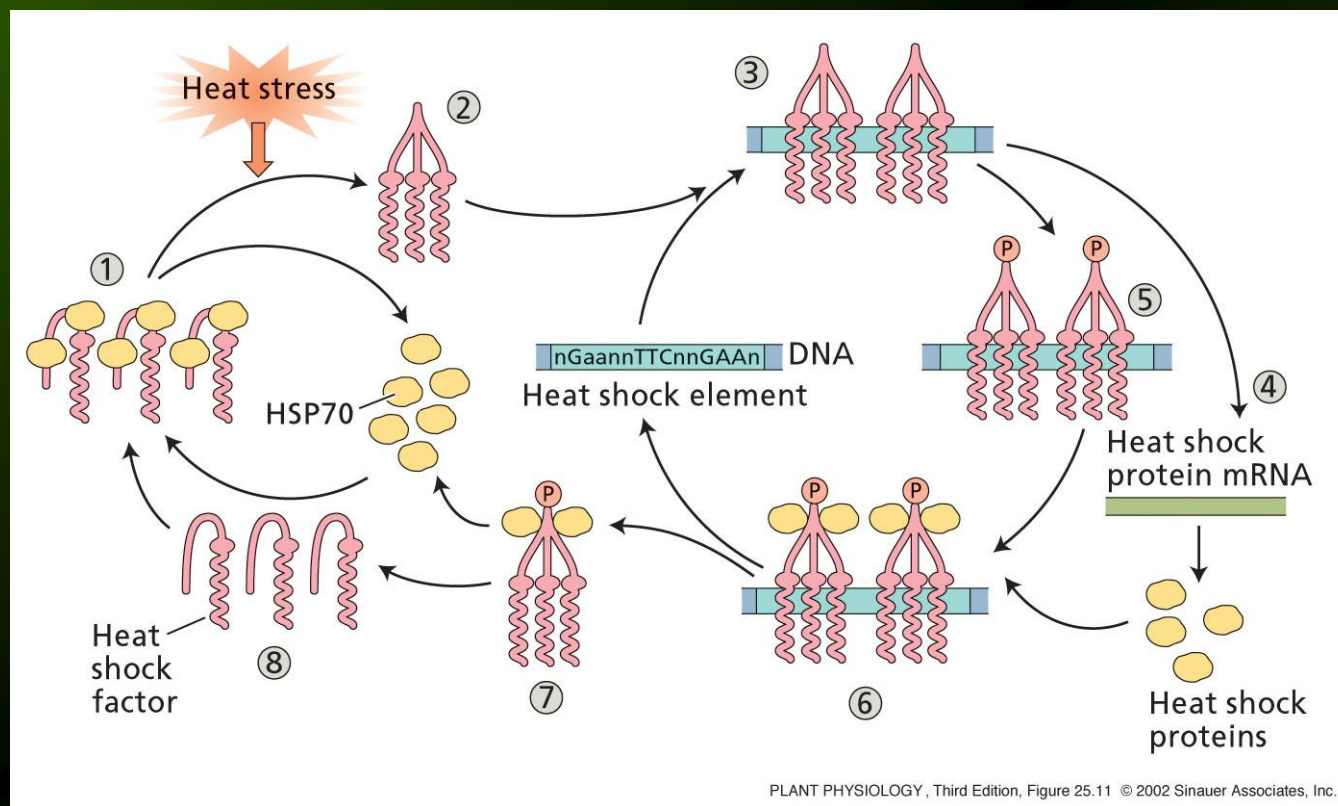
Buňky získávají cross-ochranu

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 tolerance k tepelnému šoku**

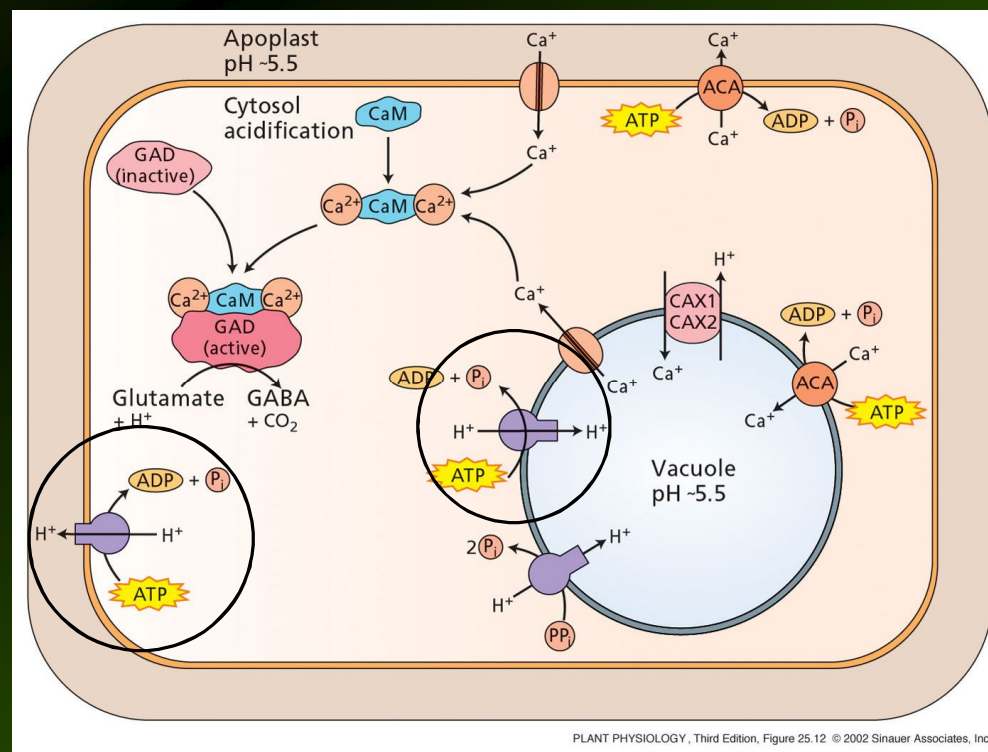
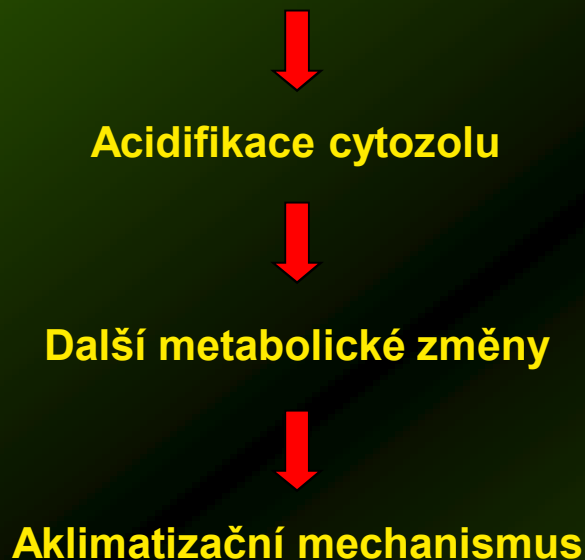


Ztráta schopnosti syntetizovat HSP70 vede ke ztrátě schopnosti termotolerance

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

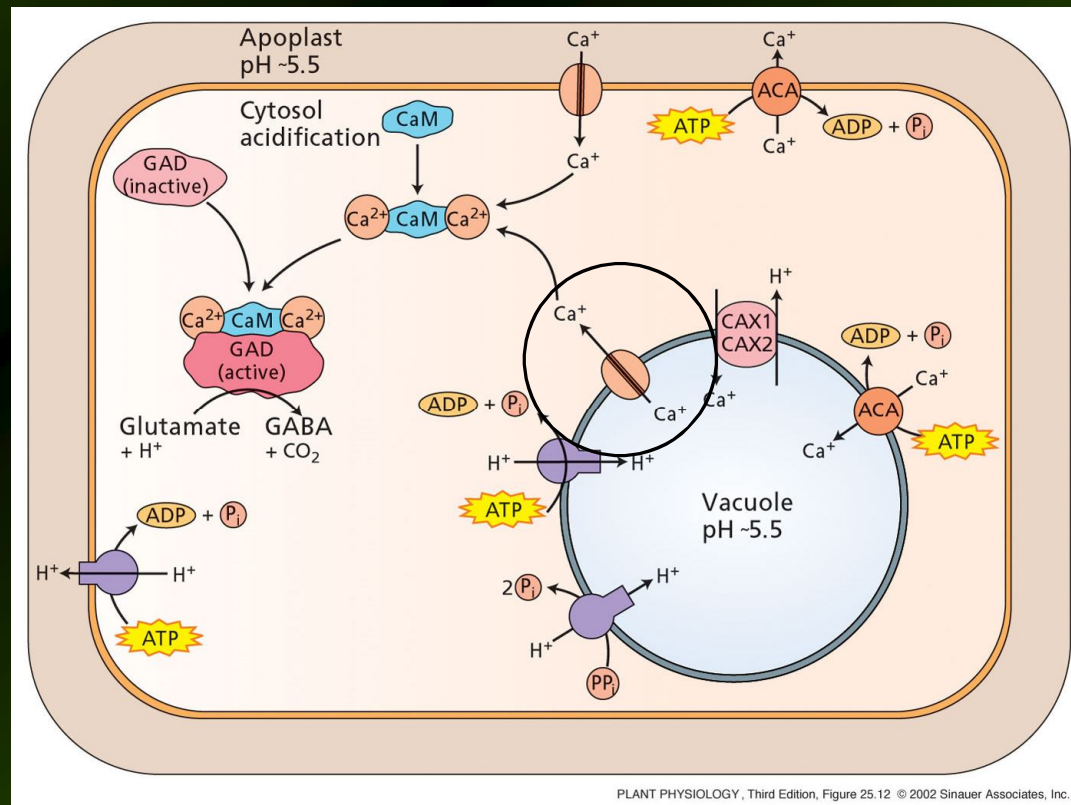
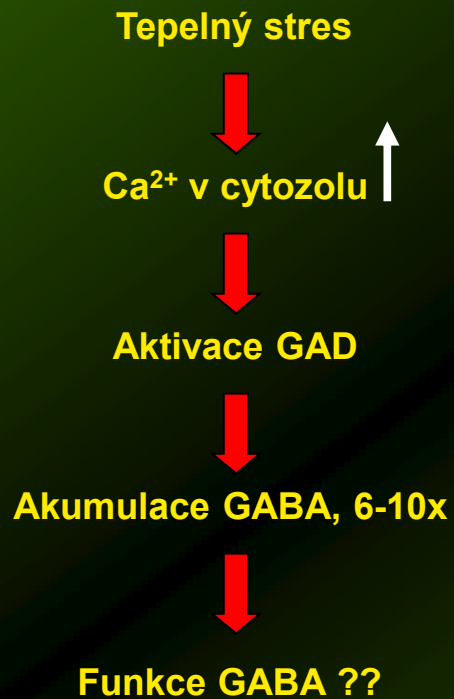
Tepelný stres redukuje aktivitu H⁺-ATPázy, která pumpuje H⁺ z cytozolu do apoplastu a do vakuol



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, Ca^{2+} receptor)



g) Kyslíkový deficit (anoxia)

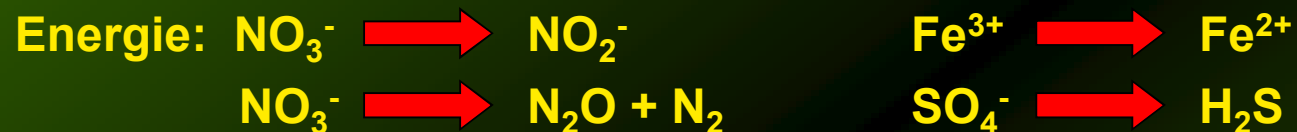
Pro aerobní respiraci rostlina přijímá kyslík především z půdy. Kyslík se v půdě vyskytuje až do hloubky několika metrů.

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.

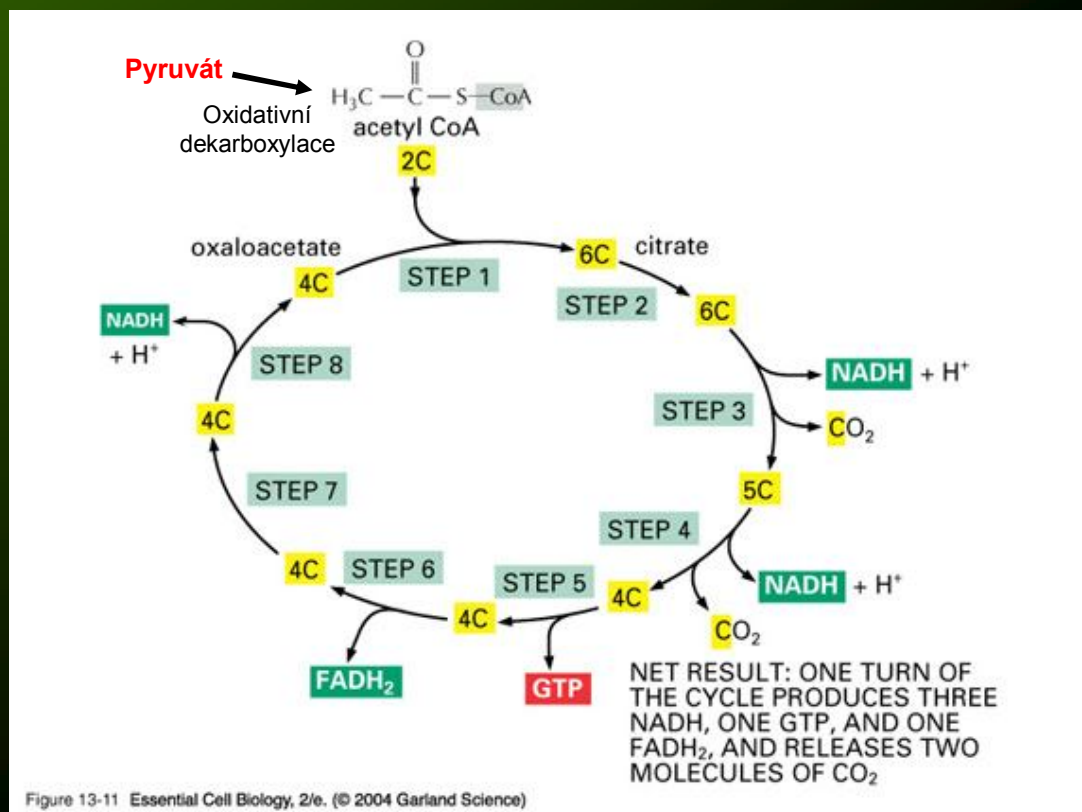
Kořenové špičky – vysoce aktivní => respirační rychlost vysoká, kyslíkový tlak vysoký

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 CO_2 ; NADH (stejně jako FADH_2) – přenašeč vysokoenergetických elektronů a vodíku; energie uchovávaná v těchto elektronech je použita pro syntézu ATP v procesu oxidativní fosforylace (přenos e^- na O_2 , vznik ATP z ADP a P)



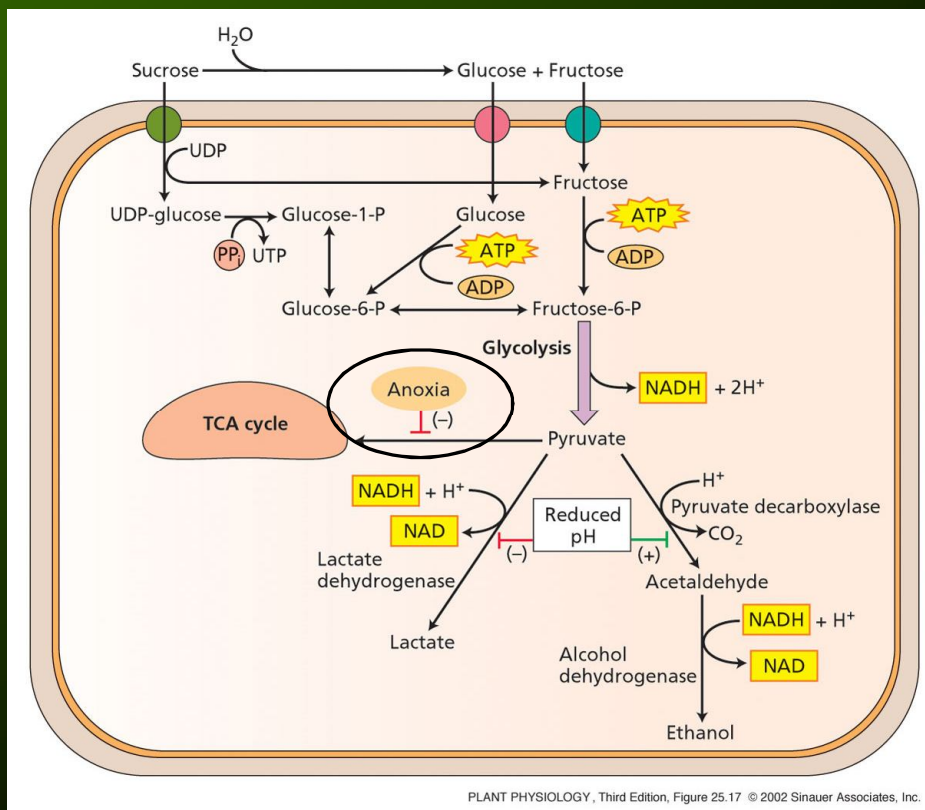
V Krebsově cyklu vzniká:

2 molekuly CO_2
 3 molekuly NADH
 1 molekula GTP
 1 molekula FADH_2

NADH – nicotinamide adenine dinucleotide

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.

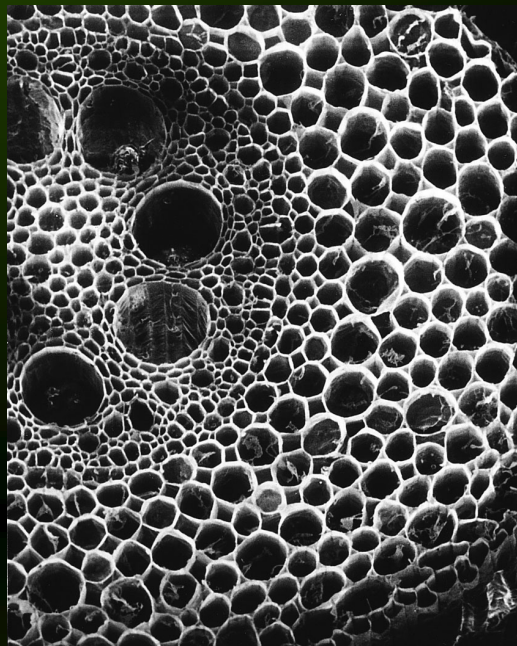
Neschopnost kořenů absorbovat minerální látky a transportovat je do xylému vede k nedostatku iontů v listech => předčasné stárnutí

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

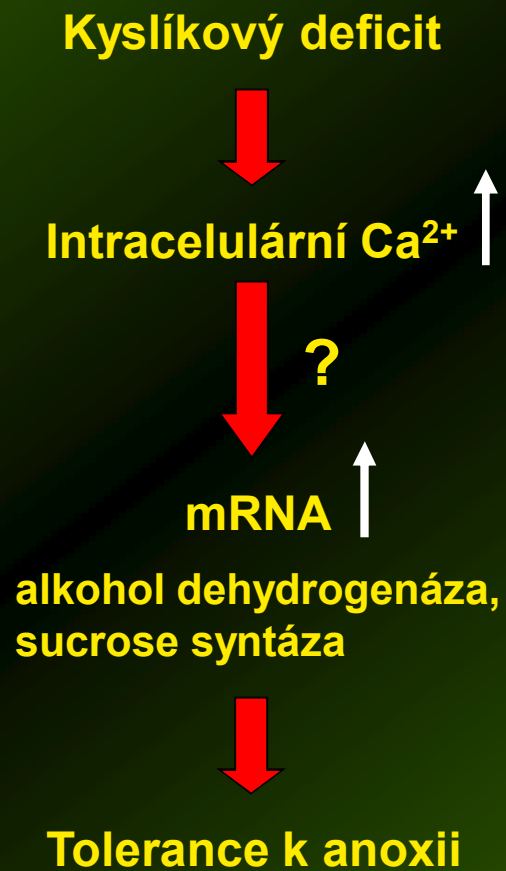
Anoxie indukovaná zatopením stimuluje produkci ABA, která je transportována do listu a indukuje uzavření stomat.

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



Signální dráha vnímání anoxie – málo známa



MBR

