

ROSTLINY a STRES

I. ABIO

Zdeněk OPATRNÝ

Katedra experimentální biologie rostlin
Přírodovědecká fakulta UK Praha

U3V 2013/14

Všechny živé organizmy jsou vystaveny účinku různých „stressorů“ abiotických či biotických

- „stres“ je tedy častý fyziologický stav, akutní či chronický
- může navozovat změny fyziologické i genetické
- může vést k přizpůsobení- **aklimaci** (fyziologické) nebo **adaptaci** (genetické) a tím k přežití
- nepřizpůsobení má za následek SMRT buňky či organismu

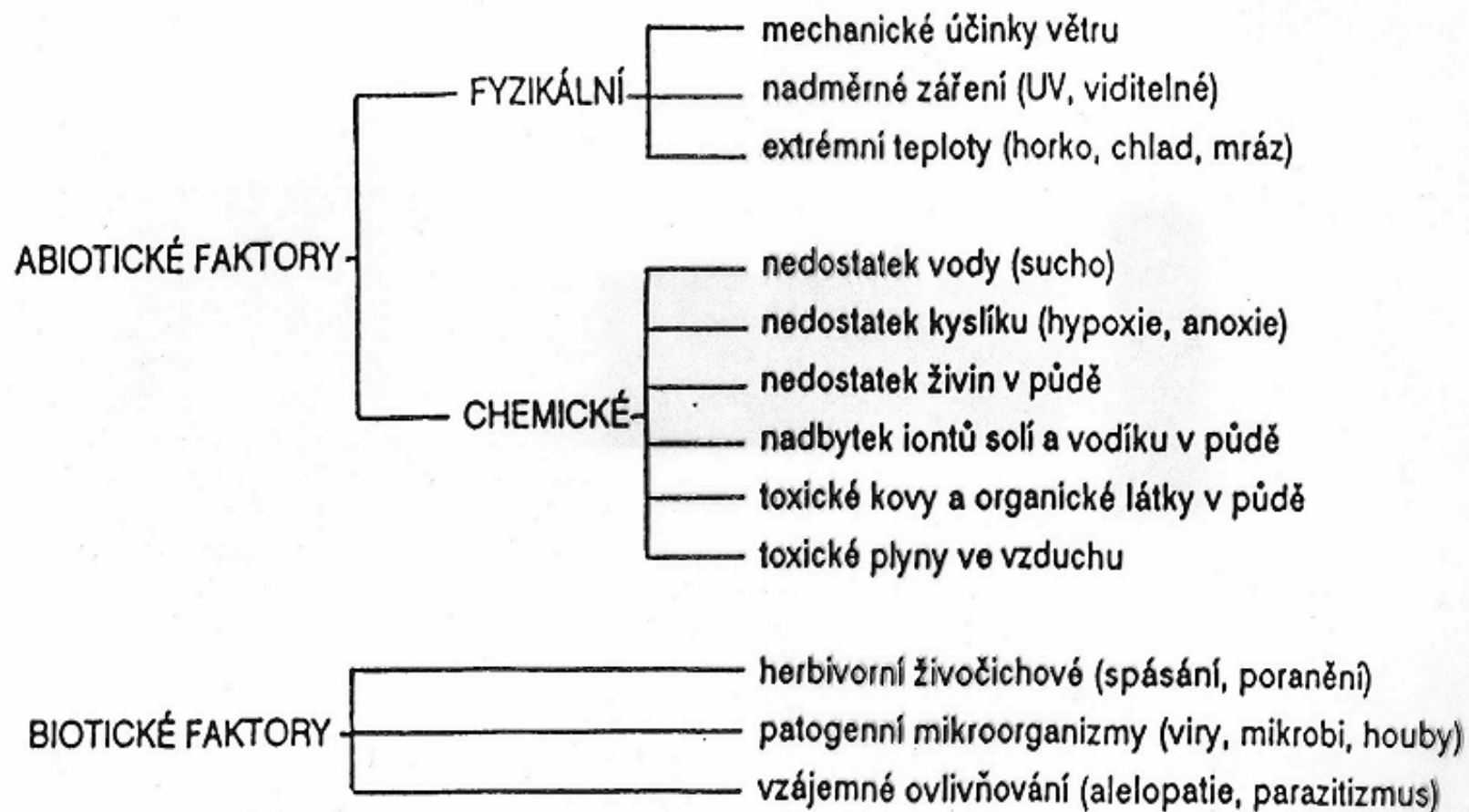
Základní sebezáchovné strategie:

- utéci ... nepoužitelné pro rostliny
- vyhnout se stresu (avoidance) různou pasivní ochranou (ochlupení, kutikula, adaptace atd.)
- (inter) aktivní ochrana vůči danému stresoru
- programovaná smrt buněk jako strategie pro záchranu celku

STRESOVÁ BIOLOGIE ROSTLIN

- široká škála **fyziologických AKLIMACÍ** a **genetických ADAPTACÍ**
pozor: nejsou to synonyma, striktně odlišovány evolučními biology i šlechtiteli, intenzivní studium podílu genetických a epigenetických mechanismů !!
- opakovaný stres rovněž také **faktor fylogenetické selekce**
- dílčí „stresem indukované vychýlení z homeostáze“,
svými mechanismy postupně začleněno do ontogeneze a morfogeneze,
stává se **NUTNOU POTŘEBOU** (viz fotoperioda, vernalizace, desikace semen, stepní požáry a p.)
- překročení **stresového maxima** vede ke stavu **disturbance/perturbance** a smrti buňky/organismu
závisí na typu stresoru, kombinaci stresorů, aktuální dávce, délce působení x celkovém fyziologickém stavu

Souhrnná tabulka stresorů



Přehled nejdůležitějších stresových faktorů, se kterými se rostliny setkávají v přírodě.

Stresory přirozené a civilizační

- **Přirozené:**

extremní teplota, pH, zasolení, hypoxie či anoxie, přirozená deposita těžkých kovů, radioaktivita a p.

- **Civilizační:**

dané změnou kvalitou, kvantitou, lokalizací: těžkých kovů, ropných produktů, výbušnin, extrémního pH, zasolení, ozáření, globálním oteplením, eutrofie, radioaktivita a p.

Černobyl 1986

jako neplánovaná laboratoř
mutageneze/selekce/aklimace/adaptace

НИО "ПРИПЯТЬ" МИНИСТЕРСТВА АТОМНОЙ ЭНЕРГЕТИКИ И ПРОМЫШЛЕННОСТИ
RIA "PRIPYAT" OF THE NUCLEAR POWER AND PRODUCTION MINISTRY

ПОСТЕРАЯ КАРТОЧКА
VISITOR'S CARD

СТРАНА
COUNTRY.....
ГОРОД
CITY.....
ИМЯ
NAME.....
МЕСТО РАБОТЫ
ORGANIZATION.....
АДРЕС ОРГАНИЗАЦИИ, ТЕЛЕФОН
ADDRESS OF ORGANIZATION, PHON.....
ДОЛЖНОСТЬ
OCCUPATION.....
ДАТА ПОСЕЩЕНИЯ
DATE OF VISIT.....

Dr. Z. OPATRNÝ
PRAGUE
CZECHOSLOVAKIA
RES. INST. CROP PRODUCTION
DRNOVSKA 107
DEPT. DIRECTOR BIOTECHNOL. CENTER
12.X. 90

Schopnost PŘEŽÍT stresové podmínky RESISTENCE nebo TOLERANCE ?

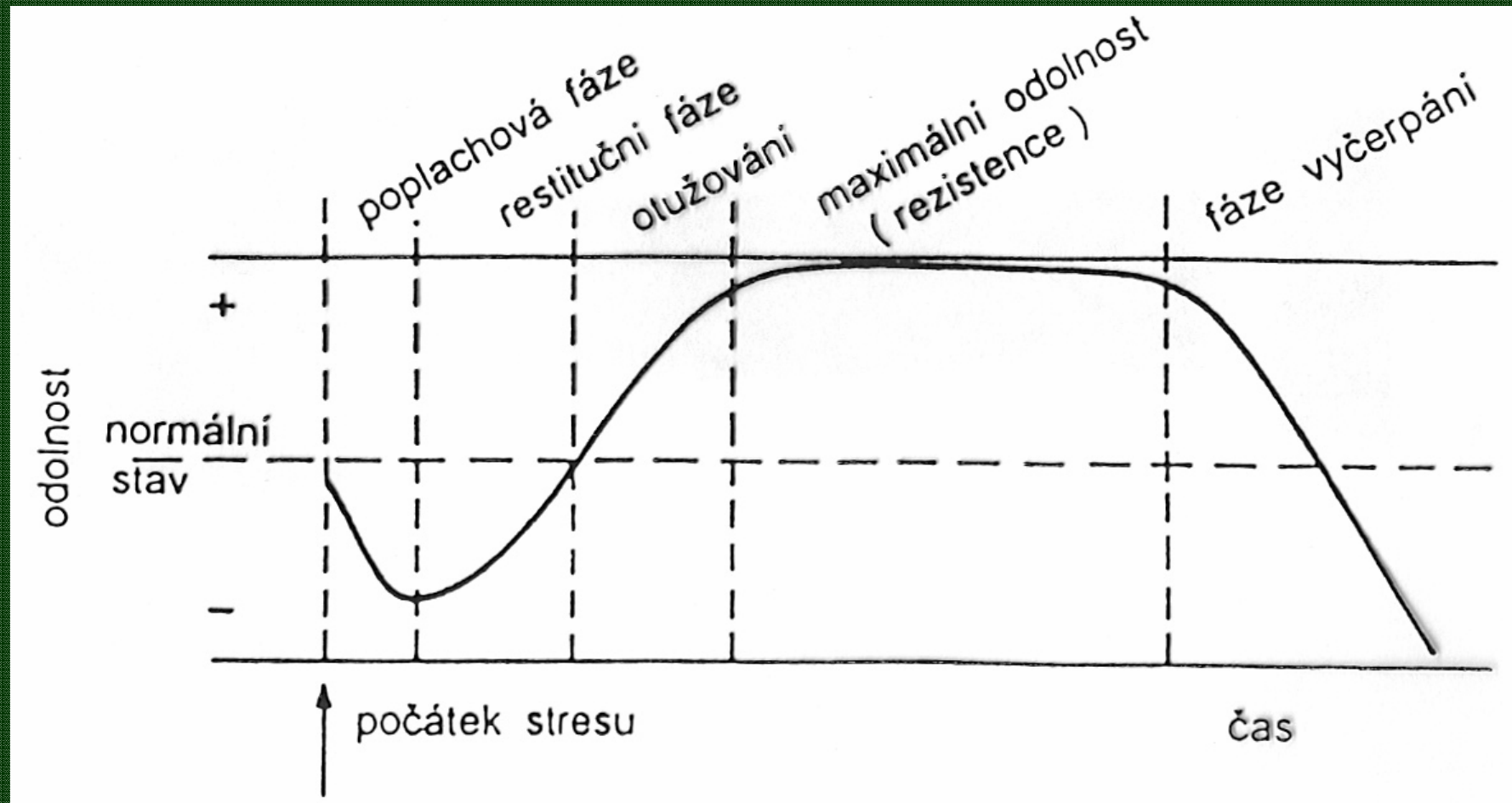
- pojmy často zaměňovány, hádají se i odborné kapacity
- z pohledu šlechtitelů: **TOLERANCE** jako jedna ze strategií rostliny vedoucích k finální **RESISTENCI** odrůdy (požadovaná charakteristika, znak). Pokud plodina toleruje přítomnost působení stresoru (viru, mrazu) bez výrazného snížení výnosových znaků, je považována za resistantní.
- **SENSITIVITA (CITLIVOST)** prospěšná i nevýhodná. V podobě **HYPERSENSITIVITY** provázené lokální apoptotickou reakcí buněk a pletiv vede k finální **ODOLNOSTI (RESISTENCI)** organismu či odrůdy

„Pasivní“(AVOIDANCE) x „aktivní“(TOLERANCE)

- „PASIVNÍ“ obrana - **stress avoidance** (LEVITT 1980)
vzniká evolucí, je geneticky fixovaná a zároveň „chronická“, konstitutivně exprimovaná, vyskytující se nezávisle na aktuálním působení stresoru (příklad halofytů, sukulentů, xerofytů a p.)
- „AKTIVNÍ“ obrana - **stress tolerance**
akutně reaguje na přítomnost stresoru.
Řetězec zejména metabolických a strukturálních změn, geneticky podmíněný, ale „induktivně exprimovaný“ (příklad: reakce na přítomnost těžkých kovů, akutního sucha, chladu a p.)
- STRIKTNÍ HRANICE NEEXISTUJÍ !!



STRESOVÁ REAKCE



Obecná pravidla:

- v přírodě málokdy působí jediný stresor, častá je vazba: nízké pH x těžké kovy, teplota x dostupnost vody, teplota x ozáření, kombinace biotických stresorů
- mechanismy tolerance/resistance vůči různým stresorům se mohou kombinovat (křížová resistance)
- průběh odpovědi vůči dílčím stresorům může mít obdobné etapy
- modelové podmínky (kupř. *in vitro*) jsou výhodné pro studium interakcí

ABIOTICKÝ stres

typy abiotických stresorů

Abiotic Stress Tolerance in Plants

Toward the Improvement of
Global Environment and Food

Edited by
Ashwani K. Rai and Teruhiro Takabe



 Springer

TEPLOTNÍ STRES

- Extremně ZVÝŠENÁ teplota (HEAT STRESS)
- Extremně SNÍŽENÁ teplota
CHLAD (COLD STRESS)
MRÁZ (DEEP COLD STRESS, FROST STRESS)

AKUTNÍ TEPLOTNÍ STRES

- 5 - 30°C tolerance střední pásmo
- 60 - 65°C až několik desítek minut přežijí opuntie
- téměř 100°C sinice, bakterie horkých pramenů
TAQ polymeráza, prací enzymy

arktické řasy - vzestup ze 2 na 6°C je pro ně stresem

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.



Aktivní reakce na působení stresorů: syntéza stresových proteinů

proteiny teplotního stresu
Heat Shock Proteins

fylogeneticky velmi konzervativní, obdoby u všech eukaryotních organismů, blízké u eukaryot

úloha jak v ochranné stresové reakci,
tak v odvozených reakcích morfogenních

Akutní x chronický chladový stress

okurky, rajčata, papriky, meruňky, kukuřice

- * absolutní hodnota x délka působení

listy okurky:

100⁰ C ... týden

8⁰ C ... 3 dny

3⁰ C ... hodiny

- * Orgánová specifita ... květy x listy

- * Aklimace: chladové proteiny chrání membrány

Akutní x chronický „frost“ stress

teploty pod bodem mrazu

- * Vysoušení, krystalizace ledu ... trhání buněk, pletiv
- * Vliv kryoprotektiv
- * Vliv nukleačních jader ... možnost podchlazení
snížení bodu tuhnutí
- * Adaptace / otužování ... zkracování dne x nástup nízkých teplot,
u dřevin už od léta

VODNÍ STRES

málo vody ...SUCHO x OSMOTICKÝ stres

hodně vody ...HYPOXIE x ANOXIE x ANAEROBIE

hydrofyta vodní rostliny

hygrofyta mokřady, velmi vlhká stanoviště

mezofyta střední nárok

xerofyta suchá stanoviště

strukturální i metabolické adaptace:

mokřadní rostliny : pneumofory, aerenchym

viz dále PROGRAMOVANÁ BUNĚČNÁ SMRT

aktuální změny podmínek:

sucha x povodně: nejen zaplavení, ale také udusání půdy
vede k HYPOXII či ANOXII

Metabolický chaos vyvolaný HYPOXIÍ (když se Stromovka topí...)

při poklesu konc. O_2 v intercelulárách pod 2-4%

- * spuštěna glykolýza, energetické vyčerpání, intoxikace etanolem
- * hormonální chaos, klesá hladina auxinů a cytokininů, stoupá hladina ABA a etylénu
- * indukce tvorby stresových proteinů

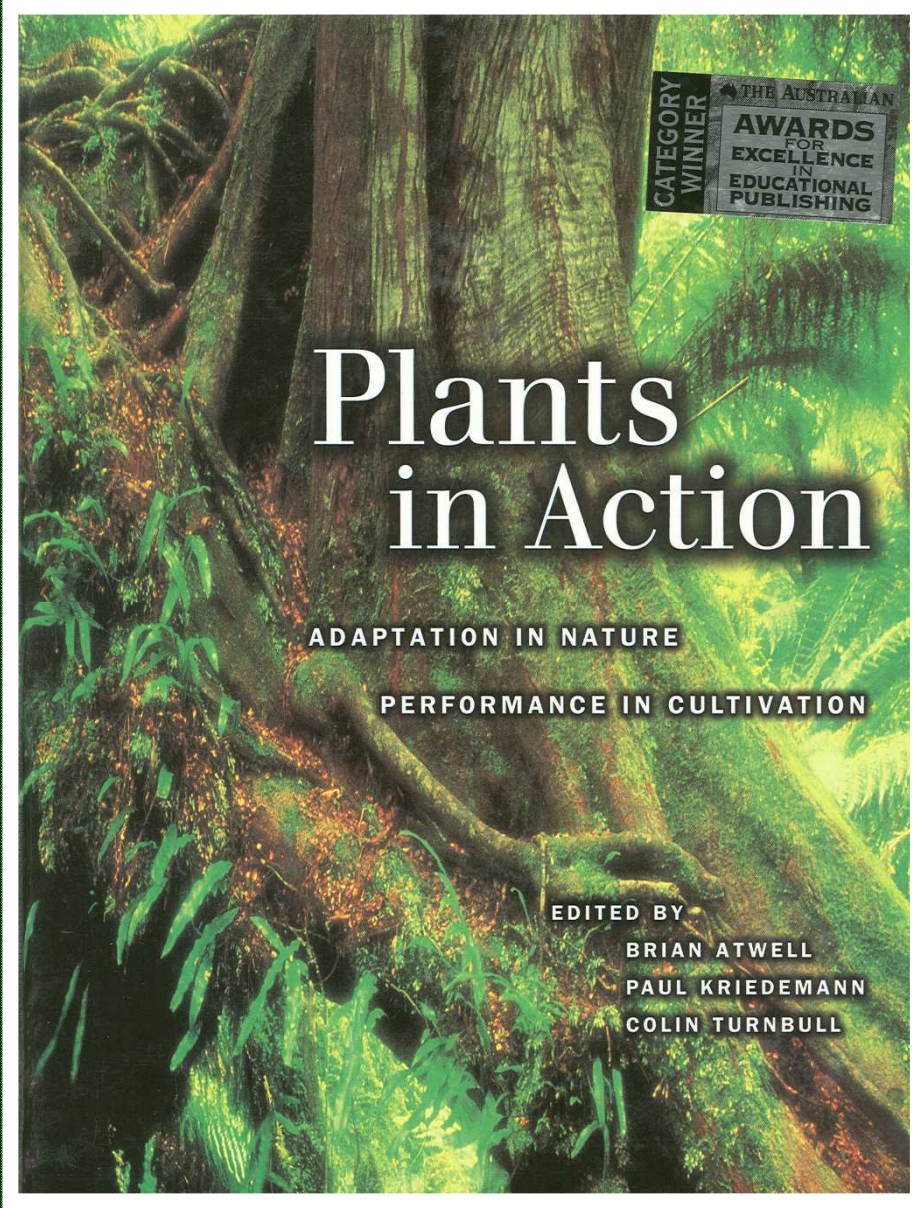
Smrt je postupná a plíživá,
hypoxie otevírá bránu pro další stresory mj. biotické

Chronické sucho

- * nejrozšířenější stresor rostlinného světa, široké spektrum strukturálních adaptací
- * nejrozumnější adaptace metabolické
- * průduchová regulace, rostliny C4 a rostliny CAM, noční fotosyntéza

FAKULTATIVNÍ osmotický stres jako
obligátní MORFOGENNÍ faktor

součást maturace (konverze) zygotických i somatických embryí (Late Embryogenic Abundant - LEA - proteins)



CATEGORY WINNER
THE AUSTRALIAN
AWARDS
FOR
EXCELLENCE
IN
EDUCATIONAL
PUBLISHING

Plants in Action

ADAPTATION IN NATURE

PERFORMANCE IN CULTIVATION

EDITED BY
BRIAN ATWELL
PAUL KRIEDEMANN
COLIN TURNBULL

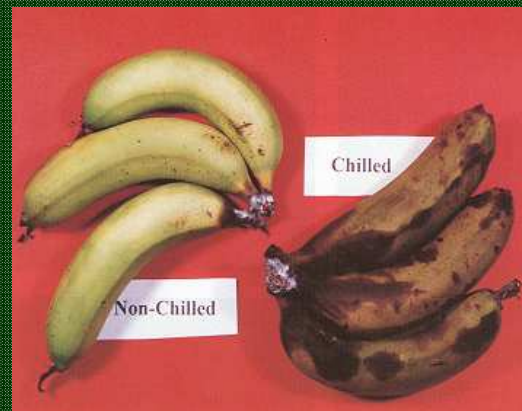
Chladový stres



listy některých eukalyptů vzdorují
mírnému mrazu až 200 dnů v roce



pod ledem si větve ovocných stromů
udrží teplotu 0°C



reakce plodů banánu na teplotu + 4 C°

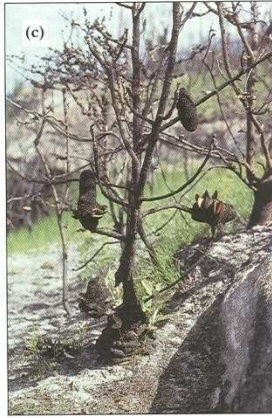


Plate 70 (a) Seed capsules of *Hakea* that have opened after an intense fire four weeks earlier. (b) Follicles of *Banksia serrata* open after a long dry period, or after fires. (c) Recently burnt bushland in the Blue Mountains near Sydney, showing regeneration of banksia and native grasses. See Figure 19.2 on page 596

(Sponsored by the Grains Research and Development Corporation)

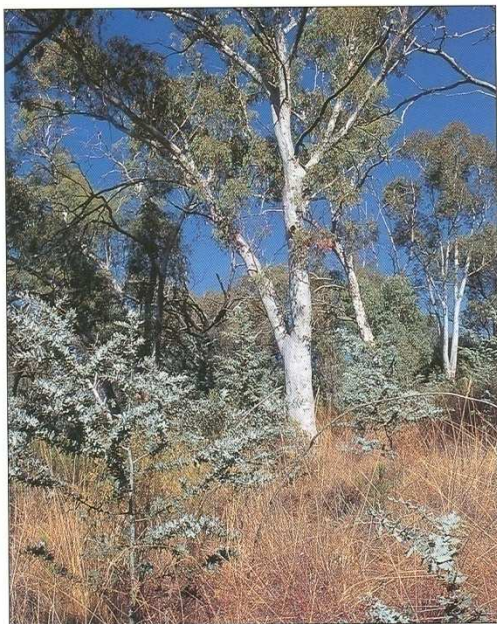


Plate 71 Re-establishment of Cootamundra wattle (*Acacia baileyana*) after a fire near Canberra years earlier. See Figure 19.3 on page 596

(Sponsored by the Grains Research and Development Corporation)



Plate 72 Epicormic growth of mallee eucalypts one year after a fire in western Victoria. See Figure 19.4 on page 597

(Sponsored by the Grains Research and Development Corporation)



Plate 73 Resprouting of *Banksia* spp. in the season following a fire in the Royal National Park, New South Wales. See Figure 19.5 on page 597

(Sponsored by the Grains Research and Development Corporation)



Plate 74 Aerial shoots appear from epicormic buds of a mature eucalypt tree near Wollongong, New South Wales, after severe fire had destroyed the entire leaf canopy. See Figure 19.6 on page 597

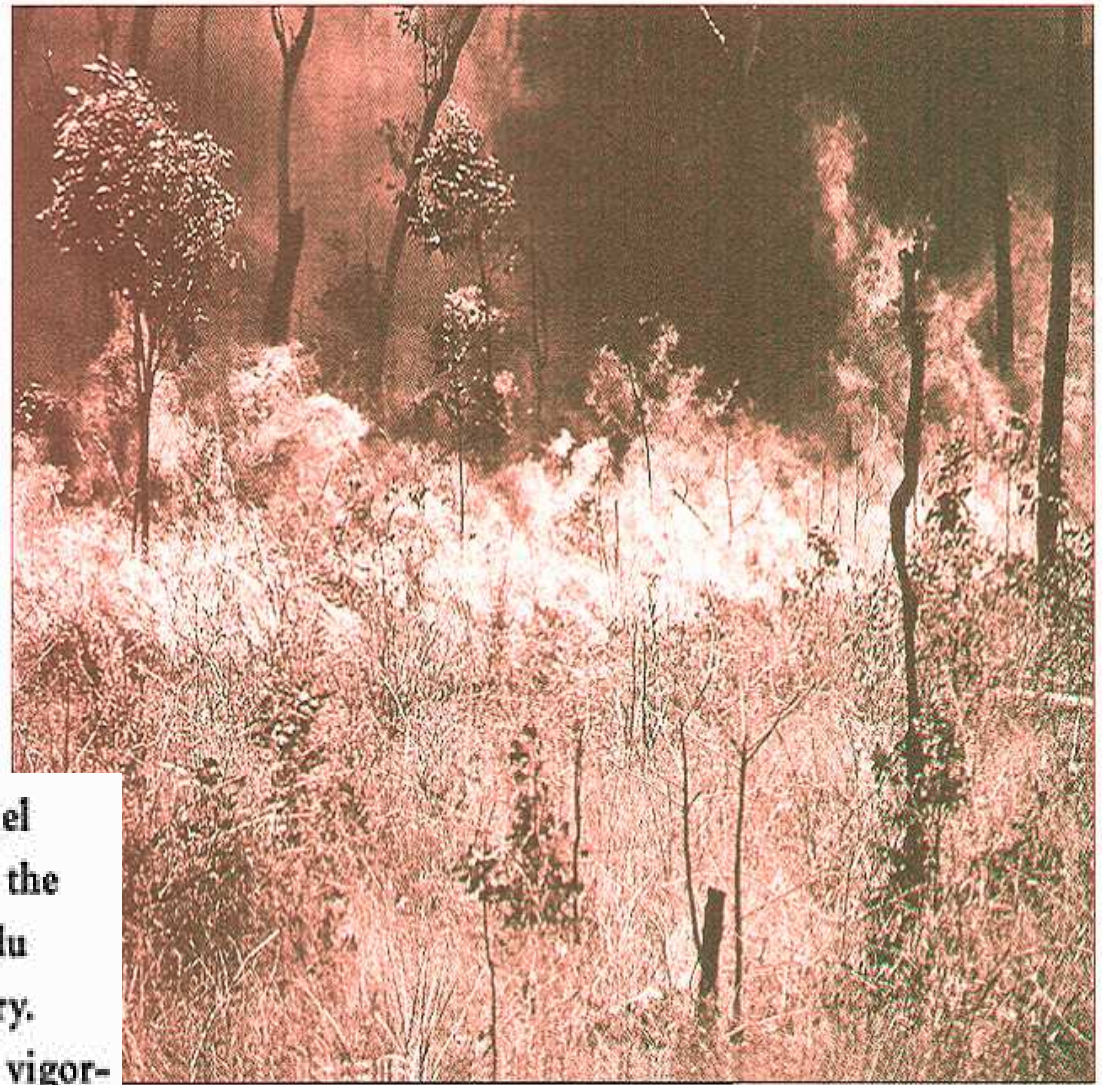
(Sponsored by the Grains Research and Development Corporation)



Plate 75 Stimulation of flowering in *Xanthorrhoea* spp. growing in John Forrest National Park, Western Australia, after a fire nine months earlier. See Figure 19.7 on page 597

(Sponsored by the Division of Plant Science, Kings Park and Botanic Garden, Perth)

Fires often consume the large fuel loads produced by cane grass at the end of each dry season in Kakadu National Park, Northern Territory. Here a savanna woodland burns vigorously, leaving the sclerophyllous eucalypts blackened but alive and able to regrow in the following season



Teplotní stres

jako morforegulační faktor

- * Stratifikace
- * vernalizace/jarovizace
- * indukce pylové embryogeneze



ZASOLENÍ

- * až 6% „orné“ půdy na světě zasoleno
 - * podíl stoupá s civilizačními zásahy
 - * evolucí vzniklé **halofyty** jako opak glykofytů
 - * vysoká koncentrace Na^{++} ... **sodicita**
 - * vysoká koncentrace dalších iontů (Na, K, Mg, Ca, Cl, S..) ... **salinita**
- omezují dostupnost vody
kompetují s jinými ionty v buňce

Salinity, like drought, remains as one of the world's oldest and most serious environmental problems. Mistakes made by the Sumerians in the Tigris and Euphrates basin of Mesopotamia over 4000 years ago are being repeated today...



Secondary salinisation near Ouyen, Victoria, showing a lower slope discharge zone for saline groundwater. Established eucalypts have died and salt is encroaching upslope into grazing land.

Aktivní ochrana vnitřního prostředí symplastu -apoplastu proti zasolení

- * Ukládání solí do vakuoly
- * Aktivní vylučování
 - „salt glands”... jitrocelovité
 - „salt hairs”... merlíkovité
- * Stabilisace vnitrobuněčných struktur pomocí stresových proteinů
- * Modifikace transportní funkce plasmodesmů

Extremně nízké pH půdy „kyselé půdy“

- * Evolucí vznikly druhy **acidofilní** (pH 3-6,4), **neutrofilní**, **bazofilní** (pH 7,7-11)
- * jen vzácně působí sama „kyselost“ (kupř. posun druhového složení půdní **mikroflory** - mykorhizza, symbiotická fixace dusíku)
- * pH ovlivňuje
 - rozpustnost anorganických solí jak biogenních tak biotoxických prvků (vznik nerozpustných fosfátů. Ca, K, Mg, ale také Fe, Cu, Zn, Mn vytěsněny z koloidních půdních vazeb). Důsledkem je **minerální hladovění**
 - vzestup půdní hladiny **těžkých kovů** (Pb, Hg, hlavně Al)

Resistance k těžkým kovům

mechanismy biotoxického účinku:

kompetice s „biogenními kovy“ v aktivních centrech enzymů, v signálních drahách, v stabilitě membrán a cytoskeletu, v stabilitě DNA (programovaná buněčná smrt vyvolaná kadmíem) a p.

formy aktivní ochrany:

- * zábrana vstupu do orgánů, pletiv, buněčných povrchů, apoplastu
- * zábrana vstupu do symplastu, průchod membránami
- * aktivní vylučování (efflux)
- * imobilizace/ sequestrace uvnitř buněk - nerozpustné soli organických kyselin, proteinové komplexy

METALLOTHIONEINY

FYTOCHELATINY

Metallothioneiny

- * přímý genový produkt (genové rodiny). Jaterní buňky koně, houby, řasy, některé druhy vyšších rostlin (motýlokvěte)
- * nízkomolekulární proteiny, vysoký obsah cysteinu, kov vázán SH-vazbami
- * možnosti transgenóze -GMO, hyperakumulátory

Fytochelatiny:

- * rostlinné peptidy, nevznikají translací specifické m-RNA, ale přímou syntézou z gama-glutamyl -cysteinyl zbytků
alternativa syntézy glutathionu (příjem síry)

Fytochelatín (PC) syntáza: kontrolována aktuální koncentrace kovu

Bio/fytoremediace

* Přirození hyperakumulanti

vázaný kov může představovat až 1% sušiny,
vazba chelatační (proteiny, peptidy) či solná (org.kyseliny)

Thlaspi caerulescens, Arabidopsis halleri, Sedum alfredii

hyperakumulace Zn či Cd: až 10 000 mg/kg natě, 60-70% ve vakuolách
mesofylových buněk, v rozpustné formě !

* Transgenní hyperakumulanti

hladina PC nemusí korelovat ani s aktuální HM resistencí
ani s akumulací schopností

MT problematická regulace exprese

další XENOBIOTIKA

SO_2

nepřímo - součást kyselého deště (okyselení půdy)

přímo - deposice síry a siřičitanů v listech a jehlicích

inhibice RUBISCA

C4 odolnější než C3. U C4 rostlin Calvin. cyklus chráněn v pochvách cévních svazků dostatkem CO_2 ,

PEP karboxyláza málo citlivá k SO_2

vápnění v praxi problematické - pleiotropní efekt

AKTIVNÍ formy kyslíku ROS (reactive oxide species)

O_3 ozon vzniká mj. fotolýzou NO či NO_2

singletový O

O_2^- superoxid

OH^* hydroxylový radikál

H_2O_2

též při různých poruchách fotosyntézy,
vedou k senescenci, mutagenezi, PCD buněk

Alternativně: rané reakce obrany proti patogenům

Reparace: superoxiddizmutáza, kataláza, peroxidáza
alfa - tokoferol (vitamin A)
polyaminy, flavonoidy, karotenoidy

Abiotický x biotický STRES existuje přesná hranice ?

- * některé typy signálů používány obecně
- * Primárně se abiotické signály uplatňují v hypersenzitivních reakcích rostlin i vůči patogenům

příklad: programovaná buněčná smrt (Programmed Cell Death PCD)
aktivní formy kyslíku jsou mediátory jejího mechanismu

Jak vypadá současné šlechtění „suchovzdorných plodin“ ?

Konvenční ... dosud považováno za jedinou cestu k
výhodným změnám/kombinacím znaků **kodovaných více
geny** .
vychází ze zkušenosti, že většinou

„neexistuje stříbrná koule jediného genu“

GM technologie ... již v řadě případů dokládají opak,
jsou úspěšně použity při změnách vlastností jednoduše
(nejlépe monogenně) podložených

PLODINY

„SUCHOVZDORNÉ“

Kudy k nim ???

Přenosy genů kodujících/regulujících :

- tvorbu či funkci antioxidantů
- tvorbu či funkci osmoprotektantů
- ERD (early responses to dehydration)
- integritu buněčných membrán
- iontovou homeostázi
- vazebné proteiny vápníku

bezprostřední návaznost na problematiku
„slanuvzdornosti“

Suchovzdorná odrůda kukuřice

Optimum AQUAmax



klasický hybrid

zvýšení produkce
za sucha
proti kontrole o
5%

mechanismus ?

DuPont - Pioneer Hi Bred
2011

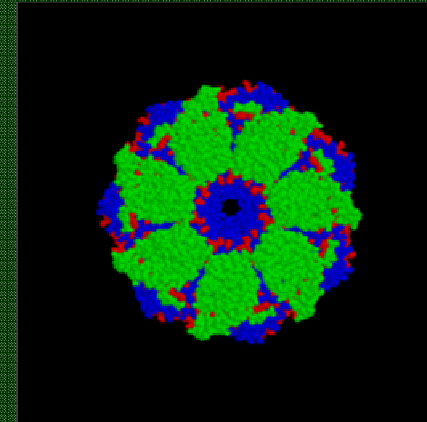
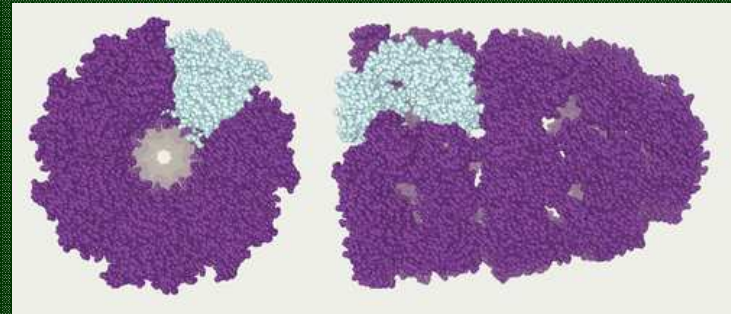
Colorado, Kansas, Nebraska, Texas

Světová biotechnologická trojka Monsanto, Du Pont-Pioneer, Syngenta

Technologie založená na přenosech bakteriálních
CHAPERONŮ (zejm. typu „cold shock proteinů -CSPs)

Modely: **Arabidopsis, rýže**
Plodiny : **kukuřice, bavlník**

Pěstování :
zejména středozápad USA -
sezonní sucha
Kansas, Nebraska



Bacterial RNA Chaperones Confer Abiotic Stress Tolerance in Plants and Improved Grain Yield in Maize under Water-Limited Conditions^[W]

Paolo Castiglioni¹, Dave Warner, Robert J. Bensen, Don C. Anstrom, Jay Harrison, Martin Stoecker, Mark Abad, Ganesh Kumar², Sara Salvador, Robert D'Ordine, Santiago Navarro, Stephanie Back, Mary Fernandes, Jayaprakash Targolli, Santanu Dasgupta², Christopher Bonin, Michael H. Luethy, and Jacqueline E. Heard*

Monsanto Company, Mystic Research, Mystic, Connecticut 06355 (P.C., D.W., R.J.B., D.C.A., C.B., M.H.L., J.E.H.); Monsanto Company, Chesterfield, Missouri 63017 (J.H., M.S., M.A., R.D., S.N., S.B., M.F.); Monsanto Company, Malleswaram, Bangalore, 560003 India (G.K., J.T., S.D.); and Monsanto Company, Cambridge, Massachusetts 02139 (S.S.)

Plant Physiology, June 2008, Vol. 147, pp. 446–455, www.pla



**MONSANTO
2008**

SCIENTIFIC
AMERICAN™

Sign In / Register

Search ScientificAmerican.com

Energy & Sustainability :: ClimateWire :: July 27, 2012 :: 12 Comments :: Email :: Print

Drought-Tolerant Corn Efforts Show Positive Early Results

Types of genetically modified corn could offer modest protection for drought tolerance and might help individual farmers recoup yield losses in drought conditions

By Tiffany Stecker and ClimateWire

ClimateWire

In the midst of the nation's worst drought in 50 years, two of the world's largest agricultural companies are testing corn that is bred and genetically engineered to withstand low rainfall levels.

Monsanto's DroughtGard hybrid corn -- the first-ever hybrid genetically engineered for drought tolerance -- was planted this spring in initial field trials. Sowed amid sufficient rain and optimism for a record-breaking crop yield, the company has encountered a close to worst-case scenario to test its product.

In addition, DuPont Pioneer's hybrid AQUAmax corn -- developed using advanced breeding techniques rather than biotechnology -- debuted last year with five different versions. This year, the company is launching six more with drought tolerance traits combined with pest resistance and other high-yielding attributes.

But the drought ripping through the Midwest is persistent and widespread. Despite positive feedback from farmers, the companies admit that cutting-edge technology can only go so far.



Image: flickr/Chiot's Run

MONSANTO
2012



cspB RNA chaperon protein
z *Bacillus subtilis*



The Biofortified Blog



Matt DiLeo



http://www.youtube.com/watch?feature=player_embedded&v=LZvJ1vJHiec

Polní pokusy firmy SYNGENTA na Western Kentucky University 2011



Sezonní sucho těsně před kvetením výrazně snižuje násadu zrn v klasu . **GM varieta (vpravo)** tento stres toleruje.

Genetically Modified Plants To Resist Intense Drought

Dívka s kukuřicí, pokusy s GM tabákem, cíl „suchovzdorná“ bavlna tolerující střídavé zavlažování brakickou vodou (1/3 solí vody mořské), ale také odolná rajčata, čirok, rýže



Israeli agro-biotechnology company, **Rosetta Green**, has developed a new technology to develop plants that are better able to withstand prolonged periods of severe drought.

The company, based in Rehovot, Israel, experimented on **tobacco** plants that were **irrigated with seawater instead of freshwater**. The genetically modified plants created by the company were able to grow under seawater irrigation, as opposed to the control group of plants.

GM technologie založené na přenosech
genů kodujících různé micro-RNA

Karel Říha, Brno: **Šlechtitelská kachna ???**

- Všem přátelům
přeju vše dobré a hodně setkání s příjemnými lidmi, z nichž se rozvinou
přátelé. A to vám přeju - kolotoč přátel
A propó něco hezkého - je tu první vlaštovka klasického šlechtění

Britové vyšlechtili rajčata plodící brambory
1.října 2013

Novou ojedinělou odrůdu cherry rajčat, které zároveň plodí i brambory,
představili britští zahradníci.

Podle jejich slov na ní pracovali deset let, ale teprve teď se jim povedlo
dotáhnout šlechtitelské pokusy do finálního stavu. celý článek

http://video.idnes.cz/?c=A130930_134554_hobby-zahrada_bma&idVideo=V130930_103741_tv-zpravy_sha

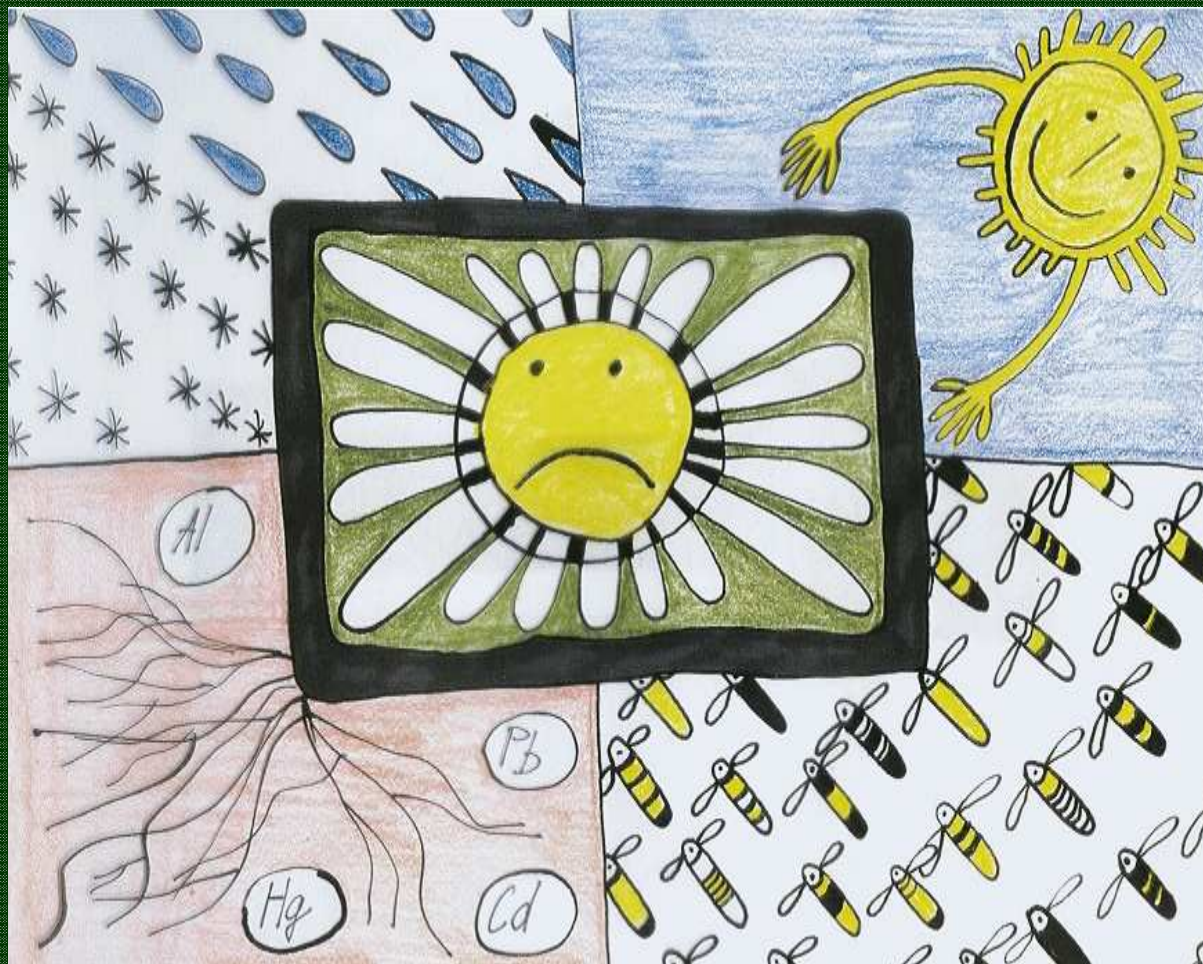
FA COST Action FA1204

Vegetable Grafting to Improve Yield and Fruit Quality under Biotic and Abiotic Stress Conditions

Descriptions are provided by the Actions directly via e-COST.

Due to limited availability of arable land, and water resources, the large use of fertilizers, and the high market demand for vegetables, cucurbits and solanaceous crops are frequently cultivated under unfavourable soil and environmental conditions. These include soilborne pathogens, salinity, thermal stress, drought, and heavy metals. These harmful conditions are magnified by the changing environmental conditions and the restrictive policies of agrochemical use. **One way to avoid or reduce losses in production caused by adverse conditions in vegetables would be to graft them onto rootstocks capable of alleviating the effect of external stresses on the shoot.** This **Action** aims to stimulate cutting-edge multidisciplinary collaborative research towards identifying and understanding how rootstock-mediated traits can improve vegetable crop yield and quality under biotic and abiotic adverse conditions. Sharing knowledge and enhancing scientific and technical collaboration will surely fill knowledge gaps in the area of vegetable grafting. This **Action** can also stimulate the wider commercial development and exploitation of this technique in Europe. The knowledge gained will be summarized in a book as a final output of this **Action**. Moreover, all data and information of this **Action** will be disseminated to the public through a dedicate website.

STRESU my se nebojíme
žít se v stresu naučíme



i extrémny přestojíme – ale všeho moc škodí