

**Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Anežka Kantová, DiS.

Fyziologické změny obilnin vystavených tepelným stresům

Physiological changes of cereals under temperature stress

Bakalářská práce

Vedoucí práce: **Mgr. Pavel Vítámvás, Ph.D.**

Konzultant: **RNDr. Michal Hála, Ph.D.**

Praha, 2020

Poděkování

Ráda bych touto cestou vyjádřila poděkování vedoucímu práce Mgr. Pavlu Vítámvásovi, Ph.D. za jeho cenné rady, poznatky a trpělivost při vedení mé bakalářské práce. Rovněž bych chtěla poděkovat konzultantovi RNDr. Michalu Hálovi, Ph.D. za ochotu a rady ohledně formální stránky mé práce.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval/a samostatně a že jsem uvedl/a všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze,

.....

Anežka Kantová

Abstrakt

Obilniny patří mezi nejstarší plodiny, které byly lidmi pěstovány a využívány jako významné složky stravy. Jsou pro lidskou populaci důležitým zdrojem obživy a mají širokou škálu využití, převážně v potravinářském průmyslu. Obilniny obecně slouží jako zdroj energie ve stravě, díky vysokému obsahu škrobu. Nejčastěji pěstovanými druhy obilnin jsou především pšenice, ječmen, žito, rýže, kukuřice, dále pak i další druhy jako jsou oves a proso. Avšak ani obilninám se nevyhýbají problémy, spojené s působením abiotických stresových faktorů. Jejich vliv na všechny rostliny se projevuje snižováním vitality, ale u kulturních plodin – jako jsou obilniny – hlavně snižováním výnosu. Právě kvůli snižování výnosu je dnes šlechtění odolných genotypů obilovin v předním zájmu šlechtitelů. Tato práce shrnuje základní principy působení tepelných stresů na rostliny a vysvětluje reakce některých druhů obilnin na uváděné abiotické stresové faktory.

Klíčová slova: proteom, fyziologie, obilniny, tepelné stresy, výnos, abiotický stres

Abstract

Cereals are among the oldest crops that have been grown and used by humans as important component of their diet. It is an important source of livelihood for the human population and have a wide range of uses, mainly in the food industry. Cereals generally serve as a source of energy in the diet, due to the high starch content. The most commonly grown types of cereals are especially wheat, barley, rye, rice, corn, but there may be other species such as oats and millet. However, even cereals do not avoid the problems associated with the action of abiotic stress factors. Their effect on all plants is manifested by a decrease in vitality, but in crops – such as cereals – mainly by a decrease in yield. Due to the reduction in yield, breeding of resistant cereal genotypes is now in the primary interest of breeders. This work summarizes the basic principles of the action of heat/cold stress on plants and explains the reactions of various types of cereals to these abiotic stress factors.

Key words: proteome, physiology, cereals, temperature stres, yield, abiotic stres

Seznam zkratk

ABA – kyselina abscisová

AFPs – antifreeze proteiny

COR – chladem regulované (geny)

FT – mrazuvzdornost

GB – glycinbetain

GM – genetická modifikace (geneticky modifikované)

HSF –transkripční faktory tepelného stresu

HSP – proteiny tepelného šoku

JA – jasmonáty

LEA – late embryogenesis abundant proteins – proteiny hojné při pozdní embryogenezi

MAS – marker-assisted selection – selekce s využitím markerů

MnSOD – mangan-dependentní superoxiddismutáza

ODM – oligonukleotidem řízená mutageneze

OEC – kyslík vyvíjející komplex

PSII – fotosystém II

QTL – quantitative trait locus – lokusy kvantitativních znaků

RdDM – metylace DNA řízená RNA

ROS – reaktivní formy kyslíku

SDN – místně lokalizované nukleázy

SOD – superoxiddismutáza

VRN – vernalizační gen

Obsah

ÚVOD	1
1. CHARAKTERISTIKA A ROZŠÍŘENÍ NEJDŮLEŽITĚJŠÍCH DRUHŮ OBILNIN	3
1.1. IDEÁLNÍ TEPLoty PRO RŮST A VÝVOJ OBILNIN	5
1.2. CITLIVÉ A REZISTENTNÍ DRUHY OBILNIN VŮČI TEPELNÝM STRESŮM	6
2. NÍZKÁ TEPLota	6
2.1. ZMĚNY VYVOLANÉ PŮSOBENÍM NÍZKÝCH TEPLot	7
2.1.1. <i>Vegetativní fáze</i>	8
2.1.2. <i>Reprodukční fáze</i>	10
2.1.3. <i>Změny plazmatické membrány</i>	12
2.1.3 <i>Stresové látky, proteiny a geny ovlivňující odolnost</i>	13
3 VYSOKÁ TEPLota	15
3.1 ZMĚNY VYVOLANÉ PŮSOBENÍM VYSOKÝCH TEPLot	16
3.1.1 <i>Vegetativní fáze</i>	16
3.1.2 <i>Reprodukční fáze</i>	19
3.1.3 <i>Stresové látky, proteiny a geny ovlivňující odolnost</i>	21
4 REAKTIVNÍ FORMY KYSLÍKU (ROS) V TEPLotNÍCH STRESECH	21
5 ŠLECHTĚNÍ OBILNIN NA ODOLNOST VŮČI TEPLotNÍM STRESŮM	23
5.1 METODY ŠLECHTĚNÍ.....	23
5.1.1 <i>Modifikace a editace genomu</i>	24
5.1.2 <i>Nové šlechtitelské techniky</i>	25
5.2 ŠLECHTĚNÍ REZISTENTNÍCH PLODIN	26
5.3 MIKROORGANISMY ZPROSTŘEDKOVANÁ ODOLNOST VŮČI STRESŮM	27
ZÁVĚR	29
POUŽITÁ LITERATURA	30

Úvod

Stres je obecně vnímán jako nepříznivý stav, který je navozen působením stresového faktoru. Stresové faktory lze dělit na biotické a abiotické. Biotický stres zahrnuje působení patogenů, např. bakterií, hub nebo herbivorů. Abiotický stres je vyvolán jakýmkoliv faktorem životního prostředí, který nepříznivě ovlivňuje růst a vývoj dané rostliny. U obilnin se vliv abiotického stresu odráží především ve výnosu a jeho kvalitě. Existuje více druhů abiotických faktorů, ovlivňujících rostlinu. Mezi ty hlavní abiotické faktory bychom mohli řadit především sucho, vysoké teploty, nízké teploty a salinitu. Tyto faktory mohou způsobit různé změny, ať už morfologické, fyziologické či proteomické. Tepelný stres negativně ovlivňuje udržení homeostáze, vodní režim, fotosyntézu a zvyšuje tvorbu ROS (Kosová et al., 2011)*. Na molekulární úrovni vede zvýšená teplota k zvýšenému pohybu biomolekul, což může vést k denaturaci. Dlouhodobé zvýšení teploty má za následek také dehydrataci a oxidativní stres, které jsou způsobeny nadměrnou transpirací listů a odpařováním povrchové vody. Dochází také ke zvýšení fotoinhibice a k disipaci tepelné energie (Qu et al., 2013)*.

Rostliny se jako sesilní organismy musí potýkat s různými druhy interakcí, ovlivněny jsou zejména mnoha faktory prostředí. Jsou oportunistické, což znamená, že se signály z okolního prostředí podílejí na změnách jejich genetického a vývojového programu (Haak et al., 2017)*. V průběhu evoluce si vyvinuly určité mechanismy. Ty jim pomáhají se s těmito stresovými faktory vyrovnat, přizpůsobit se a přežít. Ovšem následkem stresového působení na rostliny je narušení metabolismu a fyziologických funkcí, což vede ke snížení produkce a fitness (Suzuki et al., 2014). Obilniny, mají různé strategie, které slouží k vyrovnání se s následky působení stresových faktorů. Nejčastěji se uvádí, že rostlina prochází různými fázemi působení stresu na úrovni proteomu. Proteom je soubor všech proteinů v buňce v daném organismu a v daném čase. Je to proteinový komplement genomu. Role proteinů je ve stresové reakci rostlin zásadní, protože se podílejí na formování nového fenotypu úpravou fyziologických znaků v reakci na změny prostředí. Proteiny se tak přímo účastní stresové odezvy rostlin (Jorrín-Novo et al., 2009*; Kosová et al., 2011)*.

Odpověď rostliny na působení stresových faktorů je rozdělena na pět fází: poplachová fáze, restituční fáze, fáze otužování, fáze rezistence a vyčerpání. Poplachovou fází lze charakterizovat po počátečním setkání rostliny se stresovým faktorem. Dochází při ní k poruchám buněčné homeostáze, a tím k indukci signalizace stresu, vedoucí ke změnám genové

exprese. Fáze otužování je charakteristická změnami v metabolismu proteinů jak v biosyntéze, tak v degradaci, což vede ke zvýšení tolerance rostlin vůči stresu. Fáze rezistence lze na molekulární úrovni popsat jako účinné přizpůsobení metabolismu změněným podmínkám prostředí. Fáze vyčerpání je charakterizována poklesem získané odpovědi na stresový faktor (Kosová et al., 2011)*.

Maximalizace výnosu plodin a růstu v jednotlivých oblastech světa je velmi složitá, protože záleží na načasování a intenzitě abiotického stresu, který je proměnlivý a zcela nepředvídatelný. Proměnlivost načasování a intenzity působení abiotického stresu znamená, že neexistuje přímá cesta k porozumění molekulárním a fyziologickým základům růstu a následné tvorby výnosu plodin. Nedávný pokrok v molekulární genetice přispěl k pochopení základů působení abiotických stresů (Bechtold & Field, 2018). Je nutné se zaměřit na nejzranitelnější aspekty růstu rostlin. Většina abiotických stresů působí rostlině oxidativní poškození buněčných struktur, což má za následek ztrátu některých buněčných procesů (Dolferus et al., 2011). Reakce na působení stresového faktoru je individuální, a závisí na vývojovém stádiu rostliny a podmínkách prostředí. Velká část odpovědi rostlin na stresové faktory je podobná, což znamená, že je nespecifická. Rostlinné buňky jsou schopné reagovat na různé druhy stresů a napětí prostřednictvím vyvážené sítě odpovědí, která zahrnuje signální dráhy redukční oxidace, regulátory růstu a stresové hormony. Abiotické, ale i biotické stresové reakce používají signály, dráhy a spouště, které jsou běžné a vedou k jevům tzv. cross-tolerance (zkřížené/křížové tolerance). Proto expozice rostliny jednomu druhu stresu může spustit reakce, které usnadňují toleranci vůči několika dalším typům stresu (Foyer et al., 2016).

Tato práce přináší celkový náhled na problematiku působení tepelných stresů na obilniny. V závěru se soustřeďuje na šlechtitelské metody, které zvyšují toleranci obilnin vůči působení nepříznivých podmínek prostředí.

1. Charakteristika a rozšíření nejdůležitějších druhů obilnin

Obilniny jsou důležitým zdrojem potravy pro lidstvo. Jsou základem pro vznik mnoha výrobků, které se využívají zejména v potravinářství, včetně pivovarnictví. Ve světě je mnoho druhů kulturních rostlin, ale v dnešní době se jich využívá jen zlomek. Menší variabilita je dána zranitelností rostlin neboli jejich citlivostí na stresové faktory (Barkla, 2016).

Pšenice setá, *Triticum aestivum* L., je dominantní plodinou v zemích mírného pásma. Využívá se především k výživě lidí a ke krmení hospodářských zvířat. Úspěšnost pšenice závisí částečně na její přizpůsobivosti a na vysokém výnosovém potenciálu. Obsahuje gluten, jehož jednotlivé složky umožňují zpracování těsta na chléb, těstoviny, pečivo a jiné potravinářské výrobky. Pšenice slouží i jako zdroj esenciálních aminokyselin, minerálů, vitamínů a vlákniny. Ovšem výrobky z pšenice mohou také způsobovat onemocnění, například celiakii a alergie (Shewry, 2009). Současné výzkumy se zaměřují na udržení stálé produkce pšenice, na její kvalitu, ale také na šlechtění genetických linií s vylepšenými kvalitami, které by kromě využití pro lidskou výživu měly sloužit i jako základ biopaliv (Ruggiero et al., 2017)*. Pšenice je nejvíce rozšířená v mírném pásmu, což značí, že je adaptována na nižší teploty. Avšak existují její odrůdy, které jsou schopny přežít a růst i ve vyšších teplotách. Hlavními producenty pšenice jsou Čína, Indie, Evropa, Rusko a severní Amerika (Asseng et al., 2015). Navzdory celosvětově obdělávané oblasti je úroveň produkce pšenice výrazně nižší než u kukuřice a rýže (FAO, 2020).

Žito seté neboli *Secale cereale* L., je obilnina pěstovaná převážně v Evropě. Okolo 75 % celosvětové produkce je v Rusku, Bělorusku, Polsku, Německu a na Ukrajině. Žito má ze všech obilnin nejlepší schopnost přezimování a nejvyšší toleranci k suchu a zasolení. Používá se při výrobě chleba, krmení hospodářských zvířat, a také k plnění rostoucích požadavků na výrobu ethanolu a biometanu jako obnovitelného zdroje energie. Žito má svůj původ na Blízkém východě, kde se pěstovalo jako sekundární plodina. Dnešní pěstované žito má největší diverzitu v krajinách a populacích střední a východní Evropy (Carena M. J., 2009).

Ječmen setý, *Hordeum vulgare* L., je čtvrtou nejdůležitější obilninou na světě, a to po kukuřici, pšenici a rýži. Patří mezi nejrozšířenější plodiny. Pěstuje se od rovníkových oblastí až po Skandinávii, přes vlhké oblasti Evropy a Japonska na Saharu, a v oblastech s nízkou nadmořskou výškou, jako je Palestina, ale i ve vysokých horách, v Himalájích. Ječmen byl jednou z hlavních kulturních plodin, která se začala pěstovat kvůli obživě před 10.000 lety

v Eurasii. Hlavními producenty jsou dnes Rusko, Německo, Kanada a Francie (Zohary & Hopf, 2000). V našich zeměpisných šířkách se ječmen používá nejen ke krmení hospodářských zvířat, ale i k výrobě sladu, který je hlavní ingrediencí v pivovarnictví. Mladý zelený ječmen je dnes bohatě využívaným doplňkem zdravé stravy, díky vysokému obsahu vápníku, železa, bílkovin, vitamínů a minerálů. Celkově je ječmen bohatý na sacharidy a vitamíny skupiny B a E (Shewry & Ullrich, 2014).

Oves setý neboli *Avena sativa* L. patří k rodině *Poaceae*, a je nejdůležitějším z pěstovaných druhů ovsa. Od ostatních obilnin se liší svými multifunkčními vlastnostmi a nutričním profilem. Nedávné výzkumy výživnosti odhalily význam různých složek obsažených v ovsu. Je to významný zdroj vlákniny, především β -glukanu, minerálů a dalších živin. U ovsa, a výrobků z něj, bylo prokázáno, že napomáhají v léčbě diabetu a kardiovaskulárních poruch. Zejména ovesné otruby jsou dobrým zdrojem vitamínů B-komplexu, bílkovin, tuků a minerálů. β -glukan má skvělé funkční vlastnosti a je důležitou složkou ve výživě člověka. Začlenění ovesných vloček a otrub do stravy neslouží jen k získání výživových složek, ale také jako terapie proti různým nemocem (Butt et al., 2008). Hlavními producenty ovsa jsou stejně jako u ječmene Rusko, Německo, Kanada a Francie (Zohary & Hopf, 2000).

Kukuřice setá, *Zea mays* L., je jednoletá plodina, která pochází ze západní polokoule. Původ kukuřice je v Americe a dodnes je pro místní obyvatele, kteří ji začali pěstovat, jednou z hlavních složek potravy. Stejně jako pšenice a žito se i kukuřice řadí mezi lipnicovité. Na naše území byla kukuřice rozšířena ze Střední Ameriky. Kukuřice je plodina, která snese i vyšší teploty a je vůči nim odolná. Hlavním producentem, z historického hlediska, je Amerika, především Spojené státy Americké, dále Čína a Brazílie. Kukuřice je velmi podstatnou složkou lidské stravy. V současnosti je závislá zejména na péči člověka. Tato plodina má mnoho využití v potravinářském, ale i chemickém a papírenském průmyslu (Wayne Smith C., 2004).

Rýže setá, *Oryza sativa* L., je plodina, která je hojně pěstována v asijských zemích, především ve vlhkých oblastech. Je to jednoletá bylina, stejně jako kukuřice. Rýže se řadí mezi nejdůležitější obiloviny světa. Jako hlavní příjem potravy ji má asi 1/4 obyvatelstva celého světa. Rýže se také dále zkvašuje, a mohou se z ní vyrábět alkoholické nápoje. Z rýžové slámy se dá vyrábět i cigaretový papír. Rýže neobsahuje lepek a tím pádem je vhodná pro lidi, kteří mají celiakii. Obilky rýže se melou a využívají se jako rýžová mouka do pokrmů. Rýžové otruby se používají ke snížení rizika rakoviny tlustého střeva. Rýže je důležitá pro svůj obsah sacharidů,

bílkovin, vlákniny a vitamínů B₁, B₂ a B₃ (Renuka et al., 2016). Od ostatních již zmíněných obilnin se odlišuje, a to především kvůli potřebě dostatečného zavodnění. Kromě dostatečné míry vláhy potřebuje rýže i vyšší teploty, proto se pěstuje převážně v tropických oblastech. Hlavními producenty rýže jsou především Čína, Indie a Indonésie (Scarcelli et al., 2019).

Proso seté, *Panicum miliaceum* L., se široce pěstuje jako potravinářská plodina převážně v Africe a na Indickém subkontinentu. Na jiných kontinentech se v intenzivním zemědělství objevuje poměrně málo. Proso má mnoho výhod, díky nimž se stalo tradičním druhem obilnin. Slouží k obživě hlavně v zemích s nízkou produkcí zemědělství v teplých semiaridních oblastech, jako jsou Západoafrický Sahel a Rajasthan v severozápadní Indii. Výhody této obilniny jsou především v odolnosti vůči suchu a vůči kyselým písčitém půdám s velmi nízkým obsahem jílu a organických látek. Proso má schopnost rychlého růstu v reakci na krátké období příznivých podmínek. V ideálních podmínkách má jednu z nejvyšších mír růstu všech obilovin (Lu et al., 2009).

1.1. Ideální teploty pro růst a vývoj obilnin

Každá z vybraných druhů obilnin má optimální rozmezí teplot pro růst a vývoj. V tabulce 1 je přehled jednotlivých obilnin a rozmezí minimálních, optimálních a maximálních teplot, při kterých jsou schopny růst a vyvíjet se bez radikálních změn.

Tabulka 1: Rozmezí teplot pro ideální růst a výnos vybraných plodin. Rozdělení C3 a C4 plodin. Převzato a upraveno (Daničić et al., 2019; Rai et al., 2014)*.

Obilnina	Rozdělení C3, C4 plodiny	Minimální teplota (°C)	Optimální teplota (°C)	Maximální teplota (°C)
<i>Avena sativa</i>	C3	4-5	25	30
<i>Zea mays</i>	C4	8-10	32-35	40-44
<i>Panicum miliaceum</i>	C4	8-10	30-32	40
<i>Triticum aestivum</i>	C3	3-5	15-20	30
<i>Hordeum vulgare</i>	C3	5-6	15-20	25-30
<i>Secale cereale</i>	C3	1-4	13-15	20-25
<i>Oryza sativa</i>	C3	10-12	30-32	36-38

Většina plodin, které využíváme k jídlu, má C3 metabolismus. Ačkoliv jsou C3 rostliny nejběžnější, jejich metabolismus je neefektivní. Rubisco reaguje nejen s CO₂, ale i s O₂, což vede k fotorespiraci. Fotorespirace je proces, při kterém dochází k příjmu O₂ a k produkci CO₂. U plodin vystavených stresu (např. při působení vysokých teplot, nadměrného ozáření a sucha) dochází ke zvýšené míře fotorespirace. V současných atmosférických podmínkách je fotosyntéza v C3 rostlinách potlačena kyslíkem až o 40 %. C4 metabolismus je pouze u 3 % rostlin rostoucích v tropech a subtropích (Hirst, 2020). U C4 rostlin byl vyvinut mechanismus, při kterém se CO₂ koncentruje okolo enzymu Rubisco, čímž eliminuje oxygenázovou aktivitu Rubisca a snižuje plýtvání energie v důsledku fotorespirace (Douce & Heldt, 2000).

1.2. Citlivé a rezistentní druhy obilnin vůči tepelným stresům

U vybraných obilnin záleží na tom, jestli jsou dané kultivary a odrůdy citlivé k tepelnému stresu nebo jsou vůči němu odolné (viz Tabulka 2). U druhů, které jsou rezistentní, se působení vysokých či nízkých teplot bude projevovat minimálně. Druhy obilnin, které jsou citlivé ke zvyšování či snižování teploty, budou reagovat jinak, a projeví se u nich morfologické, fyziologické a biochemické změny. U pšenice záleží na odrůdě, jelikož existují i takové, které jsou na vyšší teploty adaptovány, avšak pšenice rostoucí v mírném pásmu je citlivější k vyšším teplotám. Žito a oves jsou druhy obilnin, které jsou adaptovány na nižší teploty, z čehož vyplývá, že jsou citlivé vůči vysokým teplotám. Kukuřice a rýže jsou adaptovány na vysoké teploty, což znamená, že jsou citlivější vůči nízkým teplotám. Proso je citlivé na zvyšování i snižování teplot. Poslední obilninou je ječmen, který je adaptován na nízké i vysoké teploty. Druhy obilnin, které jsou rezistentní vůči nízkým teplotám, často obsahují aktivní anti-freeze proteiny.

Tabulka 2: Citlivost/rezistence vybraných obilnin.

	Citlivé	Rezistentní
Nízké teploty	Rýže, kukuřice, proso	Pšenice, žito, ječmen, oves
Vysoké teploty	Pšenice, proso, žito, oves	Ječmen, kukuřice, rýže, kultivary pšenice

2. Nízká teplota

Nízká teplota je jedním z abiotických faktorů, které omezují růst, produktivitu a geografickou distribuci zemědělských plodin. Každoročně dochází ke snížení kvality a kvantity výnosu, kvůli náhlým mrazům na podzim, neobvykle nízkým teplotám v zimě či kvůli jarním

mrazíkům. Mnoho plodin zvýšilo svoji toleranci k nízkým teplotám – tzv. chladová aklimace. Chladová aklimace je proces, který umožňuje plodinám vyvinout nezbytnou toleranci prostřednictvím biochemických a buněčných změn. Tyto změny jsou způsobeny především přeprogramováním buněčné exprese. Aklimace způsobuje zvýšení FT (freezing tolerance) a změny exprese zahrnující dráhy genové signalizace (Heidarvand & Maali Amiri, 2010).

2.1. Změny vyvolané působením nízkých teplot

Teploty pohybující se nad bodem mrazu vyvolávají fyziologické změny obilnin. Tomuto jevu se říká poškození chladem. Při poškození chladem se nevytváří led v buňkách, nedochází tedy k zamrznutí. Hlavním účinkem nízkých teplot na rostlinu je inaktivace enzymů, které se nacházejí v tylakoidní membráně, narušení tvorby membránových lipidů a zpomalení intenzity dýchání. Dále se působení nízkých teplot projevuje zpomalením fotosyntézy a zvýšením rostlinné respirace, dochází ke změnám vodního režimu a zastavuje se růst (Yadav, 2010)*.

Když teploty klesnou k bodu mrazu, dochází k tvorbě ledu v buňkách a následnému poškození buněk, což vede k poškození celé rostliny. Dále se mění chemické vlastnosti buněčných membrán, dochází k narušení metabolických procesů a ke vzniku toxinů. Pokud se led tvoří mimo buňku, tak dochází k dehydrataci buněk kvůli sníženému vodnímu potenciálu apoplastu. Náhlé a skokové poklesy teplot ovlivňují i rostliny, které jsou na nízké teploty adaptovány nebo k nim nejsou tolik citlivé. K poškození nízkými teplotami jsou více náchylnější generativní orgány rostlin. Pokud jsou rostliny vystavené dlouhodobému působení nízkých teplot, tak mohou zvýšit svou toleranci k chladu a mrazu. Odolnost rostlin vůči mrazu se nazývá mrazuvzdornost. Teplotní aklimace je výsledkem komplexního procesu, který zahrnuje řadu fyziologických a biochemických změn (Sanghera et al., 2011)*.

Nízké teploty mohou být pro obilniny nebezpečné ve všech fázích vývoje. Pro rostlinnou reprodukci může být fatální i jeden horký den či chladná noc v krátkém období během oplodnění. V zemědělské produkci je tedy nutné vědět, které fáze reprodukce a vývoje obilnin jsou náchylné k působení nízkých teplot. Na molekulární úrovni jsou obilniny schopné reagovat změnou transkripce, která byla pozorována v sazenicích, listech, pylu i v kořenech. Změna transkripce pomáhá přeprogramovat buněčné procesy tak, aby se obilniny přizpůsobily chladnému stavu (Fowler & Thomashow, 2002; Larkindale & Vierling, 2008). Změny teplot mění fluiditu membrány, nukleové kyseliny, proteiny, koncentrace metabolitů i osmolytů (Chinnusamy et al., 2007*; Wang et al., 2003)*. Stres způsobený nízkými teplotami zahrnuje

regulaci transkripčních faktorů, které jsou specifické pro chlad, včetně CBF/DREB1. Tyto transkripční faktory podporují expresi LEA/COR genů. Uvažuje se o tom, že některé z těchto genů kódují proteiny, které zvyšují toleranci vůči mrazu. Tolerance by měla být zvýšena především stabilizací membrány či zvýšením hladiny ochranných osmolytů (Thomashow, 1999)*. Zmrazení vyvolává v rostlině dehydrataci, která vede k poškození buněk, k denaturaci proteinů a k agregaci některých molekul. Hromadění ledu v mezibuněčném prostoru může u plodin vést k narušení buněk a pletiv.



Obrázek 1: Vliv nízkých teplot na morfologii klasů *Triticum aestivum*. Pšeničné odrůdy Yangmai 18 – citlivá na chlad a odrůda Yannong 19 – odolnější vůči chladu, byly vystaveny na 24 hodin teplotám 0, 2 a -2 °C a poté byla provedena morfologická kontrola. (Zhang et al., 2019).

Působení nízké teploty má mnohonásobný účinek na klásky a kvítky pšenice (viz Obrázek 1). Bazální klásky, po vystavení nízkým teplotám, nebyly plně dovyvinuty, na rozdíl od kontrolních. Osiny kontrolní pšenice byly vzpřímené a pevné, zatímco osiny u pšenice vystavené nízkým teplotám byly nerovnoměrné a zdeformované. Nejmenší klásky byly pozorovány u rostlin vystavených -2 °C. Tento výzkum potvrdil, že působení nízkých teplot brání rozvoji pšeničných klásků (Zhang et al., 2019).

2.1.1. Vegetativní fáze

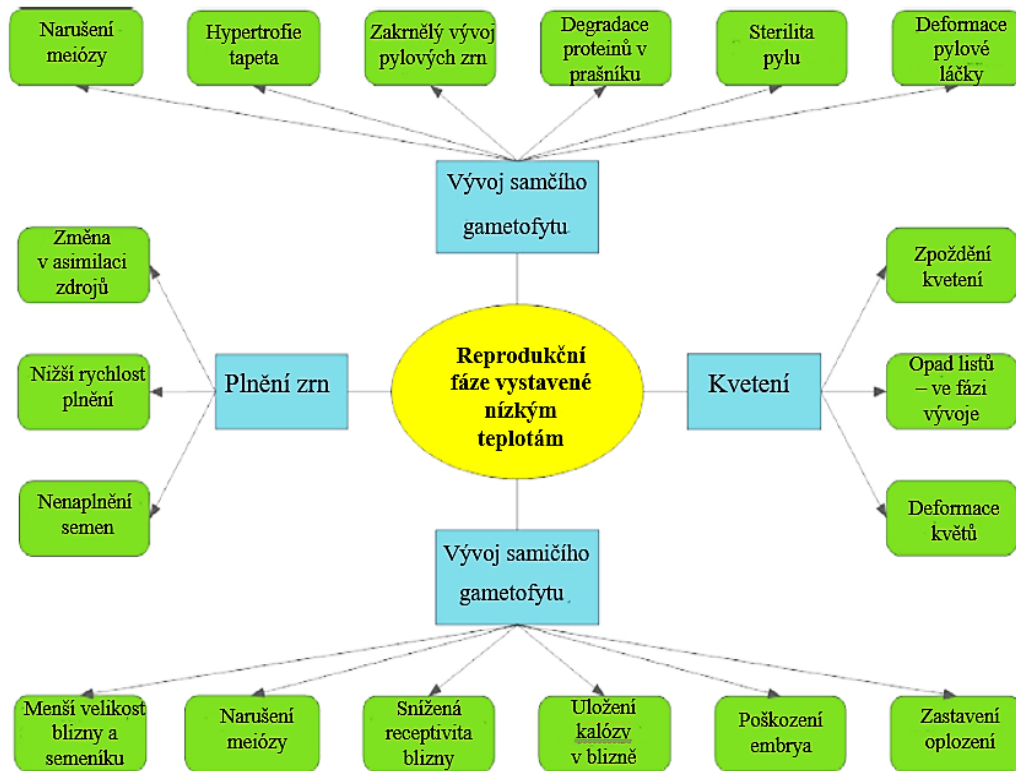
Působení nízkých teplot způsobuje změny i ve vegetativní fázi vývoje obilnin. U rýže může vystavení nízkým teplotám způsobit degeneraci a sterilitu klásků (Terres, 1991).

U kukuřice bylo zjištěno, že růst listů byl inhibován nízkými nočními teplotami, v důsledku prodloužení buněčných cyklů meristemických buněk. Dále bylo u kukuřice dokázáno, že expozice nízkým teplotám snižuje rychlost buněčného dělení a expanzi, což má za následek snížení listové plochy až o 20 % (Rymen et al., 2007). Dlouhodobé vystavení kukuřice nízkým teplotám vede ke snížení výšky rostlin, zežloutnutí listů a chloróze, a k odumření tkáně ve špičkách listů (D'souza et al., 2009). U kukuřice se působení chladu, před či během fáze kvetení, projevilo inhibicí meristému květenství a poklesem počtu klásků (Bechoux et al., 2000).

Teploty, které jsou hluboko pod optimem pro růst, mohou stimulovat předčasné kvetení, kvůli efektu vernalizace na aktivně se dělících buňkách (Wellensiek, 1964). Vernalizace je velmi důležitý fenologický regulátor u plodin vystavených nízkým teplotám, protože přechod z relativně chladu tolerantního vegetativního období do citlivé reprodukční fáze je zpožděn, až do té doby, než začne být teplota příznivější. U ječmene a pšenice byly nalezeny tři vernalizační geny – VRN1, VRN2 a VRN3 (Kosová et al., 2008a)*. Gen VRN1 je dominantní pro iniciaci růstu na jaře a je to hlavní iniciační faktor, který spouští regulační kaskádu kvetení (Distelfeld et al., 2009). Zatímco gen VRN2 je dominantní pro růst v zimě (Trevaskis et al., 2007)*. Posledním genem je VRN3, který kóduje RAF-kinázový inhibitor-like protein a usuzuje se, že je to integrátor fotoperiodického a vernalizačního signálu (Distelfeld et al., 2009).

Pro přechod ozimých obilnin z vegetativního do generativního stádia je nutné uspokojit jejich vernalizační požadavek (Kosová et al., 2008a)*. Vernalizační požadavek může být buď obligatorní, což znamená, že reprodukční fáze nebude zahájena bez procesu vernalizace, nebo fakultativní (tzv. přesívky), při kterém je kvetení urychleno či zintenzivněno po vernalizaci. Ozimé obilniny (pšenice, žito ječmen) vyžadují uspokojení vernalizačního požadavku pro další vývoj – tj. pro přechod do generativní fáze vývoje (Kosová et al., 2008a*; Sasani et al., 2009). Obilniny musí vyhodnotit řadu vnějších i vnitřních signálů (např. stáří rostliny). Každý z těchto signálů ovlivňuje kvetení v závislosti na podmínkách prostředí a na životní strategii rostliny. Faktory ovlivňující vernalizaci můžeme rozdělit na primární – délka dne, působení chladu a sekundární – okolní teplota, intenzita slunečního záření. Sekundární faktory pouze modifikují vliv primárních (Bernier & Périlleux, 2005)*. Rýže, pěstovaná převážně v tropických oblastech, je plodina krátkého dne a bez vernalizačního požadavku. Stejně tak je vernalizační požadavek eliminován i u jarní pšenice (Cockram et al., 2007).

2.1.2. Reprodukční fáze



Obrázek 2: Vývojový diagram ukazující účinky stresu z působení chladu během reprodukční fáze. Převzato a upraveno (Thakur et al., 2010)*.

Působení chladu narušuje transport elektronů v tylakoidech, snižuje činnost Rubisca a vyvolává stomatální uzavření, což znamená, že dochází k nižšímu příjmu CO₂. Snižování rychlosti a účinnosti fotosyntézy má v konečném důsledku vliv na snížení zdrojů dostupných pro reprodukci (Allen & Ort, 2001)*. Nízká teplota ovlivňuje především výnos pšenice, vývoj klásků a růst stonku. Chlad má vliv na sterilitu pylu, která je způsobena narušením metabolismu cukrů v tapetu. V konečném důsledku zabraňuje hromadění škrobu, který slouží jako energetická rezerva v pylových zrnech (Oliver et al., 2005). Výzkumy nasvědčují tomu, že narušení transportu cukrů v prašníku a pylová sterilita, jsou signalizovány ABA (kys. abscisovou) – a jí indukovanou expresí invertázy buněčných stěn a monosacharidových transportérů (Oliver et al., 2007).

Nízké teploty mohou narušit pylovou mitózu I a II, přičemž dochází k zabránění zrání rýžových mikrospor v trojbuněčný pyl (Satake & Hayase, 1970). Pokud na rýži během reprodukční fáze působí nízké teploty, dochází u ní ke sterilitě klásků (Gunawardena et al.,

2003). Mírné snížení teploty u rýže (teplota kolem 12 °C) ve fázi mladých mikrospor zvyšuje a indukuje částečnou degradaci proteinů v prašnicích (Imin et al., 2004; Oliver et al., 2005).

Fáze rozkvětu je fáze, během které dochází k pukání prašníků a k otevírání květů. U rýže je časná fáze rozkvětu (<3 dny) relativně tolerantní k chladu, zatímco po 5 dnech působení nízkých teplot dochází ke snížení plodnosti klásků (Cruz et al., 2006), pravděpodobně jako důsledek sterility celé plodiny. Podobně jako u rýže, během fáze rozkvětu, může mráz u pšenice také způsobit sterilitu.

Během reprodukčního vývoje mají nepříznivé podmínky prostředí velký vliv na kvalitu a kvantitu semen (Yang et al., 2001). Plnění semen je určováno vztahem source-sink. Snížení zásobování zdrojem může souviset s fotosyntézou. V obilninách hraje fotosyntéza během plnění zrn hlavní roli v jejich vývoji (Murchie, 2002). Nízká teplota snižuje intenzitu fotosyntézy a rychlost asimilace uhlíku. Také ovlivňuje maximální účinnost PSII (Ying et al., 2002).

Zhang a kol. v roce 2019 provedli výzkum vlivu nízkých teplot na vývoj květů na ozimé pšenici (viz Obrázek 2). Po vystavení rostlinek pšenice 4 °C po dobu 60 hodin byl první květ méně zasažen než druhý a třetí v odrůdě Yangmai 18, zatímco v odrůdě Yannong 19 byl nejvíce zasažen až třetí květ. Kromě těchto změn byl vývoj květů v obou odrůdách výrazně opožděný ve srovnání s kontrolními rostlinkami. Vystavení pšenice 2 °C po dobu 24 hodin mělo menší účinky na první květ, zatímco po ošetření pšenice 0 °C byl pozorován pokles v objemu květu a vývoj květu byl pomalejší ve srovnání s kontrolními rostlinkami. U rostlinek, které byly vystavené teplotě -2 °C po dobu 24 hodin, byl vývoj květu pomalejší a květ měl světlejší barvu ve srovnání s kontrolami. Tato zjištění naznačují, že stres způsobený nízkou teplotou inhiboval vývoj květu u ozimé pšenice (Zhang et al., 2019).



Obrázek 3: Vliv nízkých teplot na morfologii pšeničných květů (zvětšení 4x). Pšeničné rostliny byly umístěny pod 4 ° C po dobu 60 hodin. Rostliny pšenice byly umístěny na 24 hodin do 2, 0 nebo -2 ° C. (A) Kvítky prostředních klásků. (B) První kvítky prostředních klásků (Zhang et al., 2019).

2.1.3. Změny plazmatické membrány

Existuje více studií, které potvrzují, že plazmatická membrána je primárním místem, kde vzniká poškození nízkými teplotami. Poškození membrány může být způsobeno dehydratací, která nastává v cyklu zmrazení – tání (Uemura et al., 2006; Webb & Steponkus, 1993). K adaptaci na změny teplot používají obilniny faktory, kterými dokážou ovlivňovat fyzický stav – fluiditu (tekutost) - membrány. K tomu slouží změny hlavních skupin lipidů, zkracování či prodlužování řetězců mastných kyselin, izomerace mastných kyselin, změny v poměru cis-trans mastných kyselin (Uemura et al., 2006), a zvýšení obsahu nenasycených mastných kyselin (Browse & Somerville, 1991)*. V reakci na působení nízkých teplot dochází ke zvýšení hladin dvou hlavních fosfolipidových skupin – fosfatidylcholinu a fosfatidylethanolaminu, které se nachází v plazmatické membráně. Při působení nízkých teplot dochází k uspořádání molekul a ke snížení jejich pohyblivosti. Následně dochází k přechodu lipidové dvojvrstvy, která tvoří plazmatickou membránu, ze stavu fluidního do stavu zatuhlého (Uemura et al., 2006). Kromě změn v složení lipidů, dochází v plazmatické membráně také ke změnám hladin sacharózy a

jiných jednoduchých cukrů (Yano et al., 2005), a dále dochází k akumulaci dehydrinů (Uemura et al., 2006).

2.1.3 Stresové látky, proteiny a geny ovlivňující odolnost

Stresem, který vyvolává nízká teplota či zasolení, byl indukován gen *OsRLK1*, kódující receptorové proteinkinázy bohaté na leucin (Lee et al., 2004). Geny, které reagují na chlad, kódují velké množství proteinů, jako jsou enzymy podílející se na dýchání, metabolismu sacharidů, lipidů, antioxidantů a anti-freeze proteinů. Na základě odlišné citlivosti dvou kultivarů ječmene, které nejsou mrazuvzdorné, bylo dokázáno, že geny s vyšší diferenciální expresí v tolerantních odrůdách by mohly být přímo zapojeny do neaklimatizované FT nebo by mohly sloužit jako biomarkery různých reakcí na mráz (Koo et al., 2008). Proti poškození chladem je účinným ochranným fytohormonem kyselina abscisová, zejména kvůli snížení vodivosti listů a úpravě vodního režimu (Dar et al., 2017).

Při působení chladu se zvyšují hladiny regulačních proteinů, které zahrnují i lektiny. Lektiny jsou glykoproteiny, které se účastní signalizace sacharidů. U pšenice a ječmene se zvyšuje při působení chladu a sucha hladina proteinu, který se nazývá ricin B lektin 2 (Kosová et al., 2013a). Dalším lektinem, který hraje důležitou roli v sacharidové signalizaci je VER2 (Bertini et al., 2009). V ozimé pšenici došlo ke zvýšení exprese VER2 působením chladu před vernalizací (Rinalducci et al., 2011). Bylo prokázáno, že VER2 může být v pšenici indukován vernalizací či JA (jasmonáty) (Yong et al., 2003).

Dehydriny jsou vysoce hydrofilní LEA (late embryogenesis abundant) proteiny, které se dokážou hromadit ve zralých semenech i celých rostlinách při působení různých abiotických stresů, např. sucha, zasolení, nízkých teplot nebo při poškození či zranění rostliny. Důležitou součástí procesu rostlinného přizpůsobení na chlad jsou hydrofilní chladem regulované proteiny COR/LEA, které se mohou akumulovat v celé rostlině (Thomashow, 1999)*. Všechny dehydriny obsahují alespoň jednu sekvenci bohatou na lysin neboli K-segment, kromě toho mohou některé dehydriny obsahovat i sekvence bohaté na tyrosin nebo serin. Podle přítomnosti motivů mohou být dehydriny děleny do 5 strukturálních podskupin – Kn, SKn, YxSKn, YxKn a KnS (Close, 1997). U pšenice se nacházejí dehydriny, které patří do proteinové rodiny WCS120, zatímco u ječmene je hlavním dehydrinem DHN5 (van Zee et al., 1995). V ječmeni bylo popsáno 13 dehydrinových genů – DHN 1 až 13. V ozimém ječmeni a v ječmeni s fakultativním vernalizačním požadavkem (přesívkou) se zvyšovala akumulace DHN5,

zatímco u jarních kultivarů se akumulace DHN5 snižovala (Kosová et al., 2008b). Pomocí stanovení akumulace dehydrinů v pletivech, při působení nízkých teplot, je možné určit různě odolné odrůdy obilnin – pšenice nebo ječmene, a to dokonce i v polních podmínkách (Kosová et al., 2013b; Vítámvás et al., 2019). Dehydriny se tedy jeví jako vhodný marker mrazuvzdornosti u obilnin (Vítámvás et al., 2010). U několika druhů obilnin bylo prokázáno, že dehydriny mají kryoprotektivní účinek *in vitro*, a *in vivo* nemrznoucí aktivitu. Jejich další možnou funkcí je osmoregulace nebo antioxidantace (Hara et al., 2005; Houde et al., 1995).

Kromě dehydrinů se projevuje silná, chladem-indukovaná exprese genu *Cor14b*, který se nachází v chloroplastech pšenice a patří do rodiny genů LEA-III. Exprese genu *Cor14b* u ječmene byla detekována nejen při vystavení nízkým teplotám (4 °C), ale i při vyšších teplotách. Následně byla zjištěna exprese tohoto genu i u pšenice, která byla pěstována v různých teplotních podmínkách (Crosatti et al., 1995, 2008). Exprese COR genů je regulována cestou ABA-dependentní i ABA-independentní (Chinnusamy, 2003; Knight et al., 2004).

V obilninách, které jsou rezistentní vůči nízkým teplotám, jsou aktivní tzv. antifreeze proteiny (AFP). Mezi vlastnosti těchto proteinů patří schopnost interakce přímo s ledem. AFP jsou absorbovány povrchem ledových krystalků, inhibují vazbu dalších molekul vody do krystalové mřížky a zabraňují růstu malých krystalků v jeden velký. Během tání mohou tyto proteiny inhibovat rekrystalizaci a tvorbu větších krystalů. Ve zmrazených rostlinných pletivech je větší riziko poškození, pokud se v ní nachází velké krystaly (Griffith et al., 1997). AFP proteiny mají ve skutečnosti dvojí funkci: chrání rostliny před rekrystalizací ledu a také před napadením patogeny v zimním období (Hon et al., 1995). Mezi antifreeze proteiny patří i TaIRI (ice recrystallization inhibition) proteiny, které se nacházejí u pšenice a mají zvláštní strukturu. Struktura těchto proteinů se skládá z proteinkináz podobných receptorům s receptorovou doménou s repeticí bohatou na leucin na N-konci a z inhibiční domény rekrystalizace ledu na C-konci (Ouellet, 2007). Během výzkumů bylo zjištěno, že na regulaci antifreeze aktivity se mimo jiné podílí i fytohormony – ethylen, kyselina salicylová a ABA (Taşgın et al., 2003).

Působení nízkých teplot má vliv i na akumulaci nízkomolekulárních látek, mezi které patří prolin a glycin. Tyto látky jsou také řazeny mezi ochranné látky, které pomáhají rostlině zvyšovat toleranci k určitým vlivům prostředí. U pšenice se po vystavení nízkým teplotám zvýšil obsah prolinu v listech. Prolin je účinným kryoprotektantem a jeho akumulace je spojena

s tolerancí k teplotnímu stresu. Generativní orgány rostlin obsahují výrazně nižší koncentrace prolinu než vegetativní orgány. Hladina prolinu se během chladové aklimace na začátku vegetativní fáze zvýšila, což značí, že je prolin spojen s mrazuvzdorností několika druhů obilnin (Habibi, 2011).

Osmotický stres, vysoké teploty a nízké teploty indukují expresi heat shock proteins (HSP). Po vystavení nízkým teplotám se u obilnin zvýšila hladina některých HSP, zejména HSP70, HSP90 a smHSP (Renaut et al., 2006)*. HSP mají při působení nízkých teplot silný kryoprotektivní účinek a dále se účastní ochrany membrány tím, že mají vliv na opětovné sbalení denaturovaných proteinů (Timperio et al., 2008)*. Malé HSP samy o sobě nejsou schopny opětovně sbalit denaturované proteiny, ale usnadňují sbalení, které provádí HSP70 a HSP 100 (Sun et al., 2002)*.

3 Vysoká teplota

Globální oteplování Země vede k celkovému zvýšení teploty, což může představovat vážné ohrožení některých druhů rostlin. Teploty, které překračují teplotní optimum, jsou považovány za abiotický stresový faktor. Fotosyntéza je jedním z metabolických procesů, který je vysoce citlivý na stres způsobený vysokými teplotami. Při dlouhodobém vystavení obilnin vysokým teplotám dochází k časné inhibici fotosyntézy. Místem, které je jako první ovlivněno vysokými teplotami, je fotosystém II, především ribulóza-1,5bisfosfátkarboxyláza /oxygenáza (Rubisco), ale ovlivněny mohou být i další enzymy. Fotosystém I je na rozdíl od fotosystému II stabilní i při vysokých teplotách. Produkce HSP (heat-shock proteins), ROS (reactive oxygen species) nebo sekundárních metabolitů patří mezi hlavní důsledky působení vysokých teplot. Vysoké teploty ovlivňují především výnos kulturních plodin. Tepelný stres narušuje buněčnou homeostázi, a může vést ke zpomalení růstu a vývoje, u některých rostlin v extrémních podmínkách může končit smrtí. Ve světě je nutné zvýšit produkci a výnos kulturních plodin převážně kvůli nárůstu počtu obyvatel. Ke zvýšení výnosu plodin bude docházet, pokud fotosyntéza nebude ovlivňována, zpomalována či dokonce inhibována vysokými teplotami či jiným abiotickým stresem (Allakhverdiev et al., 2008)*.

Zvýšení teploty je vždy spojeno i se zvýšením intenzity světelného záření. V přirozených podmínkách je velmi těžké odlišit účinky těchto dvou faktorů. Molekulární mechanismus fotoinhibice byl prozkoumán a popsán teprve nedávno (Tikkanen et al., 2012). Často dochází ke kombinacím stresorů, které na rostlinu mohou působit. Kombinace abiotických faktorů je

společná pro mnoho zemědělských oblastí a je hlavní příčinou nízké produktivity a úrodnosti. Některé současné modely predikce klimatu ukazují, že by se teplota mohla postupně navyšovat, což by mohlo mít za následek zvýšení frekvence a intenzity působení tepla na rostliny (Asseng et al., 2015). Vysoké teploty navíc mohou být doprovázeny i jinými abiotickými faktory, jako jsou dlouhodobá sucha, která by mohla ovlivnit celosvětově kvalitu a výnos plodin. Proto je urgentní potřebou šlechtit rostliny se zvýšenou tolerancí ke kombinaci různých abiotických faktorů (Ahuja et al., 2010).

3.1 Změny vyvolané působením vysokých teplot

U citlivých kultivarů a odrůd rýže může mít vysoká teplota vliv na snížení míry plodnosti pylu a dochází tak ke snížení celkového výnosu plodin. Vysoká teplota je jednou z hlavních příčin sterility u kulturních plodin (Wopereis et al., 1996). Působení vysokých teplot na proso vedlo ke zvýšení hladiny iontů dusíku, fosforu a draslíku, naopak hladiny iontů vápníku, hořčíku, sodíku a síry nebyly ovlivněny (Dionisio-Sese Maribel & Tobita, 1998). Stres způsobený vysokou teplotou vyvolává expresi transkripčních faktorů HSF (heat-shock transcription factor), které následně spouští expresi dalších transkriptů, které souvisejí se stresem (Baniwal et al., 2004). Jedna z důležitých skupin genů kóduje HSP, které jsou důležité ke stabilizaci proteinů (Wang et al., 2004).

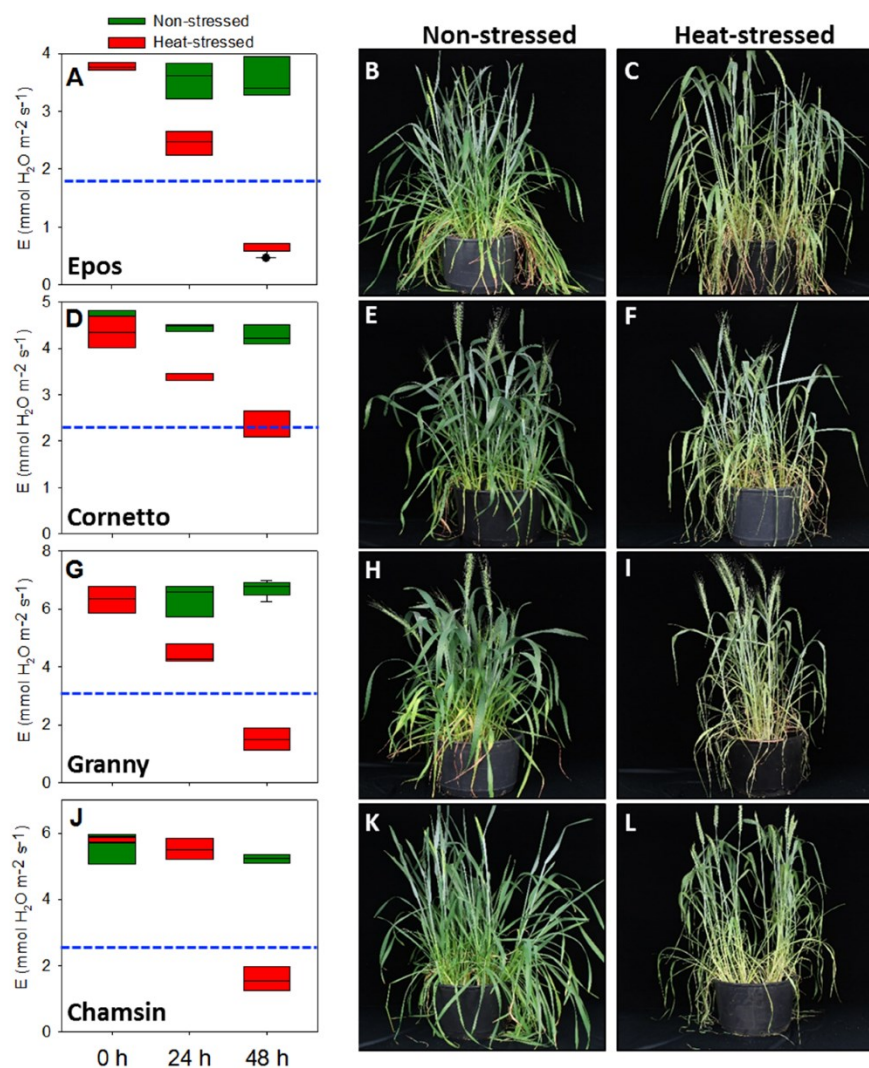
3.1.1 Vegetativní fáze

Nejvíce pozorovaným účinkem vysokých teplot, je zpomalení růstu. Je to dáno hlavně tím, že tepelný stres se často vyskytuje současně se suchem. Kombinace těchto dvou stresových faktorů má nepříznivý vliv na růst a produktivitu obilnin (Prasad et al., 2015). Tepelný stres výrazně ovlivňuje dělení a prodlužování buněk obilnin, které mají vliv na velikost listů. Vystavení rostlin dlouhodobému tepelnému stresu vede ke snížení rychlosti růstu stonku a k celkovému snížení výšky rostliny. Výška pšenice se při optimálních podmínkách pohybuje v rozmezí 66,4 – 97,3 cm, působením tepelného stresu se její výška snížila na 55,7 – 82,3 cm (Rahman et al., 2004). U citlivých kultivarů rýže se působení vysokých teplot projevilo poškozením struktur buněčných organel – cévních svazků, mezofylových buněk a buněk průduchů (Zhang et al., 2011).

Obecně se stabilita všech procesů v rostlinách pohybuje od několika stupňů nad nulou do přibližně 35 °C. S rostoucí teplotou se do jisté míry zvyšuje rychlost růstu, intenzita fotosyntézy a dýchání, a dochází k zvýšení enzymatické aktivity. Po dosažení optimální teploty mají tyto

parametry tendenci se snižovat. Intenzita a rychlost respirace se zvyšuje postupně s rostoucí teplotou, avšak po dosažení optima začne drasticky klesat. Fotosyntéza je ve srovnání s respirací méně citlivá na působení vysokých teplot, ale křivka intenzity je shodná (Ahmad & Prasad, 2012a, 2012b). Při teplotě nad 35 °C dochází u rýže ke snížení asimilace oxidu uhličitého. Se zvyšující se teplotou se zvyšuje rychlost xantofylového cyklu, který hraje důležitou roli při ochraně PS II před fotoinhibicí (Yin et al., 2010). Růst rostlin je řízen mnoha různými procesy, avšak fotosyntéza je nejdůležitějším jevem, který přispívá k výnosu plodin. Poškození některé dráhy fotosyntézy vede k celkové inhibici fotosyntetického aparátu rostliny. Můžeme sledovat i posun optimální teploty fotosyntézy a růstu při sezónních výkyvech teplot. Tímto mechanismem se rostliny snaží zvýšit účinnosti fotosyntézy (Ashraf & Harris, 2013)*. Inhibice fotosyntézy je jedním z důsledků dlouhodobého působení vysokých teplot na obilniny. Vysoké teploty poškozují OEC (komplex vyvíjející kyslík), který se nachází na PSII, snižují aktivitu Rubisca a mohou způsobit i dezorganizaci tylakoidních membrán (Bunce, 2010). Průměrná rychlost všech enzymatických reakcí se zvyšuje dvakrát s každým průměrným zvýšením teploty o 10 °C. Optimální teplota pro aktivitu většiny enzymů je v rozmezí 30–45 °C, při teplotách vyšších než 60 °C dochází k denaturaci a inaktivaci enzymů v obilninách. Každý životní proces má kritickou teplotu, či teplotu při které dochází k trvalému poškození buněčných struktur, buněk, a nakonec ke smrti celé plodiny (Ahmad & Prasad, 2012a, 2012b).

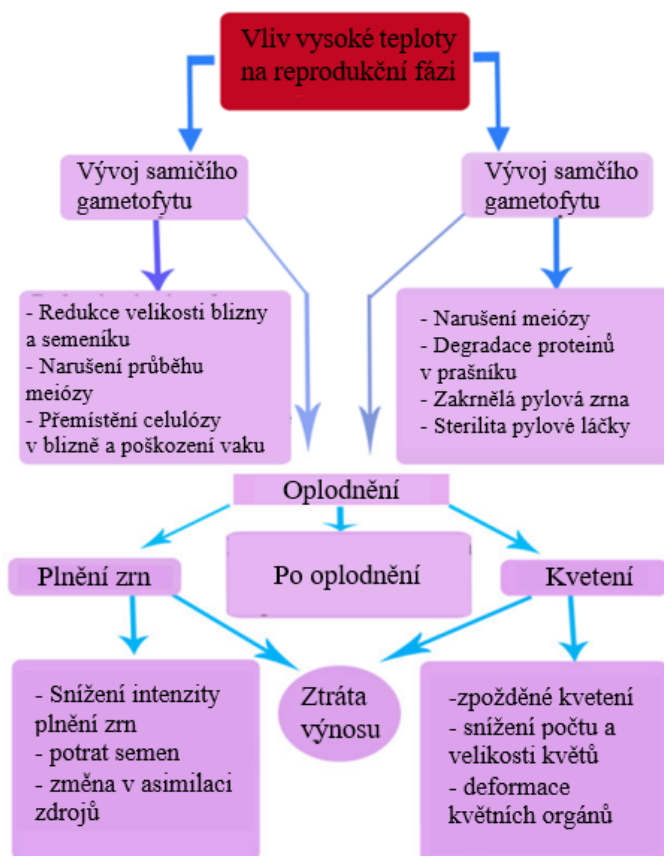
Nadměrné vystavení rostliny vysoké intenzitě slunečního záření vede k fotoinhibici, což je trvalý pokles účinnosti fotosyntézy. Především je ovlivněn fotosystém P680. Fotosystém II je známý pro svou vysokou citlivost k vysokým teplotám a k vyšší intenzitě slunečního záření (Aro et al., 1993). Problém se projevuje v rozdílu v míře absorpce energie a přenosu energie do reakčních center fotosystémů. Vyhnutí se fotoinhibici je důležité pro výnos a růst rostlin. Fotoinhibice má vliv především na snížení počtu aktivních podjednotek PS II, a jelikož dochází k pomalým opravám poškozeného proteinu D1 (což jsou proteiny nacházející se v reakčním centru PSII), tak pokles přenášených elektronů přetrvává, dokonce i ve tmě nebo při snížení intenzity záření (Ruban et al., 2012). Index tolerance k vysokým teplotám u prosa se ukázal jako vysoce dědičný (Peacock et al., 1993). Působení vysokých teplot vyvolalo zvýšený příjem iontů N, P a K, příjem ostatních iontů se nezměnil (Ashraf & Hafeez, 2004).



Obrázek 4: Změna míry transpirace u evropských odrůd pšenice při působení tepelného stresu. Fenotypické a fyziologické účinky jsou uvedeny u odrůd Epos (A–C), Cornetto (D–F), Granny (G–I) a Chamsin (J–L). Box plot grafy ukazují tendenci a rozptyl míry transpirace. Zelené boxy zastupují rostliny kontrolní, zatímco červené boxy zastupují rostliny vystavené vysokým teplotám. Modrá přerušovaná čára ukazuje 50% míru transpirace nestresovaných rostlin. Převzato (Begcy et al., 2018).

U evropských kultivarů pšenice došlo k výraznému poklesu transpirace při působení vysokých teplot (viz Obrázek 5). Teploty použity v tomto výzkumu byly 35 °C ve dne a 25 °C v noci. S výjimkou kultivaru Chamsin měly zvyšující se teploty vliv na pokles transpirace o 25 % během 24 hodin. Po 48 hodinách působení vysokých teplot se míra transpirace snížila o 75 %. U některých kultivarů byl pokles transpirace větší (Epos). Tento účinek byl prokázán i fenotypicky, jelikož rostlinky pšenice namáhané tepelným stresem zvadly a měly nažloutlé listy (Begcy et al., 2018).

3.1.2 Reprodukční fáze



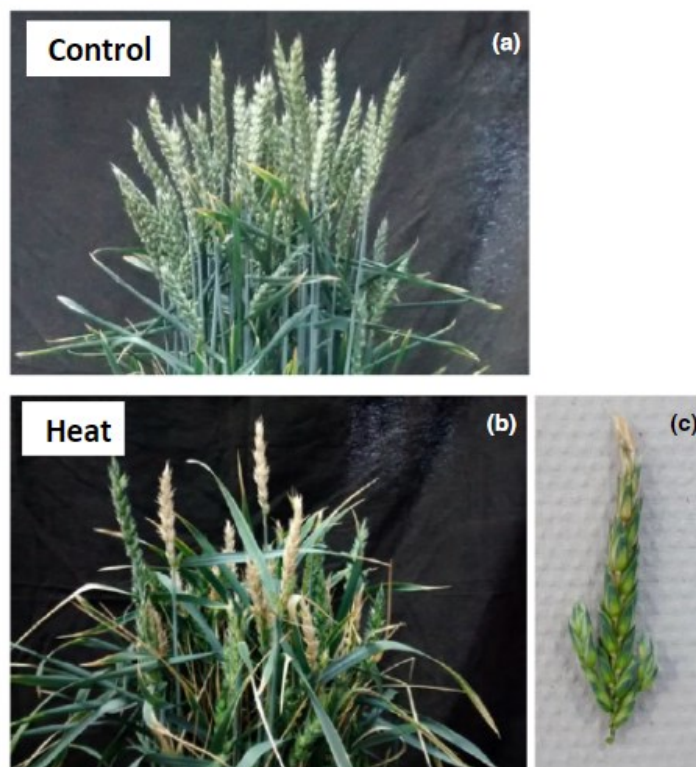
Obrázek 5: Schéma působení vysokých teplot během reprodukční fáze. Převzato a upraveno (Nadeem et al., 2018)*.

Reprodukční vývoj obilnin je ovlivněn vysokými teplotami, protože s rostoucími teplotami se snižuje kvalita a kvantita výnosu. U kukuřice je častým problémem asynchronní kvetení, které nastává při působení vysokých teplot v kombinaci s vodním deficitem (Barnabás et al., 2007). Nejcitlivější fází vývoje kukuřice je růst pylové láčky a zrání pylu (Dupuis & Dumas, 1990).

U pšenice se stres způsobený vysokou teplotou projevuje zejména ve snížení růstu rostliny a ve snížené produktivitě ve vývojové fázi zrna (Yadav et al., 2010). Dále dochází k abnormalitám v semenících, které byly pozorovány u pšeničné odrůdy Gabo (Saini et al., 1983). Tepelný stres má negativní vliv na výtěžek zrn u pšenice (Ferris et al., 1998). V citlivých kultivarech pšenice vede produkce ethylénu vyvolaná vysokými teplotami k aborci pylových jader a ke zrychlenému zrání (Hays et al., 2007). Působení vysoké teploty má vliv na zkrácení doby, ve které blizna reaguje na pyl, čímž se snižuje šance na úspěšné oplodnění. Během období

mikrosporické meiózy vyvolávají vysoké teploty degradaci tapeta (Sakata et al., 2000). Degradace tapeta vede následně ke sterilitě pylu. Vysoké teploty mají negativní vliv i na praskání/otevírání prašníků, kvůli pevnému uzavření dutiny s pylem uvnitř prašníku (Matsui, 2002). V pylových zrnech dochází ke snížení ukládání uhlohydrátů vlivem tepelného stresu (Jain et al., 2007). Tepelný stres působící na rýži značně snižuje dehiscenci prašníků a plodnost pylu u citlivých genotypů. Počet klásků, hmotnost zrn a výnos zrn se u tolerantních i citlivých odrůd rýže snížil, ale u citlivých byl pokles větší (Cao & Zhao, 2008). Plodnost rýžových klásků je zvláště citlivá na noční teploty, přičemž stupeň citlivosti závisí na fázi vývoje klásků (Zakaria et al., 2002).

Teplota je jedním z hlavních faktorů, které ovlivňují klíčení. Rozsah ideálních teplot, při kterých je klíčení semen ideální, se liší u různých druhů obilnin, např. u pšenice je optimální teplota 20-35 (°C). Velmi vysoká teplota okolo 45 °C neumožňuje přiměřenou rychlost klíčení v důsledku buněčné smrti a poškození embryí během raného vývoje pšenice, což naznačuje, že vysoké teploty jsou nepříznivé pro růst a vývoj obilnin (Essemine et al., 2010).



Obrázek 6: Vliv tepelného stresu na vývoj rostlinek pšenice při plnění zrna.
a) klasy kontrolních rostlin, b) klasy stresovaných rostlin, c) deformace klasu způsobená tepelným stresem.
Převzato a upraveno (Hütsch et al., 2019).

Tepelný stres ovlivňuje vývoj rostlinek pšenice při plnění zrn (viz Obrázek 6). Rostlinky byly vystavené denním teplotám 30 °C a nočním teplotám 25 °C. Stresované rostlinky vykazovaly zakrnělý, zpomalený růst a vysoké teploty způsobily i nekrózu na špičkách mladších i starších listů. Při plnění zrn měly kontrolní rostliny dobře tvarované klasy, zatímco stresované rostliny produkovaly částečně neúrodné či deformované klasy (Hütsch et al., 2019).

3.1.3 Stresové látky, proteiny a geny ovlivňující odolnost

Brassinosteroidy mají hlavní roli v ochraně rostliny před působením vysokých teplot. Hlavním účinkem brassinosteroidů je zvýšení aktivity či exprese ochranných enzymů nacházejících se v listech (Nawaz et al., 2017)*. Kyselina salicylová je dalším fytohormonem, který přispívá k ochraně rostliny před působením vysokých teplot. Tento fytohormon zmírňuje působení tepelného stresu a poškození některých částí rostlin (Wang et al., 2005). Další ochrannou látkou je glycinbetain (GB). Jedná se o derivát aminokyseliny, který hraje významnou roli v ochraně komplexu fotosystému II před poškozením. Dochází ke zrychlení syntézy proteinu D1 a k udržování antioxidantní enzymové aktivity kvůli zmírnění škod, které vznikly při poškození zvýšenou intenzitou slunečního záření (Barkla, 2016).

Heat shock proteins (HSP) je skupina proteinů, které chrání rostlinu před vysokými teplotami a dokážou opravit i poškození buněk (Muthusamy et al., 2017). HSP jsou proteiny syntetizované pro zvládnutí tepelného stresu. Heat-shock proteiny jako jsou HSP 104 a 90, dva proteiny z rodiny HSP 70 a další dva ze skupiny smHSP byly identifikovány při působení vysokých teplot. Obvykle jsou HSP spojovány jen s působením vysokých teplot, avšak existují důkazy, které naznačují souvislost i s působením nízkých teplot a dalších abiotických stresů (Ukaji et al., 1999).

4 Reaktivní formy kyslíku (ROS) v teplotních stresech

V rostlinách jsou ROS nepřetržitě produkovány v chloroplastech, mitochondriích a peroxisomech. Výroba a odstraňování reaktivních forem kyslíku musí být kontrolováno rostlinou. Rovnováha mezi výrobou a odstraňováním ROS však může být narušena působením různých abiotických stresorů včetně vysokých a nízkých teplot (Prasad et al., 1994). ROS mají jednu z klíčových rolí v aklimaci rostlin. Primární funkce ROS spočívá v signalizaci, kde působí jako signální transdukční molekuly, které regulují různé dráhy aklimace, ale zároveň jsou také toxickým vedlejším produktem stresového metabolismu (Choudhury et al., 2017).

Mezi reaktivní formy kyslíku řadíme peroxid vodíku, superoxidový radikál, hydroxylový radikál a samostatný kyslík. ROS vznikají při excitaci či neúplné redukci molekulárního kyslíku a jsou vedlejšími produkty základního buněčného metabolismu. Vysoké i nízké teploty mohou indukovat tvorbu ROS, které mohou při zvýšených koncentracích způsobit oxidativní poškození, a dokonce i buněčnou smrt (Apel & Hirt, 2004)*. Působení vysokých teplot způsobuje poruchy mitochondriálních funkcí a vede k indukci oxidačního poškození. Oxidační poškození se projevuje také peroxidací lipidů (Larkindale & Knight, 2002). Stabilní expresní proteinová hladina mnoha enzymů, které zhašejí reaktivní formy kyslíku, byla zvýšena při působení tepelného stresu (Rizhsky, 2002). Schopnost rostlin vyvinout toleranci vůči tepelnému stresu, tzv. termotoleranci, je částečně zprostředkována zlepšením mechanismů, které zabraňují oxidačnímu poškození (Larkindale & Huang, 2004). Signální transdukční dráhy a obranné mechanismy proti působení tepelného stresu, které zahrnují HSFs a HSP, jsou úzce spojené s ROS (Pnueli et al., 2003). Během působení nízkých teplot na obilniny byly objeveny geny, které přispívají ke kontrole ROS, což značí, že ROS vznikají i při nízkých teplotách (Lee et al., 2002).

Během zvýšeného přenosu metabolitů cestou fotorespirace dochází k oxidačnímu zatížení pletiv. Působení reaktivních forem kyslíku vede k poškození biomolekul, což brání rostlinnému růstu. Ke snížení nepříznivých účinků vysokých teplot a sucha na obilniny slouží polyaminy a aminokyselina citrulin, které působí jako antioxidanty (Farooq et al., 2009). Rostlina obsahuje enzymy, tzv. antioxidantní enzymy, které pomáhají vychytávat volné radikály. Jedním z těchto enzymů je i superoxidodismutáza (SOD), nejspíš důležitý také při toleranci k vodnímu deficitu (Vendruscolo et al., 2007). Plodiny, které nadměrně exprimovaly MnSOD (mangan-dependentní superoxidodismutáza), vykazovaly mnohem menší poškození než ostatní. (Gao et al., 2011).

Snížení rychlosti produkce ROS v buňkách je stejně důležité jako jejich zachytávání během působení stresorů. Úpravami buněčného metabolismu, který snižuje rychlost toku elektronů v konkrétních kompartmentech buňky, lze dosáhnout snížení produkce ROS. Mechanismy, které by mohly snižovat tvorbu ROS při působení abiotických stresů, zahrnují anatomické adaptace (např. pohyb listů, ukrytí průduchů ve specializovaných strukturách), fyziologické adaptace (např. C4 a CAM metabolismus) a molekulární mechanismy (např. snížení rychlosti a účinnosti fotosyntézy či její inhibice). Produkce ROS může být také snížena skupinou enzymů, který se nazývá alternativní oxidázy. Alternativní oxidáza se nachází

v chloroplastech a mitochondriích a snižují produkci ROS dvěma mechanismy – zabraňují redukci elektronů s O_2 na O_2^- a snižují celkovou hladinu kyslíku (Mittler, 2002)*.

5 Šlechtění obilnin na odolnost vůči teplotním stresům

V současnosti již existuje mnoho různých způsobů, jak šlechtit rostliny, aby byly odolné vůči biotickým či abiotickým stresům. Jsou to jednak techniky dlouho používané, nazývané klasické, a poté nové šlechtitelské techniky, které se vyvinuly s postupně se rozvíjející vědou (Gilliham et al., 2017).

Nové přístupy a metody mohou pomoci ke zvýšení odolnosti a tolerance rostlin ke stresu. Existují proteiny, které jsou spojeny s tolerancí či rezistencí některých plodin na působení stresových faktorů. Kvantitativní proteomika umožňuje identifikaci proteinů, jež mohou přispívat k mechanismům tolerance, a to přímým porovnáním hojnosti proteinů ve stresových podmínkách mezi genotypy, lišícími se jejich stresovými odpověďmi. K získání výsledků a dat je nutné rostliny vystavit vybraným abiotickým stresům (Miladinovic et al., 2015). Zkoumání transkriptomu, proteomu a metabolomu odhalilo základní mechanismy reakce rostlin na stres a poukazuje na jednotlivé geny, proteiny a metabolity zodpovědné za danou reakci. Různé rostlinné druhy nebo kultivary se mohou chovat odlišně, protože mohou být k daným abiotickým stresům více či méně citlivé (Wilkinson et al., 2012). Projev daného obraného mechanismu je ovlivněn typem stresového faktoru. Obecně je možné říct, že reakce na stres je podmíněna souhrou specifických signálních drah. Rostliny vnímají jednotlivé informační signály daných stresových faktorů a následně aktivují specifické molekuly (Fahad et al., 2015)*.

5.1 Metody šlechtění

V dřívějších dobách bylo šlechtění spíše nahodilé, vybíraly se plodiny, které vyhovovaly potřebám lidí – například pro intenzitu růstu nebo kvůli odolnosti k nepříznivým podmínkám. Klasické šlechtění rostlin využívá dvě základní metody, které kopírují přírodní mechanismy. První metodou je mutageneze, kde následně pomocí selekce zůstanou jen výhodné formy, a druhou metodou je křížení neboli hybridizace. Tyto metody šlechtění mají původ již v domestikaci některých planých druhů rostlin (Grunewald & Bury, 2016). Šlechtění rostlin začíná výběrem rodičovských linií s vhodnými vlastnostmi a následuje jejich křížení. Vzniknou populace potomků, u kterých je pak možná selekce požadovaných vlastností (Vagera et al.,

2004). Šlechtění se musí řídit nějakými genetickými mechanismy, které podmiňují dědičnost, v tomto případě se jedná o Mendelovy zákony dědičnosti. Dalšími metodami, využívanými ve šlechtění rostlin, jsou genetické modifikace, přímý genový přenos, a indukovaná mutagenese neboli působení různých mutagenů na rostlinu (Lusser et al., 2011). V současné době se ještě indukovaná mutagenese využívá, ale spíše v kombinaci s jinými metodami (Zhang, 2007). Šlechtění pomocí mutagenese rozšířilo genetické variace zavedením náhodných mutací působením chemických mutagenů či ozářením (Pacher & Puchta, 2017)*.

5.1.1 Modifikace a editace genomu

Genový přenos je novější technologie ve šlechtění a vede ke vzniku geneticky modifikovaných plodin, které jsou ošetřeny i v legislativě Evropské unie (Lusser et al., 2011). Komercializace GM (geneticky modifikovaných) plodin je však omezena dlouhými a nákladnými regulačními procesy a zároveň obavami veřejnosti. V současné době jsou nejvíce používanými metodami šlechtění – křížení, mutace a šlechtění transgenních plodin. Trvá mnoho let, než získáme žádoucí alelu pomocí křížení, a než dojde ke zvýšení variability pomocí genetické rekombinace. Transgenní šlechtění, díky kterému jsou prostřednictvím přenosu exogenních genů získávány požadované vlastnosti plodin, může prolomit bariéru reprodukční izolace (Scheben et al., 2017)*. Do roku 2008 bylo zhruba 10 % zemědělské půdy osazeno GM plodinami. V roce 2018 se globální oblast pěstování GM plodin rozšířila na 191,7 milionu hektarů. Dohromady již 26 zemí schválilo biotechnologicky upravené plodiny pro výsadbu a dalších 44 zemí oficiálně dováželo tyto plodiny pro další zpracování (krmiva, potraviny). V těchto zemích jsou tedy GM plodiny běžně přijímány. Více než 90 % semen, které jsou geneticky modifikované a používané již přes 20 let, je odolná vůči herbicidům a hmyzu. Tento fakt dokazuje, že genetické modifikace mají vliv na zlepšení produktivity zemědělství (Cho et al., 2020).

Nejčastěji jsou používány dvě metody vložení cizí DNA do rostlinných buněk. První z metod využívá přirozeně se vyskytující půdní bakterii *Agrobacterium tumefaciens*, která infikuje rány některých rostlin a vytváří nádory. Díky nádorům, které se vytváří, dochází k integraci DNA fragmentu (T-DNA) z bakterie do rostlinného genomu. Geny, které se nacházejí v T-DNA způsobují produkci sloučenin, kterými se bakterie živí. T-DNA je přítomna v plazmidu, což je uzavřený kruh extra-chromozomální DNA. To znamená, že může být izolován a manipulován, aby odstranil geny, které by byly vloženy do rostliny *Agrobacteriem*.

Druhou metodou je tzv. gene-gun, při které se nanáší DNA na mikroskopické částice zlata. Tyto částice jsou poté vstřelovány do rostlinných buněk pomocí výbuchu helia. Část DNA je následně očištěna od částic zlata a integruje se do rostlinného genomu. Metoda gene-gun byla zvláště úspěšná při genetické modifikaci obilnin. U obou metod lze rostliny regenerovat, a zbavit je geneticky modifikovaných buněk, pečlivou kultivací a aplikací fytohormonů (Barcelo et al., 1994).

Další technikou je CRISPR/Cas. V současné době se tato metoda používá především k editaci genomu rostlin pomocí technik, které nezanechávají cizorodou DNA v genomu. Prokaryotický CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeats) /Cas je adaptivní imunitní systém zprostředkovaný RNA v bakteriích a Archaea, který usnadňuje místně specifické štěpení DNA. Systém CRISPR, který byl vyvinutý pro editaci genomu je založen na RNA zprostředkované interferenci s DNA (Komor et al., 2016). Nukleázy Cas9 mohou být naváděny krátkými RNA k vyvolání přesného štěpení v endogenních genomových lokusech. CRISPR/Cas9 ze *Streptococcus pyogenes* byl prvním systémem, který prokázal specifické štěpení DNA in vivo a in vitro (Jinek et al., 2012). Po mutagenezi, která je zprostředkována CRISPR/Cas9 komplexem, mohou být vnesené transgeny kódující činidla pro editaci genů odstraněny z genomu pomocí genetické segregace. Z tohoto důvodu je CRISPR/Cas9 technika přijatelnější pro veřejnost a zmírňuje obavy ohledně geneticky modifikovaných organismů (Huang et al., 2016).

5.1.2 Nové šlechtitelské techniky

Kvůli kritice genetických modifikací a na základě větších znalostí o rostlinách vzniká soubor metod, který nese název Nové šlechtitelské techniky (New breedings techniques). Ty by měly být lépe společensky přijatelné genetické modifikace. Většina takto vzniklých produktů se neřadí podle legislativy mezi geneticky modifikované, protože nedochází k vložení cizorodé či rekombinantní DNA do genomu. Mezi tyto techniky spadá celá řada různých metod a jsou značně heterogenní (Seyran & Craig, 2018). Úplně novou technikou křížení se tak stává komplex metod vedoucích k cílené, specifické mutagenezi, většinou k editaci původního genomu organismu (Hu & Xiong, 2014). Uvedený soubor technik zahrnuje SDN (místně lokalizované nukleázy), ODM (oligonukleotidem řízená mutageneze), cisgenezi, transgenezi, reverzní křížení a RdDM (metylace DNA řízená RNA) (Seyran & Craig, 2018). Tyto techniky nabízejí větší množství genetických změn, které mohou být zacíleny na konkrétní místa

v genomu. Pomocí těchto metod lze docílit maximalizace potenciálu plodin, odolnosti vůči škůdcům, efektivního využívání vody a dusíku, snášenlivosti sucha a vysokých teplot a zlepšení nutričního obsahu (Lusser et al., 2011).

5.2 Šlechtění rezistentních plodin

Analýza genové exprese přispěla ke zvýšení povědomí o fyziologických mechanismech souvisejících s působením abiotických stresorů včetně nízkých teplot (Gao et al., 2008). Transgenní technologie je nástrojem, který by mohl být užitečný pro šlechtění rýže odolné vůči nízkým teplotám. Použitím této technologie dochází k zavedení či narušení specifických sekvencí DNA. Pokroky v technologiích, které využívají rekombinantní DNA a účinné protokoly genového přenosu, vedly k účinné transformaci rýže a k následnému generování transgenních linií. Vývoj geneticky upravených rostlin zavedením, nebo nadměrnou expresí vybraných genů zvyšujících odolnost, se zdá být schůdnou možností, jak urychlit šlechtění rezistentních plodin. Aplikace genomických přístupů a genových knockoutových strategií pomáhá k systematickému posouzení a pochopení kvantitativních rysů, jako je získaná tolerance vůči extrémním teplotám. Použitím molekulárních a genetických přístupů bylo identifikováno velké množství genů, které by mohly mít vliv na rezistenci vůči tepelným stresům. Geny CBF/DREB1 se považují za aktivátory, které ovlivňují aklimatizaci plodin na chlad. Tyto geny byly úspěšně použity při zlepšení tolerance vůči nízkým teplotám ve více kulturních plodinách (Sanghera et al., 2011)*.

Genetické inženýrství a transgenní přístupy mohou zmírnit nepříznivé účinky vysokých teplot na obilniny (Chapman et al., 2012). Zvýšení tolerance k tepelnému stresu probíhá inkorporací požadovaných genů do rostlin. Komplexita genomu pšenice ztěžuje výzkum genetických modifikací. Dlouhodobé působení vysokých teplot zvyšuje množství elongačního faktoru syntézy proteinů v chloroplastech. Tento faktor EF-Tu (elongation factor thermo unstable) je spojen se zvýšením tepelné tolerance v pšenici – snižuje totiž narušení tylakoidních membrán, zvyšuje schopnost fotosyntézy a zvyšuje odolnost vůči patogenům (Fu et al., 2012)*. Rezistence k vysokým teplotám je vlastnost, která je velmi důležitá pro rostlinu. Biochemické, molekulární a signální dráhy jsou podstatou pro následné šlechtění a vyvíjení odolných rostlin. Většina těchto procesů je ovlivňována a kontrolována geny, které se šlechtitelé a vědci pokouší nalézt pomocí různých metod. U hlavních zkoumaných plodin bylo objeveno mnoho QTL (quantitative trait locus), které mají podíl na jejich rezistenci. Z tohoto důvodu bylo provedeno

mnoho pokusů, při kterých byly použity hlavní QTL. Nové metody a klonování QTL pro rezistenci plodin nám umožní pochopit genetický základ, a povede i k efektivní manipulaci s těmito plodinami. S rozvíjející se vědou vzniká mnoho nových šlechtitelských postupů, které poskytnou výkonnější nástroje pro mapování QTL, což povede k vyvinutí rezistentní plodiny (Gauch et al., 2011). Další často používanou metodou při šlechtění je marker-assisted selection (MAS). MAS zahrnuje především výběr jedinců se značkami, spojenými s QTL, které mají hlavní efekt (Maiti & Satya, 2014)*.

V poslední době je mnoho transkripčních faktorů zapojeno do různých drah reagujících na abiotické stresové faktory. Tyto transkripční faktory by mohly být dále využity ke zvýšení tolerance ke stresu v plodinách (Wang et al., 2016)*. Jednou z nejslibnějších metod pro šlechtění je v současné době genomická selekce (GS), která umožňuje urychlit vývoj dané rostliny a zároveň vytvořit nové genotypy. Genomická selekce je výhodnější než ostatní metody, protože zvyšuje genetické zisky komplexních vlastností. Tento přístup urychluje rozmnožovací cyklus a usnadňuje výběr nadřazených genotypů. V porozumění mechanismům působení některých stresových faktorů došlo k velkému pokroku, ale zároveň došlo jen k nevýznamnému pokroku ve šlechtění a přijetí strategie pro zlepšení produktivity v oblastech, které jsou náchylné k působení stresu (Maiti & Satya, 2014)*.

5.3 Mikroorganismy zprostředkovaná odolnost vůči stresům

Interakce plodin s mikroorganismy jsou důležité pro adaptaci a přežití obou partnerů v abiotickém prostředí. Role mikroorganismů v rostlinách při zmírňování dopadů působení stresových faktorů je oblastí velkého zájmu a předmětem mnoha výzkumů (Nadeem et al., 2014*; Souza et al., 2015*; de Zelicourt et al., 2013). Nedávné výzkumy se zaměřují na zvyšování odolnosti či tolerance rostlin vůči abiotickým stresům pomocí endofytních mikroorganismů. Endofytní mikroorganismy včetně hub a bakterií se nacházejí ve zdravých rostlinných pletivech a pomáhají rostlině růst ve stresových podmínkách (Lata et al., 2018)*. Mikroorganismy podporují růst rostlin produkcí některých fytohormonů a esenciálních vitamínů. Endofyty pomáhají rostlině i s nutričním stresem. Dodávají potřebné mikro a makronutrienty jejich hostiteli. Nejčastěji se jedná o dusík, který bakterie vytvářejí v kořenech rostlin a následně ho rostlině poskytují pro syntézu aminokyselin (Jha et al., 2011). Molekulární mechanismy zvyšování tolerance rostlin pomocí mikroorganismů zahrnuje indukci stresových genů a některých biomolekul (Lata et al., 2018)*. Stresová tolerance, která je způsobena

symbiotickými organismy zahrnuje alespoň dva mechanismy – prvním je aktivace reakčních systémů hostitele ihned po vystavení abiotickému stresu, což umožňuje rostlinám zmírnit dopady stresu (Redman et al., 1999) a druhým je syntéza antistresových sloučenin endofyty (Schulz et al., 2002)*.

Všechny endofyty mají schopnost rozkládat organické složky, mezi které patří i lignin a celulóza (He et al., 2012). Studie vedené na mikroorganismech *Arthrobacter* sp. a *Bacillus* sp., které byli izolovány z pepřovníku, vykazovaly regulaci některých genů indukovaných stresem. Další mikroorganismy *Phoma glomerata* a *Penicillium* sp. výrazně zvyšovaly rostlinnou biomasu, asimilaci základních živin – draslíku, vápníku, hořčíku, a snižovaly iontovou toxicitu způsobenou sodíkem v rostlinách vystavených zvýšené salinitě (Waqas et al., 2012). Mikroorganismy *Piriformospora indica* a *Azotobacter chroococcum* zlepšily v pšenici příjem některých minerálů, zejména zinku (Abadi & Sepehri, 2016). Endofyt *Piriformospora indica* zvyšuje v ječmeni toleranci k zasolení, tím, že zvyšuje hladiny antioxidantů (Baltruschat et al., 2008).

Mikroorganismy mohou také zvýšit odolnost vůči teplotním stresům (Selvakumar et al., 2007, 2008). *Pseudomonas* sp. je mikroorganismus, který indukuje termotoleranci u sazenic čiroku i jiných druhů obilnin (Ali et al., 2009). Další endofytickou houbou, která chrání obilniny proti teplu a chladu je *Burkholderia phytofirmans*, jejíž mechanismus byl objeven u vinné révy. (Ait Barka et al., 2006). Endofytické houby v pšenici zvýšily toleranci vůči vysokým teplotám regulací výšky, hmotnosti zrn a klíčení semen. Rostlinky pšenice, které byly naočkované endofytickými houbami, byly vyšší, než rostliny namáháme vysokými teplotami bez endofytů. Po vystavení pšenice s endofytními houbami vysokým teplotám došlo ke zvýšení průměrné hmotnosti zrn a ke zvýšení celkové hmotnosti vyprodukovaných zrn (Hubbard et al., 2014). Endofytní mikroorganismy mohou také přispět ke zlepšení výnosu a kvality rostlinných produktů pomocí genetického inženýrství. Mikroorganismy zprostředkovaná tolerance vůči různým abiotickým stresům zvyšuje kvalitu a výnos plodin ekologickým způsobem (Lata et al., 2018)*.

Závěr

Nízká a vysoká teplota jsou abiotickými faktory, které ovlivňují růst a vývoj rostlin, procesy v buňkách a metabolismus celé rostliny. Jako důsledek působení tepelného stresu může rostlina měnit morfologii, fyziologii i jiné metabolické dráhy.

Nízké teploty mají vliv na obilniny ve všech fázích vývoje. Ve vegetativní fázi mají vliv na růst, jelikož se zpomaluje či inhibuje buněčné dělení. Dále působení nízkých teplot spouští předčasné kvetení, způsobuje sterilitu klásků, dochází ke chloróze, nekróze listů, k deformacím listů a kvítků. V reprodukční fázi působí nízké teploty na pyl, čímž dochází ke sterilitě pylu, kterou způsobuje narušení metabolismu sacharidů v buňkách tapeta. V průběhu reprodukční fáze dochází i k narušení meiózy a mitózy. Vliv nízké teploty se projevuje i na snížení rychlosti a intenzity fotosyntézy. Při působení nízkých teplot dochází také k uspořádání molekul a ke snížení jejich pohyblivosti, což má za následek změnu stavu plazmatické membrány - z fluidního do stavu zatuhlého. K vyrovnání se s nízkými teplotami slouží obilninám různé geny, HSP, lektiny, dehydriny a anti-freeze proteiny.

Působení vysokých teplot má vliv především na růst, protože dochází k inhibici buněčného dělení. Plodiny, které nejsou rezistentní vůči vysokým teplotám vykazují snížení výšky při působení tepelného stresu. S rostoucí teplotou se u obilnin zvyšuje i míra transpirace. Působení nadměrného slunečního záření společně s vysokými teplotami vede k fotoinhibici a k poškození drah fotosyntézy. Vysoké teploty mají dále vliv i na zpoždění kvetení, snížení počtu květů a na deformaci květních orgánů. V reprodukční fázi má vysoká teplota vliv na snížení intenzity plnění zrn, absorpci pylu a dochází i k narušení meiózy a vývoje samčích a samičích gametofytů. Ke zvýšení tolerance vůči vysokým teplotám přispívají HSP, brassinosteroidy, kyselina salicylová a glycinbetain.

Tématem stresových faktorů se věda zabývá již delší dobu, ale až v poslední době vědci zjišťují, jak je důležité porozumět vztahům mezi obilninou, abiotickým stresovým faktorem, výnosem a rezistencí plodin vůči těmto faktorům. Výzkum této problematiky se posouvá stále kupředu, a proto můžeme v současné době popsat většinu mechanismů působení tepelného stresu na plodiny a jejich výnos. Výnos plodin, a jeho kvalita, je jedním z nejdůležitějších ukazatelů v zemědělství. Snižování výnosu je jedním z důvodů, proč je v dnešní době důležité šlechtění odolných genotypů obilnin.

Použitá literatura

* v textu označeny reviews

Abadi, V.A.J.M., and Sepehri, M. (2016). Effect of Piriformospora indica and Azotobacter chroococcum on mitigation of zinc deficiency stress in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Symbiosis* 69, 9–19.

Ahmad, P., and Prasad, M.N.V. (2012a). *Abiotic Stress Responses in Plants* (New York, NY: Springer New York).

Ahmad, P., and Prasad, M.N.V. (2012b). *Environmental Adaptations and Stress Tolerance of Plants in the Era of Climate Change* (New York, NY: Springer New York).

Ahuja, I., de Vos, R.C.H., Bones, A.M., and Hall, R.D. (2010). Plant molecular stress responses face climate change. *Trends Plant Sci.* 15, 664–674.

Ait Barka, E., Nowak, J., and Clément, C. (2006). Enhancement of Chilling Resistance of Inoculated Grapevine Plantlets with a Plant Growth-Promoting Rhizobacterium, Burkholderia phytofirmans Strain PsJN. *Appl. Environ. Microbiol.* 72, 7246–7252.

Ali, S.Z., Sandhya, V., Grover, M., Kishore, N., Rao, L.V., and Venkateswarlu, B. (2009). Pseudomonas sp. strain AKM-P6 enhances tolerance of sorghum seedlings to elevated temperatures. *Biol. Fertil. Soils* 46, 45–55.

Allakhverdiev, S.I., Kreslavski, V.D., Klimov, V. V., Los, D.A., Carpentier, R., and Mohanty, P. (2008). Heat stress: an overview of molecular responses in photosynthesis. *Photosynth. Res.* 98, 541–550.

Allen, D.J., and Ort, D.R. (2001). Impacts of chilling temperatures on photosynthesis in warm-climate plants. *Trends Plant Sci.* 6, 36–42.

Apel, K., and Hirt, H. (2004). REACTIVE OXYGEN SPECIES: Metabolism, Oxidative Stress, and Signal Transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.* 55, 373–399.

Aro, E.-M., Virgin, I., and Andersson, B. (1993). Photoinhibition of Photosystem II. Inactivation, protein damage and turnover.

Ashraf, M., and Hafeez, M. (2004). Thermotolerance of Pearl Millet and Maize at Early Growth Stages: Growth and Nutrient Relations. *Biol. Plant.* 48, 81–86.

Ashraf, M., and Harris, P.J.C. (2013). Photosynthesis under stressful environments: An overview. *Photosynthetica* 51, 163–190.

Asseng, S., Ewert, F., Martre, P., Rötter, R.P., Lobell, D.B., Cammarano, D., Kimball, B.A., Ottman, M.J., Wall, G.W., White, J.W., et al. (2015). Rising temperatures reduce global wheat production. *Nat. Clim. Chang.* 5, 143–147.

Baltruschat, H., Fodor, J., Harrach, B.D., Niemczyk, E., Barna, B., Gullner, G., Janeczko, A., Kogel, K.-H., Schäfer, P., Schwarczinger, I., et al. (2008). Salt tolerance of barley induced by the root endophyte Piriformospora indica is associated with a strong increase in antioxidants. *New Phytol.* 180, 501–510.

Baniwal, S.K., Bharti, K., Chan, K.Y., Fauth, M., Ganguli, A., Kotak, S., Mishra, S.K., Nover, L., Port, M., Scharf, K.-D., et al. (2004). Heat stress response in plants: a complex game with chaperones

and more than twenty heat stress transcription factors. *J. Biosci.* 29, 471–487.

Barcelo, P., Hagel, C., Becker, D., Martin, A., and Lorz, H. (1994). Transgenic cereal (*tritordeum*) plants obtained at high efficiency by microprojectile bombardment of inflorescence tissue. *Plant J.* 5, 583–592.

Barkla, B.J. (2016). Identification of abiotic stress protein biomarkers by proteomic screening of crop cultivar diversity. *Proteomes* 4.

Barnabás, B., Jäger, K., and Fehér, A. (2007). The effect of drought and heat stress on reproductive processes in cereals. *Plant. Cell Environ.* 071030190532001-???

Bechoux, N., Bernier, G., and Lejeune, P. (2000). Environmental effects on the early stages of tassel morphogenesis in maize (*Zea mays* L.). *Plant. Cell Environ.* 23, 91–98.

Bechtold, U., and Field, B. (2018). Molecular mechanisms controlling plant growth during abiotic stress. *J. Exp. Bot.* 69, 2753–2758.

Begcy, K., Weigert, A., Egesa, A., and Dresselhaus, T. (2018). Compared to Australian Cultivars, European Summer Wheat (*Triticum aestivum*) Overreacts When Moderate Heat Stress Is Applied at the Pollen Development Stage. *Agronomy* 8, 99.

Bernier, G., and Périlleux, C. (2005). A physiological overview of the genetics of flowering time control. *Plant Biotechnol. J.* 3, 3–16.

Bertini, L., Proietti, S., Caporale, C., and Caruso, C. (2009). Molecular Characterization of a Wheat Protein Induced by Vernalisation. *Protein J.* 28, 253–262.

Browse, J., and Somerville, C. (1991). Glycerolipid Synthesis: Biochemistry and Regulation. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 42, 467–506.

Bunce, J.A. (2010). Leaf Transpiration Efficiency of Some Drought-Resistant Maize Lines. *Crop Sci.* 50, 1409–1413.

Butt, M.S., Tahir-Nadeem, M., Khan, M.K.I., Shabir, R., and Butt, M.S. (2008). Oat: Unique among the cereals. *Eur. J. Nutr.* 47, 68–79.

Cao, Y., and Zhao, H. (2008). Protective Roles of Brassinolide on Rice Seedlings under High Temperature Stress. *Rice Sci.* 15, 63–68.

Carena M. J. (2009). *Cereals* (New York, NY: Springer US).

Chapman, S.C., Chakraborty, S., Dreccer, M.F., and Howden, S.M. (2012). Plant adaptation to climate change—opportunities and priorities in breeding. *Crop Pasture Sci.* 63, 251.

Chinnusamy, V. (2003). Molecular genetic perspectives on cross-talk and specificity in abiotic stress signalling in plants. *J. Exp. Bot.* 55, 225–236.

Chinnusamy, V., Zhu, J., and Zhu, J.-K. (2007). Cold stress regulation of gene expression in plants. *Trends Plant Sci.* 12, 444–451.

Cho, J.-I., Park, S.-H., Lee, G.-S., Kim, S.-M., Lim, S.-M., Kim, Y.-S., and Park, S.-C. (2020). Current Status of GM Crop Development and Commercialization. *Korean J. Breed. Sci.* 52, 40–48.

Choudhury, F.K., Rivero, R.M., Blumwald, E., and Mittler, R. (2017). Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination. *Plant J.* 90, 856–867.

- Close, T.J. (1997). Dehydrins: A commonality in the response of plants to dehydration and low temperature. *Physiol. Plant.* *100*, 291–296.
- Cockram, J., Jones, H., Leigh, F.J., O’Sullivan, D., Powell, W., Laurie, D.A., and Greenland, A.J. (2007). Control of flowering time in temperate cereals: genes, domestication, and sustainable productivity. *J. Exp. Bot.* *58*, 1231–1244.
- Crosatti, C., Pagani, D., Cattivelli, L., Stanca, A.M., and Rizza, F. (2008). Effects of growth stage and hardening conditions on the association between frost resistance and the expression of the cold-induced protein COR14b in barley. *Environ. Exp. Bot.* *62*, 93–100.
- Crosatti, C., Soncini, C., Stanca, A.M., and Cattivelli, L. (1995). The accumulation of a cold-regulated chloroplastic protein is light-dependent. *Planta* *196*.
- Cruz, R.P. da, Milach, S.C.K., and Federizzi, L.C. (2006). Rice cold tolerance at the reproductive stage in a controlled environment. *Sci. Agric.* *63*, 255–261.
- D’souza, S., Nathawat, N., Nair, J., Radha Krishna, P., Ramaswamy, N., Singh, G., and Sahu, M. (2009). Enhancement of antioxidant enzyme activities and primary photochemical reactions in response to foliar application of thiols in water-stressed pearl millet. *Acta Agron. Hungarica* *57*, 21–31.
- Daničić, M., Zekić, V., Miroslavljević, M., Lalić, B., Putnik-Delić, M., Maksimović, I., and Dalla Marta, A. (2019). The Response of Spring Barley (*Hordeum vulgare* L.) to Climate Change in Northern Serbia. *Atmosphere (Basel)*. *10*, 14.
- Dar, N.A., Amin, I., Wani, W., Wani, S.A., Shikari, A.B., Wani, S.H., and Masoodi, K.Z. (2017). Abscisic acid: A key regulator of abiotic stress tolerance in plants. *Plant Gene* *11*, 106–111.
- Dionisio-Sese Maribel, L., and Tobita, S. (1998). Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. *Plant Sci.* *1*.
- Distelfeld, A., Li, C., and Dubcovsky, J. (2009). Regulation of flowering in temperate cereals. *Curr. Opin. Plant Biol.* *12*, 178–184.
- Dolferus, R., Ji, X., and Richards, R.A. (2011). Abiotic stress and control of grain number in cereals. *Plant Sci.* *181*, 331–341.
- Douce, R., and Heldt, H.-W. (2000). Photorespiration. pp. 115–136.
- Dupuis, I., and Dumas, C. (1990). Influence of Temperature Stress on in Vitro Fertilization and Heat Shock Protein Synthesis in Maize (*Zea mays* L.) Reproductive Tissues. *Plant Physiol.* *94*, 665–670.
- Essemine, J., Ammar, S., and Bouzid, S. (2010). Impact of Heat Stress on Germination and Growth in Higher Plants: Physiological, Biochemical and Molecular Repercussions and Mechanisms of Defence. *J. Biol. Sci.* *10*, 565–572.
- Fahad, S., Hussain, S., Bano, A., Saud, S., Hassan, S., Shan, D., Khan, F.A., Khan, F., Chen, Y., Wu, C., et al. (2015). Potential role of phytohormones and plant growth-promoting rhizobacteria in abiotic stresses: consequences for changing environment. *Environ. Sci. Pollut. Res.* *22*, 4907–4921.
- FAO (2020). FAOSTAT. Food Agriculture. Organization. United Nations.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., and Basra, S.M.A. (2009). Plant Drought Stress: Effects, Mechanisms and Management. In *Sustainable Agriculture*, pp. 153–188.

- Ferris, R., Ellis, R.H., Wheeler, T.R., and Hadley, P. (1998). Effect of High Temperature Stress at Anthesis on Grain Yield and Biomass of Field-grown Crops of Wheat. *Ann. Bot.* *82*, 631–639.
- Fowler, S., and Thomashow, M.F. (2002). Arabidopsis Transcriptome Profiling Indicates That Multiple Regulatory Pathways Are Activated during Cold Acclimation in Addition to the CBF Cold Response Pathway. *Plant Cell* *14*, 1675–1690.
- Foyer, C.H., Rasool, B., Davey, J.W., and Hancock, R.D. (2016). Cross-tolerance to biotic and abiotic stresses in plants: a focus on resistance to aphid infestation. *J. Exp. Bot.* *67*, 2025–2037.
- Fu, J., Momčilović, I., and Prasad, P.V.V. (2012). Roles of Protein Synthesis Elongation Factor EF-Tu in Heat Tolerance in Plants. *J. Bot.* *2012*, 1–8.
- Gao, L., Yan, X., Li, X., Guo, G., Hu, Y., Ma, W., and Yan, Y. (2011). Proteome analysis of wheat leaf under salt stress by two-dimensional difference gel electrophoresis (2D-DIGE). *Phytochemistry* *72*, 1180–1191.
- Gao, S., Martinez, C., Skinner, D.J., Krivanek, A.F., Crouch, J.H., and Xu, Y. (2008). Development of a seed DNA-based genotyping system for marker-assisted selection in maize. *Mol. Breed.* *22*, 477–494.
- Gauch, H.G., Rodrigues, P.C., Munkvold, J.D., Heffner, E.L., and Sorrells, M. (2011). Two New Strategies for Detecting and Understanding QTL × Environment Interactions. *Crop Sci.* *51*, 96–113.
- Gilliam, M., Able, J.A., and Roy, S.J. (2017). Translating knowledge about abiotic stress tolerance to breeding programmes. *Plant J.* *90*, 898–917.
- Griffith, M., Antikainen, M., Hon, W.-C., Pihakaski-Maunsbach, K., Yu, X.-M., Chun, J.U., and Yang, D.S.C. (1997). Antifreeze proteins in winter rye. *Physiol. Plant.* *100*, 327–332.
- Grunewald, W., and Bury, J. (2016). *The GMO revolution* (Lannoo Publishers).
- Gunawardena, T.A., Fukai, S., and Blamey, F.P.C. (2003). Low temperature induced spikelet sterility in rice. II. Effects of panicle and root temperatures. *Aust. J. Agric. Res.* *54*, 947.
- Haak, D.C., Fukao, T., Grene, R., Hua, Z., Ivanov, R., Perrella, G., and Li, S. (2017). Multilevel Regulation of Abiotic Stress Responses in Plants. *Front. Plant Sci.* *8*.
- Habibi (2011). Effect of cold stress on cell membrane stability, chlorophyll a and b contain and proline accumulation in wheat (*Triticum aestivum* L.) variety. *AFRICAN J. Agric. RESEARCH* *6*.
- Hara, M., Fujinaga, M., and Kuboi, T. (2005). Metal binding by citrus dehydrin with histidine-rich domains. *J. Exp. Bot.* *56*, 2695–2703.
- Hays, D., Mason, E., Do, J.H., Menz, M., and Reynolds, M. (2007). Expression Quantitative Trait Loci Mapping Heat Tolerance During Reproductive Development in Wheat (*Triticum Aestivum*). In *Wheat Production in Stressed Environments*, (Dordrecht: Springer Netherlands), pp. 373–382.
- He, X., Han, G., Lin, Y., Tian, X., Xiang, C., Tian, Q., Wang, F., and He, Z. (2012). Diversity and decomposition potential of endophytes in leaves of a *Cinnamomum camphora* plantation in China. *Ecol. Res.* *27*, 273–284.
- Heidarvand, L., and Maali Amiri, R. (2010). What happens in plant molecular responses to cold stress? *Acta Physiol. Plant.* *32*, 419–431.
- Hirst, K.K. (2020). *Adaptations to Climate Change in C3, C4 and CAM Plants*.

- Hon, W.C., Griffith, M., Mlynarz, A., Kwok, Y.C., and Yang, D. (1995). Antifreeze Proteins in Winter Rye Are Similar to Pathogenesis-Related Proteins. *Plant Physiol.* *109*, 879–889.
- Houde, M., Daniel, C., Lachapelle, M., Allard, F., Laliberte, S., and Sarhan, F. (1995). Immunolocalization of freezing-tolerance-associated proteins in the cytoplasm and nucleoplasm of wheat crown tissues. *Plant J.* *8*, 583–593.
- Hu, H., and Xiong, L. (2014). Genetic Engineering and Breeding of Drought-Resistant Crops. *Annu. Rev. Plant Biol.* *65*, 715–741.
- Huang, S., Weigel, D., Beachy, R.N., and Li, J. (2016). A proposed regulatory framework for genome-edited crops. *Nat. Genet.* *48*, 109–111.
- Hubbard, M., Germida, J.J., and Vujanovic, V. (2014). Fungal endophytes enhance wheat heat and drought tolerance in terms of grain yield and second-generation seed viability. *J. Appl. Microbiol.* *116*, 109–122.
- Hütsch, B.W., Jahn, D., and Schubert, S. (2019). Grain yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) under long-term heat stress is sink-limited with stronger inhibition of kernel setting than grain filling. *J. Agron. Crop Sci.* *205*, 22–32.
- Imin, N., Kerim, T., Rolfe, B.G., and Weinman, J.J. (2004). Effect of early cold stress on the maturation of rice anthers. *Proteomics* *4*, 1873–1882.
- Jain, M., Prasad, P.V.V., Boote, K.J., Hartwell, A.L., and Chourey, P.S. (2007). Effects of season-long high temperature growth conditions on sugar-to-starch metabolism in developing microspores of grain sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). *Planta* *227*, 67–79.
- Jha, Y., Subramanian, R.B., and Patel, S. (2011). Combination of endophytic and rhizospheric plant growth promoting rhizobacteria in *Oryza sativa* shows higher accumulation of osmoprotectant against saline stress. *Acta Physiol. Plant.* *33*, 797–802.
- Jinek, M., Chylinski, K., Fonfara, I., Hauer, M., Doudna, J.A., and Charpentier, E. (2012). A Programmable Dual-RNA-Guided DNA Endonuclease in Adaptive Bacterial Immunity. *Science* (80-). *337*, 816–821.
- Jorrín-Novo, J. V., Maldonado, A.M., Echevarría-Zomeño, S., Valledor, L., Castillejo, M.A., Curto, M., Valero, J., Sghaier, B., Donoso, G., and Redondo, I. (2009). Plant proteomics update (2007–2008): Second-generation proteomic techniques, an appropriate experimental design, and data analysis to fulfill MIAPE standards, increase plant proteome coverage and expand biological knowledge. *J. Proteomics* *72*, 285–314.
- Knight, H., Zarka, D.G., Okamoto, H., Thomashow, M.F., and Knight, M.R. (2004). Abscisic Acid Induces CBF Gene Transcription and Subsequent Induction of Cold-Regulated Genes via the CRT Promoter Element. *Plant Physiol.* *135*, 1710–1717.
- Komor, A.C., Kim, Y.B., Packer, M.S., Zuris, J.A., and Liu, D.R. (2016). Programmable editing of a target base in genomic DNA without double-stranded DNA cleavage. *Nature* *533*, 420–424.
- Koo, B.C., Bushman, B.S., and Mott, I.W. (2008). Transcripts Associated with Non-Acclimated Freezing Response in Two Barley Cultivars. *Plant Genome* *1*, 21–32.
- Kosová, K., Holková, L., Prášil, I.T., Prášilová, P., Bradáčová, M., Vítámvás, P., and Čapková, V. (2008b). Expression of dehydrin 5 during the development of frost tolerance in barley (*Hordeum vulgare*). *J. Plant Physiol.* *165*, 1142–1151.

- Kosová, K., Prášil, I.T., and Vítámvás, P. (2008a). The relationship between vernalization-and photoperiodically-regulated genes and the development of frost tolerance in wheat and barley. *Biol. Plant.* *52*, 601–615.
- Kosová, K., Vítámvás, P., Planchon, S., Renaut, J., Vanková, R., and Prášil, I.T. (2013a). Proteome Analysis of Cold Response in Spring and Winter Wheat (*Triticum aestivum*) Crowns Reveals Similarities in Stress Adaptation and Differences in Regulatory Processes between the Growth Habits. *J. Proteome Res.* *12*, 4830–4845.
- Kosová, K., Vítámvás, P., Prášil, I.T., and Renaut, J. (2011). Plant proteome changes under abiotic stress - Contribution of proteomics studies to understanding plant stress response. *J. Proteomics* *74*, 1301–1322.
- Kosová, K., Vítámvás, P., Prášilová, P., and Prášil, I.T. (2013b). Accumulation of WCS120 and DHN5 proteins in differently frost-tolerant wheat and barley cultivars grown under a broad temperature scale. *Biol. Plant.* *57*, 105–112.
- Larkindale, J., and Huang, B. (2004). Thermotolerance and antioxidant systems in *Agrostis stolonifera*: Involvement of salicylic acid, abscisic acid, calcium, hydrogen peroxide, and ethylene. *J. Plant Physiol.* *161*, 405–413.
- Larkindale, J., and Knight, M.R. (2002). Protection against Heat Stress-Induced Oxidative Damage in *Arabidopsis* Involves Calcium, Abscisic Acid, Ethylene, and Salicylic Acid. *Plant Physiol.* *128*, 682–695.
- Larkindale, J., and Vierling, E. (2008). Core Genome Responses Involved in Acclimation to High Temperature. *Plant Physiol.* *146*, 748–761.
- Lata, R., Chowdhury, S., Gond, S.K., and White, J.F. (2018). Induction of abiotic stress tolerance in plants by endophytic microbes. *Lett. Appl. Microbiol.* *66*, 268–276.
- Lee, B., Lee, H., Xiong, L., and Zhu, J.-K. (2002). A Mitochondrial Complex I Defect Impairs Cold-Regulated Nuclear Gene Expression. *Plant Cell* *14*, 1235–1251.
- Lee, S.-C., Kim, J.-Y., Kim, S.-H., Kim, S.-J., Lee, K., Han, S.-K., Choi, H.-S., Jeong, D.-H., An, G., and Kim, S.-R. (2004). Trapping and characterization of cold-responsive genes from T-DNA tagging lines in rice. *Plant Sci.* *166*, 69–79.
- Lu, H., Zhang, J., Liu, K. -b., Wu, N., Li, Y., Zhou, K., Ye, M., Zhang, T., Zhang, H., Yang, X., et al. (2009). Earliest domestication of common millet (*Panicum miliaceum*) in East Asia extended to 10,000 years ago. *Proc. Natl. Acad. Sci.* *106*, 7367–7372.
- Lusser, M., Parisi, C., Rodriguez Cerezo, E., and Plan, D. (2011). New plant breeding techniques. State-of-the-art and prospects for commercial development. *EUR - Sci. Tech. Res. Reports*.
- Maiti, R., and Satya, P. (2014). Research advances in major cereal crops for adaptation to abiotic stresses. *GM Crops Food* *5*, 259–279.
- Matsui, T. (2002). Rice (*Oryza sativa* L.) Cultivars Tolerant to High Temperature at Flowering: Anther Characteristics. *Ann. Bot.* *89*, 683–687.
- Miladinovic, J., Vidic, M., Djordjevic, V., and Balesevic-Tubic, S. (2015). New trends in plant breeding - example of soybean. *Genetika* *47*, 131–142.
- Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci.* *7*, 405–410.

- Murchie, E.H. (2002). Are there associations between grain-filling rate and photosynthesis in the flag leaves of field-grown rice? *J. Exp. Bot.* *53*, 2217–2224.
- Muthusamy, S.K., Dalal, M., Chinnusamy, V., and Bansal, K.C. (2017). Genome-wide identification and analysis of biotic and abiotic stress regulation of small heat shock protein (HSP20) family genes in bread wheat. *J. Plant Physiol.* *211*, 100–113.
- Nadeem, M., Li, J., Wang, M., Shah, L., Lu, S., Wang, X., and Ma, C. (2018). Unraveling Field Crops Sensitivity to Heat Stress : Mechanisms, Approaches, and Future Prospects. *Agronomy* *8*, 128.
- Nadeem, S.M., Ahmad, M., Zahir, Z.A., Javaid, A., and Ashraf, M. (2014). The role of mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop productivity under stressful environments. *Biotechnol. Adv.* *32*, 429–448.
- Nawaz, F., Naeem, M., Zulfiqar, B., Akram, A., Ashraf, M.Y., Raheel, M., Shabbir, R.N., Hussain, R.A., Anwar, I., and Aurangzaib, M. (2017). Understanding brassinosteroid-regulated mechanisms to improve stress tolerance in plants: a critical review. *Environ. Sci. Pollut. Res.* *24*, 15959–15975.
- Oliver, S.N., Dennis, E.S., and Dolferus, R. (2007). ABA Regulates Apoplastic Sugar Transport and is a Potential Signal for Cold-Induced Pollen Sterility in Rice. *Plant Cell Physiol.* *48*, 1319–1330.
- Oliver, S.N., Van Dongen, J.T., Alfred, S.C., Mamun, E.A., Zhao, X., Saini, H.S., Fernandes, S.F., Blanchard, C.L., Sutton, B.G., Geigenberger, P., et al. (2005). Cold-induced repression of the rice anther-specific cell wall invertase gene OSINV4 is correlated with sucrose accumulation and pollen sterility. *Plant, Cell Environ.* *28*, 1534–1551.
- Ouellet, F. (2007). Cold Acclimation and Freezing Tolerance in Plants. In *Encyclopedia of Life Sciences*, (Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd), p.
- Pacher, M., and Puchta, H. (2017). From classical mutagenesis to nuclease-based breeding - directing natural DNA repair for a natural end-product. *Plant J.* *90*, 819–833.
- Peacock, J.M., Soman, P., Jayachandran, R., Rani, A.U., Howarth, C.J., and Thomas, A. (1993). Effects of High Soil Surface Temperature on Seedling Survival in Pearl Millet. *Exp. Agric.* *29*, 215–225.
- Pnueli, L., Liang, H., Rozenberg, M., and Mittler, R. (2003). Growth suppression, altered stomatal responses, and augmented induction of heat shock proteins in cytosolic ascorbate peroxidase (Apx1)-deficient Arabidopsis plants. *Plant J.* *34*, 187–203.
- Prasad, P.V. V., Staggenborg, S.A., and Ristic, Z. (2015). Impacts of Drought and/or Heat Stress on Physiological, Developmental, Growth, and Yield Processes of Crop Plants. pp. 301–355.
- Prasad, T.K., Anderson, M.D., and Stewart, C.R. (1994). Acclimation, Hydrogen Peroxide, and Abscisic Acid Protect Mitochondria against Irreversible Chilling Injury in Maize Seedlings. *Plant Physiol.* *105*, 619–627.
- Qu, A.-L., Ding, Y.-F., Jiang, Q., and Zhu, C. (2013). Molecular mechanisms of the plant heat stress response. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* *432*, 203–207.
- Rahman, H., Malik, S.A., and Saleem, M. (2004). Heat tolerance of upland cotton during the fruiting stage evaluated using cellular membrane thermostability. *F. Crop. Res.* *85*, 149–158.
- Rai, S.K., Ghosh, P.K., Kumar, S., and Singh, J.B. (2014). Research in Agrometeorology on Fodder Crops in Central India—An Overview. *Atmos. Clim. Sci.* *04*, 78–91.

Redman, R.S., Freeman, S., Clifton, D.R., Morrel, J., Brown, G., and Rodriguez, R.J. (1999). Biochemical Analysis of Plant Protection Afforded by a Nonpathogenic Endophytic Mutant of *Colletotrichum magna*. *Plant Physiol.* *119*, 795–804.

Renaut, J., Hausman, J.-F., and Wisniewski, M.E. (2006). Proteomics and low-temperature studies: bridging the gap between gene expression and metabolism. *Physiol. Plant.* *126*, 97–109.

Renuka, N., Mathure, S. V., Zanan, R.L., Thengane, R.J., and Nadaf, A.B. (2016). Determination of some minerals and β -carotene contents in aromatic indica rice (*Oryza sativa* L.) germplasm. *Food Chem.* *191*, 2–6.

Rinalducci, S., Egidi, M.G., Karimzadeh, G., Jazii, F.R., and Zolla, L. (2011). Proteomic analysis of a spring wheat cultivar in response to prolonged cold stress. *Electrophoresis* *32*, 1807–1818.

Rizhsky, L. (2002). The Combined Effect of Drought Stress and Heat Shock on Gene Expression in Tobacco. *PLANT Physiol.* *130*, 1143–1151.

Ruban, A. V., Johnson, M.P., and Duffy, C.D.P. (2012). The photoprotective molecular switch in the photosystem II antenna. *Biochim. Biophys. Acta - Bioenerg.* *1817*, 167–181.

Ruggiero, A., Punzo, P., Landi, S., Costa, A., Van Oosten, M., and Grillo, S. (2017). Improving Plant Water Use Efficiency through Molecular Genetics. *Horticulturae* *3*, 31.

Rymen, B., Fiorani, F., Kartal, F., Vandepoele, K., Inzé, D., and Beemster, G.T.S. (2007). Cold Nights Impair Leaf Growth and Cell Cycle Progression in Maize through Transcriptional Changes of Cell Cycle Genes. *Plant Physiol.* *143*, 1429–1438.

Saini, H., Sedgley, M., and Aspinall, D. (1983). Effect of Heat Stress During Floral Development on Pollen Tube Growth and Ovary Anatomy in Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Funct. Plant Biol.* *10*, 137.

Sakata, T., Takahashi, H., Nishiyama, I., and Higashitani, A. (2000). Effects of High Temperature on the Development of Pollen Mother Cells and Microspores in Barley *Hordeum vulgare* L. *J. Plant Res.* *113*, 395–402.

Sanghera, G.S., Wani, S.H., Hussain, W., and Singh, N.B. (2011). Engineering Cold Stress Tolerance in Crop Plants. *Curr. Genomics* *12*, 30–43.

Sasani, S., Hemming, M.N., Oliver, S.N., Greenup, A., Tavakkol-Afshari, R., Mahfoozi, S., Poustini, K., Sharifi, H.-R., Dennis, E.S., Peacock, W.J., et al. (2009). The influence of vernalization and daylength on expression of flowering-time genes in the shoot apex and leaves of barley (*Hordeum vulgare*). *J. Exp. Bot.* *60*, 2169–2178.

Satake, T., and Hayase, H. (1970). Male Sterility Caused by Cooling Treatment at the Young Microspore Stage in Rice Plants : V. Estimations of pollen developmental stage and the most sensitive stage to coolness. *Japanese J. Crop Sci.* *39*, 468–473.

Scarcelli, N., Cubry, P., Akakpo, R., Thuillet, A.-C., Obidiegwu, J., Baco, M.N., Otoo, E., Sonké, B., Dansi, A., Djedatin, G., et al. (2019). Yam genomics supports West Africa as a major cradle of crop domestication.

Scheben, A., Batley, J., and Edwards, D. (2017). Genotyping-by-sequencing approaches to characterize crop genomes: choosing the right tool for the right application. *Plant Biotechnol. J.* *15*, 149–161.

Schulz, B., Boyle, C., Draeger, S., Römmert, A.-K., and Krohn, K. (2002). Endophytic fungi: a

source of novel biologically active secondary metabolites. *Mycol. Res.* *106*, 996–1004.

Selvakumar, G., Kundu, S., Joshi, P., Nazim, S., Gupta, A.D., Mishra, P.K., and Gupta, H.S. (2008). Characterization of a cold-tolerant plant growth-promoting bacterium *Pantoea dispersa* 1A isolated from a sub-alpine soil in the North Western Indian Himalayas. *World J. Microbiol. Biotechnol.* *24*, 955–960.

Selvakumar, G., Mohan, M., Kundu, S., Gupta, A.D., Joshi, P., Nazim, S., and Gupta, H.S. (2007). Cold tolerance and plant growth promotion potential of *Serratia marcescens* strain SRM (MTCC 8708) isolated from flowers of summer squash (*Cucurbita pepo*). *Lett. Appl. Microbiol.* *46*, 171–175.

Seyran, E., and Craig, W. (2018). New Breeding Techniques and Their Possible Regulation. *AgBioForum*.

Shewry, P.R. (2009). Wheat. *J. Exp. Bot.* *60*, 1537–1553.

Shewry, P. R., Ullrich, S.E. (2014). *Barley: Chemistry and technology* (Minnesota: Woodhead Publishing and AACC International Press).

Souza, R. de, Ambrosini, A., and Passaglia, L.M.P. (2015). Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. *Genet. Mol. Biol.* *38*, 401–419.

Sun, W., Van Montagu, M., and Verbruggen, N. (2002). Small heat shock proteins and stress tolerance in plants. *Biochim. Biophys. Acta - Gene Struct. Expr.* *1577*, 1–9.

Suzuki, N., Rivero, R.M., Shulaev, V., Blumwald, E., and Mittler, R. (2014). Abiotic and biotic stress combinations. *New Phytol.* *203*, 32–43.

Taşgın, E., Atıcı, Ö., and Nalbantoğlu, B. (2003). Effects of salicylic acid and cold on freezing tolerance in winter wheat leaves. *Plant Growth Regul.* *41*, 231–236.

Terres, A.L. (1991). Breeding of irrigated rice for cold tolerance at the Rio Grande do Sul, Brazil. *Dialogo - Programa Coop. Para El Desarrollo. Tecnol. Agropecu. Del Cono Sur* 33.

Thakur, P., Kumar, S., Malik, J.A., Berger, J.D., and Nayyar, H. (2010). Cold stress effects on reproductive development in grain crops: An overview. *Environ. Exp. Bot.* *67*, 429–443.

Thomashow, M.F. (1999). PLANT COLD ACCLIMATION: Freezing Tolerance Genes and Regulatory Mechanisms. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* *50*, 571–599.

Tikkanen, M., Grieco, M., Nurmi, M., Rantala, M., Suorsa, M., and Aro, E.-M. (2012). Regulation of the photosynthetic apparatus under fluctuating growth light. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* *367*, 3486–3493.

Timperio, A.M., Egidio, M.G., and Zolla, L. (2008). Proteomics applied on plant abiotic stresses: Role of heat shock proteins (HSP). *J. Proteomics* *71*, 391–411.

Trevaskis, B., Hemming, M.N., Dennis, E.S., and Peacock, W.J. (2007). The molecular basis of vernalization-induced flowering in cereals. *Trends Plant Sci.* *12*, 352–357.

Uemura, M., Tominaga, Y., Nakagawara, C., Shigematsu, S., Minami, A., and Kawamura, Y. (2006). Responses of the plasma membrane to low temperatures. *Physiol. Plant.* *126*, 81–89.

Ukaji, N., Kuwabara, C., Takezawa, D., Arakawa, K., Yoshida, S., and Fujikawa, S. (1999). Accumulation of Small Heat-Shock Protein Homologs in the Endoplasmic Reticulum of Cortical Parenchyma Cells in Mulberry in Association with Seasonal Cold Acclimation. *Plant Physiol.* *120*, 481–

490.

Vagera, J., Novotný, J., and Ohnoutková, L. (2004). Induced Androgenesis in vitro in Mutated Populations of Barley, *Hordeum vulgare*. *Plant Cell. Tissue Organ Cult.* 77, 55–61.

Vendruscolo, E.C.G., Schuster, I., Pileggi, M., Scapim, C.A., Molinari, H.B.C., Marur, C.J., and Vieira, L.G.E. (2007). Stress-induced synthesis of proline confers tolerance to water deficit in transgenic wheat. *J. Plant Physiol.* 164, 1367–1376.

Vítámvás, P., Kosová, K., Musilová, J., Holková, L., Mařík, P., Smutná, P., Klíma, M., and Prášil, I.T. (2019). Relationship Between Dehydrin Accumulation and Winter Survival in Winter Wheat and Barley Grown in the Field. *Front. Plant Sci.* 10.

Vítámvás, P., Kosová, K., Prášilová, P., and Prášil, I.T. (2010). Accumulation of WCS120 protein in wheat cultivars grown at 9°C or 17°C in relation to their winter survival. *Plant Breed.* 129, 611–616.

Wang, F.-Z., Wang, Q.-B., Kwon, S.-Y., Kwak, S.-S., and Su, W.-A. (2005). Enhanced drought tolerance of transgenic rice plants expressing a pea manganese superoxide dismutase. *J. Plant Physiol.* 162, 465–472.

Wang, W., Vinocur, B., and Altman, A. (2003). Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta* 218, 1–14.

Wang, W., Vinocur, B., Shoseyov, O., and Altman, A. (2004). Role of plant heat-shock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response. *Trends Plant Sci.* 9, 244–252.

Wang, Y., Fan, C., Hu, H., Li, Y., Sun, D., Wang, Y., and Peng, L. (2016). Genetic modification of plant cell walls to enhance biomass yield and biofuel production in bioenergy crops. *Biotechnol. Adv.* 34, 997–1017.

Waqas, M., Khan, A.L., Kamran, M., Hamayun, M., Kang, S.-M., Kim, Y.-H., and Lee, I.-J. (2012). Endophytic Fungi Produce Gibberellins and Indoleacetic Acid and Promotes Host-Plant Growth during Stress. *Molecules* 17, 10754–10773.

Wayne Smith C. (2004). *Corn: Origin, History, Technology and Production* (John Wiley and sons, Inc.).

Webb, M.S., and Steponkus, P.L. (1993). Freeze-Induced Membrane Ultrastructural Alterations in Rye (*Secale cereale*) Leaves. *Plant Physiol.* 101, 955–963.

Wellensiek, S.J. (1964). Dividing Cells as the Prerequisite for Vernalization. *Plant Physiol.* 39, 832–835.

Wilkinson, S., Kudoyarova, G.R., Veselov, D.S., Arkhipova, T.N., and Davies, W.J. (2012). Plant hormone interactions: innovative targets for crop breeding and management. *J. Exp. Bot.* 63, 3499–3509.

Wopereis, M.C.S., Kropff, M.J., Maligaya, A.R., and Tuong, T.P. (1996). Drought-stress responses of two lowland rice cultivars to soil water status. *F. Crop. Res.* 46, 21–39.

Yadav, R., Jain, N., Singh, G.P., Singh, S.S., and Prabhu, K.V. (2010). Wheat production in India: Technologies to face future challenges. *J. Agric. Sci.* 2, 164–173.

Yadav, S.K. (2010). Cold stress tolerance mechanisms in plants. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 30, 515–527.

- Yang, J., Zhang, J., Wang, Z., Zhu, Q., and Wang, W. (2001). Remobilization of carbon reserves in response to water deficit during grain filling of rice. *F. Crop. Res.* *71*, 47–55.
- Yano, R., Nakamura, M., Yoneyama, T., and Nishida, I. (2005). Starch-Related α -Glucan/Water Dikinase Is Involved in the Cold-Induced Development of Freezing Tolerance in Arabidopsis. *Plant Physiol.* *138*, 837–846.
- Yin, Y., Li, S., Liao, W., Lu, Q., Wen, X., and Lu, C. (2010). Photosystem II photochemistry, photoinhibition, and the xanthophyll cycle in heat-stressed rice leaves. *J. Plant Physiol.* *167*, 959–966.
- Ying, J., Lee, E.A., and Tollenaar, M. (2002). Response of Leaf Photosynthesis during the Grain-Filling Period of Maize to Duration of Cold Exposure, Acclimation, and Incident PPFD. *Crop Sci.* *42*, 1164–1172.
- Yong, W., Xu, Y., Xu, W., Wang, X., Li, N., Wu, J., Liang, T., Chong, K., Xu, Z., Tan, K., et al. (2003). Vernalization-induced flowering in wheat is mediated by a lectin-like gene VER2. *Planta* *217*, 261–270.
- Zakaria, S., Matsuda, T., Tajima, S., and Nitta, Y. (2002). Effect of High Temperature at Ripening Stage on the Reserve Accumulation in Seed in Some Rice Cultivars. *Plant Prod. Sci.* *5*, 160–168.
- van Zee, K., Chen, F.Q., Hayes, P.M., Close, T.J., and Chen, T. (1995). Cold-Specific Induction of a Dehydrin Gene Family Member in Barley. *Plant Physiol.* *108*, 1233–1239.
- de Zelicourt, A., Al-Yousif, M., and Hirt, H. (2013). Rhizosphere Microbes as Essential Partners for Plant Stress Tolerance. *Mol. Plant* *6*, 242–245.
- Zhang, D., Luo, X., and Zhu, L. (2011). Cytological analysis and genetic control of rice anther development. *J. Genet. Genomics* *38*, 379–390.
- Zhang, Q. (2007). Strategies for developing Green Super Rice. *Proc. Natl. Acad. Sci.* *104*, 16402–16409.
- Zhang, W., Wang, J., Huang, Z., Mi, L., Xu, K., Wu, J., Fan, Y., Ma, S., and Jiang, D. (2019). Effects of Low Temperature at Booting Stage on Sucrose Metabolism and Endogenous Hormone Contents in Winter Wheat Spikelet. *Front. Plant Sci.* *10*.
- Zohary, D., and Hopf, M. (2000). *Domestication of Plants in the Old World: The Origin and Spread of Cultivated Plants in West Asia, Europe, and the Nile Valley* (Oxford University Press).