

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Katedra experimentální biologie rostlin

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Eva KABILKOVÁ

Odezvy rostlin na nízké teploty, odolnost a poškození

Plant responses to low temperatures, resistance and damage

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Vedoucí práce: RNDr. Ilya Tom Prášil, CSc.

Konzultant práce: RNDr. Petra Mašková, Ph.D.

Praha, 2021

Poděkování

Ráda bych poděkovala svému školiteli RNDr. Iljovi T. Prášilovi, CSc. za odborné konzultace, podporu a trpělivost v průběhu celé doby psaní této práce. Rovněž bych chtěla poděkovat RNDr. Petře Maškové, Ph.D. za cenné rady a odborné konzultace.

Prohlášení

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

V Praze dne

.....
Podpis

ABSTRAKT

Rostliny se mohou v průběhu života setkat s mnohými stresovými faktory včetně nízkých teplot. V předložené práci jsou charakterizovány meze extrémních teplot působících na rostliny; chlad (teploty pohybující se od 0 °C až 15 °C) a mráz (teploty pod 0 °C provázené tvorbou krystalů ledu v rostlinných pletivech). Rovněž jsou uvedeny projevy poškození rostlin těmito teplotami a také nejdůležitější mechanismy odolnosti a obrany rostlin vůči těmto stresům, zejména na buněčné úrovni. Jsou zde popsány signální dráhy, které přenášejí teplotní signál a vedou k aktivaci stresových genů a některých fytohormonů (kys. abscisová, kys. salicylová, jasmonáty) a zároveň akumulaci stresových proteinů (např. anti-freezing proteins, dehydriny). Současně jsou zmíněny některé dopady klimatických změn včetně globálního oteplování na vybrané rostliny.

Klíčová slova: stres, odolnost rostlin, tolerance, nízká teplota, chlad, mráz, poškození rostlin

ABSTRACT

Plants can encounter many stressors throughout their lives, including low temperatures. This work characterizes the limits of extreme temperatures that have an effect on plants; cold (temperatures ranging from 0 °C to 15 °C) and frost (temperatures below 0 °C accompanied by ice formation in plant tissues). Consequences of plant damage caused by extreme temperatures are also given, as well as the most important plant resistance and defense mechanisms in response to these stressors, especially at the cellular level. These are temperature responding signalling transduction pathways leading to the activation of stress genes and some phytohormones (abscisic acid, salicylic acid, jasmonates), as well as the accumulation of stress proteins (e.g. anti-freezing proteins, dehydrins). At the same time, some of the impacts of climate change, including global warming, on selected plants species are mentioned.

Key words: stress, plants resistance, tolerance, low temperature, cold, frost, damage to plants

OBSAH

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	5
1 ÚVOD	6
2 ROSTLINY A STRES	7
2.1 Obranné stresové mechanismy	7
2.2 Stresová reakce.....	8
3 NÍZKÁ TEPLOTA	10
3.1 Chlad	10
3.1.1 Mechanismy tolerance rostlin k chladu	11
3.2 Mráz	11
3.2.1 Mechanismy tolerance rostlin k mrazu	11
3.3 Aklimatizace rostlin na nízké teploty	12
3.4 Percepce nízkých teplot a přenos signálu.....	13
3.4.1 Role plazmatické membrány v chladové signalizaci	13
3.4.2 Signalizace zprostředkovaná Ca^{2+}	14
3.4.3 Reaktivní formy kyslíku během signalizace NT	15
3.4.4 Chladem indukovaná signalizace zprostředkovaná CBF transkripčními faktory	15
3.4.5 Proteiny reagující na nízké teploty.....	16
3.4.6 Rostlinné hormony.....	18
3.4.7 Kompatibilní rozpustné látky.....	20
4 POŠKOZENÍ ROSTLIN VLIVEM NÍZKÝCH TEPLOT	21
4.1 Poškození chladem.....	22
4.2 Poškození mrazem.....	23
5 ZMĚNY KLIMATU	24
5.1 Poškození rostlin mrazem změnou klimatu.....	26
6 ZÁVĚR	27
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY A ZDROJE	28

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

ABA – kyselina abscisová

AFPs – anti-freezing proteins

CBF – C-repeat binding factors

COR – cold regulated proteins

CSD – cold shock domain proteins

DHNs – dehydriny

DREB – dehydration responsive element binding factors

GB – glycinbetain

IBP – ice-binding proteins

JA – kyselina jasmonová

MK – mastná kyselina

NT – nízká/é teplota/y

PM – plazmatická membrána

PSI – fotosystém I

PSII – fotosystém II

ROS – aktivní formy kyslíku

SA – kyselina salicylová

TF – transkripční faktory

1 ÚVOD

Rostliny se během svého života potýkají s nespočetným množstvím stresových faktorů neboli stresorů. Pod pojmem stresor si lze představit jakýkoliv faktor, který negativně ovlivňuje rostliny. Stresory rozděluje na abiotické a biotické. Mezi abiotické faktory patří například nízká teplota, extrémní účinky větru, nedostatek vody v půdním profilu, zasolení atd. Biotické faktory jsou představovány býložravými živočichy, patogeny nebo vzájemnou rostlinou kompeticí. Rostliny si během svého života vybudovaly mnoho mechanismů odolnosti, které jim pomáhají nepříznivé podmínky překonat. Mezi tyto mechanismy můžeme zařadit toleranci anebo avoidanci. Schopnost tolerance umožňuje rostlinám aktivně odolávat stresovým faktorům, a naopak avoidance umožňuje rostlinám se stresu vyhýbat.

Cílem této práce je představit vliv nízkých teplot na rostliny a popsat některé z mechanismů odolnosti, díky kterým se rostliny dokážou na dané teplotní podmínky aklimatizovat. Také popisují některé z vybraných složek signálních drah, které jsou nezbytné při odpovědi na nízké teploty. Mezi tyto složky můžeme zařadit například CBF chladem indukované transkripční faktory, proteiny reagující na nízké teploty, rostlinné hormony nebo kompatibilní rozpustné látky.

Nízká teplota lze z hlediska působení na rostliny rozdělit na chlad a mráz, přičemž chlad je teplota pohybující se nad bodem mrazu až k přibližně 15 °C a mráz představuje teploty pod bodem mrazu. Poškození rostlin je vlivem chladu a mrazu rozdílné. Mráz na rozdíl od chladu může způsobovat tvorbu ledových krystalů v rostlinných pletivech. Nicméně obranné mechanismy rostlin na tyto stresové faktory představují kaskády změn, které se odvíjejí v závislosti na stupňující se nízké teplotě a době jejího vystavení. Jedná se o změny, které můžeme studovat na všech úrovních organizace rostlin od molekulární biologie až po úroveň jedinců, jednotlivých druhů a jejich populací. Práce také poukazuje na vliv způsobený změnami klimatu (globální oteplování), které ovlivňují distribuci jednotlivých rostlinných druhů v rámci ekosystémů i agrosystémů a zároveň i jednotlivé rostliny, které jsou vystavovány mnohem extrémnějším teplotním podmínkám.

2 ROSTLINY A STRES

Pojmem stres se rozumí stav rostlin, při kterém jsou vystaveny určitým stresovým faktorům neboli stresorům. Stresové faktory jsou představovány nepříznivými vlivy prostředí, které většinou způsobují poškození rostlin. Tato poškození se mohou projevovat na různých úrovních rostlin, od buněčné až k organismální. Mohou zpomalovat životní funkce rostlin, poškozovat jednotlivé orgány a v neposlední řadě mohou vést až k úhynu celé rostliny. Stres je většinou navozen hned několika stresory, jedná se tedy spíše o dynamický komplex mnoha reakcí. Stresové faktory obecně klasifikujeme na abiotické a biotické, přičemž abiotické stresové faktory můžeme rozdělovat ještě na fyzikální a chemické. Mezi fyzikální faktory řadíme extrémní teploty, nadměrné záření nebo mechanické účinky větru. Naopak nedostatek vody (sucho) anebo zaplavení, nedostatek či nadbytek živin v půdě, přítomnost toxických kovů v půdě anebo zasolení řadíme pod chemické faktory (Procházka *et al.*, 1998; Kranner *et al.*, 2010). Biotické faktory odpovídají veškerým interakcím mezi organismy, jako například predace, parazitismus, kompetice a mnoho dalších (Lévêque, 2003).

Z výše uvedeného textu vyplývá, že účinky stresu jsou zejména negativní, jedná se tedy o tzv. distres. Ovšem stres může mít i stimulační vliv na rostliny, v tomto případě se jedná o tzv. eustres. Například u rostlin, které jsou vystavovány neletálním nízkým teplotám (NT) dochází k pochodům, které vedou ke zvyšování odolnosti vůči NT a rostliny jsou proti tomuto stresoru odolnější (Kranner *et al.*, 2010).

2.1 Obranné stresové mechanismy

Rostliny jsou sesilní a zejména díky tomu disponují celou řadou mechanismů odolnosti, protože nejsou schopny uniknout před býložravci ani vlivu extrémních abiotických podmínek (mráz, horko, sucho atd.). Mezi tyto mechanismy patří například produkce toxických látek, trny, které jsou určeny především k ochraně před spásáním anebo také programovaná buněčná smrt. (Freeman and Beattie, 2008; Silvertown and Charlesworth, 2009; Karabourniotis *et al.*, 2020). Základní mechanismy odolnosti rostlin jsou často rozdělovány na aktivní a pasivní zejména ve fytopatologii. Aktivní mechanismy odolnosti jsou dané syntézou indukovaných obranných látek. Obrana proti biotickým stresovým faktorům (patogenům) je spuštěna jako reakce na patogenní organismy již po pouhém kontaktu rostliny s patogenem a snaží se zabránit, popřípadě omezit jeho šíření do dalších buněk rostliny (Řepková, 2021). Pasivní mechanismy odolnosti představují trvalé bariéry, které jsou přítomny po celou dobu života rostliny, i když daná rostlina napadena být vůbec nemusí. Zároveň rostlině dodávají pevnost a tuhost. Řadíme

sem např. borku, vosky, kutikulu anebo trichomy (Freeman and Beattie, 2008; Serrano *et al.*, 2014; Levin, 2015; Matušinsky, 2019). Tyto a další struktury se dají obecně pojmenovat jako strukturní bariéry, které jsou rostlinami využívány během působení abiotických i biotických stresorů (Matušinsky, 2019). Z hlediska popisu abiotických stresorů rozdělujeme často mechanismy odolnosti na avoidanci a toleranci, protože tyto mechanismy vycházejí ze základní strategie obrany rostlin proti abiotickým stresorům, buď minimalizací stresu (strategie avoidance) nebo maximalizací odolnosti proti vlivu stresu (tj. strategie tolerance) (Puijalon *et al.*, 2011).

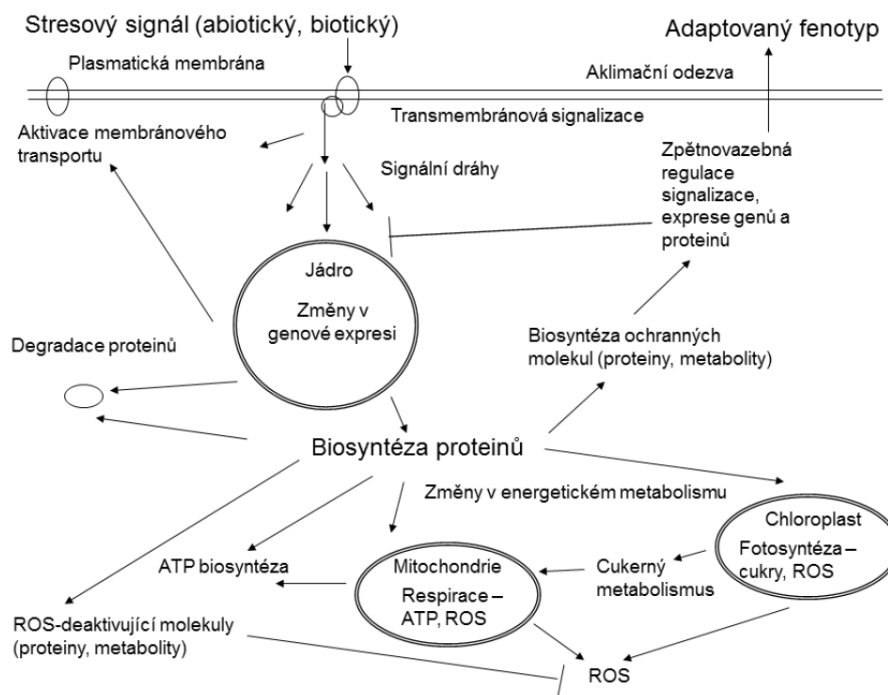
Avoidance znamená, že rostliny se stresu vyhýbají nebo oddalují jeho působení. Nepříznivé podmínky přečkávají v podobě odolných semen, které dají v následující sezóně nové generace rostlin. Dřeviny jako možný mechanismus avoidance využívají dormanci pupenů, která je doprovázena následným opadem listů. Rostliny mohou expandovat do svého okolí ovšem pouze růstem stonků a kořenů. Nicméně tyto vegetativní části rostlin rostou pomalu, tudíž je jakýkoliv únik do bezpečí neúčinný. Každopádně pokud si rostlina dokáže vybudovat rozsáhlý kořenový systém, může tak velice dobře snížit riziko, že lokální poškození povede k úhynu celého organismu (Silvertown and Charlesworth, 2009).

Tolerance je mechanismus odolnosti, který je spojován s aklimatizací, schopností přizpůsobovat se. Mechanismů tolerance, které rostlinám umožňují aktivně snášet stresové podmínky např. nízké teploty je celá řada. Jedná se například o změny ve složení fosfolipidové membrány, o akumulaci solutů nebo o akumulaci ochranných proteinů, jako jsou anti-freezing proteiny (AFPs) nebo dehydriny (DHNs) (Edrisi Maryan *et al.*, 2019; Saleem, Fariduddin and Janda, 2020; Řepková, 2021). Rostliny si mechanismy tolerance vyvinuly i na úrovni dlouhodobé (adaptace), a to díky evolučním úpravám na morfologické a fenologické úrovni (Adams, Cockshull and Cave, 2001; Wahid *et al.*, 2007). K takovýmto mechanismům patří zejména přizpůsobení rostlin na různé typy stanovišť (např. typy fixace CO₂ - CAM nebo C4 metabolismus rostlin) vytvořené na základě dlouhodobého nedostatku vody v půdním profilu (Hartzell, Bartlett and Porporato, 2018).

2.2 Stresová reakce

Stresová reakce představuje kaskádu změn, která je zahájena bezprostředně po začátku působení stresových faktorů. Jako první je takzvaná poplachová fáze, která trvá velmi krátce (v řádu minut až hodin). Během této fáze dochází k narušování struktur rostlin (buněk, pletiv atd.) i jejich funkcí, k aktivaci signálních drah až k vyvolání změn genové exprese. Vnější

stresový signál je obvykle přijímán na úrovni plazmatické membrány, kdy dochází ke změnám fyzikálně-chemických vlastností membrány (např. změna ve fluiditě) anebo může působit na membránové receptory. To má za následek aktivaci transmembránových signálních proteinů i dalších navazujících signálních drah, viz obr. 1. Při přenosu signálu spolu jednotlivé dráhy různě interagují (tzv. crosstalk) a jsou regulovány rostlinnými hormony, například kyselinou abscisovou (ABA), kyselinou jasmonovou (JA) a kyselinou salicylovou (SA). Pokud stresory působí nadále a zároveň nevedou přímo k letalitě rostlin, dochází k další fázi, která je nazývána restituční. Trvání této fáze závisí na intenzitě a druhu daného stresoru, proto se pohybuje v řádech dnů až týdnů. Při restituční fázi dochází k mobilizaci kompenzačních mechanismů, což vede až k fázi rezistence. Fáze restituční je charakteristická změnami v biosyntéze různých proteinů a metabolitů, které vedou ke zvyšování stresové tolerance. Můžeme sem zařadit proteiny s ochrannou funkcí (např. AFPs, chaperony), proteiny vázající vodu a udržující hydrataci buněk (velká skupina LEA proteinů, kam patří dehydriny) anebo proteiny spojované s ochranou proti patogenům (pathogenesis-related, PR). Rezistenční fáze zahrnuje již plně přizpůsobený fenotyp rostliny na daný stresový faktor, který je adaptovaný na stávající podmínky prostředí. Pokud ovšem stresory působí dlouhodobě a intenzivně, může dojít až k fázi vyčerpání, při které rostliny již nejsou schopny energeticky udržovat zvýšenou toleranci vůči stresu (Larcher, 2003; Krugman *et al.*, 2011; Hnilička *et al.*, 2016).



Obr. 1: Zobecněné schématické znázornění stresové odezvy rostlin na buněčné úrovni. Lze vidět, že proteiny hrají významnou roli ve všech fázích stresové reakce rostlin. Jsou významnou součástí při utváření výsledné fenotypové podoby během působení stresového faktoru, kdy propojují odezvu

na úrovni proteinů, transkriptů a také metabolitů. Převzato od Hnilička *et al.* (2016).

3 NÍZKÁ TEPLOTA

Teplota je faktor velice variabilní, protože se mění s ročními obdobími a také vykazuje cirkadiánní rytmicitu (střídání nízkých teplot během noci, a naopak vyšších teplot za denního světla). Extrémní teplotní změny u rostlin mohou vést k dopadu na celou řadu fyziologických procesů od zhoršení fotosyntézy až k destabilizaci proteinových komplexů (Ruelland and Zachowski, 2010). Změna teploty nemusí být nutně pro rostlinu jen nepříznivá. Napomáhá rovněž k denní synchronizaci a hraje roli ve vnitřních hodinách rostliny (Thines and Harmon, 2010). V neposlední řadě změna teplot může regulovat pohyby rostlin jako otevírání a zavírání květů (van Doorn and van Meeteren, 2003).

Teplotní stres má takzvanou prahovou hodnotu, což je označení pro denní průměrnou teplotní hodnotu, při které je zjištěn snížený růst rostlin. Spodní prahová hodnota je taková hodnota, které když rostliny dosáhnou, zastaví se jejich růst i vývoj. Obecně se jedná o 0 °C v chladném období (Miller, Lanier and Brandt, 2001). Obdobně je tomu i pro horní prahovou hodnotu, o kterou se jedná tehdy, když jsou rostliny vystavovány teplotám o 5 °C vyšším, než jsou jejich optimální teplotní podmínky (Guy, 1999).

Obecně můžeme nízkou teplotu rozdělit na chlad a mráz, přičemž oba tyto faktory mohou vyvolávat stresové reakce u rostlin a zároveň je mohou negativně ovlivňovat z hlediska růstu i jejich produktivity (Guo, Liu and Chong, 2018). Rostliny z hlediska citlivosti k nízkým teplotám byly rozděleny do tří kategorií, 1) citlivé na chlad, 2) tolerantní k chladu, ale citlivé na mráz a 3) tolerantní k mrazu, mrazuvzdorné (Saleem, Fariduddin and Janda, 2020). Do první skupiny patří rostliny, u kterých dochází k poškození, popřípadě k nekróze již po krátké době, kdy jsou vystaveny chladným teplotám. Jedná se např. o kukuřici (*Zea mays*), rýži (*Oryza sativa*) nebo rajčata (*Solanum lycopersicum*). Do druhé skupiny můžeme zařadit například fazol (*Phaseolus* sp.), ale obecně se v našich zeměpisných šířkách jedná o rozsáhlou skupinu rostlin – letniček, které hynou při teplotách pohybujících se kolem bodu mrazu. Mrazuvzdorné rostliny, v našich zeměpisných šířkách, jsou přezimující byliny a dřeviny, které jsou schopné přežít teploty pod bodem mrazu, extrémně i pod -40 °C (Rihan, Al-Issawi and Fuller, 2017).

3.1 Chlad

Chlad definujeme jako teplotu, která se pohybuje nad bodem mrazu, v rozmezí od 0 °C do přibližně 15 °C. Rostliny citlivé na chlad jsou zejména takové rostliny, které pocházejí původně z teplejších klimatických oblastí, kde se s nízkými teplotními podmínkami příliš

nesetkávají. Mezi tyto rostliny můžeme zařadit kromě výše zmíněných i teplomilné druhy zeleniny, například okurku (*Cucumis sativus*). Jejich citlivost na chlad se projevuje jak na úrovni generativních orgánů (květ a jeho části, plody), tak i na úrovni vegetativních orgánů (list, stonek a kořen) (Procházka *et al.*, 1998). I rostliny, které se vyskytují v chladnějších oblastech, mohou být citlivé na nízké teploty. Projevy jsou zřejmé na květních orgánech v raném stádiu jejich vývoje. Vegetativní orgány v tomto případě nejsou citlivé na chlad. Mezi takové rostliny se řadí například ovocné stromy, kam patří hrušeň (*Pyrus communis*) nebo kdouloň (*Cydonia oblonga*) (Nečas, 2010).

3.1.1 Mechanismy tolerance rostlin k chladu

Stres způsobený chladem dovede většina rostlin překonávat, a to zejména díky mechanismům tolerance, které jim umožňují eliminovat poškození způsobené tímto stresorem (Somerville, 1995). Obecně se jedná o výsledek velmi komplexních změn, kam řadíme fyziologické úpravy spojené s indukcí exprese genů, změny ve složení lipidů a bílkovin, akumulace proteinů reagujících na nízké teploty např. DHNs, akumulace fytohormonů například kys. abscisové, kys. jasmonové nebo kys. salicylové a také zvýšené koncentrace některých metabolitů, například osmoticky aktivních látek (cukrů) a antioxidantních látek, jako je glycinbetain (Arias *et al.*, 2015). Jednotlivé mechanismy percepce a přenosu signálu jsou více popsány v kapitolách 3.4.1-3.4.7.

3.2 Mráz

Pojem mráz lze definovat jakožto teplotu pohybující se pod hodnotou 0 °C. V přírodních podmínkách prostředí je pokles teplot poměrně pozvolný. Jedná se o řády jednotek stupňů Celsia za hodinu. Během mrazu dochází v rostlinách k tvorbě ledových krystalů, které mohou rostliny značně poškodit, pokud k jejich tvorbě dochází uvnitř buněk (intracelulárně). Při extracelulárním mrznutí dochází také ke ztrátám vody z buněk a může dojít i k poškození rostliny dehydratací. K odumření rostliny vlivem mrazu může dojít v případech výrazného poklesu teplot za velmi krátkou dobu, kdy voda zmrzne uvnitř buněk anebo když mráz zasáhne rostliny, které nejsou k mrazovým podmínkám přizpůsobené (Procházka *et al.*, 1998).

3.2.1 Mechanismy tolerance rostlin k mrazu

Tolerance mrazu rostlinami podobně jako tolerance chladu je umožněna změnami v genové expresi, které jsou ovlivněny nízkou teplotou. Dochází k využívání stejných nebo podobných kaskádních změn (signálních drah), jakožto odpověď na stresor. Během toho

dochází u rostlin ke změnám na fyziologické, metabolické a biochemické úrovni (Ouellet and Charron, 2013; Edrisi Maryan *et al.*, 2019; Saleem, Fariduddin and Janda, 2020). Rovněž dochází k omezení či zastavení růstu, snížení obsahu vody v rostlinných pletivech a v neposlední řadě dochází k akumulaci osmolytů (např. cukrů, glycinbetainu nebo prolinu) (Xin and Browse, 2000).

Obecně rozlišujeme dva mechanismy, jak se rostliny brání proti mrazu. Jedná se o zamezení mrznutí vody a o toleranci zmrzlé vody v rostlině (Wisniewski, Gusta and Neuner, 2014). K zamezení mrznutí dochází povětšinou při tepelné izolaci rostlinných orgánů, kdy dojde k podchlazení vody pod bod mrazu, ale bez vzniku ledových krystalů. Příkladem takových orgánů mohou být květní části chráněné šupinami pupenů, které jsou citlivé na vymrzání (Arias *et al.*, 2015). Oproti tomu tolerance k extracelulárnímu mrznutí vody je spojena s biochemickými mechanismy, které umožňují regulovat tvorbu krystalů ledu v rostlinných strukturách a zároveň tolerovat buněčnou dehydrataci. Odolnost rostlin vůči mrazu spočívá ve schopnosti dlouhodobě snášet tvorbu ledových krystalů v extracelulárním prostoru rostlinných buněk spolu s odolností proti dehydrataci protoplastu (Hoermiller, Ruschhaupt and Heyer, 2018).

Schopnost rostlin tolerovat mráz je doprovázena určitými strukturálními rysy rostlin, jako je zmenšení mezibuněčných prostor, díky kterým dochází ke snížení obsahu vody v apoplastu. Během indukce tolerance mrazu je nezbytné utlumení všech buněčných funkcí, aby rostlina dosahovala co nejvyšší odolnosti. Zároveň dochází k již zmiňované dehydrataci a aktivaci ochranných mechanismů (Wisniewski, Gusta and Neuner, 2014; Arias *et al.*, 2015; Hoermiller, Ruschhaupt and Heyer, 2018).

Schopnost tvořit sklo místo krystalů ledu (proces vitifikace) v rostlinných buňkách je taktéž důležitým mechanismem tolerance rostlin. Takzvané sklo je kapalina s viskozitou pevné látky a rostliny jej využívají jako kryoprotektivní strategii. Tato strategie hraje důležitou roli v mrazuvzdornosti rostlin (dřevin, pupenů, semen), které čelí silným nízkým teplotám a jsou přitom silně dehydratovány. Jedná se například o pupeny topolu (*Populus*) anebo břízy (*Betula*), přičemž vitifikace zabraňuje tvorbě intracelulárních krystalů ledu při teplotách pohybujících se kolem $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ a níže (Hirsh, 1987; Steponkus, 1992).

3.3 Aklimatizace rostlin na nízké teploty

Aklimatizace rostlin k nízkým teplotám probíhá již během teplot, které se pohybují značně nad bodem mrazu (přibližně $15\text{ }^{\circ}\text{C}$) (Pearce *et al.*, 2013; Rihan, Al-Issawi and Fuller,

2017). V přirozených podmínkách dochází k aklimatizaci během podzimu, kdy se snižují postupně teploty a také dochází ke zkracování dnů (fotoperiody). K maximální indukci (zvýšení) mrazové tolerance dochází v zimě, kdy teploty klesají pod bod mrazu. Tolerance na nízké teploty se také snižuje, a to naopak s příchodem teplejších podmínek (s příchodem jara) (Ouellet and Charron, 2013). Již při teplotách pohybujících se od -1 do -3 °C voda začíná v rostlinách mrznout. Aby k mrznutí nedocházelo, začnou se hromadit kompatibilní rozpustné látky a napomáhají tak ke snižování bodu tuhnutí vody v rostlinách (Ouellet and Charron, 2013).

Hranice tolerance u rostlin se dá měřit stanovením LT50, což je letální teplota, kdy dojde k odumření 50 % jedinců. Na úrovni pletiv rostlin se jedná o ztrátu 50 % elektrolytů z rostlinných pletiv po vystavení rostlin nízkým teplotám. Jak již bylo řečeno, rostliny se s příchodem chladnějších teplot aklimatizují a LT50 se postupně snižuje (Griffith and Yaish, 2004). Ke snižování hranice LT50 napomáhají například anti-freezing proteiny, které svým působením snižují LT50 u rostlin, např. žita setého (*Secale cereale*) o 2,5 °C, díky čemuž jsou tyto rostliny tolerantnější na nižší teploty (Pihakaski-Maunsbach *et al.*, 2003).

3.4 Percepce nízkých teplot a přenos signálu

Receptory NT se u rostlin nachází na plazmatické membráně, jelikož tvoří obal ohraničující protoplast buněk od vnějšího extracelulárního prostředí. Signál je dále přenášen signálními dráhami na jednotlivé komponenty signálních drah, aby byla odpověď na stresor co nejrychlejší (Kazemi-Shahandashti and Maali-Amiri, 2018). Reakce na NT jsou často zapojeny do odpovědi současně, protože signální dráhy mohou vést až k jádru rostlinné buňky, kde dochází ke změnám v genové expresi, což způsobuje biosyntézu proteinů podílejících se na toleranci nízké teploty, viz obr. 1. Společně s proteiny jsou do přenosu signálu a schopnosti tolerovat NT zapojovány i fytohormony, kompatibilní rozpustné látky (cukry, glycinbetain atd.), reaktivní formy kyslíku (ROS) anebo vápenaté ionty (Ca^{2+}), které budou blíže popsány v následujících kapitolách 3.4.1- 3.4.7 (Yamaguchi-Shinozaki and Shinozaki, 2006; Hnilička *et al.*, 2016). Z toho vyplývá, že přenos signálu během působení nízkých teplot je rozsáhlý komplex obsahující mnoho komponentů, které se do odpovědi na stres nízkou teplotou zapojují, a proto uvádím jen některé z nich.

3.4.1 Role plazmatické membrány v chladové signalizaci

Plazmatická membrána (PM) je tvořena proteiny a lipidy a její funkce spočívá hlavně v bariéře, která odděluje vnitřní prostředí buňky od vnějšího a také se aktivně podílí na

procesech membránového transportu i na signální transdukcii, díky receptorům, které jsou na membráně přítomné (Alberts *et al.*, 2002; Maxfield, 2002). Nejvíce vyskytující se membránové lipidy jsou fosfolipidy, které jsou složeny ze dvou částí (polární a nepolární). Polární část fosfolipidu je tvořena skupinou – fosfát a glycerol (popřípadě další částí např. cholin). Uhlovodíkové řetězce (nepolární část fosfolipidů) jsou tvořeny mastnými kyselinami (MK), kdy jeden typ MK má jednu i více dvojných vazeb (nenasyčené MK). Druhý typ MK neobsahuje dvojně vazby (nasyčené MK). Tato skutečnost je pro fosfolipidy velice důležitá, protože ovlivňuje jejich shlukování za nízké teploty a tím tekutost membrán (Alberts *et al.*, 2002). Rostliny, které jsou citlivé na chlad, mají v membránách vyšší podíl nasyčených mastných kyselin, díky kterým je jejich přechodová teplota vyšší. Naopak rostliny, které jsou více přizpůsobeny podmínkám nízkých teplot, chladu i mrazu, mají v plazmatické membráně větší podíl nenasycených mastných kyselin, a proto je jejich přechodová teplota nižší než u rostlin citlivých na NT (Uemura and Steponkus, 1994; Yadav, 2010).

3.4.2 Signalizace zprostředkovaná Ca^{2+}

Stres spojený s nízkou teplotou způsobí gelovatění membrán, následuje reorganizace cytoskeletu a také dochází k změnám v koncentraci cytosolického vápníku (Ca^{2+}) (Conde, Chaves and Gerós, 2011). Cytosolický vápník působí v rostlinných buňkách jako druhý posel, který spojuje rozsáhlou škálu stimulů z extracelulárního prostředí s intracelulárními odpověďmi (DeFalco, Bender and Snedden, 2009). Senzory Ca^{2+} charakterizované v rostlinách jsou kalmodulin (CaM), proteiny podobné CaM (CML), proteiny podobné kalcineurinu B (CBL) (Cho *et al.*, 2016) a proteinové kinázy interagující s CBL (CIPK), které jsou také označovány jako kalcium-dependentní protein kinázy neboli CDPK (Bouché *et al.*, 2005). Během NT dochází ke zvyšování Ca^{2+} u huseníčku (*Arabidopsis thaliana*) i vojtěšky (*Medicago sativa*) zejména díky přílivu Ca^{2+} z extracelulárních zásob i z endoplazmatického retikula a vakuoly (Conde, Chaves and Gerós, 2011). Tento proces může stimulovat signální dráhy mitogenem aktivované proteinkinázy (MAPK), které vedou k fosforylaci transkripčních regulátorů (Conde, Chaves and Gerós, 2011). Právě výše uvedené proteiny jsou spolu s vápníkem spouštěči proteinkinázy, která je zodpovědná za fosforylaci. Proteiny vázající vápník reagují na změnu hladiny cytosolického vápníku a v závislosti na něm mění svoji konformaci, což umožňuje interakci s jinými proteiny spouštějící fosforylační kaskádu. Díky tomuto procesu se nakonec aktivují exprese genů, které jsou důležité při odpovědi rostliny na stresový podnět (Mahajan and Tuteja, 2005; Yamaguchi-Shinozaki and Shinozaki, 2006; Yadav, 2010). Například u huseníčku dochází k indukci dráhy CBF (C-repeat binding factors)

a genů *CBF1-CBF3*, kdy CAMTA (kalmodulin-vázající transkripční aktivátory), konkrétně CAMTA3 pozitivně reguluje expresi *CBF2*, což je kódující transkripční faktor (TF), který se podílí na aklimatizaci rostlin během NT (Doherty *et al.*, 2009; Conde, Chaves and Gerós, 2011).

3.4.3 Reaktivní formy kyslíku během signalizace NT

Molekuly ROS (např. superoxid nebo peroxid vodíku) způsobují u rostlin oxidační stres, ale mimo to hrají i klíčovou roli jakožto molekuly signální transdukce zapojené do odpovědi na stres včetně NT (Suzuki and Mittler, 2006). V produkci ROS hrají klíčovou roli NADPH oxidázy (RBOH, respiratory burst oxidase homologues), které jsou u huseníčku zastoupeny multigenní skupinou (*AtRBOHA-AtRBOHJ*) (Baxter, Mittler and Suzuki, 2014). Mittler *et al.* (2011) ukázali, že RBOHD je nezbytná pro zahájení rychlého šíření signálu z buňky do buňky, který je závislý na akumulaci H_2O_2 (peroxid vodíku) v extracelulárních prostorech pro tvorbu tzv. vlny ROS (Baxter, Mittler and Suzuki, 2014). Stimulace pletiv rostlin NT může vést k zvýšené koncentraci Ca^{2+} přílivem z extracelulárních prostor přes PM, což je pro aktivaci enzymu RBOHD nezbytné (Monshausen *et al.*, 2009). Dále PLD α 1 (fosfolipáza D alfa 1) a její produkt vzniklý štěpením membránových lipidů PA (kyselina fosfatidová) hrají nedílnou součást v produkci ROS v buňkách prostřednictvím RBOHD a RBOHF (Ogasawara *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2009). Obecně lze tedy říct, že ROS fungují v rostlinách jako přenašeče primárního signálu a signalizují výskyt abiotického stresu (Baxter, Mittler and Suzuki, 2014).

3.4.4 Chladem indukovaná signalizace zprostředkovaná CBF transkripčními faktory

Rostliny při působení nízkých teplot také aktivují expresi řady genů, které jim umožňují lépe snášet stresové podmínky (Saleem, Fariduddin and Janda, 2020). Vysoce exprimované geny reagující na NT jsou geny *COR* (cold regulated), které jsou mnohdy také označovány jako *LTI* (low temperature induced), *ERD* (early dehydration inducible) nebo *KIN* (cold inducible) podle Thomashow (1998). V novějších publikacích lze nalézt i označení *RAB*, což jsou geny reagující na kyselinu abscisovou (Ruelland *et al.*, 2009).

Při indukci *COR* genů se významně uplatňuje cesta řízená transkripčními faktory CBF (C-repeat binding factors), které jsou také známé jako DREB (dehydration responsive element binding) transkripční faktory. U rostlin huseníčku byla identifikovaná genová rodina *CBF1*, *CBF2* a *CBF3*, které se také označují *DREB1b*, *DREB1c* a *DREB1a*, a tyto TF hrají roli v aklimatizaci rostlin na nízké teploty a také v toleranci na mráz (Gilmour *et al.*, 1998). Exprese genů *CBF/DREB1* je řízena regulačními faktory ICE1 (inducer of CBF expression 1), transkripčními faktory typu MYC BHLH (basic helix-loop-helix) (Chinnusamy *et al.*, 2003).

Transkripční faktory CBF/DREB1 u huseníčku se váží na specifické regulační sekvence v promotorové oblasti genů, které obsahují vysoce konzervovanou 5-bp sekvenci CCGAC. Ta rozpoznává TF indukované nízkou teplotou, a tak indukuje expresi genů, které reagují na chlad, např. *COR* genů, a dehydrataci rostlin (Gao, Chao and Lin, 2007; Mizoi, Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2012). *COR* proteiny mimo jiné ovlivňují i metabolismus rostlin nebo stabilitu proteinů (Lee, Henderson and Zhu, 2005). Jejich indukce způsobená nízkou teplotou je velmi rychlá a pohybuje se v rozmezí od minut do několika hodin (Thomashow, 1999). Například u huseníčku *COR15a* posiluje rezistenci chloroplastů na chlad a také pomáhá stabilizovat poranění chloroplastových membrán způsobených mrazem, a to změnami kompozice membránových lipidů, díky čemuž k dalším poškozením nedochází (Thalhammer *et al.*, 2014).

3.4.5 Proteiny reagující na nízké teploty

Změny v genové expresi jsou nezbytné pro regulaci a udržování aklimatizace na nízké teploty. Změna genové exprese může být dána i změnou epigenetickou, například metylací DNA. Metylace DNA zajišťuje stabilitu DNA a je součástí časně reakce rostlin na stres způsobený nízkou teplotou. Kromě metylace DNA dochází ke změnám exprese mnoha genů včetně upregulace ochranných proteinů jako jsou led vázající proteiny (IBP), proti-mrznoucí proteiny (AFPs), dehydriny (DHNs) anebo proteiny s doménou tepelného šoku (CSD) (Kovalchuk *et al.*, 2003; Bredow and Walker, 2017).

Ice-Binding proteins (IBP) slouží k regulaci rychlosti růstu ledových krystalů v rostlinných pletivech, což je známo jako inhibice rekrytalizace ledu (IRI), a tím snižují nebezpečí poškození pletiv způsobené většími krystaly ledu. IBP tvoří řada proteinů označovaných jako AFPs anebo IRI proteiny (Bredow and Walker, 2017). Rozdíl mezi IBP a AFPs spočívá zejména v tom, že IBP se podílejí na odolnosti rostlin proti mrazu a jeho toleranci, ale už nezabraňují zamrznání vody v rostlinných pletivech, jako je tomu u AFPs. Anti-freezing proteiny mimo schopnosti inhibovat rekrytalizaci ledu snižují i iniciaci ledových krystalů neboli zamrznání vody v rostlinných pletivech (Davies, 2014). Struktura IBP je zodpovědná za organizaci molekul vody do krystalické mřížky, vytvořením jakýchsi vodních klecí okolo methylových zbytků (Walker *et al.*, 2015). Vlastnosti IBP tedy určují, jak budou molekuly vody uspořádány společně s tím, která rovina krystalu ledu bude vázána (Bredow and Walker, 2017).

Anti-freezing proteins (AFPs) jsou proteiny o velikosti od 16kb do 36kb. Většina z nich je homologní s proteiny, které se účastní odpovědi na přítomnost patogenu (PR) a vyskytují se

v extracelulárním prostoru. Dva typy proteinů AFPs byly izolovány z rostlin jako endochitináza, další dva jako β -1,3-glukanáza a zbylé dva jsou podobné thaumatinu (Griffith and Yaish, 2004).

Psychrofilní patogeny velice dobře prosperují na rostlinách, které se vyskytují pod sněhem, protože teplota je zde téměř konstantní a také je zde vysoká vlhkost. Pro rostliny, které jsou patogeny napadeny, je obtížné de novo zahájit obranu při teplotách pod bodem mrazu. Ale díky AFPs, které vykazují hydrolytické a antifungální aktivity a také aktivity vázání ledového krystalu, jsou rostliny schopné těmto psychrofilním patogenům odolávat. Proto rostliny aklimatizované na nízké teploty dosahují i vyšší odolnosti vůči poranění a patogenům působící pod sněhem (Tronsmo, 1993; Hiilovaara-Teijo *et al.*, 1999).

Hlavní schopnost AFPs spočívá v teplotní hysterezi. To znamená, že dokážou snižovat bod tuhnutí vody, pokud jsou již v rostlině přítomny ledové krystaly. AFPs zabraňují drobným ledovým krystalům splývat do větších (rekrytalizace) a zároveň kontrolují velikost těchto krystalů, díky čemuž nedochází v rostlinných buňkách k mechanickému poškození (Barrett, 2001; Saleem, Fariduddin and Janda, 2020). Dříve než dojde k vazbě AFPs na ledové krystaly, je důležité rozpoznat místo na krystalu, které je vhodné pro vazbu AFPs na rozhraní IBS-led (ice-binding site). Proti-mrznoucí proteiny pomalou difuzí dosahují určité orientace vzhledem k ledovým krystalům nejčastěji pod úhly 0°, 60° a 120°. Jakmile AFPs naleznou vhodnou orientaci, dochází k vazbě na rozhraní ledového krystalu. K vazbě AFPs na krystal ledu rovněž napomáhají thyminové opakující se domény v molekule AFPs, které zastávají při vazbě na krystal roli hydroxylových a methylových skupin. Vazba anti-freezing proteinů je tedy kooperativní proces, při kterém přilnou k povrchu krystalu všechny zbytky thyminu a vytvoří tak vodíkové vazby, přes které se AFPs mohou vázat na ledové krystaly a současně poskytovat následnou inhibici ledových krystalů (Hudait, Moberg, *et al.*, 2018; Hudait, Odendahl, *et al.*, 2018; Vance *et al.*, 2019).

Dehydriny (DHNs) se považují za stresové proteiny, jejichž role spočívá zejména v ochraně rostlinných buněk před dehydratací způsobenou různými stresovými faktory, tedy i NT (Edrisi Maryan *et al.*, 2019). Jsou složeny ze tří vysoce konzervativních domén, kterými jsou: K-segment nacházející se jako jediný z domén ve všech dehydrinech v jedné nebo více kopiích. Y-segment obvykle se nacházející na N-konci peptidu popřípadě polypeptidu v 1-3 kopiích a jako poslední S-segment bohatý na Serin (Ser) (Puhakainen *et al.*, 2004). Pro tvorbu dehydrinů je důležitý fytohormon kyselina abscisová (ABA). Po vystavení rostlin stresu se zvýší koncentrace ABA v rostlině a díky tomu i tvorba DHNs (Tiwari *et al.*, 2019). Způsob,

jakým dehydriny chrání jednotlivé složky protoplastu před dehydratací, není zcela jednoznačně objasněný. Například u dehydrinu WCOR410 u pšenice seté (*Triticum aestivum*) dochází k nahromadění v blízkosti plazmatické membrány. Dehydrin LTI29 u huseníčku byl lokalizován v cytosolu, plazmatické membráně, plastidovém obalu i v tonoplastu, a po působení chladu se jeho hromadění zvyšuje v okolí membrán. Dehydriny tudíž působí jakožto ochrana struktury membrán (Danyluk *et al.*, 1998; Puhakainen *et al.*, 2004) a kromě stabilizace membrán se DNHs podílejí i na ochraně enzymů a nukleových kyselin obsažených v rostlinných buňkách (Graether and Boddington, 2014).

Cold shock domain proteins (CSD) jsou proteiny s vysoce konzervovanou doménou vázající se na nukleové kyseliny (RNA, ssDNA a dsDNA), které se nachází kromě rostlin i u bakterií a živočichů (Chaikam and Karlson, 2010). Hlavní funkce CSD byla ukázána na WCSP1 proteinu jakožto chaperonu RNA, který stabilizuje struktury RNA během aklimatizace na chlad (Sasaki, Kim and Imai, 2013). První CSD protein byl studován na pšenici (WCSP1), přičemž *WCSP1* mRNA je modulována jen chladem, nikoliv jinými stresory. U huseníčku byly identifikovány čtyři CSD (AtCSP1 – AtCSP4), přičemž AtCSP3 je pro huseníček nezbytný při získání tolerance vůči nízkým teplotám (Kim, Sasaki and Imai, 2009).

3.4.6 Rostlinné hormony

Fytohormony jsou velmi důležitými regulátory při růstu a vývoji rostlin a také se účastní odpovědi na stres (Hasanuzzaman *et al.*, 2013). Signální kaskády, které jsou spuštěny jako reakce na stres, indukují změnu v expresi genů, které se podílejí na syntéze hormonů, jako jsou například kyselina abscisová, kyselina salicylová, kyselina jasmonová anebo ethylen (Mahajan and Tuteja, 2005; Yadav, 2010; Hu *et al.*, 2017). Výše zmiňované fytohormony často společně interagují za účelem umožnění co nejlepší odpovědi na stres způsobený nízkými teplotami (Hu *et al.*, 2017).

Kyselina abscisová (ABA) je jedním z rostlinných hormonů, který je velice důležitý při obraně i odpovědi na stres. Působí jako endogenní induktor transkripčních faktorů během stresu a také jako induktor obranných reakcí, čímž napomáhá k toleranci stresorů (Sah, Reddy and Li, 2016). Během stresu je hladina ABA mnohem vyšší, a napomáhá tak zlepšit aklimaci rostlin na abiotické faktory (Tuteja, 2007). Při zvýšení koncentrace ABA dochází ke snížení stomatální vodivosti (Vishwakarma *et al.*, 2017). Metabolismus kyseliny abscisové je řízen u huseníčku genem *CYP707A* a jeho exprese je spuštěna ve svěracích buňkách průduchů (Okamoto *et al.*, 2011). Kyselina abscisová stimuluje průduchy k uzavírání, a tím vede i ke snížení fotosyntézy

a transpirace. Tento proces vede ke snižování ztrát vody během působení nepříznivých stresorů. Snižování ztrát vody je nezbytné i během působení NT, protože může docházet k poškození rostlinných částí, např. prýtlů a kořenů, a tím příjmu vody či jejího transportu v nadzemních částech rostlin. Rostliny tak následně odumírají kvůli nedostatku vody (Kim *et al.*, 2010; Mittler and Blumwald, 2015). ABA plní důležitou roli i při indukci exprese mnoha genů, které jsou rovněž zásadní při stresových reakcích a při toleranci na stres způsobený nízkými teplotami (Fujita *et al.*, 2011).

Kyselina salicylová (SA) je další ze skupiny rostlinných hormonů reagujících na NT. SA hraje důležitou roli ve zlepšení rychlosti fotosyntézy během NT a také v obsahu pigmentů u rostlin ve stresových podmínkách (Hayat *et al.*, 2006; Saleem, Fariduddin and Janda, 2020). Dalším příkladem využití kyseliny salicylové je, že při vyšší koncentraci zabraňuje peroxidaci lipidů, čímž zabraňuje degradaci membrán, díky čemuž udržuje celkovou strukturu rostlinné buňky také za stresu NT (Siboza, Bertling and Odindo, 2014). Hladina kyseliny salicylové je regulována chemickými modifikacemi. Tyto modifikace produkují neaktivní formy SA, jako je například kyselina methylsalicylová (MeSA), glukosylester kyseliny salicylové (SGE) nebo methylester O- β -glukosidu kyseliny salicylové (MeSAG), které jsou uloženy v buňce až do okamžiku potřeby generování odpovědi na stres zprostředkované SA (Saleem, Fariduddin and Janda, 2020). Glykosylace SA je zprostředkována aktivitou UDP-glukosyltransferázových enzymů UGT74F1 a UGT74F2, které jsou lokalizované v cytosolu a indukované právě SA (Park *et al.*, 2017).

U melounu vodního (*Citrullus lanatus*) bylo dokázáno, že aplikace SA napomáhá k lepší odolnosti vůči NT a zároveň je to látka, která zlepšuje růst rostliny během chladu (Sayyari *et al.*, 2013; Cheng *et al.*, 2016). U révy vinné (*Vitis vinifera*) bylo prokázáno, že SA hraje klíčovou roli při zmírnění dopadu NT, a to snížením membránové permeability a také peroxidace membránových lipidů, díky čemuž udržuje nepoškozenou strukturu rostlinné buňky (Wang and Li, 2006). Udržování tvaru buňky za nízkých teplot může být způsobeno vlivem SA na složení a poměr MK v membránách (Ahmad and Prasad, 2011; Siboz, Bertling and Odindo, 2014; Saleem, Fariduddin and Janda, 2020).

Kyselina jasmonová (JA) také patří do skupiny fytohormonů, které reagují na stres způsobený nízkými teplotami a zvyšují odolnost rostliny. Bylo prokázáno, že ovlivňují pozitivně transkripční regulační kaskádní dráhu ICE-CBF (inducer of CBF expression) za účelem zvýšení tolerance vůči NT (Hu *et al.*, 2013; Zhu, 2016). Tato tolerance spočívá v akumulaci kryoprotektivních sloučenin, jako jsou například antokyany (Hu *et al.*, 2017). Biosyntéza

kyseliny jasmonové je aktivovaná enzymem allenoxidcykláza. Dle Goulas *et al.* (2006) dochází až k 19x násobnému zvýšení proteinu allenoxidázycyklázy 2 (AOC2) ve svěracích buňkách proteinů, které jsou vystaveny nízkým teplotám po dobu deseti dnů. Exogenní aplikace MeJA (methylester JA) zvyšuje přežití chladu u sazenic rýže a zároveň se jeho množství během stresu způsobeného nízkou teplotu zvyšuje (Lee, Lur and Chu, 1997). Také dochází k upregulaci několika genů, které souvisejí s biosyntézou JA, jedná se o *OsLOX2*, *OsAOC*, *OsAOS1* a *OsAOS2* (Du, Liu and Xiong, 2013). U několika druhů subtropického a tropického ovoce: banánovník (*Musa sp.*), mangovník (*Mangifera sp.*), papája obecná (*Carica papaya*) a hruškovec přelahný (*Persea americana*) bylo prokázáno, že jasmonáty vedou k větší toleranci na nižší teploty. Například u banánovníků po jejich aplikaci dochází k toleranci teplot, které se pohybují okolo 7 °C, a díky tomu lze toto ovoce skladovat (Zhao *et al.*, 2013; Hu *et al.*, 2017).

3.4.7 Kompatibilní rozpustné látky

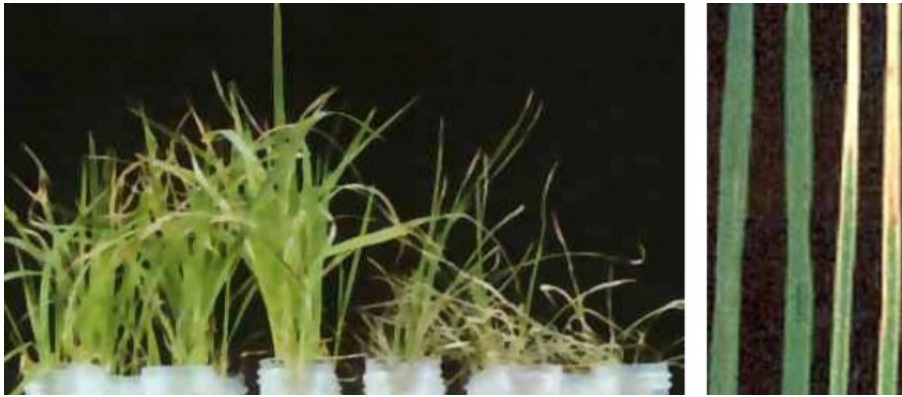
Kompatibilní rozpustné látky označované také jako osmolyty nebo soluty jsou organické molekuly s nízkou molekulární hmotností hromadící se i při stresu způsobeném nízkými teplotami, nedostatkem vody nebo při osmotickém stresu (zasolení). Tyto látky nepůsobí ani při vysokých koncentracích žádné negativní metabolické účinky (Ruelland *et al.*, 2009), naopak hrají zásadní roli při regulaci množství vody v buňce. Byly identifikovány různé osmoprotektanty jako rozpustné sacharidy, glycinbetain (GB), prolin, a další. Kromě již zmiňované regulace osmotických poměrů v buňce zastávají roli při udržování integrity membrán nebo při zhášení reaktivních forem kyslíku (Verbruggen and Hermans, 2008). U rostlin se během nástupu nízkých teplot zvyšuje obsah cukrů. K jejich akumulaci dochází během tzv. aklimatizace na nízké teploty (Siminovitch, 1981). Bylo prokázáno, že existuje mnoho druhů rozpustných sacharidů, které se účastní aklimatizace rostlin na nízké teploty. Jedná se například o sacharózu, hexózu (Paul, Driscoll and Lawlor, 1991) a o oligosacharidy rafinóзовé řady (např. rafinózu a stachyózu), které se hromadí zejména u dřevin (Sauter, Wisniewski and Witt, 1996). Tyto látky slouží jako osmoprotektanty a také zastávají roli při ochraně buněčných membrán tím, že zabraňují nadměrné dehydrataci membrán snížením gradientu osmotického potenciálu. Díky tomu dochází k vyrovnání osmotického účinku mezi ledem v apoplastickém prostoru rostlin a protoplastem (Shao *et al.*, 2006; Korn *et al.*, 2008). Cukry fungují také jako živiny, protože jsou zdrojem uhlíku a energie, a rostlinám tak napomáhají přežít nízké teploty a rovněž zotavení z mrazového stresu (Yuanyuan *et al.*, 2009).

Prolin rovněž působí jako regulátor osmotických poměrů v buňce. Prolin hraje roli při udržování integrity membrán nebo při zhášení reaktivních forem kyslíku (Verbruggen and Hermans, 2008). Mimoto vykazuje i aktivitu podobnou chaperonu, která udržuje celistvost a fungování různých enzymů a proteinů. Indukce syntézy prolinu je zajišťována kyselinou salicylovou (Saleem, Fariduddin and Janda, 2020).

Glycinbetain (GB) se ve vyšších rostlinách začíná syntetizovat v cytosolu z S-adenosylmethioninu (SAM) přeměnou na cholin, který je transportován do chloroplastu, kde je přeměněn na výsledný glycinbetain (Sahu and Shaw, 2009). Konverze GB je dvoustupňovou oxidační reakcí z cholinu a jeho akumulace je řízena ontogeneticky i během stresu. K akumulaci dochází právě v mladších rostlinných pletivech během působení stresu NT (Annunziata *et al.*, 2019). Listy jsou hlavním místem biosyntézy GB, ale k hromadění dochází i v jiných rostlinných částech. K transportu glycinbetainu dochází zejména prostřednictvím floému (Hattori *et al.*, 2009). GB se hojně vyskytuje v chloroplastech, kde hraje roli při úpravě a ochraně thylakoidní membrány, díky čemuž udržuje fotosyntetickou činnost během působení stresu NT (Genard *et al.*, 1991). Fotosyntetický aparát PSII je během působení stresu NT zasažen jako první, a právě GB je spojován se zvýšenou ochranou funkčních enzymů fotosyntetického aparátu, jež jsou pro udržení toku elektronů závislých na světle nezbytné (Chen and Murata, 2011; Adams *et al.*, 2013). Studie Rajagopal and Carpentier (2003) prokázala, že aplikace glycinbetainu vede k minimalizaci poškození způsobeného nadměrným ozářením na PSI fotosyntetického aparátu. Rostliny pšenice ošetřené GB vykazovaly vyšší rychlost fotosyntézy během stresu než rostliny kontrolní (neošetřené GB) a také se zvýšila fotochemická účinnost fotosyntetického aparátu PSII (Ma *et al.*, 2006). Glycinbetain může interagovat s rostlinnými hormony (ABA nebo SA) buď přímo nebo nepřímo za účelem dosažení co nejlepší odpovědi na stresové podmínky (Jagendorf and Takabe, 2001; Misra and Misra, 2012).

4 POŠKOZENÍ ROSTLIN VLIVEM NÍZKÝCH TEPLIT

Rostliny vystavené chladu mají řadu příznaků poranění, ale tyto symptomy se mezi rostlinnými jedinci liší. Vzhled poranění se odvíjí od citlivosti rostlin na NT. Toto poranění může být pozorovatelné po 48 až 72 hodinách, kdy jsou rostliny nízkým teplotám vystaveny. Například na rostlinách rýže seté, viz obr. 2, lze poranění způsobené NT pozorovat již po 12 hodinách, kdy byla rostlina vystavena teplotě pod bodem mrazu (Yadav, 2010).



Obr. 2: Porovnání vlivu optimálních a nízkých teplot na sazenicích rýže seté.

Na levé straně obrázku jsou sazenice rýže, které rostou za ideálních podmínek

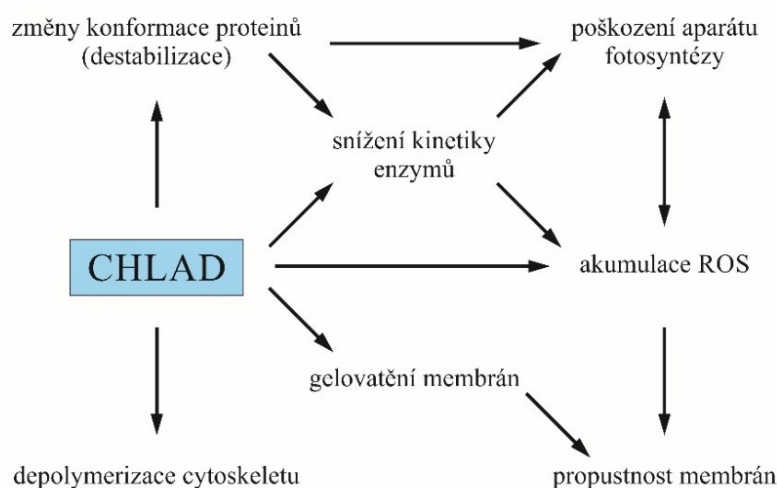
(teplota pohybující se mezi 25 °C až 30 °C) (Jagadish, Craufurd and Wheeler, 2007). Oproti tomu sazenice na pravé straně byly vystaveny mrazivým teplotám -2 °C po dobu 12 hodin. Podle Yadav (2010).

Na obr. 2 lze také vidět, že poškození, které mráz způsobil, se projevilo na úrovni celé rostliny. Nejvíce patrné je zpomalení růstu rostlin, které nedosahují takových výšek ani mohutnosti. Rovněž se jedná o změny na úrovni listů, kde dochází k zežloutnutí čili chloróze. Tento jev je dobře pozorovatelný na detailu obrázku 2, kde jsou vedle sebe zachyceny listy nestresovaných i stresovaných rostlin nízkou teplotou (Yadav, 2010).

4.1 Poškození chladem

Stres způsobený chladem může mít mnoho fenotypových projevů, jako je snížená schopnost růstu listů, vadnutí nebo žloutnutí listů, jinak také označováno jako chloróza, lze vidět na obr. 2. V neposlední řadě může docházet k nekróze, tedy odumření rostlinných pletiv (Yadav, 2010). Chlad také negativně ovlivňuje klíčení semen rostlin s následky, které jsou úzce spojeny s reprodukcí a mohou vést ke sterilitě pylu (Suzuki, Nagasuga and Okada, 2008). Jedná se o opoždění klíčení a růstu klíčících rostlin a také o zpomalení růstu kořínku. Obecně vliv nízké teploty snižuje procento klíčivosti semen, rovněž vitalitu klíčících rostlin a také snižuje růst sazenic (Sharifi, 2010; Airaki *et al.*, 2012).

Stresové podmínky způsobené chladem ovlivňují u rostlin akumulaci reaktivních forem kyslíku, které mohou mít negativní vliv na PSII aparát fotosyntézy, kvůli čemuž dochází ke snížení rychlosti fotosyntézy. Také vlivem chladu může docházet k depolymerizaci cytoskeletu a celkově ke zhoršení metabolických procesů (Ruelland *et al.*, 2009; Yadav, 2010). Schéma chladového poškození lze vidět na obrázku 3.



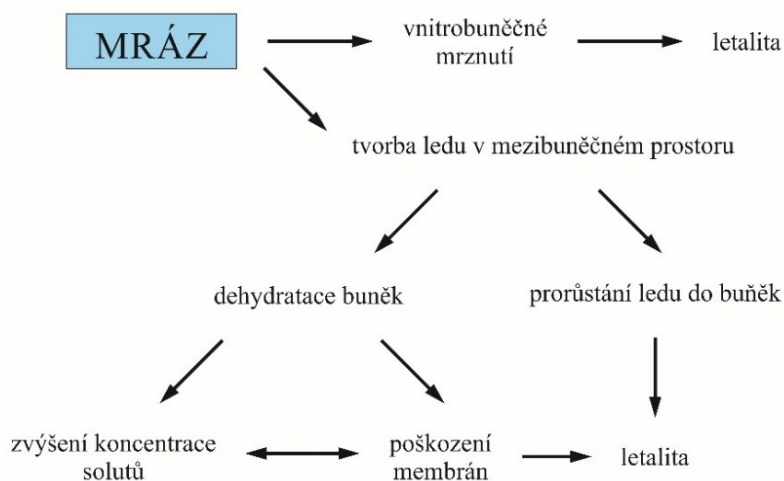
Obr. 3: Schématické znázornění poškození rostlin vlivem chladu na buněčné úrovni. Sestaveno podle Ruelland *et al.* (2009).

Jedním z problémů, který rostlinám způsobuje chlad, je poškození PM. Toto poškození je způsobené dehydratací membrány vlivem chladu a může trvat několik hodin až dní. Pokud dochází ke změnám teplot, mění se i tekutost membrány, která za nízkých teplot přechází z polotekuté soudržnosti do pevného gelovitého stavu, viz obr. 3. To má za následek dezintegraci membrány, a to právě kvůli špatné vazbě mezi lipidy a proteiny. Následkem nekompaktní plazmatické membrány dochází k volné propustnosti iontů skrze tuto membránu (Steponkus, 1984).

4.2 Poškození mrazem

Míra poškození rostlin mrazem je ovlivněna několika faktory. Jedná se zejména o minimální teploty, kterým rostlina musí čelit. S tímto úzce souvisí fakt, po jakou dobu je rostlina takto nízkým teplotám vystavována, a v neposlední řadě velice záleží na stavu vývoje rostliny (Papagiannaki *et al.*, 2014). Mráz ovlivňuje rostliny na všech úrovních od buněčné až k organismální. Jedná se o schopnost růstu rostliny, o příjem vody a živin a může ovlivňovat i vzájemnou kompetici o prostředí (Bokhorst *et al.*, 2008; Rixen *et al.*, 2012; Neuner *et al.*, 2020).

Závažným poškozením způsobeným velmi nízkou teplotou pod bodem mrazu je tvorba krystalů ledu v rostlinných buňkách, schéma poškození viz obr 4. Vytváření extracelulárních ledových krystalů v rostlinách vede k náhlému poklesu vodního potenciálu mimo buňku, a to způsobuje buněčnou dehydrataci, protože voda z cytoplazmy prochází plazmatickou membránou díky osmóze. To, jaké množství vody bude z buněk vyloučeno, závisí na koncentraci solutů v cytoplazmě a také na hloubce mrazu, protože ta přímo ovlivňuje vodní potenciál extracelulárního ledu, tedy tenzi vodní páry nad ledem (Xin and Browse, 2000).



Obr. 4: Schématické znázornění poškození rostlin vlivem mrazu na buněčné úrovni. Sestaveno podle Ruelland et al. (2009).

Dehydratace je způsobena tím, že tlak nasycené vodní páry nad ledem je při jakékoli teplotě znatelně nižší než tlak nad kapalinou. Následkem této skutečnosti vzniká gradient mezi krystaly ledu v apoplastu a cytoplazmě oddělené plazmatickou membránou a voda se přesouvá z cytosolu do apoplastického prostoru. Působení ledových krystalů v apoplastu má za následek mechanické namáhání PM a také buněčné stěny, které vede až k prasknutí buněk, znázorněno na obr. 4. Mimo to dochází k silné dehydrataci buněčného obsahu (McKersie and Bowley, 1997; Yadav, 2010).

Při nízkých teplotách a dehydrataci rostlin dochází k přibližování různých buněčných membrán. U membránových lipidů dochází k laterální fázové separaci a jiné lipidy agregují a vytvářejí obrácenou strukturu s hexagonální symetrií balení (Hexll fáze). Plazmatická membrána začíná být propustná pro vodu a po navrácení do optimálních teplotních podmínek se rozpadá, a ztrácí tak schopnost funkce osmotické regulace (Xin and Browse, 2000).

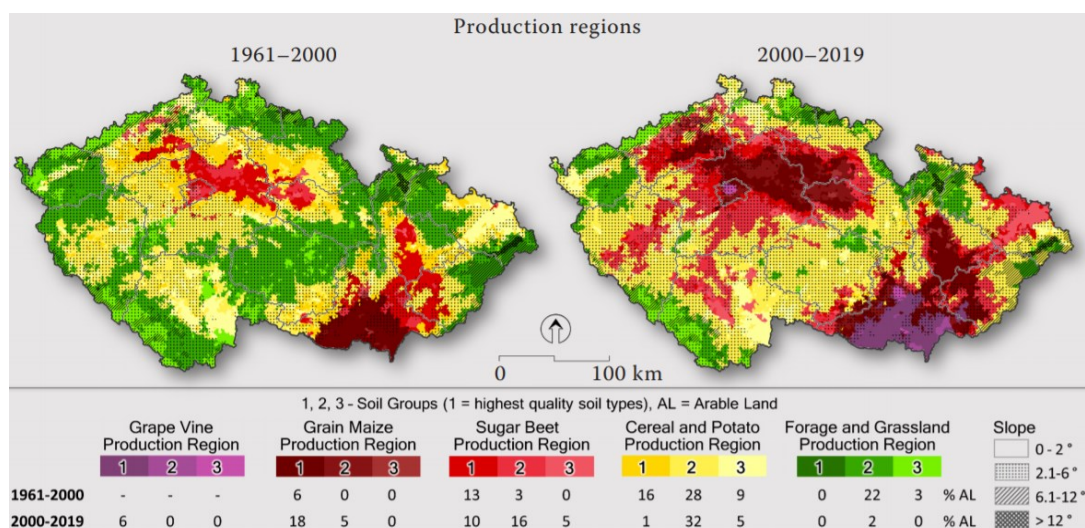
5 ZMĚNY KLIMATU

Proces globálního oteplování patří v současnosti mezi zásadní klimatické změny. Naše planeta Země se otepluje a celkové klima se mění. Tato skutečnost je do velké míry ovlivněna člověkem. Od konce 17. století vzrostl podíl oxidu uhličitého (CO₂) v atmosféře o 40 %, přičemž CO₂ je právě jedním z faktorů, který klima ovlivňuje, protože se řadí mezi skleníkové plyny. Oteplení je poměrně zásadní, za zhruba posledních 50 let se povrch planety oteplil o 1°C a povrch oceánu za 80 let rovněž (United States Environmental Protection Agency, 2016). Postupné klimatické oteplování má za následek změny hned na několika úrovních od biomů až po jedince. Co se biomů týče, dochází k jejich posunu do vyšších nadmořských výšek, což vede k posunutí hranice mezi tajgou a tundrou (Prach, 2011). Na úrovni společenstev by se dalo říct,

že teplejší klima může změnit nebo posunout výskyt jednotlivých druhů v rámci jejich rozšíření na Zemi podle toho, jaké podmínky vyžadují. Také může docházet k vytlačení původních druhů invazivními, protože právě invazivní druhy se dokážou mnohem lépe přizpůsobovat měnícím se klimatickým podmínkám (United States Environmental Protection Agency, 2016).

Teplejší zima a brzký příchod velmi teplého jara může mít za následek dřívější aktivitu rostlin (Westerling, 2016). To znamená, že na úrovni jedinců oteplování klimatu pozorujeme zejména z hlediska fyziologických pochodů, jako je například doba fází růstu včetně kvetení rostlin (Prach, 2011) anebo náchylnost k chorobám. Prostředí ovlivňuje také dostupnost živin a vody v ekosystému nezbytných pro růst rostlin (Agrios, 2005). Růst rostlin je přímo řízený teplotou, která ovlivňuje rovnováhu mezi fotosyntézou a dýcháním, tedy rychlost biochemických procesů (Lambers *et al.*, 1998; Yáñez-López *et al.*, 2012).

Na území Česka dochází k posunům v rámci agroklimatických oblastí, jak lze vidět na obr. 5.



Obr. 5: Změna agroklimatických oblastí v letech 1961–2000 a 2000–2019 na území Česka. Tyto agroklimatické oblasti jsou rozdělovány podle sedmi faktorů, kam se řadí: $TS10$ ($^{\circ}\text{C}$) součet denních průměrných teplot nad 10°C za rok bez období s mrazem, K_{JJA} (mm) faktor představující deficit půdní vody během měsíce června až srpna, průměrná roční teplota ($^{\circ}\text{C}$), roční srážky (mm), nadmořská výška (m n.m.) a nazývané jsou podle hlavní plodiny v dané oblasti vhodné pro pěstování a jejich potencionální produktivita. Podle Němec (2001); Trnka *et al.* (2021)

Za tyto změny může kombinace několika faktorů, jako je zvýšená teplota vzduchu spolu s úhrnem srážek během ročních cyklů (Trnka *et al.*, 2021). Na obrázku 5 lze velice dobře vidět, jak se změnou klimatu v posledních 20 letech mění podmínky pro pěstování zemědělských

plodin a trav v Česku. Zatímco v období 1961 až 2000 převažují v Česku z hlediska zemědělské výroby vhodné oblasti pro louky a pastviny, po roce 2000 jsou tyto oblasti vhodnější pro rostliny citlivější na nízké teploty, které představují např. pšenice, a hlavně dochází k expanzivnímu nárůstu oblastí vhodných pro teplomilnější plodiny, jako je kukuřice na zrno a také pro pěstování vinné révy. Obrázek 5 tedy znázorňuje, že vlivem teplejšího klimatu dochází k posunům agroklimatických oblastí, a z tohoto důvodu nastává možnost pěstovat teplomilnější rostliny ve větších oblastech, než byly podmínky v letech 1961 až 2000. Tato skutečnost, že dochází k posunům agroklimatických oblastí, je rovněž způsobená počtem narůstajících tropických dnů, jejichž počet se zvýšil oproti roku 1961 o necelé dva dny za každých deset let (Němec, 2001; Trnka *et al.*, 2021).

5.1 Poškození rostlin mrazem změnou klimatu

Na alpských rostlinách ve Švýcarsku bylo prokázáno, že globální oteplování překvapivě nesnižuje poškození rostlin mrazem. Naopak kvůli dřívějšímu odtávání sněhu dochází k riziku poškození rostlin holomrazem (Klein *et al.*, 2018; Neuner *et al.*, 2020). Globální oteplování má vliv i na zkrácení zimního období. Jedná se zejména o pokles počtu mrazových dnů. Na našem území bylo zjištěno, že mrazové dny od roku 1961 klesají přibližně o čtyři dny za deset let a sněhová pokrývka se snížila o šest dnů za stejnou dobu (Trnka *et al.*, 2021).

Mráz poškozuje nadzemní i podzemní orgány. Poškození v podzemní části rostlin je problematické zejména pro jemné kořeny, které zastávají zásadní roli pro vstřebávání vody a minerálů (Bigras and Dumais, 2005; Ambroise *et al.*, 2020). Jak již bylo řečeno, oteplování klimatu neznamena snížení rizika poškození mrazem, ale dokonce toto riziko zvyšuje. Zvyšuje se z důvodu snížení sněhové pokrývky, a tím i menší izolaci půdy proti mrazu (Comerford *et al.*, 2013). Tento fakt byl pozorován na smrku ztepilém (*Picea abies*) a bylo zjištěno, že odstranění sněhu vede k promrznutí půdy až o 40 cm hlouběji, a tím pádem se rapidně snižuje teplota v substrátu, kde se jemné kořeny nachází. V nejsvrchnější vrstvě půdy (prvních zhruba 20 cm) dokáže absence sněhové pokrývky ovlivnit teplotu až o 5,5 °C, tudíž například z chladových teplot 0,5 °C na mrazové teploty -5 °C (Cleavitt *et al.*, 2008; Gaul, Hertel and Leuschner, 2008). Vzhledem k náročnosti studia kořenů v přirozeném prostředí doposud není známo, zda se kořeny stresu nízkými teplotami vyhýbají, anebo zda jsou vůči mrazu tolerantní (Korhonen *et al.*, 2019).

6 ZÁVĚR

Rostliny disponují mechanismy odolnosti, které jim napomáhají aktivně i pasivně odolávat nepříznivým podmínkám, které mohou být abiotického i biotického původu. V práci se věnuji vlivu nízké teploty, přičemž NT se obecně rozděluje na chlad a mráz. Oba tyto abiotické faktory popisují, a to jak z hlediska tolerance rostlin k těmto stresorům, tak z hlediska následného poškození, které způsobují rostlinám. Poškození se vlivem chladu a mrazu liší, a to zejména tvorbou ledových krystalů v rostlinných pletivech, které souvisí s mrazem. Zatímco mrznutí vody přímo v buňkách je pro rostliny letální, extracelulární mrznutí mohou rostliny přežít díky řadě mechanismů.

Rostliny se přizpůsobují okolní teplotě, a proto většina mechanismů jejich odolnosti patří do tolerance. Tolerance je umožněna kaskádou signálních drah, která je zahájena bezprostředně po narušení funkce membránového receptoru. Signál vyvolaný vlivem nízké teploty je dále vedený signálními drahami, které mohou vést až k regulaci genové exprese. V průběhu působení nízkých teplot se do mechanismů odolnosti zapojují například i specifické proteiny reagující na nízké teploty (AFPs, DHNs atd.) anebo fytohormony (ABA, SA, JA). V odpovědi rostlin na nízké teploty se také uplatňují kompatibilní rozpustné látky (např. cukry, glycinbetain atd.), které kompenzují dehydrataci cytoplazmy způsobené NT.

Velmi významné jsou z hlediska působení nízkých teplot na rostliny klimatické změny, zejména vliv globálního oteplování, které patří v dnešní době k velice diskutovaným tématům. Tyto změny způsobují rozšiřování teplomilnějších plodin na našem území a tím pádem i změny ve složení ekosystémů a agrosystémů. Taktéž vlivem globálního oteplování dochází k omezení výšky a délky trvání sněhové pokrývky, kvůli čemuž mohou být rostliny vystavovány holomrazům.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY A ZDROJE

- Adams, S. R., Cockshull, K. E. and Cave, C. R. J. (2001) 'Effect of Temperature on the Growth and Development of Tomato Fruits', *Annals of Botany*, 88(5), pp. 869–877. doi: 10.1006/anbo.2001.1524.
- Adams, W. W., Muller, O., Cohu, Ch. M., Demming-Adams, B. (2013) 'May photoinhibition be a consequence, rather than a cause, of limited plant productivity?', *Photosynthesis Research*, 117(1–3), pp. 31–44. doi: 10.1007/s11120-013-9849-7.
- Agrios, G. (2005) *Plant Pathology*. 5th Edition. Academic Press 2005.
- Ahmad, P. and Prasad, M. N. V. (2011) *Environmental Adaptations and Stress Tolerance of Plants in the Era of Climate Change*. Springer Science & Business Media.
- Airaki, M., Leterrier, M., Mateos, R. M., Valderrama, R., Chaki, M., Barroso, J. B., Del Río, L. A., Palma, J. M., Corpas, F. (2012) 'Metabolism of reactive oxygen species and reactive nitrogen species in pepper (*Capsicum annuum* L.) plants under low temperature stress', *Plant, Cell & Environment*, 35(2), pp. 281–295. doi: 10.1111/j.1365-3040.2011.02310.x.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff M., Roberts, K., Walter, P. (2002) 'The Lipid Bilayer', *Molecular Biology of the Cell*. 4th edition. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26871/>.
- Ambroise, V., Legay, S., Guerriero, G., Hausman, J.-F., Cuypers, A., Sergeant, K. (2020) 'The Roots of Plant Frost Hardiness and Tolerance', *Plant and Cell Physiology*, 61(1), pp. 3–20. doi: 10.1093/pcp/pcz196.
- Annunziata, M. G., Ciarmiello, L., Woodrow, P., Dell'Aversana, E., Carillo, P. (2019) 'Spatial and Temporal Profile of Glycine Betaine Accumulation in Plants Under Abiotic Stresses', *Frontiers in Plant Science*, 10. doi: 10.3389/fpls.2019.00230.
- Arias, N. S., Bucci, S. J., Scholz, F. G., Goldstein, G. (2015) 'Freezing avoidance by supercooling in *Olea europaea* cultivars: the role of apoplastic water, solute content and cell wall rigidity', *Plant, Cell & Environment*, 38(10), pp. 2061–2070. doi: <https://doi.org/10.1111/pce.12529>.
- Barrett, J. (2001) 'Thermal hysteresis proteins', *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 33(2), pp. 105–117. doi: 10.1016/S1357-2725(00)00083-2.
- Baxter, A., Mittler, R. and Suzuki, N. (2014) 'ROS as key players in plant stress signalling', *Journal of Experimental Botany*, 65(5), pp. 1229–1240. doi: 10.1093/jxb/ert375.

- Bigras, F. J. and Dumais, D. (2005) 'Root-freezing damage in the containerized nursery: impact on plantation sites – A review', *New Forests*, 30(2), pp. 167–184. doi: 10.1007/s11056-005-4423-6.
- Bokhorst, S., Bjerke, J. W., Bowles, F. W., Melillo, J., Callaghan, T. V., Phoenix, G. K. (2008) 'Impacts of extreme winter warming in the sub-Arctic: growing season responses of dwarf shrub heathland', *Global Change Biology*, 14(11), pp. 2603–2612. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2008.01689.x>.
- Bouché, N., Yellin, A., Snedden, W. A., Fromm, H. (2005) 'Plant-specific calmodulin-binding proteins', *Annual Review of Plant Biology*, 56, pp. 435–466. doi: 10.1146/annurev.arplant.56.032604.144224.
- Bredow, M. and Walker, V. K. (2017) 'Ice-Binding Proteins in Plants', *Frontiers in Plant Science*, 8, p. 2153. doi: 10.3389/fpls.2017.02153.
- Chaikam, V. and Karlson, D. T. (2010) 'Comparison of structure, function and regulation of plant cold shock domain proteins to bacterial and animal cold shock domain proteins', *BMB Reports*, 43(1), pp. 1–8. doi: 10.5483/BMBRep.2010.43.1.001.
- Chen, T. H. H. and Murata, N. (2011) 'Glycinebetaine protects plants against abiotic stress: mechanisms and biotechnological applications', *Plant, Cell & Environment*, 34(1), pp. 1–20. doi: 10.1111/j.1365-3040.2010.02232.x.
- Cheng, F., Lu, J., Gao, M., Shi, K., Kong, Q., Huang, Y., Bie, Z. (2016) 'Redox Signaling and CBF-Responsive Pathway Are Involved in Salicylic Acid-Improved Photosynthesis and Growth under Chilling Stress in Watermelon', *Frontiers in Plant Science*, 7. doi: 10.3389/fpls.2016.01519.
- Chinnusamy, V., Ohta, M., Kanrar, S., Lee, B. H., Hong, X. H., Agarwal, M., Zhu, J. K. (2003) 'ICE1: a regulator of cold-induced transcriptome and freezing tolerance in Arabidopsis', *Genes & Development*, 17(8), pp. 1043–1054. doi: 10.1101/gad.1077503.
- Cho, J. H., Lee, J. H., Park, Y. K., Choi, M. N., Kim, K.-N. (2016) 'Calcineurin B-like protein CBL10 directly interacts with TOC34 (Translocon of the Outer membrane of the Chloroplasts) and decreases its GTPase activity in Arabidopsis', *Frontiers in Plant Science*, 7. doi: 10.3389/fpls.2016.01911.
- Cleavitt, N. L., Fahey, T. J., Groffman, P. M., Hardy, J. P., Henry, K. S., Driscoll, Ch. T. (2008) 'Effects of soil freezing on fine roots in a northern hardwood forest', 38, p. 11.
- Comerford, D. P., Schaberg, P. G., Templer, P. H., Soggi, A. M., Campbell, J. L., Wallin, K. F. (2013) 'Influence of experimental snow removal on root and canopy physiology of sugar maple trees in a northern hardwood forest', *Oecologia*, 171(1), pp. 261–269. doi: 10.1007/s00442-012-2393-x.

- Conde, A., Chaves, M. M. and Gerós, H. (2011) ‘Membrane Transport, Sensing and Signaling in Plant Adaptation to Environmental Stress’, *Plant and Cell Physiology*, 52(9), pp. 1583–1602. doi: 10.1093/pcp/pcr107.
- Danyluk, J., Perron, A., Houde, M., Limin, A., Fowler, B., Benhamou, N., Sarhan, (1998) ‘Accumulation of an Acidic Dehydrin in the Vicinity of the Plasma Membrane during Cold Acclimation of Wheat’, *The Plant Cell*, 10(4), pp. 623–638. doi: 10.1105/tpc.10.4.623.
- Davies, P. L. (2014) ‘Ice-binding proteins: a remarkable diversity of structures for stopping and starting ice growth’, *Trends in Biochemical Sciences*, 39(11), pp. 548–555. doi: 10.1016/j.tibs.2014.09.005.
- DeFalco, T. A., Bender, K. W. and Snedden, W. A. (2009) ‘Breaking the code: Ca²⁺ sensors in plant signalling’, *Biochemical Journal*, 425(1), pp. 27–40. doi: 10.1042/BJ20091147.
- Doherty, C. J., Van Buskirk, H. A., Myers, S. J., Thomashow, M. F. (2009) ‘Roles for Arabidopsis CAMTA transcription factors in cold-regulated gene expression and freezing tolerance’, *The Plant Cell*, 21(3), pp. 972–984. doi: 10.1105/tpc.108.063958.
- van Doorn, W. G. and van Meeteren, U. (2003) ‘Flower opening and closure: a review’, *Journal of Experimental Botany*, 54(389), pp. 1801–1812. doi: 10.1093/jxb/erg213.
- Du, H., Liu, H. and Xiong, L. (2013) ‘Endogenous auxin and jasmonic acid levels are differentially modulated by abiotic stresses in rice’, *Frontiers in Plant Science*, 4. doi: 10.3389/fpls.2013.00397.
- Edrisi Maryan, K., Samizadeh Lahiji, H., Farrokhi, N., Hasani Komeleh, H. (2019) ‘Analysis of Brassica napus dehydrins and their Co-Expression regulatory networks in relation to cold stress’, *Gene Expression Patterns*, 31, pp. 7–17. doi: 10.1016/j.gep.2018.10.002.
- Freeman, B. C. and Beattie, G. A. (2008) ‘An Overview of Plant Defenses against Pathogens and Herbivores’, *The Plant Health Instructor*. doi: 10.1094/PHI-I-2008-0226-01.
- Fujita, Y., Fujita, M., Shinozaki, K., Yamaguchi-Schinozaki, K. (2011) ‘ABA-mediated transcriptional regulation in response to osmotic stress in plants’, *Journal of Plant Research*, 124(4), pp. 509–525. doi: 10.1007/s10265-011-0412-3.
- Gao, J.-P., Chao, D.-Y. and Lin, H.-X. (2007) ‘Understanding Abiotic Stress Tolerance Mechanisms: Recent Studies on Stress Response in Rice’, *Journal of Integrative Plant Biology*, 49(6), pp. 742–750. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2007.00495.x>.
- Gaul, D., Hertel, D. and Leuschner, C. (2008) ‘Effects of experimental soil frost on the fine-root system of mature Norway spruce’, *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 171(5), pp. 690–698. doi: 10.1002/jpln.200700284.

- Genard, H. Le Saos, J., Billard, J.-P., Tremolieres, A., Boucaud, J. (1991) 'Effect of salinity on lipid composition, glycine betaine content and photosynthetic activity in chloroplasts of *Suaeda maritima*', *Effect of salinity on lipid composition, glycine betaine content and photosynthetic activity in chloroplasts of Suaeda maritima*, 29(5), pp. 421–427.
- Gilmour, S. J., Zarka, D. G., Stockinger, E. J., Salazar, M. P., Houghton, J. M., Thomashow, M. F. (1998) 'Low temperature regulation of the Arabidopsis CBF family of AP2 transcriptional activators as an early step in cold-induced COR gene expression', *The Plant Journal: For Cell and Molecular Biology*, 16(4), pp. 433–442. doi: 10.1046/j.1365-313x.1998.00310.x.
- Goulas, E., Schubert, M., Kieselbach, T., Kleczkowski, L. A., Gardenström, P., Schröder, W., Hurry, V. (2006) 'The chloroplast lumen and stromal proteomes of *Arabidopsis thaliana* show differential sensitivity to short- and long-term exposure to low temperature', *Plant Journal*, 47(5), pp. 720–734. doi: 10.1111/j.1365-313X.2006.02821.x.
- Graether, S. P. and Boddington, K. F. (2014) 'Disorder and function: a review of the dehydrin protein family', *Frontiers in Plant Science*, 5. doi: 10.3389/fpls.2014.00576.
- Griffith, M. and Yaish, M. W. F. (2004) 'Antifreeze proteins in overwintering plants: a tale of two activities', *Trends in Plant Science*, 9(8), pp. 399–405. doi: 10.1016/j.tplants.2004.06.007.
- Guo, X., Liu, D. and Chong, K. (2018) 'Cold signaling in plants: Insights into mechanisms and regulation', *Journal of Integrative Plant Biology*, 60(9), pp. 745–756. doi: 10.1111/jipb.12706.
- Guy, C. (1999) 'Molecular responses of plants to cold shock and cold acclimation', *Journal of molecular microbiology and biotechnology*, 1, pp. 231–42.
- Hartzell, S., Bartlett, M. S. and Porporato, A. (2018) 'Unified representation of the C3, C4, and CAM photosynthetic pathways with the Photo3 model', *Ecological Modelling*, 384, pp. 173–187. doi: 10.1016/j.ecolmodel.2018.06.012.
- Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Alam, Md. M., Roychow, R., Fujita, M. (2013) 'Physiological, Biochemical, and Molecular Mechanisms of Heat Stress Tolerance in Plants', *International Journal of Molecular Sciences*, 14(5), pp. 9643–9684. doi: 10.3390/ijms14059643.
- Hattori, T., Mitsuya, S., Fujiwara, T., Jagendorf, A. T., Takabe, T. (2009) 'Tissue specificity of glycinebetaine synthesis in barley', *Plant Science*, 176(1), pp. 112–118. doi: 10.1016/j.plantsci.2008.10.003.
- Hayat, S., Fariduddin, Q., Ali, B., Ahmad, A. (2006) 'Effect of salicylic acid on growth and enzyme activities of wheat seedlings', *Acta Agronomica Hungarica*, 53(4), pp. 433–437. doi: 10.1556/AAgr.53.2005.4.9.

- Hiilovaara-Teijo, M., Hannukkala, A., Griffith, M., Yu, X.-M., Pihakaski-Mauns, K. (1999) 'Snow-Mold-Induced Apoplastic Proteins in Winter Rye Leaves Lack Antifreeze Activity', *Plant Physiology*, 121(2), pp. 665–674. doi: 10.1104/pp.121.2.665.
- Hirsh, A. G. (1987) 'Vitrification in plants as a natural form of cryoprotection', *Cryobiology*, 24(3), pp. 214–228. doi: 10.1016/0011-2240(87)90024-1.
- Hnilička, F., Hniličková, H., Holková, L., Holubec, V., Chuchma, F., Khel, T., Klimešová, J., Kosová, K., Krtková, J., *et al.* (2016) *Rostliny v podmínkách stresu - abiotické stresory*. Praha.
- Hoermiller, I. I., Ruschhaupt, M. and Heyer, A. G. (2018) 'Mechanisms of frost resistance in *Arabidopsis thaliana*', *Planta*, 248(4), pp. 827–835. doi: 10.1007/s00425-018-2939-1.
- Hu, Y., Jiang, L., Wang, F., Yu, D. (2013) 'Jasmonate regulates the inducer of cbf expression-C-repeat binding factor/DRE binding factor1 cascade and freezing tolerance in *Arabidopsis*', *The Plant Cell*, 25(8), pp. 2907–2924. doi: 10.1105/tpc.113.112631.
- Hu, Y., Jiang, Y., Han, X., Wang, H., Pan, J., Yu, D. (2017) 'Jasmonate regulates leaf senescence and tolerance to cold stress: crosstalk with other phytohormones', *Journal of Experimental Botany*, 68(6), pp. 1361–1369. doi: 10.1093/jxb/erx004.
- Hudait, A., Odendahl, N., Qiu, Y., Paesani, F., Molinero, V. (2018) 'Ice-Nucleating and Antifreeze Proteins Recognize Ice through a Diversity of Anchored Clathrate and Ice-like Motifs', *Journal of the American Chemical Society*, 140(14), pp. 4905–4912. doi: 10.1021/jacs.8b01246.
- Hudait, A., Moberg, D. R., Qiu, Y., Odendahl, N., Paesani, F., Molinero, V. (2018) 'Preordering of water is not needed for ice recognition by hyperactive antifreeze proteins', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(33), pp. 8266–8271. doi: 10.1073/pnas.1806996115.
- Jagadish, S., Craufurd, P. and Wheeler, T. (2007) 'High temperature stress and spikelet fertility in rice (*Oryza sativa* L.)', *Journal of Experimental Botany*, 58(7), pp. 1627–1635. doi: 10.1093/jxb/erm003.
- Jagendorf, A. T. and Takabe, T. (2001) 'Inducers of glycinebetaine synthesis in barley', *Plant Physiology*, 127(4), pp. 1827–1835.
- Karabourniotis, G., Liakopoulos, G., Nikolopoulos, D., Bresta, P. (2020) 'Protective and defensive roles of non-glandular trichomes against multiple stresses: structure–function coordination', *Journal of Forestry Research*, 31(1), pp. 1–12. doi: 10.1007/s11676-019-01034-4.

- Kazemi-Shahandashti, S.-S. and Maali-Amiri, R. (2018) ‘Global insights of protein responses to cold stress in plants: Signaling, defence, and degradation’, *Journal of Plant Physiology*, 226, pp. 123–135. doi: 10.1016/j.jplph.2018.03.022.
- Kim, M.-H., Sasaki, K. and Imai, R. (2009) ‘Cold shock domain protein 3 regulates freezing tolerance in *Arabidopsis thaliana*’, *The Journal of Biological Chemistry*, 284(35), pp. 23454–23460. doi: 10.1074/jbc.M109.025791.
- Kim, T.-H., Böhmer, M., Hu, H., Nishimura, N., Schroeder, J. I. (2010) ‘Guard cell signal transduction network: advances in understanding abscisic acid, CO₂, and Ca²⁺ signaling’, *Annual Review of Plant Biology*, 61, pp. 561–591. doi: 10.1146/annurev-arplant-042809-112226.
- Klein, G., Rebetez, M., Rixen, Ch., Vitasse, Y. (2018) ‘Unchanged risk of frost exposure for subalpine and alpine plants after snowmelt in Switzerland despite climate warming’, *International Journal of Biometeorology*, 62(9), pp. 1755–1762. doi: 10.1007/s00484-018-1578-3.
- Korhonen, A., Lehto, T., Heinonen, J., Repo, T. (2019) ‘Whole-plant frost hardiness of mycorrhizal (*Hebeloma* sp. or *Suillus luteus*) and non-mycorrhizal Scots pine seedlings’, *Tree Physiology*, 39(6), pp. 951–960. doi: 10.1093/treephys/tpy105.
- Korn, M., Peterek, S., Mock, H.-P., Heyer, A. G., Hinch, D. K. (2008) ‘Heterosis in the freezing tolerance, and sugar and flavonoid contents of crosses between *Arabidopsis thaliana* accessions of widely varying freezing tolerance’, *Plant, Cell & Environment*, 31(6), pp. 813–827. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2008.01800.x>.
- Kovalchuk, I., Kovalchuk, O., Kalck, V., Boyko, V., Filkowski, J., Heinlein, M., Hohn, B. (2003) ‘Pathogen-induced systemic plant signal triggers DNA rearrangements’, *Nature*, 423(6941), pp. 760–762. doi: 10.1038/nature01683.
- Kranner, I., Minibayeva, F. V., Beckett, R. P., Seal, Ch., E. (2010) ‘What is stress? Concepts, definitions and applications in seed science’, *New Phytologist*, 188(3), pp. 655–673. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03461.x>.
- Krugman, T., Peleg, Z., Quansah, L., Chagué, V., Korol, A., Nevo, E., Saranga, Y., Fait, A., Chalhouf, B., *et al.* (2011) ‘Alteration in expression of hormone-related genes in wild emmer wheat roots associated with drought adaptation mechanisms’, *Functional & integrative genomics*, 11, pp. 565–83. doi: 10.1007/s10142-011-0231-6.
- Lambers, H., Chapin (III), F. S., Pons, T. L., Pons (1998) *Plant Physiological Ecology*. Springer Science & Business Media.
- Larcher, W. (2003) *Physiological Plant Ecology: Ecophysiology and Stress Physiology of Functional Groups*. 4th edn. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag. Available at: <https://www.springer.com/gp/book/9783540435167>.

- Lee, B. H., Henderson, D. A. and Zhu, J. K. (2005) 'The Arabidopsis cold-responsive transcriptome and its regulation by ICE1', *Plant Cell*, 17(11), pp. 3155–3175. doi: 10.1105/tpc.105.035568.
- Lee, T.-M., Lur, H.-S. and Chu, C. (1997) 'Role of abscisic acid in chilling tolerance of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings.: II. Modulation of free polyamine levels', *Plant Science*, 126(1), pp. 1–10. doi: 10.1016/S0168-9452(97)00076-9.
- Lévêque, C. (2003) *Ecology: From Ecosystem to Biosphere*. Science Publishers.
- Levin, D. A. (2015) 'The Role of Trichomes in Plant Defense', *The Quarterly Review of Biology*. doi: 10.1086/407484.
- Ma, Q.-Q., Wang, W., Li, Y.-H., Li, D.-Q., Zou, Q. (2006) 'Alleviation of photoinhibition in drought-stressed wheat (*Triticum aestivum*) by foliar-applied glycinebetaine', *Journal of Plant Physiology*, 163(2), pp. 165–175. doi: 10.1016/j.jplph.2005.04.023.
- Mahajan, S. and Tuteja, N. (2005) 'Cold, salinity and drought stresses: an overview', *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 444(2), pp. 139–158. doi: 10.1016/j.abb.2005.10.018.
- Matušinsky, P. (2019) *Výzkum - Obrana rostlin proti houbovým patogenům*. Available at: <https://www.ctpz.cz/vyzkum/obrana-rostlin-proti-houbovym-patogenum-851>.
- Maxfield, F. R. (2002) 'Plasma membrane microdomains', *Current Opinion in Cell Biology*, 14(4), pp. 483–487. doi: 10.1016/S0955-0674(02)00351-4.
- McKersie, B. D. and Bowley, S. R. (1997) 'Active Oxygen and Freezing Tolerance in Transgenic Plants', in Li, P. H. and Chen, T. H. H. (eds) *Plant Cold Hardiness: Molecular Biology, Biochemistry, and Physiology*. Boston, MA: Springer US, pp. 203–214. doi: 10.1007/978-1-4899-0277-1_18.
- Miller, P., Lanier, W. and Brandt, S. (2001) 'Using Growing Degree Days to Predict Plant Stages', *The Montana Small Grain Guide, Cooperative Extension Service Agricultural Experiment Station, Montana State University, Bozeman Bulletin 364*, August 1985(MT200103 AG).
- Misra, N. and Misra, R. (2012) 'Salicylic acid changes plant growth parameters and proline metabolism in *Rauwolfia serpentina* leaves grown under salinity stress.', *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 12(12), pp. 1601–1609. Available at: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20133067611>.
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Suzuki, N., Miller, G., Tognetti, V. B., Vandepoele, K., Gollery, M., Shulaev, V., Van Breusegem, F. (2011) 'ROS signaling: the new wave?', *Trends in Plant Science*, 16(6), pp. 300–309. doi: 10.1016/j.tplants.2011.03.007.
- Mittler, R. and Blumwald, E. (2015) 'The Roles of ROS and ABA in Systemic Acquired Acclimation', *The Plant Cell*, 27(1), pp. 64–70. doi: 10.1105/tpc.114.133090.

- Mizoi, J., Shinozaki, K. and Yamaguchi-Shinozaki, K. (2012) 'AP2/ERF family transcription factors in plant abiotic stress responses', *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1819(2), pp. 86–96. doi: 10.1016/j.bbagr.2011.08.004.
- Monshausen, G. B., Bibikova, T. N., Weisenseel, M. H., Gilroy, S. (2009) 'Ca²⁺ regulates reactive oxygen species production and pH during mechanosensing in Arabidopsis roots', *The Plant Cell*, 21(8), pp. 2341–2356. doi: 10.1105/tpc.109.068395.
- Nečas, T. (2010) *Pěstujeme hrušně a kdouloně*. Grada Publishing a.s.
- Němec, J. (2001) *Bonitace a oceňování zemědělské půdy v ČR*. Praha: Výzkumný ústav zemědělské ekonomiky.
- Neuner, G., Huber, B., Plangger, A., Pohlin, J.-M., Walde, J. (2020) 'Low temperatures at higher elevations require plants to exhibit increased freezing resistance throughout the summer months', *Environmental and Experimental Botany*, 169, p. 103882. doi: 10.1016/j.envexpbot.2019.103882.
- Ogasawara, Y., Kaya, H., Hiraoka, G., Yumoto, F., Kimura, S., Kadota, Y., Hishinuma, H., Senzaki, E., Yamagoe, S., *et al.* (2008) 'Synergistic activation of the Arabidopsis NADPH oxidase AtrobohD by Ca²⁺ and phosphorylation', *The Journal of Biological Chemistry*, 283(14), pp. 8885–8892. doi: 10.1074/jbc.M708106200.
- Okamoto, M., Kushiro, T., Jikumaru, Y., Abrams, S. R., Kamiya, Y., Seki, M., Nambara, E. (2011) 'ABA 9'-hydroxylation is catalyzed by CYP707A in Arabidopsis', p. 30.
- Ouellet, F. and Charron, J.-B. (2013) 'Cold Acclimation and Freezing Tolerance in Plants', in *eLS*. American Cancer Society. doi: 10.1002/9780470015902.a0020093.pub2.
- Papagiannaki, K., Lagouvarardos, K., Kotroni, V., Papagiannakis, G. (2014) 'Agricultural losses related to frost events: use of the 850 hPa level temperature as an explanatory variable of the damage cost', *Natural Hazards and Earth System Sciences*, 14(9), pp. 2375–2386. doi: 10.5194/nhess-14-2375-2014.
- Park, J., Lee, Y., Martinoia, E., Geisler, M. (2017) 'Plant hormone transporters: what we know and what we would like to know', *BMC biology*, 15(1), p. 93. doi: 10.1186/s12915-017-0443-x.
- Paul, M. J., Driscoll, S. P. and Lawlor, D. W. (1991) 'The effect of cooling on photosynthesis, amounts of carbohydrate and assimilate export in sunflower', *Journal of Experimental Botany*, 42(7), pp. 845–852. doi: 10.1093/jxb/42.7.845.
- Pearce, S., Zhu, J., Boldizsár, Á., Vágújfalvi, A., Burke, A., Garland-Campbell, K., Galiba, G., Dubcovsky, J. (2013) 'Large deletions in the CBF gene cluster at the Fr-B2 locus are associated with reduced frost tolerance in wheat', *Theoretical and Applied Genetics*, 126(11), pp. 2683–2697. doi: 10.1007/s00122-013-2165-y.

- Pihakaski-Maunsbach, K., Tamminen, I., Pietiäinen, M., Griffith, M. (2003) 'Antifreeze proteins are secreted by winter rye cells in suspension culture', *Physiologia Plantarum*, 118(3), pp. 390–398. doi: 10.1034/j.1399-3054.2003.00110.x.
- Prach, K. (2011) 'Vliv změn klimatu na rostliny a vegetaci', p. 1. Available at: https://learned.cz/userfiles/pdf/prednasky-cleny-odborne/Prach_klimaticka_zmenaUS.pdf.
- Procházka, S., Macháčková, I., Krekule, J., Šebánek, J., *et al.* (1998) *Fyziologie rostlin*. 1. Praha 1998: Academia Praha.
- Puhakainen, T., Hess, M. W., Mäkelä, P., Svensson, J., Heino, P., Palva, E., T. (2004) 'Overexpression of Multiple Dehydrin Genes Enhances Tolerance to Freezing Stress in Arabidopsis', *Plant Molecular Biology*, 54(5), pp. 743–753. doi: 10.1023/B:PLAN.0000040903.66496.a4.
- Puijalon, S., Bouma, T. J., Douady, Ch. J., Groenendael, van J., Anten, N. P. R., Martel, E., Bornette, G. (2011) 'Plant resistance to mechanical stress: evidence of an avoidance–tolerance trade-off', *New Phytologist*, 191(4), pp. 1141–1149. doi: 10.1111/j.1469-8137.2011.03763.x.
- Rajagopal, S. and Carpentier, R. (2003) 'Retardation of photo-induced changes in Photosystem I submembrane particles by glycinebetaine and sucrose', *Photosynthesis Research*, 78(1), pp. 77–85. doi: 10.1023/A:1026085305499.
- Řepková, J. (2021) *Odolnost rostlin k patogenům | Genetika rostlin | Přírodovědecká fakulta Masarykovy univerzity*. Available at: <https://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/js13/genetika/web/pages/07-rezistence-k-patogenum.html>.
- Rihan, H. Z., Al-Issawi, M. and Fuller, M. P. (2017) 'Advances in physiological and molecular aspects of plant cold tolerance', *Journal of Plant Interactions*, 12(1), pp. 143–157. doi: 10.1080/17429145.2017.1308568.
- Rixen, C., Dawes, M. A., Wipf, S., Hagedorn, F. (2012) 'Evidence of enhanced freezing damage in treeline plants during six years of CO₂ enrichment and soil warming', *Oikos*, 121(10), pp. 1532–1543. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2011.20031.x>.
- Ruelland, E., Vaultier, M.-N., Zachowski, A., Hurry, V. (2009) 'Chapter 2 Cold Signalling and Cold Acclimation in Plants', in *Advances in Botanical Research*. Academic Press, pp. 35–150. doi: 10.1016/S0065-2296(08)00602-2.
- Ruelland, E. and Zachowski, A. (2010) 'How plants sense temperature', *Environmental and Experimental Botany*, 69(3), pp. 225–232. doi: 10.1016/j.envexpbot.2010.05.011.

- Sah, S. K., Reddy, K. R. and Li, J. (2016) 'Abscisic Acid and Abiotic Stress Tolerance in Crop Plants', *Frontiers in Plant Science*, 7. doi: 10.3389/fpls.2016.00571.
- Sahu, B. B. and Shaw, B. P. (2009) 'Isolation, identification and expression analysis of salt-induced genes in *Suaeda maritima*, a natural halophyte, using PCR-based suppression subtractive hybridization', *BMC plant biology*, 9, p. 69. doi: 10.1186/1471-2229-9-69.
- Saleem, M., Fariduddin, Q. and Janda, T. (2020) 'Multifaceted Role of Salicylic Acid in Combating Cold Stress in Plants: A Review', *Journal of Plant Growth Regulation*. doi: 10.1007/s00344-020-10152-x.
- Sasaki, K., Kim, M.-H. and Imai, R. (2013) 'Arabidopsis COLD SHOCK DOMAIN PROTEIN 2 is a negative regulator of cold acclimation', *New Phytologist*, 198(1), pp. 95–102. doi: <https://doi.org/10.1111/nph.12118>.
- Sauter, J. J., Wisniewski, M. and Witt, W. (1996) 'Interrelationships between ultrastructure, sugar levels, and frost hardiness of ray parenchyma cells during frost acclimation and deacclimation in poplar (*Populus × canadensis* Moench «robusta») Wood', *Journal of Plant Physiology*, 149(3), pp. 451–461. doi: 10.1016/S0176-1617(96)80148-9.
- Sayyari, M., Ghanbari, F., Fatahi, S., Bavandpour, F. (2013) 'Chilling Tolerance Improving of Watermelon Seedling by Salicylic Acid Seed and Foliar Application', *Notulae Scientia Biologicae*, 5(1), pp. 67–73. doi: 10.15835/nsb518293.
- Serrano, M., Coluccia, F., Torres, M., L'Haridon, F., Métraux, J. P. (2014) 'The cuticle and plant defense to pathogens', *Frontiers in Plant Science*, 5. doi: 10.3389/fpls.2014.00274.
- Shao, H.-B., Chen, X.-Y., Chu, L.-Y., Zhao, X.-N., Wu, G., Yuan, Y.-B., Zhao, Ch.-X., Hu, Z.-M. (2006) 'Investigation on the relationship of proline with wheat anti-drought under soil water deficits', *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 53(1), pp. 113–119. doi: 10.1016/j.colsurfb.2006.08.008.
- Sharifi, P. (2010) 'Evaluation on Sixty-eight Rice Germplasms in Cold Tolerance at Germination Stage', *Rice Science*, 17(1), pp. 77–81. doi: 10.1016/S1672-6308(08)60107-9.
- Siboza, X. I., Bertling, I. and Odindo, A. O. (2014) 'Salicylic acid and methyl jasmonate improve chilling tolerance in cold-stored lemon fruit (*Citrus limon*)', *Journal of Plant Physiology*, 171(18), pp. 1722–1731. doi: 10.1016/j.jplph.2014.05.012.
- Silvertown, J. and Charlesworth, D. (2009) *Introduction to Plant Population Biology*. John Wiley & Sons.

- Siminovitch, D. (1981) 'Common and disparate elements in the processes of adaptation of herbaceous and woody plants to freezing--a perspective', *Cryobiology*, 18(2), pp. 166–185. doi: 10.1016/0011-2240(81)90088-2.
- Somerville, C. (1995) 'Direct tests of the role of membrane lipid composition in low-temperature-induced photoinhibition and chilling sensitivity in plants and cyanobacteria.', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92(14), pp. 6215–6218. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC41488/>.
- Steponkus, P. L. (1984) 'Role of the Plasma Membrane in Freezing Injury and Cold Acclimation', *Annual Review of Plant Physiology*, 35(1), pp. 543–584. doi: 10.1146/annurev.pp.35.060184.002551.
- Steponkus, P. L. (1992) 'Cryopreservation of plant tissues by vitrification', *Advances in low temperature biology, Vol. 1.*, pp. 1–61. Available at: <https://ci.nii.ac.jp/naid/10010536838/>.
- Suzuki, K., Nagasuga, K. and Okada, M. (2008) 'The chilling injury induced by high root temperature in the leaves of rice seedlings', *Plant & Cell Physiology*, 49(3), pp. 433–442. doi: 10.1093/pcp/pcn020.
- Suzuki, N. and Mittler, R. (2006) 'Reactive oxygen species and temperature stresses: A delicate balance between signaling and destruction', *Physiologia Plantarum*, 126(1), pp. 45–51. doi: <https://doi.org/10.1111/j.0031-9317.2005.00582.x>.
- Thalhammer, A., Bryant, G., Sulpice, R., Hinch, D. K. (2014) 'Disordered Cold Regulated15 Proteins Protect Chloroplast Membranes during Freezing through Binding and Folding, But Do Not Stabilize Chloroplast Enzymes in Vivo', *Plant Physiology*, 166(1), pp. 190–201. doi: 10.1104/pp.114.245399.
- Thines, B. and Harmon, F. G. (2010) 'Ambient temperature response establishes ELF3 as a required component of the core Arabidopsis circadian clock', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(7), pp. 3257–3262. doi: 10.1073/pnas.0911006107.
- Thomashow, M. F. (1998) 'Role of Cold-Responsive Genes in Plant Freezing Tolerance', *Plant Physiology*, 118(1), pp. 1–8. doi: 10.1104/pp.118.1.1.
- Thomashow, M. F. (1999) 'PLANT COLD ACCLIMATION: Freezing Tolerance Genes and Regulatory Mechanisms', *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 50, pp. 571–599. doi: 10.1146/annurev.arplant.50.1.571.
- Tiwari, P., Indoliya, Y., Singh, P. K., Singh, P. C., Chauhan, P. S., Pande, V., Chakrabarty, D. (2019) 'Role of dehydrin-FK506-binding protein complex in enhancing drought tolerance through the ABA-mediated signaling pathway', *Environmental and*

experimental botany. Available at: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201900059643>.

- Trnka, M., Brázdil, R., Balek, J., Dubrovský, M., Eitzinger, J., Hlavinka, P., Chuchma, F., Možný, M., Prášil, I. T., *et al.* (2021) ‘Observed changes in the agroclimatic zones in the Czech Republic between 1961 and 2019’, *Plant, Soil and Environment*, 67(No. 3), pp. 154–163. doi: 10.17221/327/2020-PSE.
- Tronsmo, A. M. (1993) ‘Resistance To Winter Stress Factors In Half-Sib Families Of *Dactylis Glomerata*, Tested In A Controlled Environment’, *Acta Agriculturae Scandinavica Section B: Soil and Plant Science*, 43(2), pp. 89–96. doi: 10.1080/09064719309411224.
- Tuteja, N. (2007) ‘Abscisic Acid and Abiotic Stress Signaling’, *Plant Signaling & Behavior*, 2(3), pp. 135–138. doi: 10.4161/psb.2.3.4156.
- Uemura, M. and Steponkus, P. L. (1994) ‘A Contrast of the Plasma Membrane Lipid Composition of Oat and Rye Leaves in Relation to Freezing Tolerance.’, *Plant Physiology*, 104(2), pp. 479–496. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC159222/>.
- United States Environmental Protection Agency (2016) *What Climate Change Means for Guam (EPA 430-F-16-062)*. Available at: <http://archive.org/details/climate-change-gu>.
- Vance, T. D. R., Bayer-Giraldi, M., Davies, P. L., Mangiagalli, M. (2019) ‘Ice-binding proteins and the “domain of unknown function” 3494 family’, *The FEBS Journal*, 286(5), pp. 855–873. doi: <https://doi.org/10.1111/febs.14764>.
- Verbruggen, N. and Hermans, C. (2008) ‘Proline accumulation in plants: a review’, *Amino Acids*, 35(4), pp. 753–759. doi: 10.1007/s00726-008-0061-6.
- Vishwakarma, K., Upadhyany, N., Kumar, N., Yadav, G., Singh, J., Mishra, R. K., Kumar, V., Verma, R., Upadhyay, R. G., *et al.* (2017) ‘Abscisic Acid Signaling and Abiotic Stress Tolerance in Plants: A Review on Current Knowledge and Future Prospects’, *Frontiers in Plant Science*, 8. doi: 10.3389/fpls.2017.00161.
- Wahid, A., Gelani, S., Ashraf, M., Foolad, M. R. (2007) ‘Heat tolerance in plants: An overview’, *Environmental and Experimental Botany*, 61(3), pp. 199–223. doi: 10.1016/j.envexpbot.2007.05.011.
- Walker, V. K., Zeng, H., Ohno, H., Daraboina, N., Sharifi, H., Bagherzadeh, S. A., Alavi, S., Englezos, P. (2015) ‘Antifreeze proteins as gas hydrate inhibitors’, *Canadian Journal of Chemistry*. doi: 10.1139/cjc-2014-0538.
- Wang, L.-J. and Li, S.-H. (2006) ‘Salicylic acid-induced heat or cold tolerance in relation to Ca²⁺ homeostasis and antioxidant systems in young grape plants’, *Plant Science*, 170(4), pp. 685–694. doi: 10.1016/j.plantsci.2005.09.005.

- Westerling, A. L. (2016) 'Increasing western US forest wildfire activity: sensitivity to changes in the timing of spring', *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 371(1696), p. 20150178. doi: 10.1098/rstb.2015.0178.
- Wisniewski, M., Gusta, L. and Neuner, G. (2014) 'Adaptive mechanisms of freeze avoidance in plants: A brief update', *Environmental and Experimental Botany*, 99, pp. 133–140. doi: 10.1016/j.envexpbot.2013.11.011.
- Xin, Z. and Browse, J. (2000) 'Cold comfort farm: the acclimation of plants to freezing temperatures', *Plant, Cell & Environment*, 23(9), pp. 893–902. doi: <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2000.00611.x>.
- Yadav, S. K. (2010) 'Cold stress tolerance mechanisms in plants. A review', *Agronomy for Sustainable Development*, 30(3), pp. 515–527. doi: 10.1051/agro/2009050.
- Yamaguchi-Shinozaki, K. and Shinozaki, K. (2006) 'Transcriptional regulatory networks in cellular responses and tolerance to dehydration and cold stresses', *Annual Review of Plant Biology*, 57, pp. 781–803. doi: 10.1146/annurev.arplant.57.032905.105444.
- Yáñez-López, R., Torres-Pacheco, I., Guevara-González, R. G., Hernández-Zul, M. I., Quijano-Carranza, J. A., Rico-García, E. (2012) 'The effect of climate change on plant diseases', *African Journal of Biotechnology*, 11(10), pp. 2417–2428. doi: 10.4314/ajb.v11i10.
- Yuanyuan, M., Yali, Z., Jiang, L., Hongbo, S. (2009) 'Roles of plant soluble sugars and their responses to plant cold stress', *African Journal of Biotechnology*, 8(10). doi: 10.4314/ajb.v8i10.60470.
- Zhang, Y., Zhu, H., Zhang, Q., Li, M., Yan, M., Wang, R., Welti, R., Zhang, W., *et al.* (2009) 'Phospholipase α 1 and phosphatidic acid regulate NADPH oxidase activity and production of reactive oxygen species in ABA-mediated stomatal closure in Arabidopsis', *The Plant Cell*, 21(8), pp. 2357–2377. doi: 10.1105/tpc.108.062992.
- Zhao, M.-L., Wang, J.-N., Shan, W., Fan, J.-G., Kuang, J.-F., Wu, K.-Q., Li, X.-P., Chen, W.-X., He, F.-Y. (2013) 'Induction of jasmonate signalling regulators MaMYC2s and their physical interactions with MaICE1 in methyl jasmonate-induced chilling tolerance in banana fruit', *Plant, Cell & Environment*, 36(1), pp. 30–51. doi: 10.1111/j.1365-3040.2012.02551.x.
- Zhu, J.-K. (2016) 'Abiotic Stress Signaling and Responses in Plants', *Cell*, 167(2), pp. 313–324. doi: 10.1016/j.cell.2016.08.029.