

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Molekulární biologie a biochemie organismů



Julie Zelená

Molekulární mechanismy tepelné stresové paměti u rostlin
Molecular mechanisms of heat stress memory in plants

Bakalářská práce

Vedoucí práce/Školitel: RNDr. Michal Hála, Ph.D.

Praha 2024

Poděkování

Poděkovat bych chtěla především svému školiteli, Michalu Hálovi, za velmi příjemnou spolupráci, za odborné rady a vstřícnost, která mě motivovala k práci. Můj vděk patří také mé rodině, která mi poskytla příjemné studijní prostředí, a také mému kocourovi za to, že mi dělal společnost při psaní a v temných chvílích mi zlepšoval náladu svou roztomilostí. Posledně bych ráda poděkovala všem, kteří jsou ochotni si mou práci přečíst.

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 25. 4. 2024

Abstrakt

Globální oteplování je jeden z hlavních faktorů úbytku zemědělské úrody a také celkové rostlinné biodiverzity. Čím dál tím vyšší teploty povrchu Země způsobují zvýšené nároky na rostliny vyrovnat se s tepelným stresem. Tepelný stres způsobuje rostlinným buňkám mnoho škod, především denaturaci buněčných proteinů, rozvolnění biomembrán a akumulaci reaktivních forem kyslíku (ROS). Rostlinná buňka se tepelnému stresu brání lipidickými přestavbami membrány, zvýšenou produkcí ROS zhasčů a především zvýšenou produkcí proteinů tepelného šoku (HSP), což jsou molekulární chaperony, které udržují proteiny správně sbalené i v teplotách, ve kterých by jinak denaturovaly. Rostliny si vyvinuly mechanismus, jak se bránit opakujícímu se tepelnému stresu, jako jsou třeba vlny veder. Říká se mu získaná termotolerance a je umožněna díky rostlinné schopnosti stresové paměti. Klíčový ve stresové paměti je přitom tzv. priming, což je příprava rostliny na velmi silný tepelný stres tak, že je předem vystavena mírnějšímu tepelnému stresu. Po primingu přichází období paměti neboli období zotavení, během kterého si buňka uchovává pozměněnou molekulární expresi a fyziologii. Mechanismy tepelné stresové paměti se dělí na transkripční a post-transkripční, jsou v nich zapojené HSP a jejich transkripční faktory HSF, především HSFA2 a HSFA3, dále histonové a chromatinové modifikátory, miRNA, alternativní sestřih, rostlinné metabolity (Ca^{2+} , sacharidy, fosfolipidy), a také regulace rostlinného hormonu ethylénu. Transkripční paměť zahrnuje především prodlouženou indukci nebo efektivnější následující indukci genů tepelné stresové paměti, mezi které patří například HSP21, HSP22, HSP17.6, HSP18.2, HSA32, APX2, HSA32 a HSFA2. Podstatná je přitom koncentrace histonových metylací, které ovlivňují přístupnost chromatinu a tedy transkripci těchto genů, zejména aktivujících metylací H3K4me3 a reprimujících metylací H3K27me3. Naopak na zapomínání tepelného stresu, které je pro rostlinu stejně podstatné jako zapamatování, se podílí především selektivní autofágie, zprostředkovaná například pomocí NBR1 a ROF2, a dále také metaloproteáza FtsH6.

Klíčová slova: stresová paměť rostlin, tepelná stresová paměť, získaná termotolerance, priming, protein tepelného šoku, epigenetika, modifikace chromatinu, sestřihová paměť, selektivní autofágie, zapomínání stresu

Abstract

Global warming is one of the main factors contributing to the decline in crop yield and overall plant biodiversity. Increasing surface temperatures of the Earth result in heightened demands on plants to cope with heat stress. Heat stress causes various damages to plants, primarily denaturation of cellular proteins, loosening of biomembranes, and accumulation of reactive oxygen species (ROS). Plants cells defend against heat stress through lipid remodeling of membranes, increased production of ROS scavengers, and primarily increased production of heat shock proteins (HSP), which are molecular chaperons maintaining proteins properly folded even at temperatures that would otherwise cause denaturation. Plants have developed mechanism to cope with recurring heat stress, such as heat waves, that is referred to as acquired thermotolerance and is enabled by the plant's ability to undergo stress memory. Key to stress memory is priming, which involves preparing the plant for very strong heat stress by exposing it to milder heat stress beforehand. Following priming, there comes a memory period, that is also called recovery period, during which the cell maintains altered molecular expression and physiology. The mechanisms of heat stress memory are divided into transcriptional and post-transcriptional, involving HSPs and their transcription factors HSF, primarily HSFA2 and HSFA3, as well as histone and chromatin modulators, miRNAs, alternative splicing, plant metabolites (Ca^{2+} , carbohydrates, phospholipids), and regulation of the plant hormone ethylene. Transcriptional memory mainly involves sustained induction or enhanced re-induction of heat stress memory genes, including HSP21, HSP22, HSP17.6, HSP18.2, HSA32, APX2, HSA32, and HSFA2. The abundance of histone methylations is essential, regulating chromatin accessibility and thus transcription of these genes, especially transcription-activating methylation H3K4me3 and transcription-repressive methylation H3K27me3. Conversely, forgetting heat stress, which is equally essential for the plant as its memorization, is mainly mediated by selective autophagy, mediated through NBR1 or ROF2, and also the metalloprotease FtsH6.

Keywords: plant stress memory, heat stress memory, acquired thermotolerance, priming, heat shock protein, epigenetics, chromatin modifications, splicing memory, selective autophagy, stress forgetfulness

Obsah

1 ÚVOD	1
2 STRESOVÁ PAMĚŤ ROSTLIN	2
3 TEPELNÝ STRES	4
3.1 DEFINICE	4
3.2 DŮSLEDKY TEPELNÉHO STRESU	4
3.3 ODPOVĚĎ ROSTLINY NA TEPELNÝ STRES	6
3.4 JAK ROSTLINA VNÍMÁ TEPLA	8
3.4.1 Plazmatická membrána	9
3.4.2 ELF3 a fitochrom B	11
3.4.3 ROS signalizace	12
4 MECHANISMY TEPELNÉ STRESOVÉ PAMĚTI	13
4.1 EPIGENETICKÉ REGULACE TEPELNÉ STRESOVÉ PAMĚTI	13
4.1.1 <i>Histonové modifikace</i>	14
4.1.2 <i>Transkripční paměť</i>	15
4.1.2.1 Geny tepelné stresové (HS) paměti	16
4.1.2.2 Transkripční paměť I. typu	16
4.1.2.3 Transkripční paměť II. typu	19
4.1.2.4 Vliv obměny histonů na transkripční paměť	20
4.2 REGULACE HS PAMĚTI NA POST-TRANSKRIPČNÍ ÚROVNI	21
4.2.1 Sestřihová HS paměť	21
4.2.2 Role miRNA v HS paměti	22
4.3 ROLE HSP PROTEINŮ V HS PAMĚTI	22
4.3.1 Proteiny tepelného šoku (HSPs) a transkripční faktory tepelného šoku (HSFs)	22
4.3.2 Regulační funkce HSPs v HS paměti	23
4.4 ROLE METABOLITŮ V REGULACI HS PAMĚTI	24
4.5 REGULACE ETYLÉNU V HS PAMĚTI	25
4.6 TRANSGENERAČNÍ PŘENOS TEPELNÉ STRESOVÉ PAMĚTI	26
5 ZAPOMÍNÁNÍ TEPELNÉHO STRESU	29
6 ZÁVĚR	31
LITERÁRNÍ ZDROJE	33

Seznam použitých zkratek

ACS = *z angl.* 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase

AGT1 = *z angl.* argonaut 1

APX2 = *z angl.* ascorbate peroxidase 2

AT = *z angl.* acquired thermotolerance

AtANN1 = *z angl.* *Arabidopsis thaliana* annexin 1

ATF6 = *z angl.* activating transcription factor 6

ATP = *z angl.* adenosine triphosphate

ATX1 = *z angl.* arabidopsis trithorax 1

BRCA1 = *z angl.* breast cancer type 1 susceptibility protein

BRM = brahma

BRU1 = brushy 1

CAS = *z angl.* calcium sensing receptor

CBF = *z angl.* C-repeat-binding transcription factor

CHR11 = *z angl.* chromatin-remodeling protein 11

CHR17 = *z angl.* chromatin-remodeling protein 17

CLV3 = clavata 3

CNGC2 = *z angl.* cyclic nucleotide gated calcium channel 2

CRY1 = kryptochrom 1

DBD = *z angl.* DNA-binding domain

DNA = deoxyribonukleová kyselina

EIN3 = *z angl.* ethylene-insensitive 3

ELF3 = *z angl.* early flowering 3

ELO1 = *z angl.* ETO1-like

ER = endoplazmatické retikulum

ERAD = *z angl.* ER-associated degradation

ETO1 = *z angl.* ethylene overproducer 1

FBA6 = *z angl.* fructose-1,6-bisphosphate aldolase

FGT1/FGT2/FGT3 = *z angl.* forgetter 1/ forgetter 2/ forgetter 3

FKBP = *z angl.* FK506 binding proteins (FK506 = tacrolimus)

FtsH6 = *z angl.* filamentation temperature-sensitive h6

HLP1 = *z angl.* hikeshi-like protein 1

HS = *z angl.* heat shock

HSA32 = *z angl.* heat shock associated 32-kD protein
HSE = *z angl.* heat shock element
HSF = *z angl.* heat shock transcription factor
HSFA = *z angl.* heat shock transcription factor A
HSFA2 = *z angl.* heat shock transcription factor A2
HSFA3 = *z angl.* heat shock transcription factor A3
HSP = *z angl.* heat shock protein
HTT5 = *z angl.* heat-induced TAS1 target 5
H3K4me3 = *z angl.* histone H3 lysine 4 trimethylation
H3K27me3 = *z angl.* histone H3 lysine 4 trimethylation
IAA19 = *z angl.* indole-3-acetic acid inducible 19
IAA29 = *z angl.* indole-3-acetic acid inducible 29
IR = *z angl.* intron retention
IRE1 = *z angl.* inositol-requiring enzyme 1
JMJ = *z angl.* jumonji c-domain containing
LAT = *z angl.* long-term acquired thermotolerance
MAP = *z angl.* mitogen activated protein
MAP4K = *z angl.* mitogen-activated protein kinase kinase kinase
MIPS2 = *z angl.* L-myo-inositol 1-phosphate synthase 2
miRNA = *z angl.* microRNA
mRNA = *z angl.* messenger RNA
miR156 = microRNA 156
miR400 = microRNA 400
NBR1 = *z angl.* next-to-BRCA1
NTL3 = *z angl.* NAC transcription factor-like
PA = *z angl.* phosphatidic acid
PERK = *z angl.* protein kinase R (PKR)-like ER kinase
PIF4 = *z angl.* phytochrome interacting factor 4
PLD α 2 = *z angl.* phospholipase D α 2
PM = plazmatická membrána
pre-mRNA = *z angl.* precursor messenger RNA
REF6 = *z angl.* relative of early flowering 6
RISC = *z angl.* RNA-induced silencing complex
RNA = ribonukleová kyselina

ROF1 = *z angl.* rotamase FKBP 1
ROF1 = *z angl.* rotamase FKBP 2
ROS = *z angl.* reactive oxygen species
RUBISCO = ribulosa-1,5-bisfosfát-karboxylasa/oxygenasa
SAM = *z angl.* shoot apical meristem
SAT = *z angl.* short-term acquired thermotolerance
SGIP1 = *z angl.* SGS3-interacting protein 1
SGS3 = *z angl.* suppressor of gene silencing 3
sHSP = *z angl.* small heat shock protein
siRNA = *z angl.* small interfering RNA
SPL = *z angl.* squamosa-promoter binding-like
TM = transkripční paměť (*z angl.* transcription memory)
TOR = *z angl.* target of rapamycin
TRPs = *z angl.* transient receptor potential channel
TSK = tonsoku
TT3.1 = *z angl.* thermotolerance 3.1
TT3.2 = *z angl.* thermotolerance 3.2
TOT3 = *z angl.* target of temperature 3
UPR = *z angl.* unfolded protein response
WUS = wuschel
XBP1 = *z angl.* x-box binding protein 1

1 Úvod

Rostliny, obdobně jako živočichové, mají schopnost zapamatovat si uplynulé události, jinými slovy – mají paměť. Paměť umožňuje zvýšit organismu šanci na přežití poučením se z předchozích zkušeností. Nejvíce prozkoumaná je v kontextu rostlin oblast stresové paměti, kterou se budu také v této práci zabývat. Stresová paměť rostlin tedy zajišťuje vylepšenou reakci rostliny na stresové podněty, jestliže se s nimi setkává opakovaně. Rostlinná paměť se od živočišné významně liší v tom, že na rozdíl od živočichů rostliny nemají pro informace jasně vyhraněné úložiště – nervovou soustavu. Úložiště paměti je v jejich případě více obecné, týká se každé buňky v rostlinném těle, a může být v podobě epigenetických modifikací nebo jiných změn fyziologie buňky. Adaptace na stresové vlivy prostředí je přitom u rostlin naprosto zásadní pro jejich přežití, kvůli jejich přisedlému způsobu života. Na rozdíl od živočichů, rostliny před stresem nemohou utéct, mohou se s ním pouze vyrovnat, a proto je pro ně nezbytně nutné umět reagovat na opakovaně se vyskytující stres v jejich biotopu.

V této práci se budu zaměřovat především na tepelnou stresovou paměť. Tepelný stres způsobuje v rostlinných buňkách především denaturaci proteinů, narušení integrity biomembrán a zvýšenou akumulaci reaktivních forem kyslíku (ROS). Rostlinná se těmto poškozením může bránit mechanismy jako je lipidický remodeling, zvýšení produkce ROS zhášečů a proteinů tepelného šoku (HSP), což jsou proteiny, které udržují proteiny sbalené i v teplotách, ve kterých by přirozeně denaturovaly. Tepelná stresová paměť je způsob, jak si rostliny mohou zapamatovat předchozí stresový stav, poučit se z něj, a na následující tepelný stres zareagovat lépe, rychleji a efektivněji.

Aklimace na tepelný stres je pro rostlinu dnes obzvláště významná kvůli zvyšujícím se teplotám po celé planetě. Podle zprávy [Mezivládního panelu pro klimatickou změnu \(IPCC\) z roku 2023](#) se od průmyslové revoluce zvedla průměrná teplota povrchu Země o 1,1 °C, přitom nad pevninou je tato změna závratnější (1,6 °C) než nad oceány (0,9 °C) kvůli vysoké tepelné kapacitě vody. Nemění se přitom jen teplota vzduchu, ale také se zvyšuje frekvence a intenzita extrémních událostí počasí jako jsou vlny veder, tropické cyklóny a požáry. V některých regionech jsou změny výraznější, např. Arktida se oteplila o více než 3,5 °C, v zemích nižšího rozvoje zase výrazně stoupá lidská úmrtnost způsobená extrémními událostmi počasí, jako jsou záplavy, období sucha a bouře. Pro rostliny to znamená zejména zvýšený tepelný stres ([Fischer a Knutti, 2015](#)). Vzhledem k tomu, že zároveň s globálními změnami klimatu se i prudce zvyšuje světová populace (odhaduje se, že v roce 2050 bude planetu obývat 10 miliard lidí),

dochází k obrovskému zvyšování nároků na zemědělskou produkci. Mnohé studie dokazují, že globální oteplování má na svědomí ztráty výnosů zemědělských plodin, průměrně na 1 °C zvýšené teploty připadá snížení výnosu obilovin o 6 %, rýže o 3,2 %, kukuřice o 7,4 % a sóji o 3,1 % (Zhao a kol., 2017). Proto v je dnešní době obzvláště důležité zkoumat, jakými způsoby se rostlina může vysokým teplotám bránit. Porozumění mechanismům tepelné stresové paměti může zjednodušit šlechtění či genetickou modifikaci zemědělských plodin tak, aby byly odolnější vůči zvyšujícím se teplotám a častějším vlnám veder.

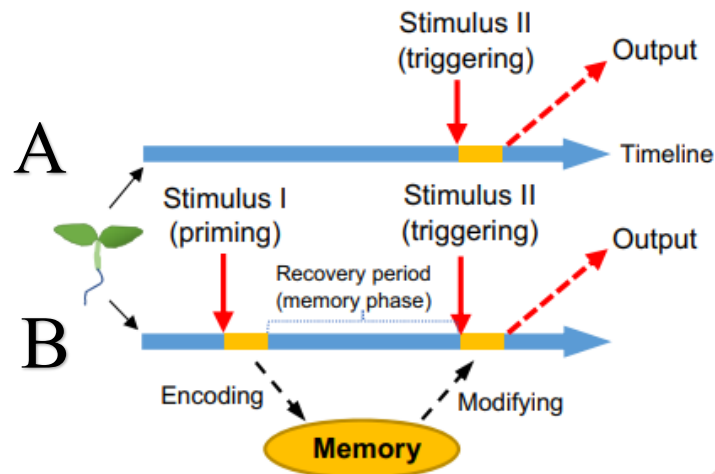
2 Stresová paměť rostlin

Paměť je schopnost zapamatovat si uplynulé události a v budoucnosti toho využít pro lepší aklimatizaci na podmínky prostředí, ve kterých se jedinec nachází. Stresová paměť rostlin pak znamená schopnost vylepšené reakce na stres (jako je sucho, teplo, chlad, toxicita prostředí či silné ozáření), pokud se s ním již setkala v minulosti. Pro vylepšenou reakci organismu na stres je třeba, aby proběhl tzv. priming. Priming je definován jako fenomén, kdy jedna stresová událost (priming stimulus) modifikuje odpověď rostliny na příští stresovou událost (tzv. triggering stimulus) (Hilker a kol., 2016). Priming je tedy událost, kdy je rostlina vystavena stresu, většinou v mírnější podobě. Po primingu nastává tzv. období zotavení (z angl. recovery period), během kterého si rostlina uchovává vzpomínky na stres, což se projevuje změnou fyziologií a molekulární expresí. Toto období se také nazývá období paměti. Když v tomto období přijde stres znovu, a to klidně i v jinak letální dávce, rostlina se s ním dokáže vypořádat mnohem lépe než předtím – stresová odpověď nastupuje rychleji a také je efektivnější (viz Obr. 1). Rychlejší a efektivnější reakce je zapříčiněna mnoha různými mechanismy, na které se v této práci podíváme v detailu, a mezi které se řadí například modifikace chromatinu, které ho udělají přístupnějším, a geny tak mohou být příště rychleji aktivovány. Dále mohou být třeba zmnoženy transkripční faktory genů stresové odpovědi, nebo může být prodloužená životnost či indukce proteinů podílejících se na stresové odpovědi, jako jsou např. proteiny tepelného šoku (HSPs).

Pro stresovou paměť je naprosto zásadní, aby mezi prvním (priming) stresem a následujícím stresem byla časová pauza, aby se rostlina mohla na následující stres připravit. Když byly porovnávány rostliny vystavované přerušovanému pulzujícímu UV-B a kontinuálnímu UV-B, tedy bez pauzy na zotavení, bylo zjištěno, že rostliny vystavené přerušovanému UV-B měly zvýšenou expresi ochranných flavonoidů oproti vzorku vystavenému kontinuálnímu UV-B, přestože byl celkový čas ozáření stejný (Höll a kol., 2019).

Z toho vyplývá, že rostlina může být „trénovaná“ na špatné podmínky. Pokud je třeba kontinuálně vystavována čím dál tím nižším teplotám, s tím že je jí pokaždé ponechán čas na zotavení, po nějakém čase by měla být schopná přežít i letální teploty.

Rostlinná stresová paměť se dělí na somatickou a transgenerační, což znamená, že se vylepšená odpověď na stres přenesou i na potomstvo. Transgenerační stresová paměť je však zatím velmi málo prozkoumaná (Hilker a kol., 2016).



Obr.1: časová osa stresové paměti. B V první fázi proběhne priming, po ní následuje období zotavení, neboli období paměti, ve kterém probíhají molekulární a fyziologické změny, a poté následující stresový stimulus, na který rostlina reaguje vylepšenou stresovou odpovědí. A – proběhne pouze druhý stresový stimulus, bez předchozího primingu. Paměť zde neexistuje, proto bude stresová odpověď nezměněná a méně efektivní (zdroj: Charng, Mitra a Yu, 2023).

Pro rostlinu je důležité nejen si pamatovat stres, ale po vhodné době na něj také zapomenout. Kdyby si rostlina udržovala stresovou paměť po celý život, zbytečně by vynakládala energii na udržování stresových proteinů nebo histonových modifikací, které ve většině případů nepotřebuje. Zpravidla velmi teplý den přijde až po jiném teplém dni, nikoliv po chladném dni. Proto stresová paměť často trvá jen několik hodin až týden, rostlina totiž v té době předpokládá brzký návrat stresoru. Po stresovém období je ale třeba věnovat buněčnou energii do normálního růstu a vývoje. Zapomínání je zprostředkováno především autofágií, a to tak, že jsou proteiny podílející se na stresové paměti jednoduše degradovány (Sedaghatmehr a kol., 2019). Klasický příklad významu zapomínání stresu je vernalizace. Rostlina projde zimou, kterou si uchovává v paměti jako teplotní stres, což jí umožňuje vykvést na jaře. Poté co vykvete je ale třeba, aby na teplotní stres zapomněla, aby bylo kvetení opět inhibováno až do dalšího jara. Bez zapomenutí by mohla rostlina znovu vykvést na podzim, kdy je den

podobně dlouhý jako na jaře, a odlišuje je od sebe jen to, jestli rostlina již prošla nebo neprošla teplotním stresem ve formě zimy (Hepworth a kol., 2018).

3 Tepelný stres

3.1 Definice

Každý rostlinný druh má své optimální teplotní rozpětí, ve kterém nejvíce prosperuje, dosahuje nejvyššího růstu a správného vývoje. Hranice tohoto rozpětí se potom nazývají spodní a svrchní prahová hodnota. Když okolní teplota překročí tyto prahové hodnoty, rostlinný růst je znatelně snížen až zastaven. Z tohoto hlediska může být tepelný stres definován jako zvýšení okolní teploty překračující prahovou hodnotu teplotního rozpětí rostliny a to po takovou dobu, že dojde k nevratným změnám v buňkách rostliny (Wahid a kol., 2007). Definice tepelného stresu ale v literatuře rozhodně není jednotná, někdy není podstatné zpomalení růstu ani nevratné změny, ale pouze spuštění buněčných obranných mechanismů. Nejobecnější definice tepelného stresu může být i jednoduché „vystavení rostliny nadměrně vysoké teplotě“. Tepelný stres může být také zaměňován se slovním spojením „tepelný šok“, zároveň je tepelný šok někdy považován spíše za kategorii tepelného stresu (Jagadish a kol., 2021). Já je v této práci budu užívat jako synonyma, protože v kontextu současných výzkumů tepelné stresové paměti nejsou rozdíly mezi tepelnými stresy příliš důležité.

Obecně lze říci, že k tepelnému stresu dochází při zvýšení o 10–15 °C nad teplotní optimum (Wahid a kol., 2007). Průměrné teplotní optimum se u většiny rostlin mírného pásma pohybuje mezi 20–30 °C, proto si můžeme tepelný stres představit jako teploty nad 30 °C. Například u pšenice je uváděno, že její optimální tepelné rozpětí je 18–24 °C a k poklesu úrody o více než 20 % dochází již při krátkodobém zvýšení okolních teplot na 28–32 °C (Mullarkey a Jones, 2000). Fazole mungo má optimální rozpětí pro růst a vývoj 28–30 °C, při teplotách nad 30 °C již výrazně klesá úroda, nad 40 °C dochází k opadu květů a nad 45 °C už je většina buněčných dějů zastavená (Bhardwaj a kol., 2023).

3.2 Důsledky tepelného stresu

Tepelný stres poškozují naprosto každý proces v rostlině, nicméně já se v této kapitole pokusím zaměřit jen na ty nejpodstatnější. Obecně, zvýšená teplota zvyšuje kinetickou energii molekul, což způsobuje rychlejší pohyb a oslabení vazeb. Jelikož se tento fakt týká i biomolekul, obecně se dá říci, že při tepelném stresu jsou biomolekuly více rozvolněné a mají problém udržet svůj tvar a integritu. Dotýká se to jak jednotlivých proteinů a enzymů, které podléhají denaturaci a

tím ztrácejí svou funkci, tak také biomembrán, které vinou rozvolnění lipidové dvojvrstvy ztrácejí svou integritu, čímž dochází k poškození jejich funkce. Rozvolnění lipidů má na svědomí jak zvýšená teplota samotná, tak i zvýšené množství ROS, které lipidy oxidují a poškozují je. Tepelným stresem jsou proto primárně poškozeny veškeré membránové orgány, což je důvod, proč jsou nejvíce zasaženy fyziologické děje jako fotosyntéza a respirace (Dhanda a Munjal, 2012).

V mitochondriích je nejvíce narušen uhlíkový metabolismus ve stromě a v chloroplastech zase fixace uhlíku a fotochemické reakce v thylakoidech, kdy dochází k poškození teplotně citlivých komponent ve fotosystému II. V komparativní studii odrůd kukuřice v odolnosti proti HS bylo zjištěno, že HS způsobuje poškození reakčních center fotosystému II a také méně efektivní transport elektronů, což vyúsťuje v celkovou fotoinhibici (Doğru, 2021). Vysoké teploty také zvyšují aktivitu chlorofyláz a peroxidáz, které pak způsobují rozklad chlorofylu, což je hlavní fotosyntetický pigment, který má schopnost absorpce světelné energie. Rozklad chlorofylu pak pozorujeme jako chlorózu, neboli žloutnutí listů, a rostlina ztrácí schopnost fotosyntézy (Doğru, 2021). Vysoké teploty také inhibují aktivitu enzymu RUBISCO, který je zodpovědný za fixaci uhlíku. RUBISCO aktiváza je totiž extrémně teplotně senzitivní, HS způsobí její rozbalení a odhalení hydrofobních konců, což způsobí přeměnu v nerozpustný proteinový agregát (Salvucci a kol., 2001). Nefunkční RUBISCO znamená pro rostlinu ztrátu příjmu uhlíku. Respirace bývá teplotou nejdříve zvýšena, což ale ještě více podporuje ztráty uhlíku. Například u rýže je zvýšená respirace důsledkem tepla přímo spojována s poklesem úrody (Mohammed a kol., 2009). Zvýšená respirace také souvisí s narušeným RUBISCO, při vyšších teplotách klesá jeho specifita pro CO₂ a zvyšuje se jeho oxidázová aktivita, což má za následek převážení fotorespirace nad fotosyntézou (Jordan a Ogren, 1984).

Narušení tak citlivých metabolických dějů jako je respirace a fotosyntéza poté přímo způsobuje zvýšenou produkci reaktivních forem kyslíku (ROS), jako je peroxid vodíku (H₂O₂), superoxid (O₂^{•-}), hydroxylový radikál (OH[•]) a singletový kyslík (¹O₂). ROS v buňce způsobují silný oxidativní stres, zejména pak zlomy v DNA, narušení struktur proteinů a lipidů a zvýšenou indukci programované buněčné smrti. Nicméně rostliny dokážou ROS využívat také jako signalizační molekuly, které mohou rostlině naopak pomoci urychlit stresovou odpověď (Baxter a kol., 2014) Tepelný stres má také nepřímé, ale zato neméně důležité, důsledky, zejména dehydrataci, která se projevuje ztrátou turgoru, což je jev, který významně omezuje růst rostliny. Rostlina se totiž ochlazuje zvýšenou transpirací, tedy rychlejším odpařováním

vody z rostliny, a má proto zvýšenou potřebu příjmu vody, které je navíc v půdách během období horka méně. Dehydrataci se rostlina krátkodobě brání zavřením průduchů a dlouhodobě snížením množství průduchů v listech, čímž sice zabrání únikům vody, ale zamezí i ochlazování rostliny, takže se ještě více přehřívá (Medlyn a kol., 2001). Zároveň s tím také zavření průduchů omezuje výměnu plynů s prostředím, což opět snižuje asimilaci a jiné metabolické děje. Během tohoto stavu tedy nemůže rostlina příliš růst ani se správně vyvíjet. Všechny tyto děje zároveň mohou při extrémním tepelném stresu již během pár minut zapříčinit odumírání celých buněk, což na rostlině můžeme pozorovat jako černání a opad listů. Při mírnějších dávkách potom sledujeme ztrátu pigmentů, které se vlivem tepla rozkládají, což se projevuje jako žloutnutí listů. Na makroskopické úrovni tepelný stres narušuje klíčení, kvetení, životaschopnost pylu a celkově reprodukční procesy, stejně jako způsobuje defekty v dělení a růstu buněk. Obecně způsobuje sníženou rostlinnou produktivitu (Hatfield a Prueger, 2015).

Na vysokou teplotu jsou citlivější generativní části rostliny a to především samčí rozmnožovací orgány (Bhardwaj a kol., 2023). Vlny veder jsou proto nejškodlivější pro zemědělskou úrodu, pokud zasáhnou rostlinu v generativní fázi.

3.3 Odpověď rostliny na tepelný stres

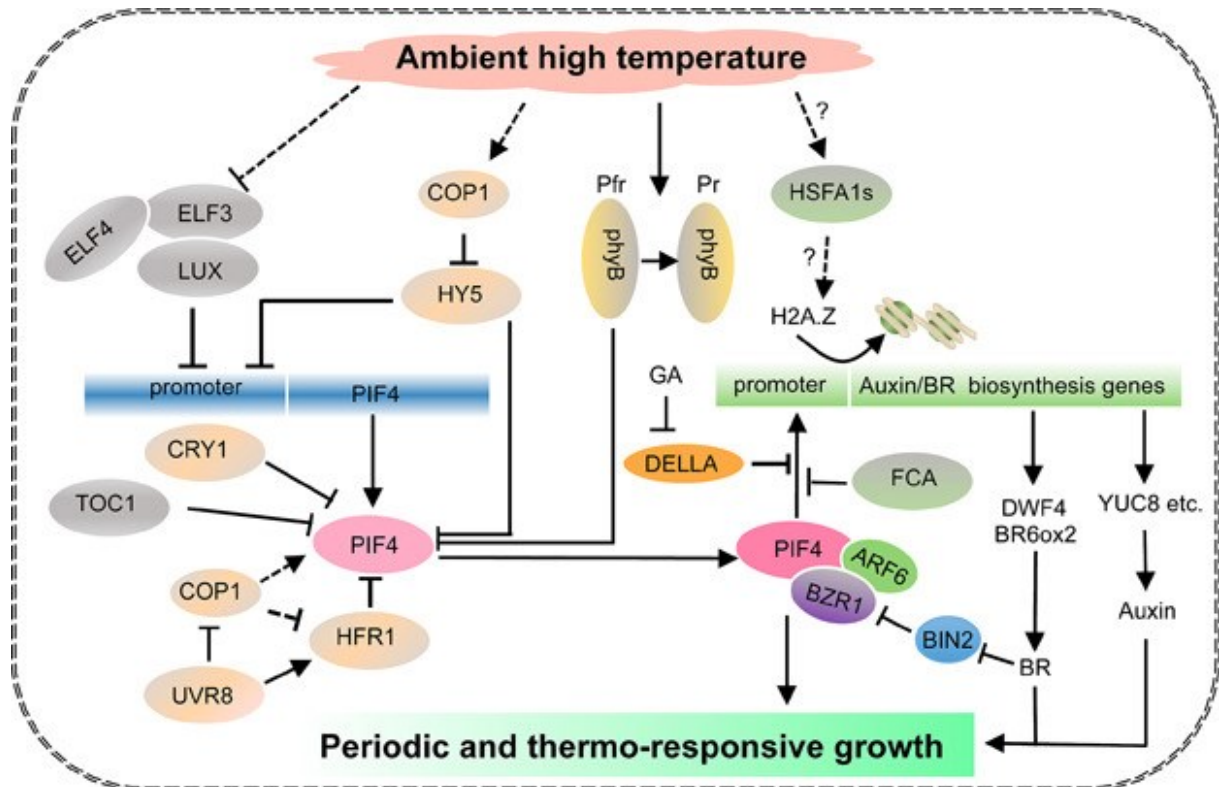
Na zvýšenou teplotu reaguje rostlina obecně změnou morfologie a vývoje, jevem souhrnně označovaným jako termomorfogeneze (Casal a Balasubramanian, 2019). Jeden z hlavních projevů termomorfogeneze je zvýšení elongace internodií, což má za následek efektivnější ochlazování listů. Další termomorfogenetické změny jsou třeba změna tvaru listů do užších a delších, snížení množství průduchů a hyponastie, což je jev projevující se jako otáčení listů směrem nahoru, který je způsobený převažujícím růstem spodní strany řapíku nad svrchním. Vyšší teplota také v rostlině vyvolává urychlené kvetení (Casal a Balasubramanian, 2019). Důležitý transkripční faktor termomorfogeneze je PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR4 (PIF4), který je negativně regulován fytochromem B, ELF3, UV zářením a bílým světlem (Vu a kol., 2021, viz Obr. 2). PIF4 aktivuje geny pro termomorfogenezi, mezi kterými jsou nejpodstatnější geny pro syntézu auxinu jako např. YUCCA8, IAA19 a IAA29 (Sun a kol., 2012; Sun a kol., 2013). Auxin je fytohormon, který způsobuje mj. elongaci internodií.

Obrana rostliny před buněčným tepelným poškozením se obecně nazývá odpověď na tepelný stres. Ta zahrnuje především zvýšenou indukci faktorů tepelného šoku (HSF) a jimi regulovaných proteinů tepelného šoku (HSP), které brání proteiny před denaturací (Qu a kol., 2013). Dále obranná odpověď ale zahrnuje také zvýšenou indukci ROS zhášeců jako je

superoxid-dismutáza, askorbát-peroxidáza (APX) a kataláza, které zmírňují dopady akumulace ROS. Rostliny také zvyšují produkci proteáz, které degradují špatně sbalené neopravitelné proteiny (Hameed a kol., 2012). Proti zvýšení fluidity membrány při HS se rostlina může bránit přestavbou lipidického složení membrány (Higashi a Saito, 2019). Fluiditu membrány totiž kromě teploty ovlivňuje také její lipidické složení, například nenasycené mastné kyseliny způsobují vyšší fluiditu membrány, jelikož dvojně vazby způsobují ohyb řetězců a tím menší uspořádanost membrány, což způsobuje slabší vazby mezi lipidy. Naopak nasycené mastné kyseliny znamenají pevnější membránu se silnějšími vazbami. Proto při vyšších teplotách mohou být komponenty membrány nahrazeny jinými, které fluiditu membrány sníží a mohou tak pomoci navrátit ztracenou membránovou integritu. Na snížení počtu nenasycených mastných kyselin v lipidech se hojně podílí desaturázy. Změna kompozice membrány musí být velmi přesně přizpůsobena intenzitě tepelného stresu. HS tedy zvyšuje aktivitu desaturáz, i když není přesně známo jak, a zároveň také obrát lipidů v membráně (Higashi a Saito, 2019). V *Arabidopsis thaliana* se během HS zvyšuje celkové množství PA (fosfatidová kyselina), fosfatidylserinu, fosfatidylcholinu, fosfatidylinositolu naopak se snižuje množství fosfatidylethanolaminu (Higashi a kol., 2015).

Speciální odvětví odpovědi na tepelný stres je tzv. UNFOLDED PROTEIN RESPONSE (UPR), která probíhá v endoplazmatickém retikulu (ER). HS způsobuje hromadění nesložených nebo špatně složených proteinů v lumen ER, které je centrem skládání proteinů pro sekreční dráhu. Tento jev narušuje homeostázu ER a způsobuje tzv. ER stres. ER má tři důležité transmembránové receptory; INOSITOL-REQUIRING ENZYME 1 (IRE1), PROTEIN KINASE R (PKR)-LIKE ER KINASE (PERK) a ACTIVATING TRANSCRIPTION FACTOR 6 (ATF6), které jsou za normálních podmínek ve „vypnutém“ stavu, jelikož jsou jejich aktivní domény zablockovány vazbou na GLUKOSE REGULATED PROTEIN 78 v lumen ER (Bertolotti a kol., 2000; Shen a kol., 2002). Hromadění špatně sbalených nebo nesbalených proteinů tuto interakci narušuje, čímž jsou receptory aktivovány a mohou tak dále aktivovat následné (tzv. downstream) signalizační dráhy, což se označuje jako UPR. Cíl této dráhy je redukovat množství nesbalených proteinů v ER a navrátit ER homeostázu (Neill a kol., 2019). Jsou tři možnosti, jak toho docílit – zvýšit expresi chaperonů, které špatně složené proteiny sbalí správně, podpořit degradaci již neopravitelných proteinů, anebo při dlouhodobém ER stresu spustit signalizační dráhu pro buněčnou smrt (Liu a kol., 2012). Například IRE1 po narušení vazby s GLUKOSE REGULATED PROTEIN 78 dimerizuje, čímž autofosforyluje a tím aktivuje svou RNázovou doménu. IRE1 poté spouští sestřih transkripčního faktoru X-BOX

BINDING PROTEIN 1 (XBP1), čímž vznikne jeho sestřižená forma, která má právě schopnost zvýšit expresi ER chaperonů a také komponent podílejících se na ER-ASSOCIATED DEGRADATION (ERAD) dráze, která odbourává nefunkční proteiny v ER. Navíc během chronického ER stresu pomáhá XBP1, aktivované IRE1, udržet prodlouženou expresi PERK, což je další aktivátor downstream genů UPR (Ong a kol., 2024).



Obr. 2: Schéma regulace růstu tepelným stresem: šipky označují pozitivní regulaci, kolmé zakončení čáry označuje negativní regulaci, nepřerušované čáry přímou regulaci a přerušované nepřímou (zdroj: Li a kol., 2018).

3.4 Jak rostlina vnímá teplo

Pro zkoumání rostlinné odpovědi na tepelný stres a posléze tepelnou paměť rostlin je podstatné vědět, jak vlastně dokáže rostlina zvýšení okolní teploty zaznamenat. Asi největší roli v detekci tepla má plazmatická membrána, která dokáže na změnu teploty reagovat velmi rychle a precizně. Nicméně byly vyzkoumány i jiné komponenty, které se na zaznamenání tepelného stresu podílejí, jmenovitě signalizace vápenatými kationty, kinázové signalizační kaskády, fytochrom B, fázová separace proteinu ELF3 a také signalizace pomocí zvýšené hladiny ROS.

3.4.1 Plazmatická membrána

Jak jsem již předeslala, změna fluidity plazmatické membrány (PM) je nejspíš primárním a hlavním rostlinným detektorem zvýšené teploty prostředí (Cano-Ramirez a kol., 2021). Výhoda tohoto mechanismu detekce je, že na něj rostlina nepotřebuje žádnou metabolickou energii, neboť změna fluidity je přirozený fyzikální děj. Bylo dokázáno, že plazmatická membrána dokáže na změnu teploty reagovat velmi rychle a také velmi přesně. Na každé 2 °C byla naměřena kvantitativní změna fluidity (Cano-Ramirez a kol., 2021). Na změnu fluidity poté reagují membránové proteiny, jako jsou enzymy a iontové kanály, změnou konformace. Změna konformace dokáže aktivovat sekundární posly, kteří dále přenášejí informace o změně teploty až do jádra, kde vyvolají změnu exprese, a tedy obrannou reakci rostliny. Mezi tyto signalizační membránové proteiny reagující na změnu fluidity membrány patří třeba MAP kinázy nebo vápníkové kanály, které spustí flux signalizačních Ca^{2+} iontů. Podstatné také může být zjištění, že fluidita plazmatické membrány vykazuje hysterezi, což je vlastnost dynamického systému, kdy výstupní veličina závisí nejen na vstupní veličině, ale také na předchozím stavu systému. To znamená, že si plazmatická membrána zachovává záznam předchozích změn fluidity (Cano-Ramirez a kol., 2021).

Jeden z identifikovaných vápníkových kanálů plazmatické membrány u vyšších rostlin, který je aktivován změnou teploty, je kanál CNGC2 (CYCLIC NUCLEOTIDE GATED CALCIUM CHANNEL 2). Rozvolněná PM způsobí změnu konformace CNGC2, což tento kanál otevře a způsobí vtok Ca^{2+} iontů z apoplastu do cytoplazmy, čímž se spustí Ca^{2+} dependentní signalizační dráha. Tato dráha končí hyperfosforylací a tedy aktivací transkripčních faktorů HSFA. Na jeho funkci se přišlo tak, že mutant *cngc2* měl silné defekty v Ca^{2+} signalizaci a projevoval hypersenzitivitu na tepelný stres. Nicméně nebyl úplně stoprocentně defektní v tepelné Ca^{2+} signalizaci, což svědčí o tom, že se na ní podílejí ještě i jiné vápníkové kanály. Byl také nalezen rozdíl v expresi v různých orgánech rostliny, což poukazuje na to, že stejné teploty mohou vyvolat rozdílné HS reakce v různých částech rostliny. Jelikož CNGCs evolučně nejspíš vycházejí z živočišných TRPs (z angl. transient receptor potential channel) a jsou specifické pro říši rostlin, byl jejich vznik nejspíš podstatný pro přechod rostlin na souš, aby se mohly vyrovnat s novými rozmanitými podmínkami prostředí (Finka a kol., 2012).

Vtok vápenatých iontů do cytoplazmy způsobí aktivaci cytoplazmatického AtANN1 (*Arabidopsis thaliana* ANNEXIN 1). Ten se naváže na membránu a tam působí další otevírání vápníkových kanálů, čímž je ještě více zesílen Ca^{2+} signál. Neví se, jestli je AtANN1 přímo

součástí kanálu, anebo jen aktivuje jiný kanál, každopádně mutant *AtANN1* se projevuje hypersenzitivitou na HS, zatímco zvýšená exprese *AtANN1* způsobuje vyšší rezistenci na HS (Wang a kol., 2015).

NTL3, který byl identifikován v rýži, je další membránový protein, který reaguje na změnu fluidity a posléze spouští aklimační odpověď na HS. NTL3 je transkripční faktor obsahující NAC doménu, který v normálních tepelných podmínkách asociuje s plazmatickou membránou. Změnou fluidity se z plazmatické membrány uvolňuje a posléze je translokován do jádra, kde reguluje geny HS odpovědi (Liu a kol., 2020). Protein THERMO-TOLERANCE 3.1 (TT3.1) funguje podobně, až na to, že změna fluidity způsobí jeho translokaci z PM do endozomu, ne do jádra. TT3.1 má silnou ubikvitin ligázovou aktivitu a v endozomu pak ubikvitinuje protein THERMO-TOLERANCE 3.2 (TT3.2), čímž ho označí pro degradaci ve vakuole. TT3.2 je membránový protein chloroplastů a jeho degradace má za následek snížení poškození chloroplastů následkem HS. Není však znám přesný mechanismus toho, jak se TT3.2 na poškození chloroplastů podílí (Zhang a kol., 2022).

Změna fluidity membrány také zapříčiňuje změnu konformace některých kinázových membránových proteinů, což vyvolá jejich autofosforylaci a kinázovou signální kaskádu. Zatím však nebyly identifikovány konkrétní kinázy, které by takto předávaly informace o zvýšené teplotě. Byla identifikována membránová MITOGEN-ACTIVATED PROTEIN KINASE KINASE KINASE KINASE (MAP4K) jménem TARGET OF TEMPERATURE 3 (TOT3), u které bylo prokázáno, že se podílí na rostlinné termomorfogenezi, což technicky vzato je reakce na teplotu, nicméně nezprostředkovává obrannou reakci na tepelný stres (Vu a kol., 2021). Geny pro termomorfogenezi, např. geny podílející se na syntéze auxinu jako je YUCCA8, jsou regulovány transkripčním faktorem PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR 4 (PIF4; Sun a kol., 2012). PIF4 je negativně regulován fytochromem B a ELF3, což jsou přímé detektory tepla, ale také modrým světlem a UV zářením. Tato dráha aktivace genů pro termomorfogenezi tedy zahrnuje i světelnou signalizaci. TOT3 je právě speciální tím, že poskytuje alternativní dráhu aktivace termomorfogeneze, která je nezávislá na světelné signalizaci, fytochromu B a PIF4 (Vu a kol., 2021).

3.4.2 ELF3 a fytochrom B

Buňka obsahuje i jiné detektory tepla, které jsou nezávislé na fluiditě membrány. Jeden z nich je ELF3 (EARLY FLOWERING 3), který je, jak jsem již zmiňovala, negativní regulátor PIF4, způsobuje tedy umlčení genů pro termomorfogenezi. ELF3 také funguje jako jedna z komponent buněčného oscilátoru a jeho exprese během dne pravidelně osciluje. Nejvyšší hladinu exprese má ELF3 na konci dne a během noci potom zase klesá. Hlavně má ale ELF3 schopnost fázové separace na základě teploty buňky, což je schopnost, která zajišťuje termodetekci (viz [Obr. 2](#)). Když se zvýší okolní teplota, ELF3 podstoupí reverzibilní fázovou separaci, což znamená, že z běžně rozpustné aktivní formy se stane neaktivní vysrážená forma proteinu. Neaktivní ELF3 přestane bránit termomorfogenezi. Zjistilo se, že pro tuto schopnost je v ELF3 podstatná tzv. prion-like doména, která obsahuje poly-glutaminové (poly-Q) repetice. Délka těchto repeticí je přímo úměrná citlivosti detekce teploty ([Jung a kol., 2020](#)).

Jak jsem již zmiňovala, PIF4 je hlavní transkripční aktivátor genů pro termomorfogenezi. Má dva negativní regulátory, z nichž jeden je již zmiňovaný ELF3 a druhý je fytochrom B. Fytochrom B je receptor červeného světla, schopný fotokonverze mezi dvěma stabilními formami, které se odvíjejí od množství červeného a dlouhovlnného červeného záření absorbovaného fytochromem B. Jedná se o neaktivní formu Pr (z angl. red light) a o aktivní formu Pfr (z angl. far red light), podle převažovaného absorbovaného světla. Aktivní Pfr forma je spojována s většinou vývojových a růstových reakcí rostliny (viz [Obr. 2](#)). Ve tmě (tedy v noci) probíhá spontánní tepelná relaxační reakce, nazývaná těž temnostní konverze, kdy se Pfr vrací do neaktivní Pr formy. Pokud je zvýšená okolní teplota, temnostní konverze se zvyšuje, takže se zvyšuje výskyt neaktivní formy fytochromu B. To má za následek aktivaci termomorfogeneze, jelikož fytochrom B přestane inhibovat transkripční aktivitu PIF4 ([Jung a kol., 2016](#)). Tohle je vztah, který funguje jen v noci. Novější studie však ukazují, že fytochrom B má roli v detekci teploty i přes den, v dlouhodobých podmínkách, kdy termomorfogeneze probíhá především za světla ([Qiu a kol., 2019](#)). I za světla fytochrom B k přenosu teplotních informací využívá transkripční faktor PIF4, nicméně navíc potřebuje ještě protein HEMERA. HEMERA post-translačně reguluje aktivitu PIF4 a tím se podílí na aktivaci termomorfogeneze. Důkazem je to, že mutant bez funkčního HEMERA, ale s funkčním PIF4, nebyl schopen aktivovat elongaci hypokotylu vyvolanou vyššími teplotami. HEMERA podporuje akumulaci PIF4, a to nejspíš inhibicí jeho degradace, a pomáhá aktivovat cílové geny PIF4, pro které má vazebnou doménu ([Qiu a kol., 2019](#)). Fytochrom B má schopnost fotokonverze i během dne, a vysoká teplota urychluje přeměnu z aktivní do neaktivní formy fytochromu B úplně stejně jako

v noci. Bylo akorát těžší to experimentálně zaznamenat, protože přes den se dráha aktivace termomorfogeneze fytochromem B kříží s dráhou inhibice termomorfogeneze receptorem modrého světla CRY1 (Ma a kol., 2016; viz Obr. 2).

3.4.3 ROS signalizace

Při tepelném stresu vzniká v buňce nadbytek ROS, pocházejících z narušených metabolických dějů jako je fotosyntéza a respirace. Tam vznikají i přirozeně, ale při HS je narušené jejich odbourávání. ROS mohou být nejen škodlivé, ale také užitečné. Ukázalo se, že rostliny hojně využívají ROS, především H₂O₂, jako signalizační molekuly (Baxter a kol., 2014). H₂O₂ má tu výhodu, že dokáže volně prostupovat buněčnou membránou a je proto vhodný i jako mezibuněčný posel. Signalizační funkce ROS spočívá v jejich redoxním potenciálu. Jak už vyplývá z jejich anglického názvu „reactive oxygen species“, mají velmi silnou schopnost oxidovat molekuly, což může mít za následek změnu struktury proteinu a tím jeho funkce. Význam redoxních změn pro teplotní signalizaci byl dokázán Lee a jeho kolektivem (2021), který přišel na to, že nízké teploty v *Arabidopsis thaliana* vyvolávají redoxní přeměnu C-REPEAT-BINDING TRANSCRIPTION FACTOR (CBF) proteinů z vysokomolekulárních oligomerů na malé oligomery až monomery. Jen monomery jsou funkční forma CBF a mají schopnost indukovat expresi genů nízkých teplot. Mechanismus je takový, že nízké teploty způsobí aktivaci deacetylázy, která odebere myristylovou kotvu transmembránového proteinu thioredoxin h2, který je po uvolnění translokován do jádra, kde interaguje s CBF oligomery. CBF oligomery jsou tvořeny pomocí disulfidických vazeb. Thioredoxin h2 zajišťuje redukci těchto vazeb (z -SH na -S-S-), čímž se oligomery rozpadají na funkční monomery (Lee a kol., 2021). Je pravděpodobné, že jelikož během HS stoupá hladina ROS, způsobuje to redoxní strukturní změny některých proteinů (zejména vznik disulfidických můstků na cysteinech), což by mělo vyústit v tepelnou signalizaci. Dále bylo potvrzeno, že zvýšené množství ROS způsobuje zvýšenou indukci HSPs (Piterková a kol., 2013), a také že při stresu suchem, které vyvolává ROS akumulaci stejně jako HS stres, způsobuje ROS signalizace zavření průduchů, což je obranný mechanismus před suchem (Yan a kol., 2007). Každopádně konkrétní mechanismus signalizace ROS v přímé reakci na teplo zatím nebyl objeven.

4 Mechanismy tepelné stresové paměti

Tepelná stresová paměť je jev, který umožňuje rostlině poučit se z předchozího tepelného stresu (HS) a rychleji a efektivněji reagovat na následující HS. Spočívá v primingu, při kterém je rostlina vystavena mírně zvýšené teplotě (mírnému HS), následující fázi zotavení, která se projevuje rozdílnou expresí HS genů než v období bez stresu, a následující stresové epizodě, se kterou se rostlina zvládá mnohem lépe vypořádat, i když jde o jinak letální teplotu (Hilker a kol., 2016; viz Obr. 3).

HS paměť se projevuje účinnější tepelnou aklimací, tedy jevem označovaným jako získaná tolerance na vysoké teploty. Získaná tolerance (AT) může být dlouhodobá (LAT) nebo krátkodobá (SAT). SAT je tedy AT, které je dosaženo po krátkém období zotavení (Wu a kol., 2013), LAT po dlouhém období zotavení (Meiri a kol., 2009). Existuje také pojem bazální termotolerance, což je schopnost rostliny přežít velmi vysoké teploty, které jsou rostliny vystaveny náhle a bez předchozího primingu, nesouvisí tedy s HS pamětí (Yeh a kol., 2012).

V následujících kapitolách se pokusím identifikovat objevené komponenty HS paměti a popsat, jak se na ní podílejí.

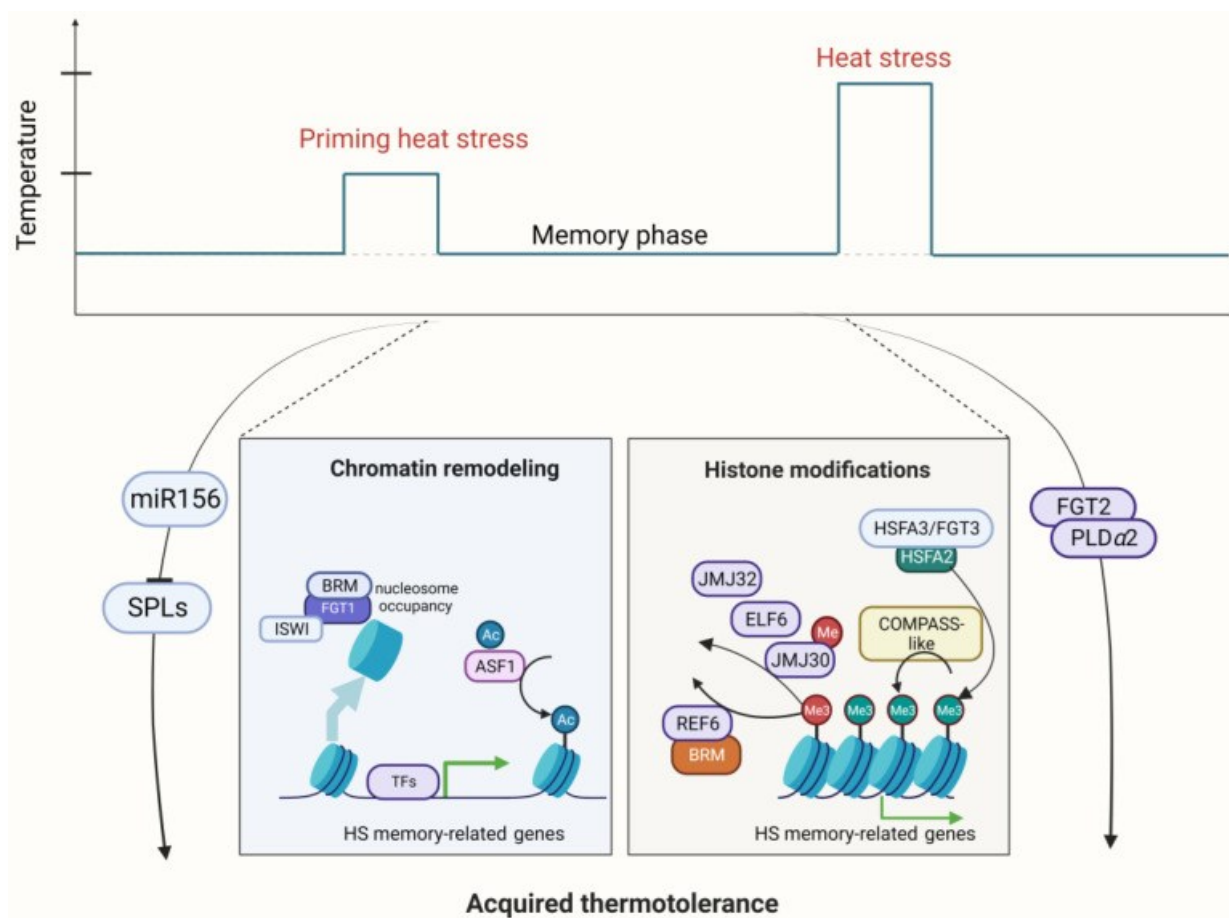
4.1 Epigenetické regulace tepelné stresové paměti

Epigenetické regulace jsou takové regulace, které způsobují změnu exprese genů, a někdy i změnu fenotypu, aniž by byla změněna genová sekvence. Mezi ně se řadí histonové a chromatinové modifikace, které ovlivňují kondenzovanost chromatinu, což v konečném důsledku rozhoduje o expresi genu. Chromatin se dělí na euchromatin, což je rozvolněný a transkripčně aktivní chromatin, a heterochromatin, který je naopak více kondenzovaný a transkripce na něm neprobíhá. Heterochromatin se navíc dále dělí na konstitutivní (repetitivní sekvence, transpozony) a fakultativní (geny pro vývoj a stresové reakce; Klemm a kol., 2019). Modifikace histonů zajišťují tzv. writer a eraser enzymy, např. metyltransferázy (writer) a demethylázy (eraser). Kromě modifikací histonů přístupnost chromatinu dále ovlivňuje také hladina nukleozomové obsazenosti, regulována pomocí chromatinových modifikátorů. Důležitá je také míra obměny histonů, na které závisí uchování histonových modifikací v čase.

4.1.1 Histonové modifikace

Histonová jednotka je oktamer složený z proteinů H2A, H2B, H3 a H4. Histony jsou bohaté na lyzin a arginin, což jsou kladně nabitě aminokyseliny, takže velmi pevně interagují se záporně nabitým DNA. Když se DNA obtočí kolem histonu, vznikne nukleozom. Histony mají N-terminální zakončení, která z nich vyčnívají a mají silný kladný náboj, a na nichž probíhají veškeré post-translační modifikace. Ty zahrnují především metylace a acetylace, ale dále také ubikvitinace, fosforylace, citrulinace a laktylace. Acetylované N-konce skoro vždy chromatin rozvolňují, jelikož oslabují kladný náboj histonů a tím snižují jejich vazbu s DNA, čímž vzniká transkripčně aktivní chromatin. Methylace, kterou se v HS paměti budeme především zabývat, mohou však být transkripčně aktivující i reprimující, podle toho, kde konkrétně probíhají. Obecně jsou s aktivní transkripcí spojeny hypermethylace lyzinu 4 na histonu H3 (H3K4me3, H3K4me2) a naopak s represí transkripce hypermethylace lyzinu 27 na histonu H3 (H3K27me3). H3K27me3 je navíc velmi typická pro fakultativní heterochromatin (Rodríguez-Paredes a kol., 2011; Roudier a kol., 2011).

H3K4me3 tedy způsobují rozvolnění chromatinu a aktivaci genové exprese. Ukazuje se také, že tyto metylace v HS paměti nejsou třeba pro iniciaci transkripce, ale spíše pro uvolnění RNA polymerázy II z inhibiční pauzy, která nastává po iniciaci a brání elongaci (Wang a kol., 2023a). Zajímavé je, že H3K4me3 se vyskytují i tam, kde již transkripce neprobíhá, a tím označují místa nedávné transkripce. To může sloužit jako urychlení příští aktivace genů, jelikož bude přeskočen krok syntézy aktivujících metylací. Právě udržování těchto aktivujících metylací i po skončení transkripce genů je důležitá součást transkripční paměti (Lämke a kol., 2016).



Obr. 3: Schéma regulace tepelné stresové paměti: priming – mírný HS; období zotavení=období paměti; následující HS ve vyšší dávce; na získané termotoleranci se podílí chromatinové a histonové modifikace v lokusech HS paměťových genů, inhibice SPLs a interakce FGT3 s fosfolipázou D- α 2; červené Me znamená metylace H3K27, zelené Me znamená metylace H3K4 (zdroj: Wang a kol., 2023c).

4.1.2 Transkripční paměť

Z literatury vyplývá, že se transkripční tepelná paměť (TM) se dělí na dva typy. TM I. typu spočívá v trvalé expresi genů HS paměti. Tyto geny si udržují stejnou hladinu exprese i po skončení tepelného stresu, takže jsou v tomto období připraveny ihned reagovat na další tepelný stres. Tato prodloužená indukce (z angl. *sustained induction*) může trvat několik dnů, po zastavení indukce paměť končí, a kdyby HS přišel až za delší dobu, nemá to už na HS odpověď vliv. TM II. typu může být dlouhodobější a spočívá v tom, že při příštím HS stimulu je HS odpověď mnohem rychlejší a efektivnější (v anglické literatuře označována také jako *enhanced re-induction*). Jeden z mechanismů je označení transkripčně aktivních genů během HS značkami, které tam zůstávají po celou dobu fáze zotavení a při příštím HS umožňují mnohem rychlejší aktivaci těchto genů.

4.1.2.1 Geny tepelné stresové (HS) paměti

Je důležité si uvědomit, že ne všechny geny indukované tepelným stresem se podílejí na tepelné stresové paměti. Geny HS paměti jsou specifické tím, že je jejich exprese indukována především v období HS zotavení, a poněkud méně při samotném HS, tedy nejvyšší hladiny exprese mají asi 2-3 dny po skončení HS. Řadí se mezi ně většina malých HSP (např. HSP21, HSP22, HSP17.6 a HSP18.2), dále také třeba APX2, HSA32, ale také geny HSFs, jako třeba HSFA2 (Lämke a kol., 2016). Tyto geny sdílejí také další vlastnosti, jako třeba časté obohacení o H3K4 metylace, které byly indukovány HS, a také obsah specifických heat shock elementů s velmi silnou afinitou k HSFA2/HSFA3 komplexu, který je hlavním regulátorem HS paměťových genů (Kappel a kol., 2023).

Naopak geny, jež se na HS paměti nepodílejí, ale jsou indukovány zvýšenou teplotou, mají nejvyšší hladiny transkripce bezprostředně během stimulace HS a poté dochází k velmi rychlému poklesu. Jedná se o větší HSPs jako třeba HSP101 a HSP70. Přestože transkripce genu HSP101 nevykazuje transkripční paměť, HSP101 se na HS paměti podílí post-translačně (viz kapitola 4.3). Důvodem, proč nevykazují transkripční paměť může být také to, že je jejich indukce velmi rychlá i bez dodatečných aktivujících metylací a při následujícím HS už ji ani evolučně není možné více urychlit (Liu a kol., 2018).

Trvání TM se liší u jednotlivých paměťových genů, např. u APX2 (ASCORBATE PEROXIDASE 2), což je enzym zapojený ve zhášení ROS, trvá kolem 6 dnů, zatímco u MIPS2 (L-MYO-INOSITOL 1-PHOSPHATE SYNTHASE 2), což je gen podílející se na přestavbách lipické membrány, jen 3-4 dny. To poukazuje na skutečnost, že různé geny mohou být v HS zotavení různě důležité, proto se zachovávají po jiný čas a nejspíše jinými mechanismy. Pro rostlinu znamená obrovskou výhodu, pokud dokáže zhášet ROS při následujícím HS exprimovat rychleji, jelikož každá vteřina, kdy se po buňce potulují ROS, znamená obrovské buněčné škody. Oproti tomu třeba přestavba lipidů v membráně až tak zásadní v načasování není (Liu a kol., 2018).

4.1.2.2 Transkripční paměť I. typu

Transkripci proteinů tepelného šoku (HSP) regulují transkripční faktory tepelného šoku (HSFs; Scharf a kol., 2012). Pro tepelnou stresovou paměť jsou klíčové transkripční faktory HSFA2 a HSFA3 (Friedrich a kol., 2021).

Exprese HSFA2 je aktivní až během HS a jeho indukce je závislá na HSFA1. HSFA2 přímo interaguje s promotorem paměťových HS genů, ale brzy po HS se odpojuje, přestože je

cílový gen exprimován ještě po dobu několika dnů. Je to dáno tím, že HSFA2 navazuje další proteiny, které expresi udržují. Mezi ně patří specifické transkripční ko-aktivátory a H3K4 metyltransferázy, které způsobují H3K4me2 a me3. Tyto dvě metylace mají nejvyšší hladinu druhý den po HS, což naznačuje, že jsou součástí stresové paměti, nikoliv součástí stresové odpovědi. Jelikož lokusy s vysokým obsahem H3K4 metylací mají mnohem rychlejší reakci na následující stresovou epizodu než stejné loci bez těchto metylací, usuzuje se, že H3K4 metylace mají funkci stresových vzpomínek (Lämke a kol., 2016). HSFA2 je nejvíce exprimovaný HSF během HS a jeho přítomnost je nezbytně nutná pro transkripční paměť, sama o sobě však není dostačující. HSFs fungují v trimerních strukturách a je známo, že HSFA2 potřebuje nějakým způsobem interagovat s HSFA1 i po jeho indukci, aby dokázal fungovat v HS paměti (Liu a kol., 2018).

Nejnovější studie však ukazují, že HSFA2 k jeho správné funkčnosti potřebuje HSFA3, se kterým vytváří během HS heteromerní komplex. Až tento komplex má schopnost aktivovat transkripční koaktivátory a H3K4-methyltransferázy (viz Obr. 3). HSFA3 na rozdíl od HSFA2 není regulováno master regulátorem HSFA1, ale má vlastní aktivační dráhu. To je možná důvodem pro vysokou specifitu komplexu HSFA2/HSFA3. HSFA2 a HSFA3 často tvoří komplex ještě s jinými HSFs, které ale nejsou pro jeho hlavní funkci stěžejní, oproti tomu, pokud v něm chybí HSFA2 nebo HSFA3, nebude nikdy plně funkční (Friedrich a kol., 2021).

Další regulátor tepelných paměťových genů, který má schopnost působit trvalou indukcí exprese pomocí H3K4me3, je HIKESHI-LIKE PROTEIN 1 (HLP1). Ten se také váže na promotory paměťových genů a pomocí trvalé indukce H3K4me3 udržuje jejich expresi aktivní. HLP1 je známý především pro jeho interakce s glukózou. Zvýšená hladina glukózy během HS totiž aktivuje kinázu TOR (z angl. target of rapamycin), která poté fosforyluje E2Fa, což je známý transkripční faktor regulující geny stresové paměti, který mimo jiné pozitivně reguluje HLP1. Zároveň je gen HLP1 regulován také HSFA1a, HLP1 tedy propojuje tepelnou a sacharidovou stresovou signalizaci (Sharma a kol., 2019).

Glukózou aktivovaná kináza TOR má v HS paměti významnou roli, jak tomu nasvědčuje fakt, že jeho zvýšená exprese zvyšuje efektivitu HS paměti. Kromě HLP1 reguluje také další chromatinové regulátory podílející se na HS paměti, konkrétně třeba ARABIDOPSIS TRITHORAX 1 (ATX1). ATX1 je H3K4 metyltransferáza, dává tedy vzniku H3K4me3, které udržují chromatin paměťových genů rozvolněný a přístupný. TOR kinázou fosforylovaný E2Fa se váže na promotor ATX1 a tím nejspíš reguluje jeho expresi. (Sharma a kol., 2022).

Glukóza se tedy na udržování stresové paměti podílí především prostřednictvím kinázy TOR, ale neví se, jestli ji TOR zajišťuje primárně pomocí E2Fa. Vědci se spíše domnívají, že ji zprostředkovává i pomocí jiných cest (Sharma a kol., 2022). Například je známo, že výstupem TOR signalizace může být inhibice autofágie, nejspíše fosforylací komplexu ARGONAUT1 (AGT1), který reguluje iniciaci vzniku autofagozómu (Liu a Bassham, 2010). Kdyby tedy šlo o autofágii degradující specificky proteiny podílející se na HS paměti, mohl by to být další způsob, kterým se TOR kináza podílí na regulaci tepelné stresové paměti.

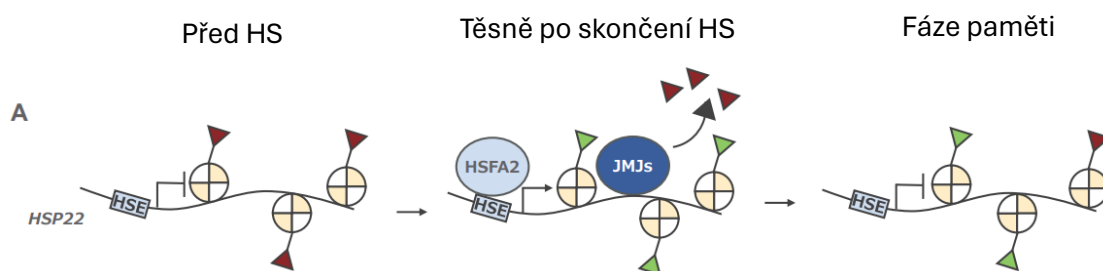
FORGETTER1 (FGT1), je další důležitý regulátor trvalé indukce paměťových genů, kterou zprostředkovává tentokrát nikoliv pomocí histonových modifikací v podobě metylací, nýbrž pomocí alterace obsazenosti nukleozomů. Váže se přímo na promotory paměťových genů (např. HSA32 a HSP18.2) a tam interaguje s chromatinovými modifikátory z rodiny SWI/SNF (konkrétně BRAHMA) a ISWI (konkrétně CHR11 a CHR17; z angl. chromatin remodeling protein 11 a 17), které společně rozvolňují chromatin a dělají ho přístupnějším pro transkripční faktory a jiné proteiny (viz Obr. 3). FGT1 zůstává navázán několik dnů po HS, udržuje aktivní transkripci a tím umožňuje trvalou indukci genů HS paměti, a tedy HS paměť. Zajímavé je, že FGT1 je exprimován i mimo období stresu, avšak rozvolnění chromatinu působí až během a po skončení HS, není známo proč. (Brzezinka a kol. 2016) Také není známo, jestli nějak interaguje s HSFA2, nebo fungují nezávisle.

Chromatinový protein BRUSHY1 (BRU1, někdy také nazýván TONSOKU či MGOUN3), který je známý pro svou funkci v transgeneračním přenosu epigenetických modifikací (viz kapitola 4.6), je další protein, který hraje roli v HS paměti. Ví se to zejména proto, že jeho mutant *bru1* má v HS paměti defekty, neví se ale přesně, jak do ní přispívá. BRU1 interaguje s nukleozomy a zprostředkovává prodlouženou indukci transkripce paměťového genu HSA32, tedy pracuje na transkripční úrovni HS paměti, ale neví se, jestli ji zprostředkovává udržováním H3K4 metylací paměťových genů anebo přes kontrolu obsazenosti nukleozomů. Předpokládá se, že BRU1 má nejspíše obecnější funkci, a to buď poskytnutí vazebné platformy pro reader a writer enzymy histonových modifikací, nebo zajištěním přenosu epigenetických informací ze starých nukleozomů do nově vytvořených nukleozomů (Brzezinka a kol., 2019).

4.1.2.3 Transkripční paměť II. typu

H3K27me3 je reprimující metylace, tedy taková metylace, která kondenzuje chromatin a tím brání transkripci. JUMONJI C-DOMAIN CONTAINING proteiny (JMJ) jsou demethylázy, které tyto metylace odstraňují, čímž dokážou aktivovat umlčené geny. V tepelné stresové paměti figuruje JMJ30 demethyláza, jejíž exprese je senzitivní na HS, a která odstraňuje reprimující metylace z genů HSP22, HSP21 a HSP17.6 (viz Obr.3). Tyto demethylázy zůstávají aktivní i po odeznění HS a udržují přitom nízkou hladinu H3K27me3, což umožňuje mnohem rychlejší aktivaci při druhém setkání se se stresem. Při následujícím HS už totiž nebude potřeba odstranit tak velké množství expresi reprimujících H3K27me3 jako při primingu. JMJ protein se tedy podílí na TM II. typu (Yamaguchi a kol., 2021).

Expresi reprimující metylace H3K27me3 a expresi aktivující metylace H3K4me3 často fungují v genech HS paměti společně jako antagonisté (viz Obr. 4). Bylo zjištěno, že exprese genu HSP21 negativně koreluje s množstvím H3K27me3 a zároveň pozitivně koreluje s množstvím H3K4me3. Je tedy nasnadě, že JMJ protein koriguje rovnováhu mezi H3K27me3 a H3K4me3 udržovaným odstraňováním H3K27 trimethylací, čímž umožňuje vznik aktivujících H3K4 trimethylací, tudíž rozhoduje o tom, zdali bude gen exprimován nebo umlčen (Yamaguchi a Ito, 2021).



Obr. 4: Spolupráce H3K27 demethyláz a H3K4 transmethyláz v tepelné stresové paměti. červený ▽ - H3K27me3; zelený ▽ - H3K4me3. Za normálních podmínek gen pro HSP22 obsahuje velký počet reprimujících H3K27 hypermethylací. Priming během HS indukuje aktivitu JMJs, které odstraňují H3K27me3 a zároveň HSF A2 indukuje aktivující H3K4 hypermethylace na genu HSP22. Během fáze zotavení jsou H3K4me3 na histonech dále udržovány, zatímco JMJs nadále odstraňují H3K27me3. Při následujícím stresu je transkripce tohoto genu aktivována o hodně rychleji, jelikož je zde snížené množství reprimujících histonových modifikací, chromatin je proto více přístupný transkripčním enzymům (upraveno podle: Yamaguchi, 2022).

4.1.2.4 Vliv obměny histonů na transkripční paměť

H3K4me3 paměťových HS genů jsou udržovány po celé období HS paměti, což umožňuje buď kontinuální indukci genů (TM I. typu) anebo jednodušší aktivaci těchto genů při příštím stresovém stimulu (TM II. typu), a to přesto, že se na ně HSFA2 váže jen přechodně v období HS. Jedním z důvodů, proč jsou H3K4me3 udrženy po celou dobu, může být navázání H3K4me3-metyltransferáz (nebo jejich koaktivátorů) pomocí HSFA2, které tyto metylace neustále obnovují. Avšak ukázalo se, že konkrétně v případě H3K4 trimetylací jsou metylace udržovány mimo jiné také pomocí snížené obměny histonů (z angl. histone turnover; [Pratx a kol., 2023](#)).

Obměna histonů nastává v DNA přirozeně; při každé transkripci, replikaci ale i rekombinaci a poškození DNA je třeba strukturu nukleozomů dočasně rozpustit, aby mohla přes rozmotaný řetězec DNA projít RNAPolymeráza II nebo jiné enzymy. Poté se histony na své místo zase vrací, ale často v jiném složení (a s jinými modifikacemi) než předtím, čímž zanikají epigenetické informace. Obměna histonů je vyšší na vysoce exprimovaných genech, a to především na jejich promotorech a enhancerech ([Deaton a kol., 2016](#)).

Geny podílející se na HS paměti vykazují během paměťové fáze nižší obměnu histonů než geny vyvolané HS, ale nepodílející se na HS paměti, což nejspíše přispívá udržení paměťových modifikací H3K4me3 ([Pratx a kol., 2023](#)). H3K4me3 jsou vytvořeny během akutního HS pomocí metyltransferáz navázaných pomocí HSFA2, bylo však zjištěno, že během dalšího období HS paměti jsou udržovány nejen nezávisle na HSFA2, který se brzy odpojuje, nýbrž i bez aktivity metyltransferáz. H3K4me3 jsou v histonech paměťových genů udržovány jednoduše tak, že jsou histony, včetně jejich epigenetických změn, ponechány na stejném místě po celou dobu HS paměti ([Pratx a kol., 2023](#)). V anglické literatuře se tento jev označuje jako histon retention, což se dá přeložit jako např. zadržování histonů. Není ale přesně známo, nakolik se zadržování histonů podílí i na udržení ostatních histonových modifikací, u H4K20 acetylací bylo například zjištěno, že pro jejich zachování není potřeba zadržovat staré histony na původním místě, ale podílí se na něm spíše kontinuální acetylace a deacetylace pomocí prodlouženě navázaných enzymů. Z nižší obměny histonů může také vyplývat, že H3K4me3 jsou nejspíše stabilnější histonové modifikace než H3K9 acetylace, a proto se podílejí na HS paměti, zatímco acetylace nikoliv. ([Pratx a kol., 2023](#)).

4.2 Regulace HS paměti na post-transkripční úrovni

Mimo transkripční faktory a histonové či nukleozomové modifikace mohou HS paměť ovlivňovat také faktory pracující na post-transkripční úrovni, tedy na úrovni regulace mRNA. Nejde už tedy o regulaci transkripce, tedy jestli bude gen přepsán do mRNA, ale o to, jestli bude výsledná mRNA dále přeložena až do konečného proteinu. Mechanismy post-transkripční regulace zahrnují především zastavení translace nebo sestřihů či alternativní sestřihů prekursoru mRNA (pre-mRNA). Na HS paměti se post-transkripčně specificky podílejí miRNA, což jsou malé nekódující RNA, které dokáží umlčovat geny.

4.2.1 Sestřihová HS paměť

Alternativní sestřih je způsob, jakým dokáže buňka vytvořit z jednoho genu celou sadu mRNA, ze kterých může (ale nemusí) vzniknout více různých funkčních proteinů. U krytosemenných rostlin je zvlášť rozšířenou formou alternativního sestřihu tzv. intron retention (ponechání intronů, IR), při které jsou introny, místo aby byly jako obvykle vystřiženy, zachovány ve zralých mRNA (Ling a kol., 2018). To může vést buď ke vzniku nových proteinových izoform, které mohou mít nějakou podstatnou funkci za daných podmínek, anebo ke vzniku translačně nefunkčních mRNA, které ale mohou mít regulační funkci, aniž by byly přeloženy do proteinu. Například se ukázalo, že sestřihová izoforma HSFA2 vyvolaná HS pozitivně ovlivňuje autoregulaci HSFA2 (Liu a kol., 2013). Isoforma prekursoru pro miR400, která byla indukována tepelným stresem, zase způsobuje hromadění primárních transkriptů a snížení dozrávání pre-mRNA (Yan a kol., 2012).

Tepelný stres způsobuje u mnoha eukaryot, včetně rostlin, represi sestřihu, což vede k represi translace mRNA. Zadržování nesestřižených transkriptů v jádře během HS slouží nejspíš jako prevence před vznikem nepotřebných proteinů, které by zatěžovaly chaperony. Zároveň jsou tyto nezralé transkripty uchovávány v jádru jako zásobárna, jejíž sestřih a následná translace jsou spuštěny ihned po odeznění stresu. Buňka tím pouze odkládá sestřih na vhodnější chvíli. Bylo však zjištěno, že represe sestřihu během HS je ovlivněná tím, jestli rostlina podstoupila nebo nepodstoupila HS priming. Pokud ano, při následujícím HS už znovu k represi sestřihu, způsobené ponecháním intronů, nedošlo. Naopak, sestřih pre-mRNA probíhal jako za normálních podmínek, čímž si rostliny zajistily růst a vývoj i během jinak letálních teplot. Opačně rostliny, které neprodělaly priming, vykazovaly během HS represi sestřihu. Tento rozdíl mezi rostlinami, které prošly nebo neprošly primingem, je důkaz, že existuje „sestřihová paměť“ (Ling a kol., 2018).

U jehličnanů, a konkrétně u borovic, funguje sestřihová paměť odlišně. Je to tím, že nahosemenné rostliny mají obecně odlišnou stavbu genomu – především mají celkově rozsáhlejší genomy a delší introny. Navíc jsou na rozdíl od modelové rostliny *Arabidopsis thaliana*, na které je prováděna většina experimentů týkajících se HS paměti, dlouhověkými dřevinami, jejich HS paměť by tedy měla být schopná existovat po delší časové období. Ukázalo se, že u jehličnanů nepřevažuje IR jako forma alternativního sestřihu. Je to nejspíš tím, že dlouhé introny mají jiný mechanismus vystřížení, jelikož nejsou tak snadno rozeznány jako společná jednotka. Pokud jsou introny ponechány, tak spíš fragmentovaně, přičemž část intronu je vystřihnuta a část ne. Alternativní sestřih je pro jehličnany zdrojem dlouhodobé HS paměti, kterou si jehličnany dokáží udržet až po dobu šesti měsíců. Sestřihová paměť *Arabidopsis thaliana* oproti tomu trvá jen asi jeden měsíc. (Roces a kol., 2022).

4.2.2 Role miRNA v HS paměti

Na post-transkripční epigenetické regulaci stresové paměti se podílejí také mikro RNA (miRNA). MiRNA jsou malé nekódující jednořetězcové molekuly RNA, které fungují jako post-transkripční regulátory genové exprese. Navádějí funkční efekторы ke komplementárnímu mRNA, na kterém tyto efekторы provedou sestřih anebo inhibují translaci. MiRNA tedy fungují jako silencers genů. Propojení efektoru s miRNA je zprostředkováno takzvanými RNA-INDUCED SILENCING komplexy (RISC; Voinnet, 2009). V HS paměti je důležitý miR156, který prostřednictvím efektoru ARGONAUT1 dokáže umlčet SQUAMOSA-PROMOTER BINDING-LIKE (SPL) transkripční faktory, které jinak reprimují geny tepelné stresové paměti (viz Obr. 3). MiR156 tedy zprostředkovaně aktivuje expresi paměťových genů HS. Že je miR156 součástí HS paměti dokazuje fakt, že je jeho exprese vyvolaná tepelným stresem, jeho hladiny zůstávají vysoké až několik dnů po HS a také to, že zvýšením jeho exprese se trvání HS paměti prodlužuje (Stief a kol., 2014).

4.3 Role HSP proteinů v HS paměti

4.3.1 Proteiny tepelného šoku (HSPs) a transkripční faktory tepelného šoku (HSFs)

Tepelná aklimace je zprostředkována především zvýšenou syntézou proteinů tepelného šoku (HSPs). HSPs jsou jako molekulární chaperony nesmírně důležité v reakci na tepelný stres, jelikož udržují správně sbalené proteiny i v teplotách, ve kterých by jinak denaturovaly. Navíc mají také schopnost renaturace již vzniklých proteinových agregátů za spotřeby ATP, a také dokáží podpořit jejich degradaci. Hromadění proteinových agregátů je totiž pro buňku potenciálně toxické (Sharma a kol., 2010). HSPs mohou mít mimo chaperonovou aktivitu také

roli v udržování integrity buněčné membrány a podílet se na zhášení ROS tak, že indukují produkci antioxidantů (Khan a Shahwar, 2020). HSPs se dělí do skupin podle molekulární hmotnosti: malé HSPs, HSP60, HSP70, HSP90 a HSP100 (Al Whaibi, 2010). Malé HSPs (sHSPs) jsou obzvláště podstatné pro HS paměť (Lämke a kol., 2016).

Exprese HSPs je regulována transkripčními faktory HSFs. HSFs obsahují DNA-binding doménu (DBD), která se specificky váže na heat shock element (HSE), což je sekvence specifická pro HSPs. Pro HSFs existuje 21 genů a rozdělují se na tři třídy; A, B a C. HSFA obsahují aktivační doménu, HSFAB represivní doménu, HSFAc nejsou příliš prozkoumány. HSFA jsou pro tuto práci nejdůležitější, jelikož dokáží aktivovat geny zapojené v odpovědi na HS (Scharf a kol., 2012).

HSFA1 je považován za master regulátor HS odpovědi, jelikož dokáže indukovat expresi většiny genů podílejících se na HS odpovědi, a to včetně jiných HSFs (např. HSFA2). HSFA1 je exprimován i za normálních podmínek, ale až během HS je aktivován a aktivuje indukci genů souvisejících s HS (Nishizawa-Yokoi a kol., 2011). HSFA2 a HSFA3 jsou zase specifické pouze pro HS paměť. Během HS a v období zotavení je exprese HSFA2 indukována pomocí HSFA1. HSFA3, jehož exprese je na HSFA1 nezávislá, tvoří s HSFA2 heteromerní komplex, který se po dobu trvání HS paměti účastní indukce malých HSPs a epigenetických modifikátorů podílejících se například na udržování H3K4 hypermetylací (Scharf a kol., 2012; Lämke a kol., 2016; Friedrich a kol., 2021).

4.3.2 Regulační funkce HSPs v HS paměti

Důležitá pro HS paměť je existující pozitivní zpětnovazebná smyčka mezi HSP101 a HSA32 (HEAT-SHOCK ASSOCIATED 32-kD PROTEIN). HSP101 je molekulární chaperon potřebný pro vývoj získané termotolerance (AT), a to pro dlouhodobou (LAT) i krátkodobou (SAT). HSA32 se neřadí mezi kanonické HSP, ale zato je to protein specifický pro říši rostlin. Zjistilo se, že HSA32, který je indukován HS, specificky zpomaluje degradaci HSP101, zatímco HSP101 zesiluje translaci a možná i brání degradaci HSA32. Přesné mechanismy nejsou známy, pouze fakt, že jsou v pozitivní zpětnovazebné smyčce, která prodlužuje získanou termotoleranci, tedy HS paměť. V mutantu *hsa32* je degradace HSP101 rychlejší, což se projevuje defektem v LAT (Wu a kol., 2013).

Stejná zpětnovazebná smyčka mezi HSP101 a HSA32 byla potvrzena i v rýži. Tam se navíc zjistilo, že japonský a indický kultivar rýže mají mezi sebou rozdíly v typech termotolerance, což se projevuje i v interakci mezi HSP101 a HSA32. Indický kultivar pochází

z tropického klimatu, a má vyšší bazální termotoleranci a nižší LAT. Naopak japonský kultivar roste v mírném klimatickém pásmu má nižší bazální termotoleranci a vyšší LAT. Odpovídá to rozdílům v klimatu, kdy v tropech je dlouhodobě vysoká teplota, která se příliš nemění, zatímco v mírném pásmu dochází k velkým výkyvům, ale ne k extrémním teplotám. Zjistilo se navíc, že hladina HSP101 koreluje s LAT, jelikož japonský kultivar má vyšší LAT a také měl vyšší hladinu HSP101. Rozdíl mezi japonským a indickým kultivarem rýže dosvědčuje, že mechanismus pozitivní zpětnovazebné smyčky mezi HSP101 a HSA32 má význam v přizpůsobení se rozdílným klimatickým podmínkám. Také existují domněnky, že jelikož je HSA32 specifický pouze pro říši rostlin, měl nejspíše klíčový význam pro přechod rostlin na souš, kdy se najednou musely vyrovnat s velkými výkyvy teploty vzduchu, které ve vodním prostředí neexistují (Lin a kol., 2014).

Protein tepelného šoku HSP90.1 zase ovlivňuje HS paměť tím, že pomocí interakce s ROF (z angl. rotamase FKBP 1) pozitivně reguluje expresi HSFA2. ROF1, což je peptidyl-prolyl-cis/trans-isomeráza, má vysokou afinitu pro interakci s HSP90.1. Tyto dvě molekuly spolu za normálních podmínek tvoří komplex v cytoplazmě. Během období tepelného stresu se ale spustí obranná reakce, která indukuje HSFA2. HSFA2 se také specificky váže na HSP90.1, nikoliv na ROF1, a zároveň zajišťuje translokaci tohoto nově vzniklého komplexu ROF1-HSP90.1-HSFA2 do jádra. Interakce těchto tří molekul v jádře stabilizuje HSFA2 a umožňuje mu kontinuální indukci genů HS paměti. Zvýšená exprese ROF1 vede ke zvýšené HS paměti a prodloužené indukci genů regulovaných transkripčním faktorem HSFA2 (Meiri a kol., 2009).

4.4 Role metabolitů v regulaci HS paměti

Regulaci tepelné paměti mohou ovlivňovat také signalizační molekuly, například vápenatý kationt. Při HS se objevuje vyšší koncentrace vápníku v chloroplastech. Tento vápník má signalizační funkci a zřejmě pozitivně reguluje autofágii, čímž přispívá k rychlejšímu zapomínání stresu. Toto je nejspíš zprostředkováno pomocí proteinu CALCIUM SENSING RECEPTOR (CAS). Ukázalo se, že mutant v *cas*, který má stejný fenotyp jako mutant v genech pro autofágii, projevuje déletrvající HS paměť, vylepšenou reakci na následující stres, a tedy větší objem biomasy, jelikož se jeho růst během HS nezastavuje. Má také snížené množství volných aminokyselin což vypovídá o tom, že se rozkládá méně proteinů, tedy je snižená autofágie. Zvýšená koncentrace vápníku pravděpodobně slouží jako signál pro zvýšení autofagické degradace HS paměťových proteinů, jmenovitě třeba HSP17.6, a jelikož mutant v

cas měl obecně menší reakci na HS, možná také obecně jako detektor zvýšené teploty (Pollastri a kol., 2021).

Další příspěvek do HS paměti přes signalizační dráhu má také další gen identifikovaný podle defektu v transkripční paměti, tzv. FORGETTER2. FGT2, narozdíl od FGT1, nekóduje regulační protein, nýbrž fosfatázu typu 2C, která je připojena k PM pomocí lipidické kotvy. Její role v tepelné paměti spočívá v interakci s fosfolipázou Da2 (PLD α 2), která ale není plně prozkoumána (viz Obr. 3). PLD α 2 hydrolyzuje fosfolipidy za vzniku kyseliny fosfatidové (PA), což je známá signalizační molekula. Jelikož je PLD α 2 rozpustný protein, FGT2 je nejspíš potřeba pro jeho připojení na PM. Neví se, jak přesně spolu tyto dvě molekuly interagují, zdali FGT2 defosforyluje PLD α 2 a tím reguluje její aktivitu, anebo PA, které bylo derivováno pomocí PLD α 2, reguluje aktivitu FGT2. Mechanismus jejich přínosu do regulace HS paměti také není objasněný, předpokládá se buď modifikace membránových lipidů, což je potřeba při tepelné změně fluidity membrány, anebo skrz PA-dependentní signalizaci (Urrea Castellanos a kol., 2020).

Zajímavá je také regulace HS paměti popsána v apikálním meristému prýtu pomocí genů metabolismu sacharidů. Jeden z těchto genů je fruktóza-1,6-bisfosfátaldoláza 6 (FBA6), která hraje klíčovou roli v glykolýze. V ní katalyzuje reakci, při které se fruktóza-1,6-bisfosfát štěpí na dvě triózy, ze kterých je posléze získávána energie ve formě ATP. Produkty této reakce také mohou být využity jako stavební jednotky v glukoneogenezi. Po vystavení HS se v apikálním meristému prýtu zvyšuje exprese FBA6, zatímco exprese FBA8 se snižuje, z čehož se usuzuje, že FBA6 ho nejspíš funkčně nahrazuje. FBA6 přispívá hromadění jednoduchých sacharidů v apikálním meristému prýtu ve fázi zotavení po HS a tím pomáhá k rychlé regeneraci po HS poskytnutím energie k růstu a vývoji (Olas a kol., 2021).

4.5 Regulace etylénu v HS paměti

HS způsobuje zvýšenou produkci etylénu. To zvyšuje výskyt senescence listů, rozpad chlorofylu a programovou buněčnou smrt během HS. Etylén má také vliv na vývojové procesy typu kvetení a zrání plodů, proto důsledkem jeho zvýšené hladiny dochází kvůli HS k fyziologickým a morfologickým abnormalitám. Dále má etylén negativní vliv na buněčnou proliferaci v SAM (prýtový apikální meristém), takže se jeho působením zmenšují meristémy.

V nedávných studiích bylo objeveno, že HSFA7b, jehož hladina se zvyšuje po HS, negativně reguluje biosyntézu etylénu. To pomáhá rostlině zamezit defektům v růstu při opakovaných vlnách veder. Konkrétní mechanismus vypadá tak, že HSFA7b přímo kontroluje

expresi ETHYLENE OVERPRODUCER1 (ETO1) a ETO1-LIKE (ELO1), které negativně regulují biosyntézu etylénu tak, že inhibují enzymy ACS (z angl. 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase). Bez HSFA7b je produkce etylénu zvýšena, důsledkem čehož je zpomalen růst a zvýšena citlivost na HS. HSFA7b navíc reguluje také WUSCHEL (WUS) a CLAVATA3 (CLV3), což jsou regulátory růstu SAM. HSFA7b aktivuje ETHYLENE-INSENSITIVE3 (EIN3), ten pozitivně reguluje WUS a CLV3, což vede k udržení integrity kmenových buněk v SAM a k správné velikosti SAM (John a kol., 2024).

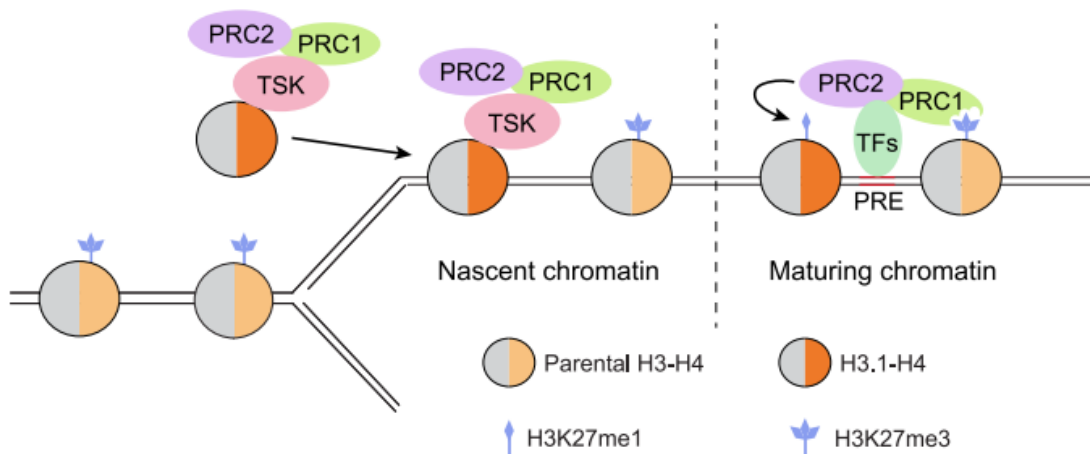
4.6 Transgenerační přenos tepelné stresové paměti

Stresová paměť může být přenášena i na potomstvo, to však vyžaduje zachování epigenetického stavu chromatinu. Proces replikace, která doprovází dělení buněk, stav chromatinu narušuje. Je to proto, že se počet histonů musí zdvojnásobit, takže polovina histonů v novém chromatinu je nově vytvořených, tudíž v tomto bodě zanikají epigenetické informace. Během dalších dělení buňky se navíc dále ředí. Proces replikace je proto pro transgenerační přenos epigenetické paměti zásadní (Wang a kol., 2023b).

Že existuje dědičnost tepelné stresové paměti dokazuje několik studií. Alfa-aminomáselná kyselina, která indukuje vyplavení stejných transkriptů, jako při napadení patogenem, tzv. PATHOGENESIS RELATED (PR) proteiny, byla ve studii z roku 2012 přidána do zálivky *Arabidopsis thaliana*, čímž byly rostliny vystaveny mírnému patogennímu stresu, tedy primingu. Tyto rostliny zplodily potomstvo, které oproti kontrolnímu potomstvu, jehož rodiče nebyli vystaveni stresu, vykazovaly vylepšenou reakci na napadení patogeny. Především produkovaly více transkriptů PR proteinů a také byla jejich indukce mnohem rychlejší. Zde se projevuje tzv. zděděný priming, kdy si potomci primovaných rostlin uchovaly vylepšenou reakci na stres, přestože samy primovány nebyly (Slaughter a kol., 2012). V tomto případě byl transgenerační priming ztracen již v druhé nestresované generaci, nicméně v jiných studiích na rostlinách vystavovaných patogennímu stresu byl potvrzen dědičný přenos primingu i ob generaci (Luna a kol., 2012). V živočišné studii prováděné na *Caenorhabditis elegans* bylo dokonce zaznamenáno zachování reprimující histonové modifikace H3K9me3 až po 14 nestresovaných generací (Klosin a kol., 2017). Délka transgenerační stresové paměti může být tedy různá a závisí mj. na typu a intenzitě stresu.

O mechanismech transgenerační tepelné stresové paměti je toho známo o hodně méně než o paměti somatické, což je ta, které jsem se věnovala ve všech předchozích kapitolách. Podstatná je zřejmě role proteinu BRU1, o kterém jsem již psala v souvislosti s transkripční

paměti. BRU1 během replikace interaguje s POLYCOMB REPRESSIVE COMPLEX 1 (PRC1) a zároveň se váže na nově vznikající H3.1 histony, čímž zprostředkovaně umožňuje zachování reprimujících H3K27me3 i v nově vznikajících histonech, a tedy umožňuje přenos umlčených genů do dalších generací (Wang a kol., 2023b). PRC1 má funkci umlčování genů. Obsahuje několik domén, z nichž např. like-HP1 (LHP1) specificky rozeznává H3K27me3. Další důležité komponenty PRC1 jsou tzv. POLYCOMB GROUPS proteiny (PcG), které se vážou na replikační vidličku během DNA replikace a zároveň mají vazebnou doménu pro BRU1. PRC1 váže PRC2 a spolupracuje s ním. Dohromady PRC1 a PRC2 dokážou vyhledat recyklované H3K27me3 a přemístit je na nově inkorporované histony po DNA replikaci. Protein BRU1 se v tomto mechanismu váže na nově syntetizované H3.1 histony a zároveň na komplex PRC1/PRC2 přes PcG proteiny, čímž zajišťuje vazbu mezi funkčním komplexem PRC1/PRC2 a nově vznikajícím chromatinem. BRU1 se váže jen dočasně, a PRC1 a PRC2 poté zajišťují vznik a zachování H3K27me3 na nově vzniklých histonech samy, jelikož PcG proteiny mají vlastní specifickou vazbu buď na DNA anebo na recyklované H3K27me3 (viz Obr. 5). BRU1 tedy slouží jako reader pro nově vznikající chromatin a uskutečňuje vazbu mezi ním a komplexy PRC, které zajistí udržení reprimujících metylací H3K27me3. Jelikož se tyto konkrétní metylace podílejí na HS paměti, je možné, že se tento mechanismus podílí na přenosu HS paměti do dalších generací (Wang a kol., 2023b).



Obr. 5: Schéma role proteinu BRU1 (zvaným také TONSOKU, zkratkou TSK) v udržování H3K27me3 během replikace. Vidíme zde replikační vidličku a parentální a nově vzniklé histony. Komplex BRU1/PRC1/PRC2 se váže na nově vzniklé histony. Během maturace chromatinu se BRU1 odpojuje a komplex PRC1/PRC2 samostatně přenáší H3K27me3 na nový histon (zdroj: Wang a kol., 2023b).

Na transgeneračním HS paměti se také zřejmě podílí pozitivní zpětnovazebná smyčka mezi HSFA2 a RELATIVE OF EARLY FLOWERING 6 (REF6), což je H3K27me3 demethyláza, někdy zvaná také JMJ12 (Liu a kol., 2019). REF6 odstraňuje reprimující metylace H3K27me2 na genu HSFA2 a tím aktivuje expresi HSFA2 a zároveň HSFA2 indukuje expresi REF6. Tato zpětnovazebná smyčka umožňuje prodlouženou expresi HSFA2 a prodlouženou HS paměť, což je důležité pro její transgenerační přenos (Liu a kol., 2019). V tomto případě se transgeneračně přenášejí epigeneticky aktivované geny. HSFA2 aktivuje expresi SGS3-INTERACTING PROTEIN 1 (SGIP1), který má ubikvitin ligázovou aktivitu a jeho cílem je degradace SUPPRESSOR OF GENE SILENCING 3 (SGS3). SGS3 je důležitý pro syntézu malých interferujících RNA (siRNA), které svou umlčovací schopností brání transgeneračnímu přenosu HS paměti, exprese SGS3 tedy způsobí aktivaci některých umlčených genů. Konkrétně tasiRNA, což je typ siRNA, má jako cílový gen umlčení HEAT-INDUCED TAS1 TARGET 5 (HTT5), a když je podpořena degradace SGS3, čímž je inhibována syntéza tasiRNA, je spuštěna exprese HTT5. Výsledkem této dráhy je zvýšená odpověď na tepelný stres v potomstvu, což se projevuje snížením umlčení genů a například urychleným kvetením, což má za důsledek zvýšenou reprodukci. V potomstvu se ale navíc vyskytuje i snížená imunita proti patogenům, což potvrzuje, že udržováním stresových epigenetických modifikací si rostlina odebírá energii na jiné procesy, zde konkrétně na imunitní odpověď (Liu a kol., 2019).

5 Zapomínání tepelného stresu

Během stresu rostlina zastavuje růst a většinu energie investuje do stresové odpovědi, tj. vytvoření stresových transkriptů, proteinů a metabolitů. Toto je výhodné jak během akutního stresu, tak pro vylepšenou reakci na opakovaně se vyskytující stres, nicméně později je pro rostlinu zásadní získat zpět svoji kompetitivnost, a energii zase investovat zpátky do růstu a rozmnožování, aby nezaostávala oproti okolním jedincům. Proto je pro rostlinu podstatné nejen pamatovat si stres, ale také jej zapomenout. Poměr mezi pamětí a zapomínáním určuje délku trvání paměti. Tyto dva jevy musí být v rovnováze, a tu udržuje interakce mezi pozitivními (=paměťovými) a negativními (=zapomnětlivými) regulátory HS paměti. Tato rovnováha tedy určuje délku trvání HS paměti. Nejdůležitějším negativním regulátorem trvání paměti je samotná autofágie.

Autofágie je proces kontrolované degradace nepotřebných částí buněk pomocí lysosomálního kompartmentu, což je u rostlin vakuola. Má významnou roli v odpovědi na HS, jelikož zbavuje buňku denaturovaných a nefunkčních proteinů, které mohou být pro buňku škodlivé a narušují její homeostázu. Zjistilo se však, že autofágie může být i specifický proces, který likviduje HSP během HS paměti a tím zkracuje její trvání (Sedaghatmehr a kol., 2019). Tato selektivní autofágie je indukována primingem a její hladina zůstává vysoká i v následujícím období zotavení. Během tohoto období jsou specificky degradovány HSPs podílející se na HS paměti tak dlouho, dokud nejsou jejich hladiny vráceny na stejnou úroveň jako před HS. Degradace HSPs může být výhodná, protože během podmínek bez stresu je jejich udržování zbytečné, a navíc energeticky náročné. Jejich rozložení tedy umožňuje investovat energii do růstu. Nevýhoda je samozřejmě v tom, že pokud přijde další HS, rostlina na něj už není připravená a během velmi vysokého akutního stresu může zemřít. Autofágie tedy zajišťuje poměrně krátké trvání HS paměti (asi 4 dny u *A. thaliana*), což je výhodná adaptace v rychle se měnících podmínkách prostředí (Sedaghatmehr a kol., 2019).

Autofágie může být zprostředkována dalšími regulátory, například proteinem NBR1 (next-to-BRCA1). Jakožto receptor selektivní autofágie zprostředkovává autofagickou degradaci komplexu HSP90.1-ROF1 a tím reprimuje geny regulované transkripčním faktorem HSFA2. NBR1 rozpozná a označí HSP90.1-ROF1 jako náklad, a to mechanismem nezávislým na ubikvitinaci, a tím jej přesune do autofagozómu, kde je degradován. NBR1 je exprimován jen během fáze zotavení a degraduje HSP90.1-ROF1 také jen během fáze zotavení, což nasvědčuje tomu, že jde o mechanismus HS paměti (Thirumalaikumar a kol., 2021).

Jiným negativním regulátorem HS paměti je například ROF2, který sdílí 85 % sekvenční identity s ROF1, a přesto má naprosto opačnou funkci. Exprese ROF2 je indukována pomocí HSFA2, tedy během fáze HS zotavení. V tomto období se v jádře, do kterého je na rozdíl od ROF1 translokován nezávisle na HSFA2 a ROF1, váže přes ROF1 do komplexu ROF1–HSP90.1–HsfA2 a tím narušuje jeho aktivitu, tedy transkripční regulaci HSFA2. Způsobuje tedy zastavení exprese malých HSP, a tedy zkracuje paměť. ROF2 také funguje jako negativní zpětnovazební kontrola HSFA2, jelikož jej HSFA2 indukuje a on poté narušuje jeho transkripční aktivitu, čímž vlastně blokuje svou vlastní transkripci (Meiri a kol., 2010).

FILAMENTATION TEMPERATURE-SENSITIVE H6 (FtsH6) je dalším proteinem, který zkracuje HS paměť. Konkrétně je negativním regulátorem HSP21, což je protein podílející se na HS paměti. FtsH6 zkracuje jeho životnost a tím HS paměť. FtsH6 je metaloproteáza, která štěpí peptidové vazby, čímž zajišťuje degradaci proteinů. HSP21 i FtsH6 jsou během HS oba indukovány stejným master regulátorem – HSFA2. Zde je mechanismus jednoduchý, FtsH6 během fáze zotavení degraduje proteiny HSP21 tak dlouho, dokud se jeho množství nevrátí do stejných hodnot jako před HS, což ukončí HS paměť. FtsH6 tedy určuje délku trvání tepelné paměti, a HSFA2 udržuje rovnováhu mezi udržováním paměti a zapomínáním, funguje jako kontrolní faktor homeostázy (Sedaghatmehr a kol., 2016; Sedaghatmehr a kol., 2022).

6 Závěr

V této práci jsem se pokusila shrnout veškeré známé komponenty a mechanismy podílející se na rostlinné tepelné stresové paměti, což je jev, který rostlinám umožňuje lepší adaptabilitu na tepelné výkyvy prostředí, především v podobě vln veder. Během období tepelné paměti si rostlina uchovává prodlouženou indukci genů tepelné paměti (např. geny pro malé proteiny tepelného šoku). Když přijde další tepelný stres (HS) v době prodloužené indukce, rostlina má už předem zapnuté obranné mechanismy, a proto nedojde při následujícím HS téměř k žádným tepelným škodám, a rostlina se i během velmi vysokých teplot může téměř normálně vyvíjet a růst. Prodloužená indukce některých epigenetických modifikací může způsobit při následujícím HS rychlejší a efektivnější indukci genů HS paměti. To je způsobeno například chromatinovými modifikacemi, které udržují chromatin v rozvolněném a transkripčně aktivním stavu po celou dobu paměti. Při příštím HS už je velmi snadné gen přepsat, jelikož je přeskočen krok rozvolňování chromatinu.

Udržování prodloužené indukce stresových proteinů rostlinu stojí energii, není proto dobré udržovat paměť nekonečně dlouho. Po určité době je vhodné od indukce genů HS paměti upustit a energii investovat zpět do normálního růstu a vývoje. Vlny veder většinou chodí krátce po sobě v jednom období, a navíc se každým dnem vedra stupňují. Proto prodloužená indukce, a tedy tepelná stresová paměť, většinou trvá pár hodin až týden – rostlina totiž očekává záhy po předchozím tepelném stresu další tepelný stres, a navíc vyšší intenzity. Nicméně pokud nepřijde, je lepší se obranných mechanismů vzdát.

Rozumět těmto vztahům mezi udržováním paměti a zapomínáním je velmi zásadní pro výzkum tepelné odolnosti rostlin. Kdyby v rostlinách převažovala paměť nad zapomínáním, způsobí to zakrňování rostlin a nedostatečný růst, jelikož její energie bude vynaložena do udržování epigenetických modifikací a indukce stresových proteinů. Na druhou stranu, pokud by rostliny paměť vůbec neměly, způsobilo by to jejich vysokou citlivost na tepelný stres, a proto nejspíš vysokou úmrtnost.

Během studování literatury jsem si uvědomila, jak nedostatečný výzkum rostlin vlastně je. O tepelné stresové paměti rostlin se ví, že existuje, a je známo pár molekul a komponent, které se na ní podílejí, nicméně se velmi málo ví o přesných molekulárních mechanismech a je víceméně neznámé, jak spolu všechny tyto komponenty vzájemně interagují. Jako příklad uvedu, že nejsou zdaleka známy všechny geny tepelné stresové paměti, stejně jako se neví, kolik genů vlastně HSFA2 transkripčně pokrývá. O transgenerační stresové paměti se neví

prakticky vůbec nic, kromě toho, že je asi závislá na replikaci a že existuje, a v literatuře jsem také několikrát narazila na transpozon ONSEN, jehož funkce v HS paměti je nejspíš důležitá, ale neobjasněná. HSPs a jejich HSFs jsou o dost více prozkoumané u živočichů, a vědomosti o rostlinách se z většiny přebírají z poznatků o živočišných formách na základě sekvenční homologie. Většina z těchto poznatků se tedy ještě musí ověřit na rostlinách.

Lepší porozumění mechanismům tepelné stresové paměti rostlin přitom může výrazně ulehčit šlechtění a genetickou modifikaci zemědělských plodin tak, aby byly odolnější vůči zvyšujícím se teplotám a častějším vlnám veder způsobených antropogenním globálním oteplováním, a tak zajistit, aby zemědělství dokázalo v budoucnosti uživit rostoucí lidskou populaci. Stresová paměť tedy umožňuje suchozemským rostlinám lépe fungovat ve stále se měnících podmínkách vnějšího prostředí, a nám její pochopení může umožnit pěstovat plodiny s vyšší odolností vůči tepelným škodám.

Literární zdroje

- Al-Whaibi, M. H. (2011). Plant heat-shock proteins: A mini review. *Journal of King Saud University – Science*, 23(2), 139-150.
- Baxter, A., Mittler, R., & Suzuki, N. (2014). ROS as key players in plant stress signalling. *Journal of experimental botany*, 65(5), 1229–1240.
- Bertolotti, A., Zhang, Y., Hendershot, L. M., Harding, H. P., & Ron, D. (2000). Dynamic interaction of BiP and ER stress transducers in the unfolded-protein response. *Nature cell biology*, 2(6), 326–332.
- Bhardwaj, R., Lone, J. K., Pandey, R., Mondal, N., Dhandapani, R., Meena, S. K., Khan, S., & Gayacharan (2023). Insights into morphological and physio-biochemical adaptive responses in mungbean (*Vigna radiata* L.) under heat stress. *Frontiers in genetics*, 14, 1206451.
- Brzezinka, K., Altmann, S., & Bäurle, I. (2019). BRUSHY1/TONSOKU/MGOUN3 is required for heat stress memory. *Plant, cell & environment*, 42(3), 771–781.
- Brzezinka, K., Altmann, S., Czesnick, H., Nicolas, P., Gorka, M., Benke, E., Kabelitz, T., Jähne, F., Graf, A., Kappel, C., & Bäurle, I. (2016). *Arabidopsis* FORGETTER1 mediates stress-induced chromatin memory through nucleosome remodeling. *eLife*, 5, e17061.
- Cano-Ramirez, D. L., Carmona-Salazar, L., Morales-Cedillo, F., Ramirez-Salcedo, J., Cahoon, E. B., & Gavilanes-Ruiz, M. (2021). Plasma Membrane Fluidity: An Environment Thermal Detector in Plants. *Cells*, 10(10), 2778.
- Casal, J. J., & Balasubramanian, S. (2019). Thermomorphogenesis. *Annual review of plant biology*, 70, 321–346.
- Deaton, A. M., Gómez-Rodríguez, M., Mieczkowski, J., Tolstorukov, M. Y., Kundu, S., Sadreyev, R. I., Jansen, L. E., & Kingston, R. E. (2016). Enhancer regions show high histone H3.3 turnover that changes during differentiation. *eLife*, 5, e15316.
- Dhanda, S.S., Munjal, R. (2012). Heat tolerance in relation to acquired thermotolerance for membrane lipids in bread wheat. *Field Crops Research*, 135, 30-37.
- Doğru A. (2021). Effects of heat stress on photosystem II activity and antioxidant enzymes in two maize cultivars. *Planta*, 253(4), 85.
- Finka, A., Cuendet, A. F., Maathuis, F. J., Saidi, Y., & Goloubinoff, P. (2012). Plasma membrane cyclic nucleotide gated calcium channels control land plant thermal sensing and acquired thermotolerance. *The Plant cell*, 24(8), 3333–3348.
- Fischer, E., Knutti, R. (2015). Anthropogenic contribution to global occurrence of heavy-precipitation and high-temperature extremes. *Nature Clim Change* 5, 560–564
- Friedrich, T., Oberkofler, V., Trindade, I., Altmann, S., Brzezinka, K., Lämke, J., Gorka, M., Kappel, C., Sokolowska, E., Skirycz, A., Graf, A., & Bäurle, I. (2021). Heteromeric HSFA2/HSFA3

complexes drive transcriptional memory after heat stress in Arabidopsis. *Nature communications*, 12(1), 3426.

Hameed, A., Goher, M. & Iqbal, N. (2012). Heat Stress-Induced Cell Death, Changes in Antioxidants, Lipid Peroxidation, and Protease Activity in Wheat Leaves. *J Plant Growth Regul* 31, 283–291.

Hatfield, J.L., Prueger, J. H. (2015). Temperature extremes: Effect on plant growth and development. *Weather and Climate Extremes* 10 (Part A), 4-10.

Hepworth, J., Antoniou-Kourounioli, R. L., Bloomer, R. H., Selga, C., Berggren, K., Cox, D., Collier Harris, B. R., Irwin, J. A., Holm, S., Säll, T., Howard, M., & Dean, C. (2018). Absence of warmth permits epigenetic memory of winter in Arabidopsis. *Nature communications*, 9(1), 639.

Higashi, Y., Okazaki, Y., Myouga, F., Shinozaki, K., & Saito, K. (2015). Landscape of the lipidome and transcriptome under heat stress in Arabidopsis thaliana. *Scientific reports*, 5, 10533.

Higashi, Y., & Saito, K. (2019). Lipidomic studies of membrane glycerolipids in plant leaves under heat stress. *Progress in lipid research*, 75, 100990.

Hilker, M., Schwachtje, J., Baier, M., Balazadeh, S., Bäurle, I., Geiselhardt, S., Hinch, D. K., Kunze, R., Mueller-Roeber, B., Rillig, M. C., Rolff, J., Romeis, T., Schmülling, T., Steppuhn, A., van Dongen, J., Whitcomb, S. J., Wurst, S., Zuther, E., & Kopka, J. (2016). Priming and memory of stress responses in organisms lacking a nervous system. *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 91(4), 1118–1133.

Höll, J., Lindner, S., Walter, H., Joshi, D., Poschet, G., Pflieger, S., Ziegler, T., Hell, R., Bogs, J., & Rausch, T. (2019). Impact of pulsed UV-B stress exposure on plant performance: How recovery periods stimulate secondary metabolism while reducing adaptive growth attenuation. *Plant, cell & environment*, 42(3), 801–814.

Jagadish, S. V. K., Way, D. A., & Sharkey, T. D. (2021). Plant heat stress: Concepts directing future research. *Plant, cell & environment*, 44(7), 1992–2005.

John, S., Apelt, F., Kumar, A., Acosta, I. F., Bents, D., Annunziata, M. G., Fichtner, F., Gutjahr, C., Mueller-Roeber, B., & Olas, J. J. (2024). The transcription factor HSFA7b controls thermomemory at the shoot apical meristem by regulating ethylene biosynthesis and signaling in Arabidopsis. *Plant communications*, 5(3), 100743.

Jordan, D. B., & Ogren, W. L. (1984). The CO₂/O₂ specificity of ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase : Dependence on ribulosebisphosphate concentration, pH and temperature. *Planta*, 161(4), 308–313.

Jung, J. H., Barbosa, A. D., Hutin, S., Kumita, J. R., Gao, M., Derwort, D., Silva, C. S., Lai, X., Pierre, E., Geng, F., Kim, S. B., Baek, S., Zubieta, C., Jaeger, K. E., & Wigge, P. A. (2020). A prion-like domain in ELF3 functions as a thermosensor in Arabidopsis. *Nature*, 585(7824), 256–260.

- Jung, J. H., Domijan, M., Klose, C., Biswas, S., Ezer, D., Gao, M., Khattak, A. K., Box, M. S., Charoensawan, V., Cortijo, S., Kumar, M., Grant, A., Locke, J. C., Schäfer, E., Jaeger, K. E., & Wigge, P. A. (2016). Phytochromes function as thermosensors in Arabidopsis. *Science (New York, N.Y.)*, 354(6314), 886–889.
- Kappel, C., Friedrich, T., Oberkofler, V., Jiang, L., Crawford, T., Lenhard, M., & Bäurle, I. (2023). Genomic and epigenomic determinants of heat stress-induced transcriptional memory in Arabidopsis. *Genome biology*, 24(1), 129.
- Khan Z, & Shahwar D. (2020). Role of heat shock proteins (HSPs) and heat stress tolerance in crop plants. *Sustainable Agriculture in the Era of Climate Change*, 211-234.
- Klemm, S. L., Shipony, Z., & Greenleaf, W. J. (2019). Chromatin accessibility and the regulatory epigenome. *Nature reviews. Genetics*, 20(4), 207–220.
- Klosin, A., Casas, E., Hidalgo-Carcedo, C., Vavouri, T., & Lehner, B. (2017). Transgenerational transmission of environmental information in *C. elegans*. *Science (New York, N.Y.)*, 356(6335), 320–323.
- Lämke, J., Brzezinka, K., Altmann, S., & Bäurle, I. (2016). A hit-and-run heat shock factor governs sustained histone methylation and transcriptional stress memory. *The EMBO journal*, 35(2), 162–175.
- Lee, E. S., Park, J. H., Wi, S. D., Kang, C. H., Chi, Y. H., Chae, H. B., Paeng, S. K., Ji, M. G., Kim, W. Y., Kim, M. G., Yun, D. J., Stacey, G., & Lee, S. Y. (2021). Redox-dependent structural switch and CBF activation confer freezing tolerance in plants. *Nature plants*, 7(7), 914–922.
- Lin, M. Y., Chai, K. H., Ko, S. S., Kuang, L. Y., Lur, H. S., & Charng, Y. Y. (2014). A positive feedback loop between HEAT SHOCK PROTEIN101 and HEAT STRESS-ASSOCIATED 32-KD PROTEIN modulates long-term acquired thermotolerance illustrating diverse heat stress responses in rice varieties. *Plant physiology*, 164(4), 2045–2053.
- Ling, Y., Serrano, N., Gao, G., Atia, M., Mokhtar, M., Woo, Y. H., Bazin, J., Veluchamy, A., Benhamed, M., Crespi, M., Gehring, C., Reddy, A. S. N., & Mahfouz, M. M. (2018). Thermopriming triggers splicing memory in Arabidopsis. *Journal of experimental botany*, 69(10), 2659–2675.
- Liu, Y., & Bassham, D. C. (2010). TOR is a negative regulator of autophagy in Arabidopsis thaliana. *PloS one*, 5(7), e11883.
- Liu, J., Sun, N., Liu, M., Liu, J., Du, B., Wang, X., & Qi, X. (2013). An autoregulatory loop controlling Arabidopsis HsfA2 expression: role of heat shock-induced alternative splicing. *Plant physiology*, 162(1), 512–521.
- Liu, J., Feng, L., Gu, X., Deng, X., Qiu, Q., Li, Q., Zhang, Y., Wang, M., Deng, Y., Wang, E., He, Y., Bäurle, I., Li, J., Cao, X., & He, Z. (2019). An H3K27me3 demethylase-HSFA2 regulatory loop orchestrates transgenerational thermomemory in Arabidopsis. *Cell research*, 29(5), 379–390.
- Liu, H. C., Lämke, J., Lin, S. Y., Hung, M. J., Liu, K. M., Charng, Y. Y., & Bäurle, I. (2018). Distinct heat shock factors and chromatin modifications mediate the organ-autonomous

transcriptional memory of heat stress. *The Plant journal : for cell and molecular biology*, 95(3), 401–413.

Liu, X. H., Lyu, Y. S., Yang, W., Yang, Z. T., Lu, S. J., & Liu, J. X. (2020). A membrane-associated NAC transcription factor OsNTL3 is involved in thermotolerance in rice. *Plant biotechnology journal*, 18(5), 1317–1329.

Liu, Y., Burgos, J. S., Deng, Y., Srivastava, R., Howell, S. H., & Bassham, D. C. (2012). Degradation of the endoplasmic reticulum by autophagy during endoplasmic reticulum stress in Arabidopsis. *The Plant cell*, 24(11), 4635–4651.

Luna, E., Bruce, T. J., Roberts, M. R., Flors, V., & Ton, J. (2012). Next-generation systemic acquired resistance. *Plant physiology*, 158(2), 844–853.

Ma, D., Li, X., Guo, Y., Chu, J., Fang, S., Yan, C., Noel, J. P., & Liu, H. (2016). Cryptochrome 1 interacts with PIF4 to regulate high temperature-mediated hypocotyl elongation in response to blue light. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(1), 224–229.

Medlyn, B. E., Barton, C. V. M., Broadmeadow, M. S. J., Ceulemans, R., De Angelis, P., Forstreuter, M., Freeman, M., Jackson, S. B., Kellomäki, S., Laitat, E., Rey, A., Roberntz, P., Sigurdsson, B. D., Strassmeyer, J., Wang, K., Curtis, P. S., & Jarvis, P. G. (2001). Stomatal conductance of forest species after long-term exposure to elevated CO₂ concentration: a synthesis. *The New phytologist*, 149(2), 247–264.

Meiri, D., & Breiman, A. (2009). Arabidopsis ROF1 (FKBP62) modulates thermotolerance by interacting with HSP90.1 and affecting the accumulation of HsfA2-regulated sHSPs. *The Plant journal : for cell and molecular biology*, 59(3), 387–399.

Meiri, D., Tazat, K., Cohen-Peer, R., Farchi-Pisanty, O., Aviezer-Hagai, K., Avni, A., & Breiman, A. (2010). Involvement of Arabidopsis ROF2 (FKBP65) in thermotolerance. *Plant molecular biology*, 72(1-2), 191–203.

Mohammed, A.R., & Tarpley, L. (2009), Impact of High Nighttime Temperature on Respiration, Membrane Stability, Antioxidant Capacity, and Yield of Rice Plants. *Crop Sci.*, 49, 313-322.

Mullarkey, M., & Jones, P. (2000). Isolation and analysis of thermotolerant mutants of wheat. *Journal of experimental botany*, 51(342), 139–146.

Neill, E. M., Byrd, M. C. R., Billman, T., Brandizzi, F., & Stapleton, A. E. (2019). Plant growth regulators interact with elevated temperature to alter heat stress signaling via the Unfolded Protein Response in maize. *Scientific reports*, 9(1), 10392.

Nishizawa-Yokoi, A., Nosaka, R., Hayashi, H., Tainaka, H., Maruta, T., Tamoi, M., Ikeda, M., Ohme-Takagi, M., Yoshimura, K., Yabuta, Y., & Shigeoka, S. (2011). HsfA1d and HsfA1e involved in the transcriptional regulation of HsfA2 function as key regulators for the Hsf signaling network in response to environmental stress. *Plant & cell physiology*, 52(5), 933–945.

Olas, J. J., Apelt, F., Annunziata, M. G., John, S., Richard, S. I., Gupta, S., Kragler, F., Balazadeh, S., & Mueller-Roeber, B. (2021). Primary carbohydrate metabolism genes participate in heat-stress memory at the shoot apical meristem of *Arabidopsis thaliana*. *Molecular plant*, *14*(9), 1508–1524.

Ong, G., Ragetli, R., Mnich, K., Doble, B. W., Kammouni, W., & Logue, S. E. (2024). IRE1 signaling increases PERK expression during chronic ER stress. *Cell death & disease*, *15*(4), 276.

Piterková, J., Luhová, L., Mieslerová, B., Lebeda, A., & Petřivalský, M. (2013). Nitric oxide and reactive oxygen species regulate the accumulation of heat shock proteins in tomato leaves in response to heat shock and pathogen infection. *Plant science : an international journal of experimental plant biology*, *207*, 57–65.

Pollastri, S., Sukiran, N. A., Jacobs, B. C. I. C., & Knight, M. R. (2021). Chloroplast calcium signalling regulates thermomemory. *Journal of plant physiology*, *264*, 153470.

Pratx, L., Wendering, P., Kappel, C., Nikoloski, Z., & Bäurle, I. (2023). Histone retention preserves epigenetic marks during heat stress-induced transcriptional memory in plants. *The EMBO journal*, *42*(24), e113595.

Qiu, Y., Li, M., Kim, R. J., Moore, C. M., & Chen, M. (2019). Daytime temperature is sensed by phytochrome B in *Arabidopsis* through a transcriptional activator HEMERA. *Nature communications*, *10*(1), 140.

Qu, A. L., Ding, Y. F., Jiang, Q., & Zhu, C. (2013). Molecular mechanisms of the plant heat stress response. *Biochemical and biophysical research communications*, *432*(2), 203–207.

Roces, V., Lamelas, L., Valledor, L., Carbó, M., Cañal, M. J., & Meijón, M. (2022). Integrative analysis in *Pinus* revealed long-term heat stress splicing memory. *The Plant journal : for cell and molecular biology*, *112*(4), 998–1013.

Rodríguez-Paredes, M., & Esteller, M. (2011). Cancer epigenetics reaches mainstream oncology. *Nature medicine*, *17*(3), 330–339.

Roudier, F., Ahmed, I., Bérard, C., Sarazin, A., Mary-Huard, T., Cortijo, S., Bouyer, D., Caillieux, E., Duvernois-Berthet, E., Al-Shikhley, L., Giraut, L., Després, B., Drevensek, S., Barneche, F., Dèrozier, S., Brunaud, V., Aubourg, S., Schnittger, A., Bowler, C., Martin-Magniette, M. L. Colot, V. (2011). Integrative epigenomic mapping defines four main chromatin states in *Arabidopsis*. *The EMBO journal*, *30*(10), 1928–1938.

Salvucci, M. E., Osteryoung, K. W., Crafts-Brandner, S. J., & Vierling, E. (2001). Exceptional sensitivity of Rubisco activase to thermal denaturation in vitro and in vivo. *Plant physiology*, *127*(3), 1053–1064.

Scharf, K. D., Berberich, T., Ebersberger, I., & Nover, L. (2012). The plant heat stress transcription factor (Hsf) family: structure, function and evolution. *Biochimica et biophysica acta*, *1819*(2), 104–119.

- Sedaghatmehr, M., Mueller-Roeber, B., & Balazadeh, S. (2016). The plastid metalloprotease FtsH6 and small heat shock protein HSP21 jointly regulate thermomemory in Arabidopsis. *Nature communications*, 7, 12439.
- Sedaghatmehr, M., Thirumalaikumar, V. P., Kamranfar, I., Marmagne, A., Masclaux-Daubresse, C., & Balazadeh, S. (2019). A regulatory role of autophagy for resetting the memory of heat stress in plants. *Plant, cell & environment*, 42(3), 1054–1064.
- Sedaghatmehr, M., Stüwe, B., Mueller-Roeber, B., & Balazadeh, S. (2022). Heat shock factor HSFA2 fine-tunes resetting of thermomemory via plastidic metalloprotease FtsH6. *Journal of experimental botany*, 73(18), 6394–6404.
- Sharma, S.K., De los Rios, P., Christen, P., Lustig, A., and Goloubinoff, P. (2010). The kinetic parameters and energy cost of the Hsp70 chaperone as a polypeptide unfoldase. *Nat. Chem. Biol.* 6: 914–920.
- Sharma, M., Bandy, Z. Z., Shukla, B. N., & Laxmi, A. (2019). Glucose-Regulated *HLP1* Acts as a Key Molecule in Governing Thermomemory. *Plant physiology*, 180(2), 1081–1100.
- Sharma, M., Sharma, M., Jamsheer K, M., & Laxmi, A. (2022). A glucose-target of rapamycin signaling axis integrates environmental history of heat stress through maintenance of transcription-associated epigenetic memory in Arabidopsis. *Journal of experimental botany*, 73(20), 7083–7102.
- Shen, J., Chen, X., Hendershot, L., & Prywes, R. (2002). ER stress regulation of ATF6 localization by dissociation of BiP/GRP78 binding and unmasking of Golgi localization signals. *Developmental cell*, 3(1), 99–111.
- Slaughter, A., Daniel, X., Flors, V., Luna, E., Hohn, B., & Mauch-Mani, B. (2012). Descendants of primed Arabidopsis plants exhibit resistance to biotic stress. *Plant physiology*, 158(2), 835–843.
- Stief, A., Altmann, S., Hoffmann, K., Pant, B. D., Scheible, W. R., & Bäurle, I. (2014). Arabidopsis miR156 Regulates Tolerance to Recurring Environmental Stress through SPL Transcription Factors. *The Plant cell*, 26(4), 1792–1807.
- Sun, J., Qi, L., Li, Y., Chu, J., & Li, C. (2012). PIF4-mediated activation of YUCCA8 expression integrates temperature into the auxin pathway in regulating arabidopsis hypocotyl growth. *PLoS genetics*, 8(3), e1002594.
- Sun, J., Qi, L., Li, Y., Zhai, Q., & Li, C. (2013). PIF4 and PIF5 transcription factors link blue light and auxin to regulate the phototropic response in Arabidopsis. *The Plant cell*, 25(6), 2102–2114.
- Thirumalaikumar, V. P., Gorka, M., Schulz, K., Masclaux-Daubresse, C., Sampathkumar, A., Skirycz, A., Vierstra, R. D., & Balazadeh, S. (2021). Selective autophagy regulates heat stress memory in Arabidopsis by NBR1-mediated targeting of HSP90.1 and ROF1. *Autophagy*, 17(9), 2184–2199.

Urrea Castellanos, R., Friedrich, T., Petrovic, N., Altmann, S., Brzezinka, K., Gorka, M., Graf, A., & Bäurle, I. (2020). FORGETTER2 protein phosphatase and phospholipase D modulate heat stress memory in Arabidopsis. *The Plant journal : for cell and molecular biology*, *104*(1), 7–17.

Voinnet O. (2009). Origin, biogenesis, and activity of plant microRNAs. *Cell*, *136*(4), 669–687.

Vu, L. D., Xu, X., Zhu, T., Pan, L., van Zanten, M., de Jong, D., Wang, Y., Vanremoortele, T., Locke, A. M., van de Cotte, B., De Winne, N., Stes, E., Russinova, E., De Jaeger, G., Van Damme, D., Uauy, C., Gevaert, K., & De Smet, I. (2021). The membrane-localized protein kinase MAP4K4/TOT3 regulates thermomorphogenesis. *Nature communications*, *12*(1), 2842.

Wahid, A., Gelani, A., Ashraf, M., Foolad, M.R. (2007). Heat tolerance in plants: An overview. *Environmental and Experimental Botany*, *61*(3), 199–223

Wang, H., Fan, Z., Shliaha, P. V., Miele, M., Hendrickson, R. C., Jiang, X., & Helin, K. (2023a). H3K4me3 regulates RNA polymerase II promoter-proximal pause-release. *Nature*, *615*(7951), 339–348

Wang, L., Ma, K. B., Lu, Z. G., Ren, S. X., Jiang, H. R., Cui, J. W., Chen, G., Teng, N. J., Lam, H. M., & Jin, B. (2020). Differential physiological, transcriptomic and metabolomic responses of Arabidopsis leaves under prolonged warming and heat shock. *BMC plant biology*, *20*(1), 86.

Wang, L., Xue, M., Zhang, H., Ma, L., & Jiang, D. (2023b). TONSOKU is required for the maintenance of repressive chromatin modifications in Arabidopsis. *Cell reports*, *42*(7), 112738.

Wang, X., Ma, X., Wang, H., Li, B., Clark, G., Guo, Y., Roux, S., Sun, D., & Tang, W. (2015). Proteomic study of microsomal proteins reveals a key role for Arabidopsis annexin 1 in mediating heat stress-induced increase in intracellular calcium levels. *Molecular & cellular*

Wu, T. Y., Juan, Y. T., Hsu, Y. H., Wu, S. H., Liao, H. T., Fung, R. W., & Charng, Y. Y. (2013). Interplay between heat shock proteins HSP101 and HSA32 prolongs heat acclimation memory posttranscriptionally in Arabidopsis. *Plant physiology*, *161*(4), 2075–2084.

Yan, J., Tsuichihara, N., Etoh, T., & Iwai, S. (2007). Reactive oxygen species and nitric oxide are involved in ABA inhibition of stomatal opening. *Plant, cell & environment*, *30*(10), 1320–1325.

Yan, K., Liu, P., Wu, C. A., Yang, G. D., Xu, R., Guo, Q. H., Huang, J. G., & Zheng, C. C. (2012). Stress-induced alternative splicing provides a mechanism for the regulation of microRNA processing in Arabidopsis thaliana. *Molecular cell*, *48*(4), 521–531.

Yamaguchi, N., & Ito, T. (2021). JMJ Histone Demethylases Balance H3K27me3 and H3K4me3 Levels at the *HSP21* Locus during Heat Acclimation in Arabidopsis. *Biomolecules*, *11*(6), 852.

Yamaguchi, N., Matsubara, S., Yoshimizu, K., Seki, M., Hamada, K., Kamitani, M., Kurita, Y., Nomura, Y., Nagashima, K., Inagaki, S., Suzuki, T., Gan, E. S., To, T., Kakutani, T., Nagano, A. J., Satake, A., & Ito, T. (2021). H3K27me3 demethylases alter HSP22 and HSP17.6C expression in response to recurring heat in Arabidopsis. *Nature communications*, *12*(1), 3480.

Yeh, C.H., Kaplinsky, N. J., Hu, C., & Charng, Y. (2012). Some like it hot, some like it warm: Phenotyping to explore thermotolerance diversity. *Plant Science*, *195*, 10–23.

Zhang, H., Zhou, J. F., Kan, Y., Shan, J. X., Ye, W. W., Dong, N. Q., Guo, T., Xiang, Y. H., Yang, Y. B., Li, Y. C., Zhao, H. Y., Yu, H. X., Lu, Z. Q., Guo, S. Q., Lei, J. J., Liao, B., Mu, X. R., Cao, Y. J., Yu, J. J., Lin, Y., ... Lin, H. X. (2022). A genetic module at one locus in rice protects chloroplasts to enhance thermotolerance. *Science (New York, N.Y.)*, 376(6599), 1293–1300.

Zhao, C., Liu, B., Piao, S., Wang, X., Lobell, D. B., Huang, Y., Huang, M., Yao, Y., Bassu, S., Ciaia, P., Durand, J. L., Elliott, J., Ewert, F., Janssens, I. A., Li, T., Lin, E., Liu, Q., Martre, P., Müller, C., Peng, S., ... Asseng, S. (2017). Temperature increase reduces global yields of major crops in four independent estimates. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(35), 9326–9331.

Zdroje obrázkových příloh:

Charng, Y. Y., Mitra, S., & Yu, S. J. (2023). Maintenance of abiotic stress memory in plants: Lessons learned from heat acclimation. *The Plant cell*, 35(1), 187–200.

Yamaguchi N. (2022). Heat memory in plants: histone modifications, nucleosome positioning and miRNA accumulation alter heat memory gene expression. *Genes & genetic systems*, 96(5), 229–235.

Li, B., Gao, K., Ren, H., & Tang, W. (2018). Molecular mechanisms governing plant responses to high temperatures. *Journal of integrative plant biology*, 60(9), 757–779.

Wang, X., Tan, N. W. K., Chung, F. Y., Yamaguchi, N., Gan, E. S., & Ito, T. (2023c). Transcriptional Regulators of Plant Adaptation to Heat Stress. *International journal of molecular sciences*, 24(17), 13297.