

**Univerzita Karlova**  
**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory  
Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



**Kateřina Nedvědová**

Rozmnožování krytosemenných rostlin a teplotní stres  
*Reproduction of flowering plants and heat stress*

Bakalářská práce

Vedoucí práce: doc. RNDr. David Honys, Ph.D.

Praha, 2020

# Poděkování

Ráda bych poděkovala především doc. RNDr. Davidu Honysovi, Ph.D. za odborné vedení, vstřícnost a trpělivý přístup. Díky patří i mé rodině za jejich podporu nejen při psaní této práce, ale i během celého studia.

# 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, 5.6.2020

Podpis:

# Abstrakt

Tato bakalářská práce je literární rešerší shrnující účinky vysokoteplotního stresu na reprodukční vývoj krytosemenných rostlin a toleranční mechanismy reprodukčního vývoje. Rostliny jsou průběžně vystavovány měnícím se podmínkám prostředí a stále se zvyšujícím teplotám. Reprodukční vývoj, zvláště vývoj samčího gametofytu, je na tyto změny obzvláště citlivý. To vede k defektnímu vývoji, sterilnímu pylu a nižšímu počtu semen, což ovlivňuje produktivitu a výnos plodin. Proto je důležité těmto změnám, a především tolerančním mechanismům, porozumět.

Klíčová slova: reprodukce, krytosemenné rostliny, teplotní stres, tolerance, samčí gametofyt, samičí gametofyt

# Abstract

This bachelor's thesis is a review summarizing the effects of heat stress on the reproductive development of flowering plants and their tolerance mechanisms. Plants are continuously exposed to changing environmental conditions and ever-increasing temperatures. Reproduction, especially the development of the male gametophyte, is particularly sensitive to these changes. This leads to defective development, sterile pollen, and fewer seeds, which affects crop productivity and yield. Therefore, it is essential to understand these changes, and especially the tolerance mechanisms.

Keywords: reproduction, flowering plants, heat stress, tolerance, male gametophyte, female gametophyte

# Obsah

Seznam zkratek .....	1
Úvod.....	2
Reprodukční vývoj pod vysokoteplotním stresem .....	3
Přechod z vegetativní do generativní fáze .....	7
Samčí gametofyt .....	9
Meióza pylové mateřské buňky a diferenciace mikrospor.....	9
První pylová mitóza a vznik pylového zrna .....	10
Tapetum .....	11
Metabolity v prašníku .....	12
Antheze .....	16
Samičí gametofyt.....	16
Reprodukční synchronizace a oplození.....	17
Vývoj semen .....	17
Závěr.....	20
Přehled použité literatury.....	21

# Seznam zkratek

ABA	kyselina abscisová
CO	crossing over
DNA	deoxynukleotidová kyselina
EMF	časné ranní kvetení
ER	endoplazmatické retikulum
FLM	MADS FLOWERING LOCUS M
FT	FLOWERING LOCUS T, florigen
GA	kyselina gibberelová, gibberelin
HR	homologní rekombinace
HSF	faktory teplotního stresu
HSP	proteiny teplotního stresu
HSR	reakce na teplotní stres
IAA	kyselina indol-3-octová, auxin
NAA	kyselina 1-naftyloctová
PCD	programovaná buněčná smrt
PMC	pylová mateřská buňka
PMI	pylová mitóza I
PMII	pylová mitóza II
RER	hrubé endoplazmatické retikulum
ROS	reaktivní formy kyslíku
SA	kyselina salicylová
SVP	SHORT VEGETATIVE PHASE
UPR	rozložená proteinová odpověď

# Úvod

Rostliny jsou průběžně vystavovány nepříznivým podmínkám okolního prostředí (De Storme & Geelen, 2014). Na rozdíl od vegetační vývojové fáze, při které je rostlina schopna růst a vyvíjet se v poměrně širokém rozmezí teplot (Mesihovic, Iannacone, Firon, & Fragkostefanakis, 2016), je reprodukční fáze vysoce citlivá na změny prostředí, a to především na stres způsobený vysokou teplotou (De Storme & Geelen, 2014).

K pohlavnímu rozmnožování v mnoha případech navíc dochází během teplejších období roku, kdy je ohrožení tímto typem stresu největší (Mesihovic, Iannacone, Firon, & Fragkostefanakis, 2016), což může vést ke snižování počtu semen a potažmo i k nižšímu výnosu ekonomicky významných plodin (Prasad, Bheemanahalli, & Krishna Jagadish, 2017).

Samčí gametofyt je vysoce citlivý na stres (Parry, Rosenzweig, Iglesias, Fischer, & Livermore, 1999) a zvláště citlivý na vysokoteplotní stres (Lohani, Singh, & Bhalla, 2019). Jeho vývoj je nejzranitelnější fází vývoje rostlin (Sakata, a další, 2010; Lohani, Singh, & Bhalla, 2019). To může představovat velké problémy (Parry, Rosenzweig, Iglesias, Fischer, & Livermore, 1999), protože vystavení stresu často vede k morfologickým, strukturním a metabolickým změnám, které obvykle vedou k meiotickým defektům nebo sterilitě (De Storme & Geelen, 2014). To pak způsobuje neúspěšný samčí reprodukční vývoj u mnoha druhů rostlin (Oshino, a další, 2007). Přehledový článek Mesihovicové a dalších (2016) popisuje poměrně vysokou variabilitu reakcí z důvodu chybějících standardizovaných protokolů pro různé druhy rostlin a dynamické povaze změn, které se odehrávají v krátkém časovém horizontu, což znesnadňuje vyvozování obecných závěrů. Rozsah stresu nelze zcela zobecnit a nadále zůstává z velké míry druhově specifický (Mesihovic, Iannacone, Firon, & Fragkostefanakis, 2016).

Samičímu gametofytu není obecně věnováno tolik prací, jako samčímu, ačkoliv je znalost jeho poškození důsledkem působení vysoké teploty, neméně důležitá. Samičí gametofyt je považován za celkově termotolerantnější (Ambastha & Leshem, 2020).

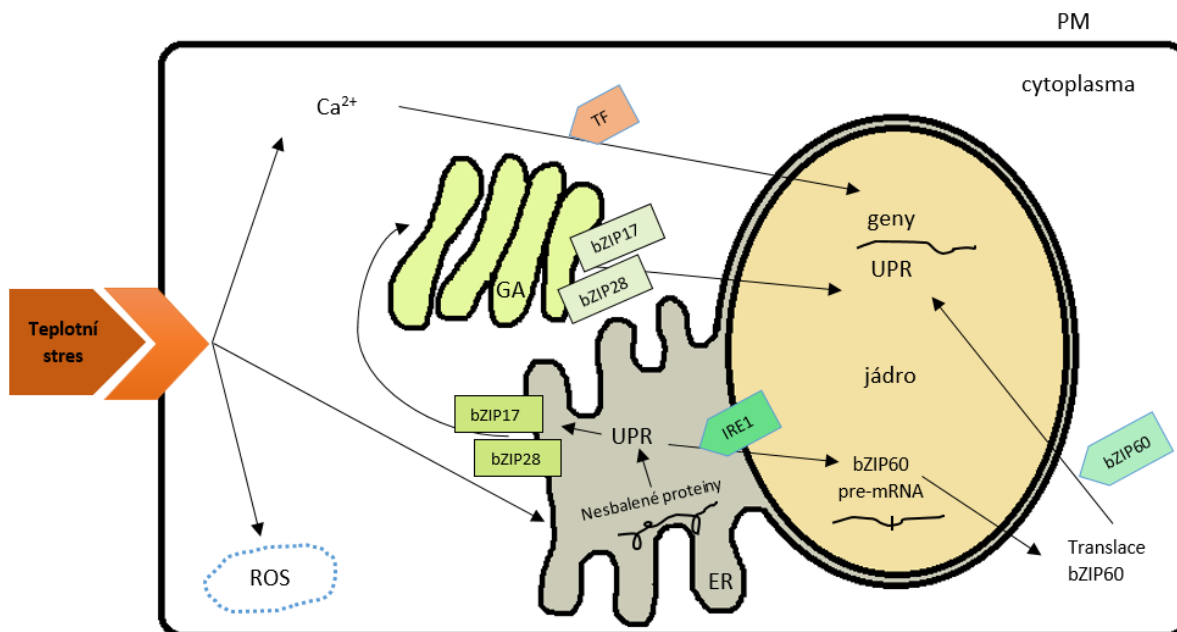
Kvůli citlivosti reprodukčního vývoje je důležité porozumět reakcím na vysokoteplotní stres, změnám genové exprese a mechanismům termotolerance. Může to být příležitostí pro pěstování termotolerantnějších plodin a zabránění důsledkům klimatických změn a zvyšujících se teplot (Prasad, Bheemanahalli, & Krishna Jagadish, 2017; Hamidou, Halilou, & Vadez, 2012).

# Reprodukční vývoj pod vysokoteplotním stresem

U rostlin se vyvinula celá řada reakčních mechanismů vůči působení stresu - zvýšené teploty prostředí, které minimalizují jejich poškození a zajišťují ochranu buněčné homeostázy (vnitřního prostředí) (Bokszczanin & Fragkostefanakis, 2013). Odpovědi na zvýšenou teplotu se účastní fytohormony, reaktivní formy kyslíku, vápníkové kanály, proteiny teplotního stresu (chaperony), geny a malé RNA (Ambastha & Leshem, 2020) a transkripční faktory (Deng, Howell, & Srivastava, 2011).

Reakce rostliny na vysokoteplotní stres a s tím spojená změna transkripce byla dobře popsána Müllerem a Rieu (2016). Popsali, že první reakcí je zvýšení tekutosti membrány. Za hlavní senzor je považován kanál propustný pro vápník umístěný v plazmatické membráně (Müller & Rieu, 2016). Tento kanál (CNGC16, angl. „cyclic nucleotide gated channel“) (Tunc-Ozdemir, a další, 2013) je důležitý pro udržení termotolerance pylu huseníčku rolního (*Arabidopsis thaliana*). Mechanismem je akumulace vápníku v cytoplasmě a indukce exprese genů zapojených do reakce na tepelný stres (Obr. 1). Mutantní rostliny nejsou za kontrolních podmínek defektní, ale při působení stresu jsou citlivější a neindukují expresi transkripčních faktorů zapojených do reakce na zvýšenou teplotu (Müller & Rieu, 2016).

Druhá reakce je umožněna skrze proteiny, které se důsledkem zvyšujících se teplot rozkládají (Obr. 1). Špatně sbalené nebo částečně rozbalené proteiny jsou rozpoznány cytoplazmatickou membránou a endoplasmatickým retikulem (ER) reakcí UPR (angl. „unfolded protein response“). Ta slouží jako termosenzor (Müller & Rieu, 2016). Byly popsány dvě regulační dráhy UPR. První dráha probíhá skrze RNA sestřihový faktor IRE1 lokalizovaný v membráně ER. Dvě isoformy IRE1 jsou kódovány geny AtIRE1a a AtIRE1b. Podílí se na alternativním sestřihu pre-mRNA a expresi transkripčního faktoru (TF) bZIP60 eliminací jeho transmembránové domény. Druhá cesta je aktivována stresem v ER skrze transkripční faktory bZIP17 a bZIP28. Aktivace probíhá uvolněním z ER a migrací do Golgiho aparátu, kde je TF štěpen proteázami na S1P a S2P a vstupuje do jádra, kde reguluje genovou expresi (Deng, Howell, & Srivastava, 2011).



Obr. 1: Reakce a mechanismy odpovědi buňky na vysokoteplotní stres

CNCG16 a UPR aktivují hlavní regulátory odezvy teplotního stresu (HSR, angl. „heat shock response“) jsou faktory teplotního stresu (HSF, angl. „heat shock factor“). Hrají důležitou roli v termotoleranci v rostlinách (a jiných organismech), protože regulují expresi chaperonů - proteinů teplotního stresu (HSP, angl. „heat shock protein“) a detoxikačním enzymů ROS, čímž obnovují homeostázu (Suzuki, Bajad, Shuman, Shulaev, & Mittler, 2008). Z řady HSF proteinů byly identifikovány dva klíčové, a to HSFA1 a A2. Za normálních teplotních podmínek je HSFA1, hlavní regulátor HSR, umístěn v cytoplazmě a udržován neaktivní interakcí s chaperony HSP70 a HSP90 (Hahn, Bublak, Schleiff, & Scharf, 2011). Při stresové aktivaci působí jako koaktivátor indukující expresi genů reagujících na teplo (Liu & Charng, 2011). Jiné HSF, než HSFA1 nejsou nezbytné pro překonání stresu, ale přispívají později k vyšší termotoleranci. Mezi ně patří HSFA2, který je exprimován v opakovaně stresovaných buňkách a přispívá k dlouhodobější termotoleranci. HSFA1 a HSFA2 spolu vytvářejí komplex, který aktivuje geny silněji, než samostatné faktory (Fragkostefanakis, Roth, Schleiff, & Scharf, 2014).

Regulace transkripce je řízena, mimo výše zmíněných, velkou rodinou regulačních proteinů WRKY. TF WRKY se podílejí na překonání biotického i abiotického stresu, interagují s faktory remodelace chromatinu a regulují expresi termotolerantních genů, anebo aktivují či umlčují jiné TF (Pandey & Somssich, 2009).



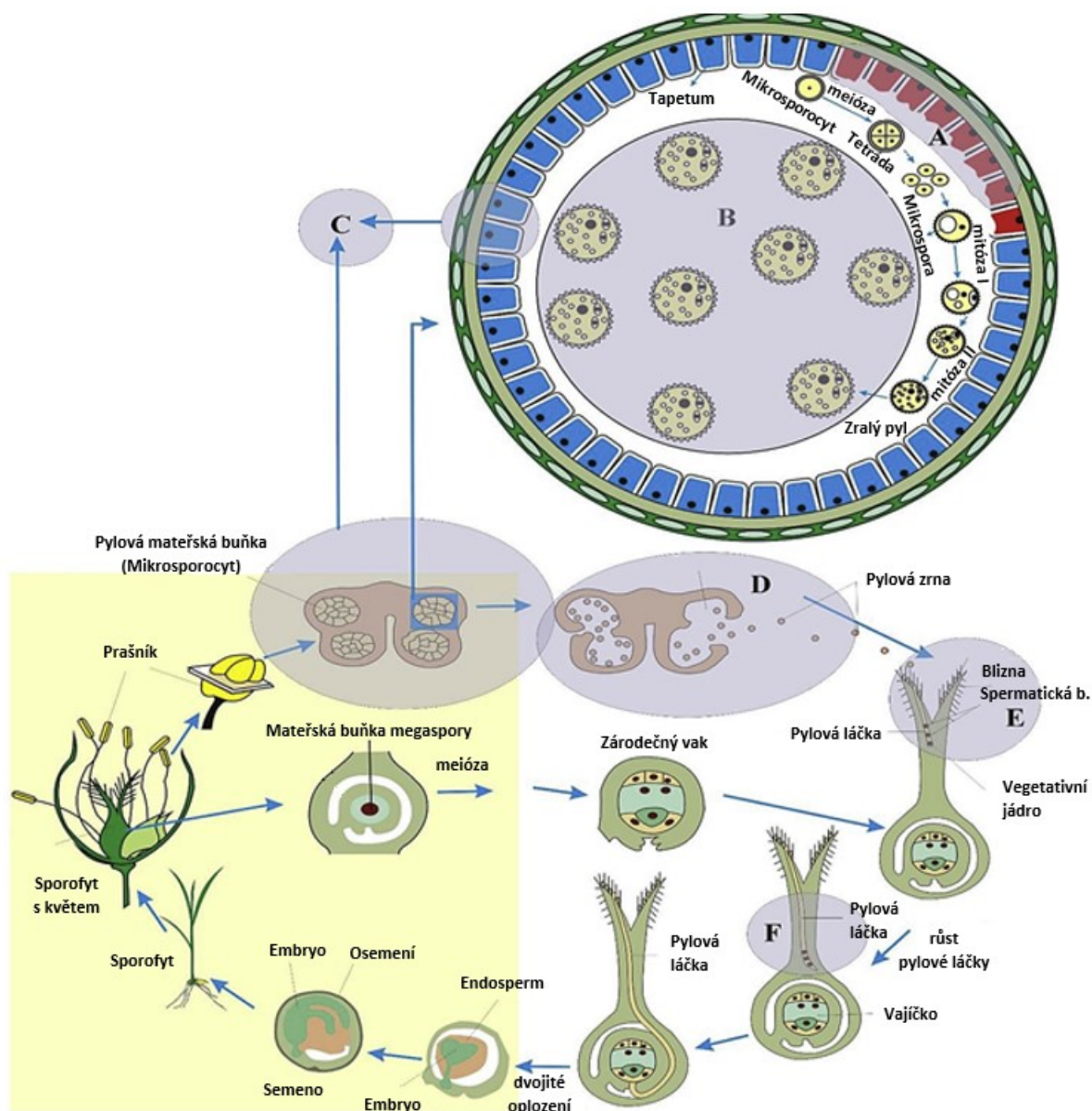
Rostlinná pletiva mají schopnost předem syntetizovat a uchovávat HSP. Na příkladu dvou rostlin huseníčku je možné pozorovat škálu proběhlých transkripčních změn, které jsou pro termotoleranci nutné. První rostlina byla stresována bez aklimatizace 45 °C. Druhá byla stresována postupným zvyšováním teploty z 22 °C na 45 °C. U obou rostlin byly pozorovatelné rozdíly transkripčních změn. Rostlina vystavená postupnému zvyšování teploty odolávala stresu lépe a proběhlo u ní více transkripčních změn (Larkindale & Vierling, 2008). Schopnost rostlin přežít krátké období přímého teplotního stresu bez aklimatizace je popsána jako bazální termotolerance. Limity bazální termotolerance lze prodloužit, pokud jsou rostliny před akutním stresem předem aklimatizována při mírně vysokých teplotách. Tento stav se nazývá získaná termotolerance (Mesihovic, Iannacone, Firon, & Fragkostefanakis, 2016).

Třetí reakcí je časná akumulace reaktivních forem kyslíku (ROS, Obr. 1). Ta je považována za jeden z prvních kroků v kaskádách signalizace teplotního stresu. Při vysokých teplotách je rovnováha mezi produkcí a detoxikací narušena, což vede k akumulaci (Müller & Rieu, 2016). ROS, jako jsou hydroxylové radikály, superoxidový aniont a peroxid vodíku, jsou nestabilní molekuly, které mohou indukovat peroxidaci lipidů a oxidaci DNA, cukrů, proteinů, degradují membránu, snižují translaci a transkripci, a mohou vyvolat až apoptózu (De Storme & Geelen, 2014). Tyto změny a akumulace ROS signalizuje teplotní stres. Signalizace se účastní i fytohormony (Kotak, a další, 2007).

Zvýšená teplota může také způsobit změny chromatinu, což zahrnuje změnu konformace chromatinu nebo výměnu jejich histonových podjednotek specifickou histonovou variantou H2A.Z, která je inkorporována do nukleosomů, zejména kolem místa začátku transkripce genů a reguluje obsazenost nukleosomů v reakci na změnu teploty (Talbert & Henikoff, 2014; Müller & Rieu, 2016). Teplotní stres ovlivňuje konformaci chromatinu v pyly prostřednictvím jeho modifikací a také změněnou expresí malých RNA (Chen, Müller, Rieu, & Winter, 2016). Při teplotním stresu se mění methylace DNA a exprese methyltransferázy, což je považováno za negativní regulační značku pro transkripci (Chen, Müller, Rieu, & Winter, 2016). Některé studie uvádějí i dlouhodobou paměť na stres a to dědičností methylačních vzorců (Chen, Müller, Rieu, & Winter, 2016).

Stres vysokou teplotou má vliv na vícero fází reprodukčního vývoje rostlin (Obr. 2). Narušuje změnou genové exprese řadu funkcí tapeta (A). To navíc často degeneruje. Dále má vliv na snížené dělení pylových mateřských buněk, to snižuje produkci pylu. Zároveň se může tvořit i pyl sterilní (B). Narušené tapetum znesnadňuje řadu jeho funkcí pro

dehiscenci prašníků (C) a částečným uzavřením zamezuje uvolňování pylu (D). Kvůli nepravidelné dehiscenci se na bliznu dostane nižší počet pylových zrn (E), které dále kvůli změnám v expresi proteinů špatně klíčí (F) (Arshad, a další, 2017).



Obr. 2: Vliv teplotního stresu na reprodukční aparát A: degenerace tapeta; B: chybná a sterilní produkce pylu; C: narušená dehiscence prašníku; D: nižší uvolňování zralého pylu; E: porucha klíčení pylu na blizně; F: porucha růstu pylové láčky (upraveno podle Arshad, a další, 2017).

# Přechod z vegetativní do generativní fáze

Přechod z vegetativní do generativní fáze - kvetení, je důležitou událostí v životním cyklu rostliny a je ovlivněn řadou vnitřních i vnějších faktorů, jakož i biotickými a abiotickými stresory (Balasubramanian, Sureshkumar, Lempe, & Weigel, 2006). Doba květu je rozhodující pro optimální tvorbu semen a plodů (Del Olmo, Poza-Viejo, Piñeiro, Jarillo, & Crevillén, 2019).

Správné načasování kvetení je tedy zásadní pro reprodukční úspěch rostlin a není tedy překvapením, že se vyvinuly složité genetické regulační dráhy, které jsou kontrolovány jak endogenně, např. genem meristémové identity LEAFY, geny FT, AGAMOUS-LIKE 20, dále obsahem sacharidů, fytohormony, tak exogenně, světlem a teplotou (Araki, 2001; Posé, a další, 2013). O tom, jak je doba květu řízena v souvislosti se změnou okolní teploty, víme stále poměrně málo. U huseníčku hrají v tomto procesu klíčovou roli MADS geny FLOWERING LOCUS M (FLM) a represor SHORT VEGETATIVE PHASE (SVP). FLM podléhá alternativnímu sestřihu závislému na teplotě. Dvě hlavní varianty sestřihu FLM proteinu, FLM- $\beta$  a FLM- $\delta$ , vzájemně soupeří o interakci s represorem SVP. Komplex SVP-FLM- $\beta$  je tvořen převážně při nízkých teplotách a brání předčasnému vykvetení vazbou na genomové oblasti pro FT. Množství SVP-FLM- $\beta$  je za stresu sníženo, čímž je kvetení urychleno. Stres vede k tvorbě nefunkčního konkurenčního komplexu SVP-FLM- $\delta$ , který za normální teploty brání kvetení při vyšších teplotách, takže rostlina může při vyšší teplotě vykvést (Posé, a další, 2013; Lee, Chung, Kim, & Ahn, 2014).

Zvyšující se teplota prostředí mění fyziologické procesy v rostlině (transpiraci a fotosyntézu), což má vliv na produkci a rozdělení asimilátů nutných pro květní orgány. Důsledkem jsou morfologické abnormality květních orgánů (Lohani, Singh, & Bhalla, 2019). Teplota negativněji ovlivňuje květní orgány uložené ve vrcholových a exponovaných květenstvích u ječmene setého (*Hordeum vulgare L.*). U těchto buněk dochází k potlačení exprese genů. Níže uložené, a tím pádem chráněnější květní orgány, vykazují naopak zvýšenou nebo stejnou expresi genů. Jedná se hlavně o geny spojené s iniciací replikace, mitochondriemi, ribozomy a histony (Oshino, a další, 2007). Právě histony jsou zapojeny do možných změn chromatinu z důvodu zvýšené teploty, což zahrnuje změnu konformace chromatinu nebo výměnu jejich histonových podjednotek, to umožňuje histon H2A.Z. Množství H2A.Z se u huseníčku při vysokých teplotách snižuje (Talbert & Henikoff, 2014). Snižující se množství H2A.Z a zvyšující se teplota aktivuje prostřednictvím

transkripčního faktoru PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR4 (PIF4), florigen FT, který indukuje kvetení za krátkých dní (Kumar, a další, 2012). Teplotní indukce nevyžaduje fotoperiodický efektor CONSTANS, působící před FT a zároveň závisí na působení gibberelinů. Zvýšená teplota má tedy u huseníčku silný indukční účinek na kvetení (Balasubramanian, Sureshkumar, Lempe, & Weigel, 2006). Zatímco u huseníčku vysoká teplota kvetení urychluje, například u brukve řepák (*Brassica rapa*) kvetení naopak zpožďuje (Del Olmo, Poza-Viejo, Piñeiro, Jarillo, & Crevillén, 2019). Vysoká teplota u brukve zvyšuje hladiny H2A.Z a zpožďuje aktivaci FT. Tato data odhalují různé mechanismy začlenění H2A.Z do lokusu FT v reakci na teplotu. Mechanismus potlačení transkripce FT pomocí H2A.Z je u obou druhů stejný, ale modulace H2A.Z na FT chromatinu v reakci na vysokou teplotu, vykazuje opačný trend (Del Olmo, Poza-Viejo, Piñeiro, Jarillo, & Crevillén, 2019). Existuje obrovská variabilita v této odpovědi, která je částečně způsobena potlačujícím účinkem FLOWERING LOCUS C (FLC) na kvetení (Balasubramanian, Sureshkumar, Lempe, & Weigel, 2006).

Zrychlené kvetení může vyvolat změna teploty i o jeden stupeň (Talbert & Henikoff, 2014). Mírné zvýšení teploty z 23 °C na 27 °C je stejně účinné pro vyvolávání kvetení rostlin huseníčku pěstovaných v podmínkách krátkého osmi hodinového dne, jako je jeho pěstování v podmínkách dlouhého 16 hodinového dne (Balasubramanian, Sureshkumar, Lempe, & Weigel, 2006). Využití a začlenění ranního kvetení (EMF, angl. „early morning flowering“) by mohlo být účinnou strategií pro minimalizaci poškození způsobeného teplotním stresem. Ve studii Bheemanahalli a dalších (2017) byla rýže (*Oryza*) s vlastnostmi EMF v měnících se podmínkách stabilnější. Z toho důvodu je zavádění vlastností EMF do rostlin možností pro zlepšení jejich odolnosti vůči epizodám teplotního stresu, které se kryjí s dobou kvetení (Bheemanahalli, a další, 2017). V jiné studii Aiqinga a dalších (2018) bylo jedenáct genotypů pšenice seté (*Triticum aestivum L.*) vystaveno teplotnímu stresu (34/16 °C, den/noc) během kvetení. Obecně všech 11 genotypů pšenice kvetlo během chladnějších hodin dne (tj. buď brzy ráno, nebo pozdě večer) (Aiqing, a další, 2018). I divoká rýže (*Oryza officinalis*) uniká poškození kvetením během časných ranních hodin, kdy nejsou teploty tak vysoké (Prasad, Bheemanahalli, & Krishna Jagadish, 2017). Tyto trendy poskytují důkazy o alternativním mechanismu úniku minimalizujícím poškození během kvetení při vysokoteplotním stresu a mohou být příležitostí pro pěstování termotolerantních plodin (Aiqing, a další, 2018; Prasad, Bheemanahalli, & Krishna Jagadish, 2017). Zrychlené i zpožďené kvetení však může vést i k nižší produktivitě

(Lohani, Singh, & Bhalla, 2019) a negativně ovlivnit další procesy a to např. interakci s opylovači (Kehrberger & Holzschuh, 2019).

## Samčí gametofyt

Samčí gametofyt se vyvíjí uvnitř prašníku v prašném pouzdře (loculu) vystlaném vrstvou tapeta, které je stejně jako zbytek prašníku sporofytického původu. Tapetum umožňuje vývoj meiocytů - mateřských buněk pylových zrn (angl. „pollen mother cell“, PMC), tím, že zprostředkovává jejich výživu skrze metabolity a enzymy potřebné pro regulaci jejich vývoje a také poskytuje ochranu před degenerací během vývoje. Diploidní meiocyt se meioticky dělí a dá vzniknout čtveřici haploidních mikrospor uspořádaných do tetrády a společně obalených kalózovou buněčnou stěnou. Mikrospory jsou z tetrády uvolněny působením enzymu kalázy, který je produkován tapetem. Ve vývojové fázi mikrospory je také syntetizována unikátní buněčná stěna pylu, která má mimo jiné ochrannou úlohu a hraje významnou roli i při uchycení k opylovačům. Buněčná stěna se skládá ze dvou základních vrstev, vnější a vnitřní. Vnější vrstva exina je složena především ze sporopolleninu a obsahuje charakteristické ztenčeniny, apertury. Jednou z nich později vyklíčí pylová láčka. Vnitřní vrstva intina je složená z pektinů a celulózy. Mikrospory se ještě dvakrát mitoticky dělí (první a druhá pylová mitóza, PMI a PMII) za vzniku zralého pylu, který se skládá z vegetativní buňky a dvou buněk spermatických. Mikrospory a mladá pylová zrna se vakuolizují, což vede ke zvětšení buňky a jejich výrazné polarizaci. Zvětšení velikosti akumulací vody v této vývojové fázi poskytuje určitý stupeň odolnosti vůči vodnímu stresu. V poslední fázi dozrávání však pylové zrno dehydratuje, což umožňuje další úroveň tolerance vůči environmentálním stresům (Pacini, Jacquard, & Clément, 2011; Paupière, van Heusden, & Bovy, 2014).

## Meióza pylové mateřské buňky a diferenciacie mikrospor

U krytosemenných rostlin se diploidní pylová mateřská buňka meioticky dělí za vzniku tetrády. Uspořádání tetrády je odrazem kontroly chromosomové segregace jaderné organizace meiózy I a II (De Storme & Geelen, 2020). Správná segregace chromosomů během meiózy PMC závisí na meiotické homologní rekombinaci (HR) a crossing overu (CO) homologních chromosomů rostliny (Villeneuve & Hillers, 2001). Rekombinace se během meiózy zvyšuje a její míra koreluje s teplotním stresem (Wagner & Yanowitz, 2005; Müller & Rieu, 2016; Francis, a další, 2007). Kvůli zvýšené četnosti HR a CO může být ovlivněno chování chromosomů a dělení meiotických buněk, což vede k nevyváženému oddělení

chromosomů mezi sporami a nevzniká tetráda (Müller & Rieu, 2016; De Storme & Geelen, 2014). Na příkladu růže (*Rosa*), vystavené při časně meióze teplotě 36 °C, je vidět, že došlo ke snížení životaschopnosti pylu, různým pylovým defektům, ale zejména ke vzniku četných diploidních pylových zrn. Ta pocházela z dyád nebo triád, které se tvořily hlavně kvůli teplotně stresovanému dělicímu vřeténku v telofázi II (Pécricx, a další, 2011). Při meióze u huseníčku, ovlivněné mírným stresem, vznikají v malé míře (přibližně z 5 %) dyády, monády a polyády. S rostoucí teplotou se zvyšuje frekvence rekombinace a vyvážené tetrády vznikají jen asi z 80 % (aberantní mikrospory z 20 %). Podíl polyád se zvyšuje. Změněné mikrospory (dyády, monády, polyády) se nezastavují ve vývoji a vstupují do mikrogametogeneze, aby se vyvinuly ve zralá pylová zrna. Kombinovaná tvorba dyád, triád, monád a polyád obecně indikuje změny v cytokinezi (De Storme & Geelen, 2020). Díky polyploidizaci a teplotní senzitivě meiózy (zejména CO a cytokinezi meiózy II) je rostlina konkurenceschopnější a získává evoluční výhodu v měnících se podmínkách prostředí (De Storme & Geelen, 2014; De Storme & Geelen, 2020) změnou karyotypu a vývojem genomu. Základní buněčný defekt se však velmi liší v závislosti na druhu a teplotě (De Storme & Geelen, 2020; De Storme, Copenhaver, & Geelen, 2012).

## První pylová mitóza a vznik pylového zrna

Po meióze podstoupí mikrospora I. a II. pylovou mitózu. Stres vysokou teplotou během mikrosporogeneze vede buď přímo k aborci mikrospor, anebo pokud proběhne alespoň jedno mitotické dělení, ke vzniku sterilního pylu (Lohani, Singh, & Bhalla, 2019).

Vysoká okolní teplota (32/27 °C, den/noc) během mikrosporogeneze u fazolu obecného (*Phaseolus vulgaris*) má za následek abnormální vývoj pylu a prašníku. Genotypy fazolu tolerantní vůči působení vyšších teplot a naopak vůči nim citlivé se výrazně liší, pokud jde o dehiscenci prašníku, morfologii pylu, životaschopnost pylu a architekturu pylových obalů (Porch & Jahn, 2001). Rostliny ječmene vystavené vysoké teplotě po dobu pěti dnů v časně diferenciacní fázi, měly pylová zrna sice s normální exinou, ale s minimálním nebo téměř nulovým obsahem cytoplazmy (Sakata, Takahashi, Nishiyama, & Higashitani, 2000). Pylová zrna mají v porovnání s vegetativními buňkami nižší schopnost stresové reakce. Přítomnost vyšších hladin nesbalených proteinů v ER vede k UPR (Fragkostefanakis, Mesihovic, Hu, & Schleiff, 2016).

Mikrospora může na stres reagovat zajímavou cestou a to pylovou embryogenezí (androgenezí). Androgenezí se z mikrospory vyvine nová haploidní rostlina, čímž je

zabráněno vývoji gametofytu. Androgeneze může být vyvolána stresovou reakcí a HSP ve stadiu mikrospory kolem mitózy I. Pro zjištění míry stresu nutné k stimulaci androgeneze se využívají HSP. U brukve řepky (*Brassica napus*) je androgeneze indukována 32 °C po dobu 8 hodin. Obvykle ale k indukci dochází při teplotách nad 25 °C (Pechan & Smykal, 2008; Custers, Cordewener, Noellen, Dons, & Van Lookeren Champagne, 1994).

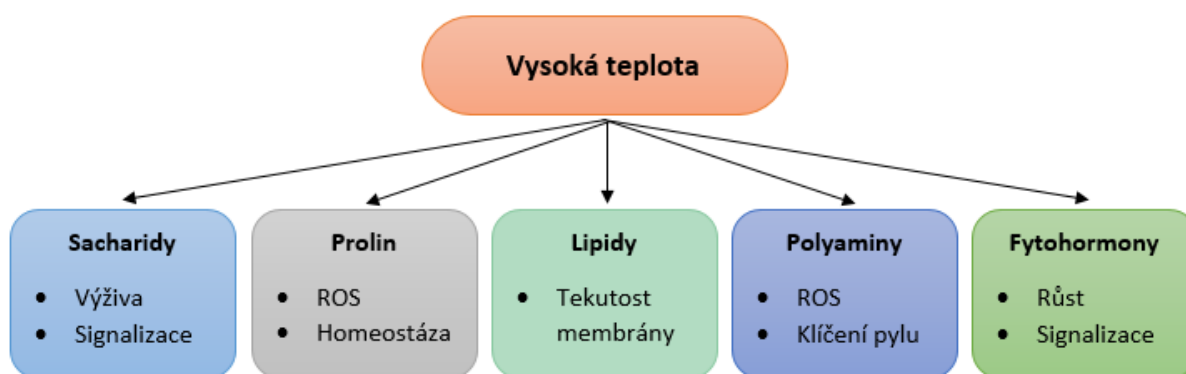
## Tapetum

Tapetum vyšších rostlin vystýlá vnitřní stranu prašníku a poskytuje vyvíjejícím se mikrosporám a následně pylovým zrnům nezbytné látky - prekurzory a enzymy podílející se na syntéze buněčné stěny pylu, další sporofytické bílkoviny a kalázu (Pacini, Franchi, & Hesse, 1985; Lohani, Singh, & Bhalla, 2019). Tapetum postupně degeneruje (Ku S. , Yoon, Suh, & Chung, 2003) a podléhá PCD (Papini, Mosti, & Brighigna, 1999).

Změny vyvolané teplotním stresem zahrnují vakuolizaci (zvětšení buňky), nadměrný vývoj chloroplastů, změny mitochondrií v tapetu, předčasnou degeneraci - PCD (Ku S. , Yoon, Suh, & Chung, 2003; Oshino, a další, 2007; Suzuki, Takeda, Tsukaguchi, & Egawa, 2001), změny hrubého endoplasmatického retikula (RER) (Suzuki, Takeda, Tsukaguchi, & Egawa, 2001), předčasnou progresi meiózy PMC, doprovázenou komplexními změnami transkripce (Oshino, a další, 2007) a narušení některých funkcí tapeta potřebných pro adhezi pylu a jeho klíčení na blizně (Endo, a další, 2009). Tyto změny, především předčasná PCD zahrnující smršťování cytoplasmy, membrány a vakuolizaci, jsou spojeny se samčí sterilitou rýže (Ku S. , Yoon, Suh, & Chung, 2003). Předčasnou PCD a úplnou, anebo částečnou sterilitu, kdy se část mikrospor dezorientovala z tapeta a dále se nevyvíjela, způsobilo vystavení teplotnímu stresu i u pšenice (30 °C po dobu 3 dnů) (Saini, Sedgley, & Aspinall, 1984). Iniciali PCD a samčí sterilitu může vyvolat i vysokou teplotou narušená homeostáza ROS (De Storme & Geelen, 2014; Ku S. , Yoon, Suh, & Chung, 2003). Buňky tapeta v časném stadiu růstu jsou metabolicky velmi aktivní a obsahují rychle se dělící mitochondrie (Lee & Warmke, 1979), což vede k produkci ROS (Ku, Yoon, Suh, & Chung, 2003). Dále vysoká teplota ovlivňuje strukturu ER. To vykazuje strukturní abnormality RER. Bylo pozorováno kruhové ER, hrubé ER s ribozomy hladké ER bez ribozomů. Změněná struktura RER blokuje jeho funkci v tapetu (Suzuki, Takeda, Tsukaguchi, & Egawa, 2001) a způsobuje více defektů buňky, jejichž kombinace pravděpodobně způsobuje samčí sterilitu (De Storme & Geelen, 2014).

## Metabolity v prašníku

Životaschopnost pylu je spojena se změnami několika skupin metabolitů (Obr. 3), které hrají roli ve výživě a ochraně proti stresu, čímž zabraňují degeneraci. Aby rostliny snášely teplotní stres, musí si udržovat metabolickou homeostázu. Jinak dochází k narušení drah, které mohou vést k abnormální akumulaci nebo redukci nepostradatelných sloučenin. Vysoká teplota může být ovlivněno několik sloučenin současně. Jedná se o sacharidy, aminokyseliny (prolin), lipidy, polyaminy a fytohormony (Paupière, van Heusden, & Bovy, 2014; Paupière, a další, 2017).



Obr. 3: Metabolity ovlivněné teplotním stresem a jejich úloha při ochraně pylu (upraveno podle Paupière, van Heusden, & Bovy, 2014).

### Sacharidy

Sacharidy jsou v první řadě substrátem pro růst a výživu. Lze je ukládat jako energetickou rezervu a také slouží jako signální molekuly. Hlavními sacharidy v pylu jsou fruktóza, glukóza, sacharóza a škrob. Přeměny sacharózy na glukózu a fruktózu se účastní kyselé invertázy. Invertázy hrají roli podpoře výživy, růstu a ochraně pylového zrna proti stresu (Paupière, van Heusden, & Bovy, 2014). Prašníky při stresu obsahují zvýšené množství sacharózy, které nejsou schopné metabolizovat (Dorion, Lalonde, & Saini, 1996), protože geny zodpovědné za její syntézu jsou transkribovány v tapetu, které je v důsledku teplotního stresu utlumeno (Müller & Rieu, 2016). Snížená hydrolýza sacharózy invertázou v prašnicích čiroku dvoubarevného (*Sorghum bicolor*) v důsledku vysokoteplotního stresu vede ke změně metabolismu sacharidů a nedostatku škrobu v pylu (Jain, Prasad, Boote, Hartwell, & Chourey, 2007). Ten slouží jako zdroj energie pro klíčení a jeho nedostatek se projeví sníženou klíčivostí a 27% ztrátou semen (Jain, Prasad, Boote, Hartwell, & Chourey, 2007; Datta, Chamusco, & Chourey, 2002).



## Prolin

Vysoká teplota ovlivňuje také metabolismus aminokyselin (Mazzeo, a další, 2018) a to především prolinu (Hayat, a další, 2012). Prolin je běžnou aminokyselinou v samčím gametofytu, syntetizovanou z glutamátu (Paupière, van Heusden, & Bovy, 2014). Hraje roli v ochraně membrán, detoxifikaci ROS, homeostáze a udržuje turgor (Hayat, a další, 2012) a může udržovat stabilitu proteinů hydratačním obalem kolem molekul. Mutant huseníčku s nedostatkem prolinu vykazuje sníženou životaschopnost pylu (Paupière, van Heusden, & Bovy, 2014). Pokud je prolin exogenně dodáván v nízkých koncentracích, zlepšuje odolnost vůči stresu, což dále potvrzuje vztah prolinu k ochraně pylu (Hayat, a další, 2012; Paupière, van Heusden, & Bovy, 2014).

## Lipidy

Lipidy hrají důležitou roli v tekutosti membrán. Při vysoké teplotě se zvyšuje množství nenasycených mastných kyselin na úkor nasycených. Nenasycené mastné kyseliny činí membránu zranitelnější k ROS. U čiroku vedl teplotní stres (32/28 °C den/noc) po dobu deseti dnů ke změně pylové membrány a zároveň se zvýšila hladina ROS, jenž mohla podle autorů za poškození membrány (Paupière, van Heusden, & Bovy, 2014).

## Polyaminy

Polyaminy udržují homeostázu snižováním hladiny ROS, udržují tekutost membrány a hrají roli při klíčení pylu za teplotního stresu. Mimo jiné hrají roli v lákání opylovačů a klíčení pylové láčky (Paupière, van Heusden, & Bovy, 2014). Za kontrolních podmínek mladé mikrospory rajčete (*Solanum*) shromažďují velké množství alkaloidů a polyaminů, zatímco zralý pyl silně akumuluje flavonoidy (Paupière, a další, 2017). K akumulaci flavonoidů už v mikrospoře vede ošetření teplotním stresem (38 °C) (Paupière, a další, 2017).

Nahromaděné flavonoidy se účastní antioxidační reakce a tím přispívají k snížení hladin ROS, protože zachytávají volné radikály (Rice-Evans, Miller, & Paganga, 1996; Agati, Azzarello, Pollastri, & Tattini, 2012), které se při teplotním stresu hromadí a mohou modifikovat další biomakromolekuly včetně membránových lipidů, DNA a proteinů (Driedonks, Xu, Peters, Park, & Rieu, 2015). Tyto flavonoidy jsou umístěny uvnitř nebo v blízkosti center tvorby ROS (Agati, Azzarello, Pollastri, & Tattini, 2012).

## Fytohormony

### Kyseliny abscisová

Rostlinný hormon kyselina abscisová (ABA) se podílí na regulaci transportu sacharidů z tapeta do mikrospor a vývoji mikrospor (De Storme & Geelen, 2014), inhibuje růst pylové láčky (Wu, Qin, & Zhao, 2008) a u klíčících semen reguluje toleranci k vysychání (Maia, Dekkers, Dolle, Ligterink, & Hilhorst, 2014).

ABA hraje klíčovou roli v různých vývojových procesech a adaptivních reakcích na stres (Fujita, Fujita, Shinozaki, & Yamaguchi-Shinozaki, 2011). Důsledkem vysokoteplotního stresu se ABA hromadí a má nepříznivé účinky na pyl (Müller & Rieu, 2016). Interaguje se sacharidovou signální drahou a představuje mobilní signál, který reguluje meiotickou HR, čímž aktivuje stresovou reakci (De Storme & Geelen, 2014; Arenas-Huertero, Arroyo, Zhou, Sheen, & Leon, 2000).

### Kyselina gibberelová

Kyselina gibberelová (GA) se stejně jako ABA podílí na regulaci transportu sacharidů z tapeta do mikrospor a vývoji mikrospor (De Storme & Geelen, 2014) a funguje jako regulátor růstu (rozvoje růstu a vývojových změn). Ačkoliv není GA řazena mezi stresové hormony, dochází k jejímu hromadění v reakci na vysokou teplotu prostředí (Hedden & Thomas, 2012).

### Auxin

Hormon auxin, zejména kyselina indol-3-octová (IAA), se akumuluje v prašníku a řídí buněčnou expanzi, dělení a diferenciaci, fototropismus, geotropismus, embryogenezi a diferenciaci vaskulárních systémů (Feng, a další, 2006), vývoj květu a plodů (Ghanashyam & Jain, 2009).

Ačkoli není auxin primárně stresovým hormonem, hraje roli při regulaci vývojových procesů při působení stresu, což se týká zejména nepříznivých teplot (De Storme & Geelen, 2014; Sakata, a další, 2010; Ghanashyam & Jain, 2009). Sakata a další (2010) zjistili, že endogenní hladiny auxinu ve vyvíjejících se prašnicích ječmene a huseníčku za stresu specificky poklesly. Exprese genů pro biosyntézu auxinu (YUCCA geny) jsou potlačena zvýšenými teplotami, což vede ke snížení obsahu auxinu v prašníku a může vést až k samčí sterilitě (Paupière, van Heusden, & Bovy, 2014; Sakata, a další, 2010). Auxin hraje roli ve vývoji a funkčnosti pylového zrna prostřednictvím kontroly mitotického dělení mikrospor,

kdy nepřítomnost auxinu blokuje prodlužování filament a to vede ke zkráceným filamentům a výrazně defektním pylovým zrnům. Meióza pylové mateřské buňky byla při nepřítomnosti auxinu normální (Feng, a další, 2006). Exogenní aplikace auxinu může úplně zvrátit vznik defektů a samčí sterilitu. Jeho využití tak může pomoci udržet stabilní výnos semen navzdory budoucí změně klimatu (Paupière, van Heusden, & Bovy, 2014; Sakata, a další, 2010).

### Kyselina salicylová

Kyselina salicylová (SA) může zvýšit odolnost rostlin vůči působení stresu. Za podmínek teplotního stresu SA snižuje akumulaci ROS v prašnicích a zabraňuje tak PCD tapeta (Feng, a další, 2018) tím, že zvyšuje hladiny peroxidu vodíku ( $H_2O_2$ ) v prašnicích. To zvýší antioxidační kapacitu pro zachycování ROS (Feng, a další, 2006; Lohani, Singh, & Bhalla, 2019).

### Brassinosteroidy

Brassinosteroidy hrají roli v indukci tolerance vůči teplotnímu stresu. Interagují s HSP a hrají roli v zachycování ROS (Mazorra, 2010), klíčení pylu za teplotního stresu (Paupière, van Heusden, & Bovy, 2014) a biosyntéze exiny (Paupière, van Heusden, & Bovy, 2014; Sakata, a další, 2010).

### Ethylen

Ethylen je zapojen do mechanismů bazální i získané termotolerance. Indukovaná exprese genů reagujících na ethylen v pylu rajčete naznačuje zapojení ethylenu do reakce pylu na teplotní stres a to mnoha způsoby. Jedním z nich je mutace receptoru ethylenové odpovědi při tepelném stresu (32/26 °C, den/noc), která má za následek ztrátu životaschopnosti pylu. Porucha signální dráhy ethylenu a receptoru zvyšuje citlivost na stres ovlivňováním metabolismu sacharidů a snižováním množství sacharózy v pylu, což se projevuje snížením počtu pylových zrn a zvýšením počtu neživotaschopných pylových zrn. To lze částečně zvrátit exogenní ošetření rostliny ethylenem. Ošetření rostlin rajčete inhibitorem biosyntézy ethylenu indikuje 8,5-2,5 násobné snížení bazální termotolerance pylu a úplnou inhibici klíčení pylu při vysokoteplotním stresu. Dále vystavení rostlin rajčete velmi vysoké teplotě (50 °C, 2 h) kolem antheze způsobuje 17-7 násobné snížení počtu pylových zrn. Zvýšení hladin ethylenu ethephonem před tímto stresem, vede k přibližně 10 násobnému pozitivnímu zvýšení počtu životaschopných pylových zrn (Firon, Pressman, Meir, Khoury, & Altahan, 2012).

## Antheze

Uvolnění pylu z prašníku do prostředí je řízeno rovnováhou mezi fyziologickým stavem mateřské rostliny (sporofytu) a atmosférickými podmínkami v době dehiscence. Za optimálních podmínek prostředí je pro přežití a přenos pylu zásadní dehydratace prašníku a pylových zrn (Pacini & Dolferus, 2019) a vstup pylových zrn do metabolicky neaktivního stavu, aby se podpořilo přežití během rozptylu (Franchi, Piotto, Nepi, & Baskin, 2011).

Zvýšená teplota působící na rostlinu pšenice během dozrávání pylových zrn a antheze, výrazně snižuje výnos semen. Dvě období reprodukčního vývoje (první 8-6 dní před anthezí a druhá 2-0 dní před anthezí) jsou velmi citlivá na krátké epizody zvýšené teploty, což způsobuje snížení plodnosti (Prasad & Djanaguiraman, 2014). Vysokoteplotní stres u rýže má za důsledek těsné uzavření lokulů buněčnými vrstvami. Ty mají omezené možnosti puknutí a tím pádem dochází ke zpoždění antheze a snížení plodnosti (Matsui & Omasa, 2002). Jedním z mechanismů termotolerance a zabránění nižší plodnosti u rýže je antheze v časných ranních hodinách, kdy se rostlina ochlazuje transpirací (Arshad, a další, 2017; Jagadish, Craufurd, & Wheeler, 2008). Rostliny rýže, které dokončí anthezi před dosažením teploty 35 °C, vykazují výrazně vyšší úspěšnost opylení (Jagadish, Craufurd, & Wheeler, 2008). Antheze je řízena i hormonálně. Teplotně stresovaná rýže při anthezi vykazuje nižší hladiny auxinů. Tomu může být zabráněno exogenní aplikací kyseliny 1-naftyloctové (NAA) (Zhang, a další, 2018), syntetického auxinu (Flasiński & Hąc-Wydro, 2014).

## Samičí gametofyt

Ačkoli jsou oba gametofyty citlivé k působení vysokoteplotního stresu, většina prací se zaměřuje na studium samčího gametofytu. Samičí reprodukční vývoj během vysokoteplotního stresu a jeho degenerativní účinky nejsou proto dosud dostatečně známy. Vliv na nedostatečný zájem o samičí gametofyt má uložení gametofytu uvnitř pestíku. Nejde ho tedy získat tak lehce, jako pyl. Samičí gametofyt je také obecně považován za tolerantnější vůči stresu vysokou teplotou (Ambastha & Leshem, 2020).

Ambastha s Leshem (2020) studovali neoplozené zárodečné vaky huseníčku a zjistili, že centrální buňka (centrální diploidní jádro zárodečného vaku) odolává teplotnímu stresu lépe, než vajíčko, a to zase lépe, než buňky protistojné (antipody). Nízká perzistence antipod byla překvapením a zároveň bylo vyvráceno, že by mohla poskytnout zálohu za centrální buňku, kdyby degenerovala. Vyšší termotolerance centrální buňky by mohla

souviset s její diploidií. Analýza transkriptomických dat vedla k identifikaci několika genů teplotní stresové odpovědi, které jsou zvýšeně (více než 64x) exprimovány během vysokoteplotního stresu v centrálních buňkách (ve vajíčku nikoli). Jednalo se hlavně o geny HSP a jeden další gen zvyšující toleranci k vysoké teplotě. Naznačili, že reakce samičího gametofytu na vysokou teplotu je spíše specifická a odlišně zprostředkovaná podle identity buňky. Pro pochopení těchto procesů je nutný další výzkum (Ambastha & Leshem, 2020).

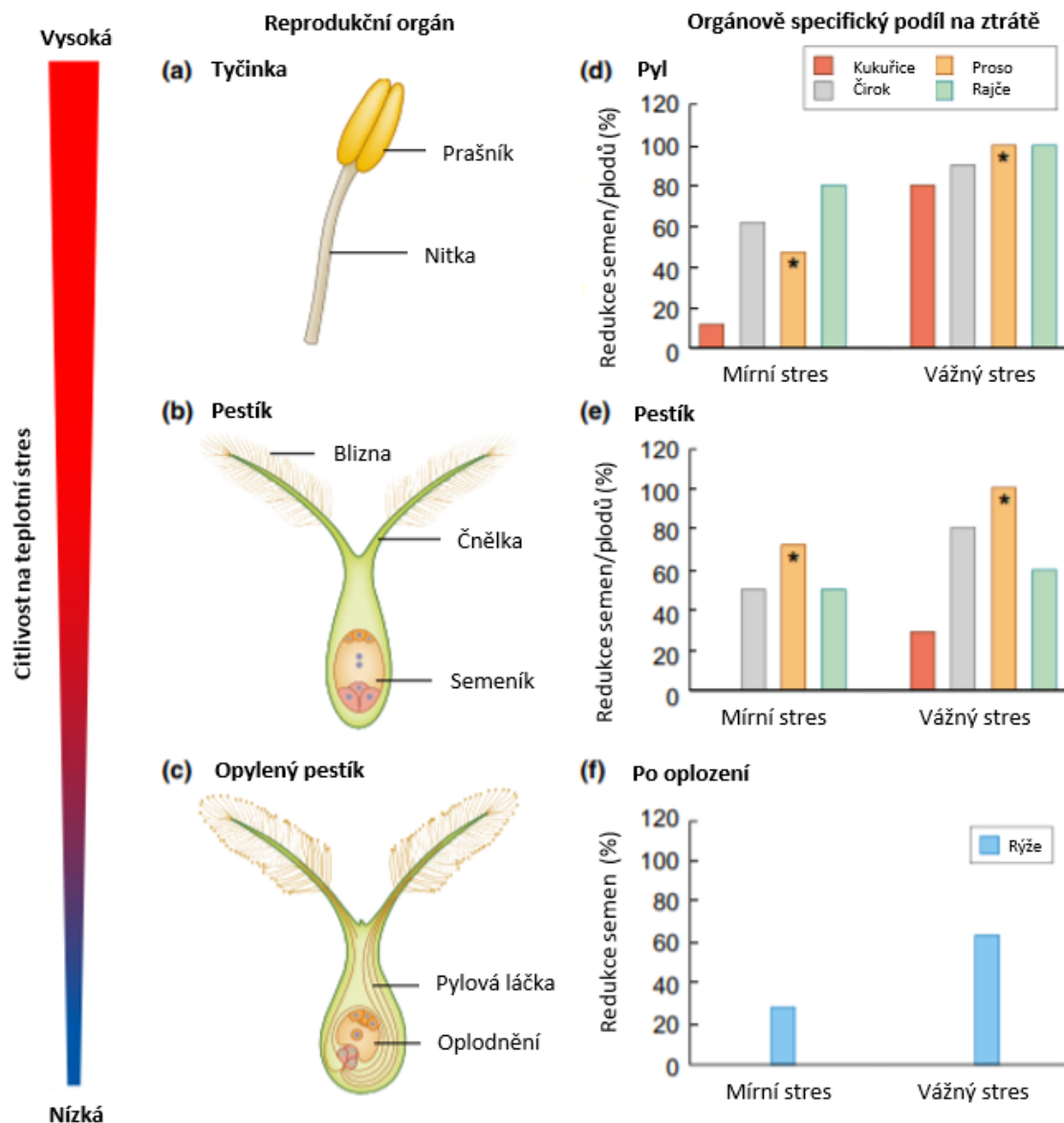
## Reprodukční synchronizace a oplození

Pro úspěch reprodukce je nutné opylení blizny životaschopným pylem (Dresselhaus & Franklin-Tong, 2013). Podle přehledového článku Carrizo García a dalších (2017) je k úspěšnému oplození potřeba synchronně vytvořený funkční pyl. Asynchronní vývoj v důsledku stresu zvyšuje rozdíly mezi obsahem metabolitů v mikrosporách, které mohou ovlivnit rehydrataci pylu na blizně a růst pylové láčky (Carrizo García, Nepi, & Pacini, 2017). I mírný teplotní stres významně mění rovnováhu sacharidů v pestíku, což naznačuje, že rychlost růstu pylové láčky může být omezena jeho dodávkou. Hladiny rozpustných sacharidů v pestících bavlníku (*Gossypium hirsutum*) byly při stresu až o 67,5 % nižší (Snider, Oosterhuis, Loka, & Kawakami, 2011). Důležitou roli v růstu pylové láčky hrají flavonoly snižující množství ROS a hormony, zejména IAA a GA. Růst láčky naopak inhibuje ABA (Wu, Qin, & Zhao, 2008; Muhlemann, Younts, & Muday, 2018). Vysoké teploty negativně ovlivňují dynamiku mikrotubulů a cytoskeletu ve vegetativních pletivech, jakož i během růstu pylové láčky (Müller & Rieu, 2016).

## Vývoj semen

Správný vývoj a vysoká kvalita semen jsou rozhodujícími předpoklady úspěšného dokončení reprodukce. Tato fáze může být negativně ovlivněna vysokoteplotním stresem. Dva kultivary pšenice byly vystavené 10 dní po anthezi teplotnímu stresu (36/29 °C, den/noc), měly nižší výnos a semena se zhoršenou kvalitou. Vysoká teplota během vývoje a zrání semen neměla žádný vliv na klíčivost semen u jednoho kultivaru, ale u druhého ji snížila, což může ukazovat na druhovou specifičnost. Stres měl vliv i na vitalitu vyklíčených rostlin (Grass & Burris, 1995). Podobné důsledky měl stres i na rostliny brukve řepky (*Brassica napus L.*). Ty byly vystaveny tepelnému stresu (30/25 °C, den/noc) během dozrávání, což způsobilo sice snížení klíčení jen o méně než 10 %, ale výrazně se snížila vitalita a hmotnost semen (Rashid, Hampton, Rolston, Khan, & Saville, 2017). Při hodnocení

kvality semen je klíčovým faktorem obsah amylozy. Ten klesá s teplotním stresem a mění se i jemná struktura amylopektinu, což svědčí o nepravdělné expresi syntázy škrobu. U rýže, s každým zvýšením teploty o jeden stupeň se doba vývoje zrna snižuje až na tři dny, což snižuje průměrnou hmotnost semen (Arshad, a další, 2017). Předčasné ukončení dozrávání zrn rýže za vysoké teploty ale není způsobeno nedostatkem produktů asimilace, protože listy dále dodávají asimiláty do ostatních rostlinných pletivech i po ukončení plnění zrna (Kim, a další, 2011). Teplotní stres během raného vývoje semen tedy ovlivňuje složení škrobu, podporuje hromadění sušiny v zrně (Arshad, a další, 2017) a může vést k urychlení stárnutí a tedy zkrácení doby plnění zrna (Lohani, Singh, & Bhalla, 2019). Teplotní stres luštěnin vede dále ke zvýšenému klíčení před sklizní a nižší rychlosti klíčení (Liu, a další, 2019). Rostliny čiroku s termotolerantním genomem produkují vyšší množství semen (Djanaguiraman, Prasad, Murugan, Perumal, & Reddy, 2014). Vývoj a produkce semen jsou ovlivněny předchozím vývojem, protože jak je vidět z Obr. 4, největší dopad na produkci semen má citlivost samčího gametofytu a pylu. Oplození a následná embryogeneze se nevyznačuje takovou citlivostí a její přispění k úbytku semen není tak markantní (Jagadish S. , 2020).



Obr. 4: Citlivost reprodukčních orgánů na teplotní stres během kvetení a jejich přispění k snížení množství semen. Škála na levé straně znázorňuje míru citlivosti na teplotní stres. Je z ní patrné, že prašník a pyl (a) jsou nejcitlivější k stresu, oplození a embryogeneze (c) jsou nejméně citlivé. Grafy (d-f) na pravé straně představují průměrné množství semen u obilovin nebo plodů u rajčete. Rostliny byly vystaveny zvýšené teplotě nad 30 °C během dne a nad 24 °C během noci (upraveno podle Jagadish S. , 2020).

# Závěr

Krytosemenné rostliny čelí nejen během reprodukčního vývoje neustále se zvyšujícím teplotám a teplotnímu stresu. Balancují mezi přizpůsobením se podmínkám a neúspěchem reprodukce. Z toho důvodu vyvinuly řadu mechanismů odezvy na tento stres, mezi něž patří především aktivace UPR a následná exprese HSP a enzymů detoxikace ROS. Tyto mechanismy umožňují znovunastolení ztracené homeostázy. V tomto případě hovoříme o bazální termotoleranci. Uchováním HSP je rostlina schopna vyrovnat se lépe s pozdějším stresem, hovoříme o získané termotoleranci. Toho lze využít i v případě, že je rostlina vystavována zvyšujícím se teplotám postupně. Snížit dopady lze i například kvetením v časných ranních hodinách.

O dopadech stresu na samčí gametofyt toho víme už poměrně mnoho, ale samičí gametofyt by zasloužil více pozornosti a jeho studium by mělo být předmětem dalších výzkumů, protože pro šlechtění plodin s vyšším výnosem a vyšší termotolerancí je nezbytné porozumět citlivým fázím pohlavního rozmnožování a oběma gametofytům. Fyziologické a biotechnologické metodické nástroje, jakož i konvenční šlechtění, mohou napomoci vývoji nových genotypů rostlin, které budou mít lepší výnos i při teplotním stresu (Arshad, a další, 2017), což není ale snadné z důvodu nízké dědičnosti této vlastnosti (Paupière, van Heusden, & Bovy, 2014).



# Přehled použité literatury

- Agati, G., Azzarello, E., Pollastri, S., & Tattini, M. (2012). Flavonoids as antioxidants in plants: location and functional significance. *Plant Sci* 196, 67-76.
- Aiqing, S., Somayanda, I., Sebastian, S., Singh, K., Gill, K., Prasad, P., & Jagadish, S. (2018). Heat Stress during Flowering Affects Time of Day of Flowering, Seed Set, and Grain Quality in Spring Wheat. *Crop Science* 58, 380–392.
- Ambastha, V., & Leshem, Y. (2020). Differential cell persistence is observed in the Arabidopsis female gametophyte during heat stress. *Plant Reproduction*.
- Araki, T. (2001). Transition from vegetative to reproductive phase. *Current opinion in plant biology* 4, 63-68.
- Arenas-Huertero, F., Arroyo, A., Zhou, L., Sheen, J., & Leon, P. (2000). Analysis of Arabidopsis glucose insensitive mutants, gin5 and gin6, reveals a central role of the plant hormone ABA in the regulation of plant vegetative development by sugar. *Genes and Development* 14, 2085-2096.
- Arshad, M., Farooq, M., Asch, F., Krishna, J., Prasad, P., & Siddique, K. (2017). Thermal stress impacts reproductive development and grain yield in rice. *Plant Physiology and Biochemistry* 115, 57–72.
- Balasubramanian, S., Sureshkumar, S., Lempe, J., & Weigel, D. (2006). Potent induction of Arabidopsis thaliana flowering by elevated growth temperature. *PLoS genetics*.
- Bheemanahalli, R., Sathishraj, R., Manoharan, M., Sumanth, H., Muthurajan, R., Ishimaru, T., & Krishna, J. (2017). Is early morning flowering an effective trait to minimize heat stress damage during flowering in rice? *Field Crops Research* 203, 238-242.
- Bokszczanin, K., & Fragkostefanakis, S. (2013). Perspectives on deciphering mechanisms underlying plant heat stress response and thermotolerance. *Front Plant Sci* 4.
- Carrizo García, C., Nepi, M., & Pacini, E. (2017). It Is a Matter of Timing: Asynchrony During Pollen Development and Its Consequences on Pollen Performance in Angiosperms-A Review. *Protoplasma* 254, 57-73.

- Custers, J., Cordewener, J., Noellen, Y., Dons, H., & Van Lookeren Champagne, M. (1994). Temperature Controls Both Gametophytic and Sporophytic Development in Microspore Cultures of Brassica Napus. *Plant Cell Rep* 13, 267-271.
- Datta, R., Chamusco, K., & Chourey, P. (2002). Starch Biosynthesis during Pollen Maturation Is Associated with Altered Patterns of Gene Expression in Maize. *Plant Physiology* 130.
- De Storme, N., & Geelen, D. (03. 06 2014). The impact of environmental stress on male reproductive development in plants: Biological processes and molecular mechanisms. *Plant, cell & environment* 37, 1-18. doi:10.1111/pce.12142
- De Storme, N., & Geelen, D. (2020). High temperatures alter cross-over distribution and induce male meiotic restitution in Arabidopsis thaliana. *Communications Biology* 3.
- De Storme, N., Copenhaver, G., & Geelen, D. (2012). Production of Diploid Male Gametes in Arabidopsis by Cold-Induced Destabilization of Postmeiotic Radial Microtubule Arrays1. *Plant Physiology*, 1808-1826.
- Del Olmo, I., Poza-Viejo, L., Piñeiro, M., Jarillo, J., & Crevillén, P. (2019). High ambient temperature leads to reduced FT expression and delayed flowering in Brassica rapa via a mechanism associated with H2A.Z dynamics. *The Plant Journal* 100, 343-356.
- Deng, Y., Howell, S., & Srivastava, R. (2011). Heat induces the splicing by IRE1 of a mRNA encoding a transcription factor involved in the unfolded protein response in Arabidopsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108, 7247-7252.
- Djanaguiraman, M., Prasad, P., Murugan, M., Perumal, R., & Reddy, U. (2014). Physiological differences among sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) genotypes under high temperature stress. *Environmental and Experimental Botany* 100, 43-45.
- Dorion, S., Lalonde, S., & Saini, H. (1996). Induction of Male Sterility in Wheat by Meiotic-Stage Water Deficit Is Preceded by a Decline in Invertase Activity and Changes in Carbohydrate Metabolism in Anthers. *Plant Physiology* 111, 137-145.
- Dresselhaus, T., & Franklin-Tong, N. (2013). Male-female crosstalk during pollen germination, tube growth and guidance, and double fertilization. *Molecular Plant*, 1018-36.

- Driedonks, N., Xu, J., Peters, J., Park, S., & Rieu, I. (2015). Multi-Level Interactions Between Heat Shock Factors, Heat Shock Proteins, and the Redox System Regulate Acclimation to Heat. *Frontiers in plant science*.
- Endo, M., Tsuchiya, T., Hamada, K., Kawamura, S., Yano, K., Ohshima, M., . . . Kawagishi-Kobayashi, M. (2009). High temperatures cause male sterility in rice plants with transcriptional alterations during pollen development. *Plant & cell physiology* 50, 1911-1922.
- Feng, B., Zhang, C., Chen, T., Zhang, X., Tao, L., & Fu, G. (2018). Salicylic acid reverses pollen abortion of rice caused by heat stress. *BMC plant biology* 18, 245.
- Feng, X., Ni, W., Elge, S., Mueller-Roeber, B., Xu, Z., & Xue, H. (2006). Auxin flow in anther filaments is critical for pollen grain development through regulating pollen mitosis. *Plant Molecular Biology* 61, 215-226.
- Firon, N., Pressman, E., Meir, E., Khoury, R., & Altahan, L. (2012). Ethylen is involved in maintaining tomato (*Solanum lycopersicum*) pollen quality under heat-stress conditions. *AoB Plants*.
- Firon, N., Pressman, E., Meir, S., Khoury, R., & Altahan, L. (2012). Ethylene is involved in maintaining tomato (*Solanum lycopersicum*) pollen quality under heat-stress conditions. *AoB Plants*.
- Flasiński, M., & Hąc-Wydro, K. (2014). Natural vs synthetic auxin: studies on the interactions between plant hormones and biological membrane lipids. *Environmental research* 133, 123-134.
- Fragkostefanakis, S., Mesihovic, A., Hu, Y., & Schleiff, E. (2016). Unfolded protein response in pollen development and heat stress tolerance. *Plant Reproduction* 29, 81-91.
- Fragkostefanakis, S., Roth, S., Schleiff, E., & Scharf, K. (2014). Prospects of engineering thermotolerance in crops through modulation of heat stress transcription factor and heat shock protein networks. *Plant, Cell & Environment* 38.
- Francis, K., Lam, S., Harrison, B., Bey, A., Berchowitz, L., & Copenhaver, G. (2007). Pollen tetrad-based visual assay for meiotic recombination in Arabidopsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104, 3913-3918.

- Franchi, G., Piotto, B., Nepi, M., & Baskin, C. (2011). Pollen and seed desiccation tolerance in relation to degree of developmental arrest, dispersal, and survival. *Journal of Experimental Botany* 62, 5267-5281.
- Fujita, Y., Fujita, M., Shinozaki, K., & Yamaguchi-Shinozaki, K. (2011). ABA-mediated transcriptional regulation in response to osmotic stress in plants. *Journal of Plant Research* 124, 509-525.
- Ghanashyam, C., & Jain, M. (2009). Role of auxin-responsive genes in biotic stress responses. *Plant Signaling and Behavior* 4, 846-848.
- Giorno, F., Wolters-Arts, M., Mariani, C., & Rieu, I. (2013). Ensuring Reproduction at High Temperatures: The Heat Stress Response during Anther and Pollen Development. *Plants* 2, 489-506.
- Grass, L., & Burris, J. (1995). Effect of heat stress during seed development and maturation on wheat (*Triticum durum*) seed quality. I. Seed germination and seedling vigor. *Canadian Journal of Plant Science* 75, 821-829.
- Hahn, A., Bublak, D., Schleiff, E., & Scharf, K. (2011). Crosstalk between Hsp90 and Hsp70 Chaperones and Heat Stress Transcription Factors in Tomato. *Plant Cell* 23, 741-755.
- Hamidou, F., Halilou, O., & Vadez, V. (2012). Assessment of Groundnut under Combined Heat and Drought Stress. *Journal of Agronomy and Crop Science* 199, 1-11.
- Hayat, S., Hayat, Q., Alyemeni, M., Wani, A., Pichtel, J., & Ahmad, A. (2012). Role of proline under changing environments: a review. *Plant Signal Behav.* 7, 1456-1466.
- Hedden, P., & Thomas, S. (2012). Gibberellin biosynthesis and its regulation. *Biochemical Journal* 444, 11-25.
- Hoekstra, F., Crowe, L., & Crowe, J. (1989). Differential desiccation sensitivity of corn and Pennisetum pollen linked to their sucrose contents. *Plant, Cell and Environment* 12.
- Chen, Y., Müller, F., Rieu, I., & Winter, P. (2016). Epigenetic events in plant male germ cell heat stress responses. *Plant reproduction* 29, 21-29.
- Jagadish, K., Craufurd, P., & Wheeler, T. (2008). Phenotyping Parents of Mapping Populations of Rice for Heat Tolerance during Anthesis. *Crop Science* 48.

- Jagadish, S. (2020). Heat stress during flowering in cereals – effects. *New Phytologist* 226, 1567-1572.
- Jain, M., Prasad, P., Boote, K., Hartwell, A., & Chourey, P. (2007). Effects of season-long high temperature growth conditions on sugar-to-starch metabolism in developing microspores of grain sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). *Planta* 227, 67-79.
- Kehrberger, S., & Holzschuh, A. (2019). Warmer temperatures advance flowering in a spring plant more strongly than emergence of two solitary spring bee species. *PLoS One*.
- Kim, J., Shon, J., Lee, C., Yang, W., Yoon, Y., Yang, W., . . . Lee, B. (2011). Relationship between grain filling duration and leaf senescence of temperate rice under high temperature. *Field Crops Research* 122, 207-213.
- Kotak, S., Larkindale, J., Lee, U., von Koskull-Döring, P., Vierling, E., & Scharf, K. (2007). Complexity of the heat stress response in plants. *Current opinion in plant biology* 10, 310-316.
- Ku, S., Yoon, H., Suh, H., & Chung, Y. (2003). Male-sterility of thermosensitive genic male-sterile rice is associated with premature programmed cell death of the tapetum. *Planta* 217, 559-565.
- Ku, S., Yoon, H., Suh, H., & Chung, Y. (2003). Male-sterility of thermosensitive genic male-sterile rice is associated with premature programmed cell death of the tapetum. *Planta* 217, 559-565.
- Kumar, S., Lucyshyn, D., Jaeger, K., Alós, E., Alvey, E., Harberd, N., & Wigge, P. (2012). Transcription factor PIF4 controls the thermosensory activation of flowering. *Nature* 484, 242-245.
- Larkindale, J., & Vierling, E. (2008). Core Genome Responses Involved in Acclimation to High Temperature. *Plant Physiology* 146, 748-761.
- Lee, J., Chung, K., Kim, S., & Ahn, J. (2014). Post-translational regulation of SHORT VEGETATIVE PHASE as a major mechanism for thermoregulation of flowering. *Plant Signaling Behavior* 9.

- Lee, S., & Warmke, H. (1979). Organelle size and number in fertile and T-cytoplasmic male-sterile corn. *American Journal of Botany* 66, 141-148.
- Liu, H., & Charng, Y. (2011). The role of class A1 heat shock factors (HSFA1s) in response to heat and other stresses in Arabidopsis. *Plant, Cell & Environment* 34, 738-751.
- Liu, Y., Li, J., Zhu, Y., Jones, A., Rose, R., & Song, Y. (2019). Heat Stress in Legume Seed Setting: Effects, Causes, and Future Prospects. *Frontiers in plant science* 10.
- Lohani, N., Singh, M., & Bhalla, P. (2019). High temperature susceptibility of sexual reproduction in crop plants. *Journal of Experimental Botany* 71, 555–568.
- Maia, J., Dekkers, B., Dolle, M., Ligterink, W., & Hilhorst, H. (2014). Abscisic Acid (ABA) Sensitivity Regulates Desiccation Tolerance in Germinated Arabidopsis Seeds. *The New phytologist* 203, 81-93.
- Matsui, T., & Omasa, K. (2002). Rice (*Oryza sativa* L.) Cultivars Tolerant to High Temperature at Flowering: Anther Characteristics. *Annals of Botany* 89, 683-687.
- May, M., Vernoux, T., Leaver, C., & Montagu, M. (1998). Glutathione homeostasis in plants: Implications for environmental sensing and plant development. *Journal of Experimental Botany* 49, 649-667.
- Mazorra, L. (2010). Brassinosteroid action and its relation with heat stress mechanisms in plants. *Brassinosteroids: A Class of Plant Hormone*, 289-307.
- Mazzeo, M., Cacace, G., Iovieno, P., Massarelli, I., Grillo, S., & Siciliano, R. (2018). Response mechanisms induced by exposure to high temperature in anthers from thermo-tolerant and thermo-sensitive tomato plants: A proteomic perspective. *PLoS One* 13.
- Mesihovic, A., Iannacone, R., Firon, N., & Fragkostefanakis, S. (2016). Heat stress regimes for the investigation of pollen thermotolerance in crop plants. *Plant Reproduction* 29, 93–105.
- Muhlemann, J., Younts, T., & Muday, G. (2018). Flavonols control pollen tube growth and integrity by regulating ROS homeostasis during high-temperature stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 115.
- Müller, F., & Rieu, I. (2016). Acclimation to high temperature during pollen development. *Plant reproduction* 29, 107-118.

- Oda, S., Kaneko, F., Yano, K., Fujioka, T., Masuko, H., Park, J., . . . Watanabe, M. (2010). Morphological and gene expression analysis under cool temperature conditions in rice anther development. *Genes and Genetic Systems* 85, 107-120.
- Oliver, S., Dennis, E., & Dolferus, R. (2007). ABA Regulates Apoplastic Sugar Transport and is a Potential Signal for Cold-Induced Pollen Sterility in Rice. *Plant and Cell Physiology* 48, 1319–1330.
- Oshino, T., Abiko, M., Saito, R., Ichiishi, E., Endo, M., Kawagishi-Kobayashi, M., & Higashitani, A. (2007). Premature progression of anther early developmental programs accompanied by comprehensive alterations in transcription during high-temperature injury in barley plants. *Molecular Genetics and Genomics* 278, 31-42.
- Pacini, E., & Dolferus, R. (2019). Pollen Developmental Arrest: Maintaining Pollen Fertility in a World With a Changing Climate. *Frontiers in Plant Science* 10.
- Pacini, E., Franchi, G., & Hesse, M. (1985). The Tapetum: Its Form, Function, and Possible Phylogeny in Embryophyta. *Plant Systematics and Evolution*, 155-185.
- Pacini, E., Jacquard, C., & Clément, C. (2011). Pollen vacuoles and their significance. *Planta* 234, 217-227.
- Pandey, S., & Somssich, I. (2009). The Role of WRKY Transcription Factors in Plant Immunity. *Plant Physiology* 150, 1648-1655.
- Papini, A., Mosti, S., & Brighigna, L. (1999). Programmed-cell-death events during tapetum development of angiosperms. *Protoplasma* 207, 213–221.
- Parish, R., Phan, H., Iacuone, S., & Li, S. (2012). Tapetal development and abiotic stress: A centre of vulnerability. *Functional Plant Biology* 39, 553-559.
- Parry, M., Rosenzweig, C., Iglesias, A., Fischer, G., & Livermore, M. (1999). Climate change and world food security: A new assessment. *Global Environmental Change*, 51-67. doi:10.1016/S0959-3780(99)00018-7
- Paupière, M., Müller, F., Li, H., Rieu, I., Tikunov, Y., Visser, R., & Bovy, A. (2017). Untargeted metabolomic analysis of tomato pollen development and heat stress response. *Plant reproduction* 30, 81-94.

- Paupière, M., van Heusden, W., & Bovy, A. (2014). The metabolic basis of pollen thermo-tolerance: perspectives for breeding. *Metabolites* 4, 889-920.
- Pécricx, Y., Rallo, G., Folzer, H., Cigna, M., Gudín, S., & Le Bris, M. (2011). Polyploidization mechanisms: temperature environment can induce diploid gamete formation in *Rosa* sp. *Journal of experimental botany* 62, 3587-3597.
- Pechan, P., & Smykal, P. (2008). Androgenesis: Affecting the fate of the male gametophyte. *Physiologia Plantarum* 111.
- Porch, T., & Jahn, M. (2001). Effects of high-temperature stress on microsporogenesis in heat-sensitive and heat-tolerant genotypes of *Phaseolus vulgaris*. *Plant, Cell & Environment* 24, 723-731.
- Posé, D., Verhage, L., Ott, F., Mathieu, J., Angenent, G., Immink, R., & Schmid, M. (2013). Temperature-dependent regulation of flowering by antagonistic FLM variants. *Nature* 503, 414-417.
- Prasad, P., & Djanaguiraman, M. (2014). Response of floret fertility and individual grain weight of wheat to high temperature stress: sensitive stages and thresholds for temperature and duration. *Functional Plant Biology* 41, 1261-1269.
- Prasad, P., Bheemanahalli, R., & Krishna Jagadish, S. (2017). Field crops and the fear of heat stress—Opportunities, challenges and future directions. *Field Crops Research* 200, 114-121.
- Rashid, M., Hampton, J., Rolston, M., Khan, K., & Saville, D. (2017). Heat stress during seed development affects forage brassica (*Brassica napus* L.) seed quality. *Journal of Agronomy and Crop Science* 204, 147 - 154.
- Rice-Evans, C., Miller, N., & Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine* 29, 933-956.
- Saini, H., Sedgley, M., & Aspinall, D. (1984). Development Anatomy in Wheat of Male Sterility Induced by Heat Stress, Water Deficit or Abscisic Acid. *Australian Journal of Plant Physiology* 11, 243 - 253.
- Sakata, T., Oshino, T., Miura, S., Tomabeche, M., Tsunaga, Y., Higashitani, N., . . . Higashitani, A. (2010). Auxins reverse plant male sterility caused by high temperatures.



*Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107, 8569-8574.

- Sakata, T., Takahashi, H., Nishiyama, I., & Higashitani, A. (2000). Effects of High Temperature on the Development of Pollen Mother Cells and Microspores in Barley *Hordeum vulgare* L. *Journal of Plant Research* 113, 395-402.
- Singh, B., Cheek, H. D., & Haigler, C. H. (2009). A synthetic auxin (NAA) suppresses secondary wall cellulose synthesis and enhances elongation in cultured cotton fiber. *Plant Cell Rep* 28, 1023–1032.
- Snider, J., Oosterhuis, D., Loka, D., & Kawakami, E. (2011). High temperature limits in vivo pollen tube growth rates by altering diurnal carbohydrate balance in field-grown *Gossypium hirsutum* pistils. *Journal of plant physiology* 168, 1168-1175.
- Suzuki, K., Takeda, H., Tsukaguchi, T., & Egawa, Y. (2001). Ultrastructural study on degeneration of tapetum in anther of snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under heat stress. *Sexual Plant Reproduction* 13, 293–299.
- Suzuki, N., Bajad, S., Shuman, J., Shulaev, V., & Mittler, R. (2008). The transcriptional co-activator MBF1c is a key regulator of thermotolerance in *Arabidopsis thaliana*. *The journal of biological chemistry*, 9269-9275.
- T., A. (2001). Transition from vegetative to reproductive phase. *Current opinion in plant biology* 4, 63-68.
- Talbert, P., & Henikoff, S. (2014). Environmental responses mediated by histone variants. *Trends in cell biology* 24, 642-650.
- Tao, L., Tan, H., Wang, X., Cao, L., Song, J., & Cheng, S. (2008). Effects of High-Temperature Stress on Flowering and Grain-Setting Characteristics of Guodao 6. *Acta Agronomica Sinica* 34, 609-674.
- Tashiro, T., & Wardlaw, I. (1990). The Effect of High Temperature at Different Stages of Ripening on Grain Set, Grain Weight and Grain Dimensions in the Semi-dwarf Wheat 'Banks'. *Annals of Botany* 65, 51-61.

- Tunc-Ozdemir, M., Tang, C., Ishka, M., Brown, E., Groves, N., Myers, C., . . . Harper, J. (2013). A Cyclic Nucleotide-Gated Channel (CNGC16) in Pollen Is Critical for Stress Tolerance in Pollen Reproductive Development. *Plant physiology* 161, 1010-1020.
- Villeneuve, A., & Hillers, K. (2001). Whence Meiosis? *Cell* 106, 647-650.
- Wagner, & Yanowitz. (2005). Meiotic recombination, stress and the environment. *15th International Worm Meeting*.
- Wang, D., Pajeroska-Mukhtar, K., Culler, A., & Dong, X. (2007). Salicylic acid inhibits pathogen growth in plants through repression of the auxin signaling pathway. *Current Biology* 17, 1784-90.
- Wu, J., Qin, Y., & Zhao, J. (2008). Pollen tube growth is affected by exogenous hormones and correlated with hormone changes in styles in *Torenia fournieri* L. *Plant Growth Regulation* 55, 137-148.
- Zhang, C., Li, G., Chen, T., Feng, B., Fu, W., Yan, J., . . . Fu, G. (2018). Heat stress induces spikelet sterility in rice at anthesis through inhibition of pollen tube elongation interfering with auxin homeostasis in pollinated pistils. *Rice* 11.