

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra biochemie



**Detekce MAP kinas s TEY motivem v ječmeni
kultivovaném v podmínkách abiotického stresu**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Autor:	Bc. Petra Vypelová
Studijní program:	B1406 Biochemie
Studijní obor:	Biochemie
Forma studia:	Prezenční
Vedoucí práce:	Ing. Pavel Křenek, Ph.D.
Rok:	2014

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně s vyznačením všech použitých pramenů a spoluautorství. Souhlasím se zveřejněním diplomové práce podle zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách, ve znění pozdějších předpisů. Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, ve znění pozdějších předpisů.

V Olomouci dne 5. května 2014

.....

Poděkování

„Ráda bych poděkovala vedoucímu mé diplomové práce, Ing. Pavlovi Křenkovi, Ph.D. za odborné vedení, věcné připomínky, cenné rady, pomoc při zpracování této práce a za klonování konstruktů pBRACT214_HvMPK5 a molekulárně biologickou charakterizaci transgenních linií ječmene se zvýšenou expresí *HvMPK5*. Zároveň děkuji i všem členům Oddělení buněčné biologie za jejich vstřícnost a ochotu vždy poradit. Chtěla bych také poděkovat paní Ing. Ludmile Ohnoutkové, Ph.D. a Bc. Janě Vaškové za přípravu transgenních linií ječmene se zvýšenou expresí *HvMPK5*. V neposlední řadě děkuji svým rodičům za trpělivost a podporu v průběhu mého studia.“

Výsledky získané v práci jsou součástí řešení běžícího Postdoktorandského projektu GAČR P501/12/P455 s názvem „Úloha mitogen-aktivovaných protein kináz (MPKs) v odpovědích ječmene na napadení *Puccinia hordei*“. Řešitelem grantu je Ing. Pavel Křenek, Ph.D. Práce byla dále podporována grantem č. IGA_PrF_2014033 „Biologická a molekulární analýza vybraných MAPK při abiotických stresech“ ze studentské grantové agentury Univerzity Palackého v Olomouci a grantem č. ED0007/01/01 z EU a České republiky pro Centrum Regionu Haná pro bitechnologický a zemědělský výzkum, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého, Olomouc.

Bibliografická identifikace

Jméno a příjmení autora	Bc. Petra Vypelová
Název práce	Detekce MAP kinas s TEY motivem v ječmeni kultivovaném v podmínkách abiotického stresu
Typ práce	Diplomová
Pracoviště	Katedra biochemie
Vedoucí práce	Ing. Pavel Křenek, Ph.D.
Rok obhajoby práce	2014

Abstrakt

Rostliny jsou často vystavovány vlivu vnějších nepříznivých podmínek (abiotický a biotický stres), které negativně působí na jejich růst a vývoj. Důležitou roli v adaptaci rostlin na působení stresových faktorů hrají mitogen aktivované protein kinasy (MAPKs). MAPKs jsou terminální komponentou komplexních signálních kaskád a regulují buněčné odpovědi na působení stresových stimulů prostřednictvím fosforylace řady rozdílných substrátů v buňce. Předkládaná diplomová práce je zaměřena na pilotní charakterizaci MAPK rodiny u ječmene setého pomocí nástrojů bioinformatiky a Western Blotu. Na základě homologie s popsány *MAPKs* rýže bylo v transkriptomických a genomických databázích ječmene identifikováno celkem třináct *MAPKs*. Pouhých pět nově identifikovaných *MAPKs* náleží do fylogenetické skupiny rostlinných *MAPKs* nesoucích duální fosforylační TEY motiv. Je známo, že řada *MAPKs* z této skupiny se účastní odpovědi modelových a kulturních rostlinných druhů na působení abiotických a biotických stresových faktorů. S cílem biochemické charakterizace dvou nově identifikovaných *MAPKs* s TEY motivem (HvMPK5 a HvMPK6) byly v předkládané práci komerčně *de novo* připraveny monospecifické protilátky JK5 a JK6. Pomocí Western Blotu s JK5 a JK6 protilátkami byly v kontrolních i stresovaných rostlinách ječmene specificky detekovány proteiny, jejichž molekulové hmotnosti přibližně korespondovaly s predikovanými molekulovými hmotnostmi HvMPK5 a HvMPK6. *MAPKs* ječmene s TEY motivem byly dále studovány pomocí fosfospecifické protilátky pERK1/2, která specificky detekuje rostlinné *MAPKs* s fosforylovaným TEY motivem. Pomocí Western Blotu s pERK1/2 protilátkou byla v kořenech ječmene vystavených působení abiotického stresu detekována aktivita pravděpodobně několika rozdílných *MAPKs* s TEY motivem.

Klíčová slova	mitogen aktivované protein kinasy, ječmen, osmotický stres, oxidativní stres, poranění, Western Blot
Počet stran	79
Počet příloh	0
Jazyk	Český

Bibliographical identification

Autor's first name and surname	Bc. Petra Vyplelová
Title	Detection of MAP kinases with TEY motif in barley cultivated under conditions of abiotic stress
Type of thesis	Diploma
Department	Department of Biochemistry
Supervisor	Ing. Pavel Křenek, Ph.D.
The year of presentation	2014

Abstract

Plants are often exposed to the influence of negative environmental conditions (abiotic and biotic stress) that negatively affect their growth and development. Crucial role in the adaptation of plants to the effects of stress factors play mitogen-activated protein kinases (MAPKs). MAPKs are terminal components of complex signaling cascades and regulate cellular responses to stress stimuli via phosphorylation of number of different substrates in the cell. Presented diploma thesis is focused on the pilot characterization of the MAPK family in barley by the means of bioinformatic tools and Western Blot. Based on the homology with described *MAPKs* of rice, thirteen *MAPKs* were identified in barley transcriptomic and genomic databases. Only five of identified barley MAPKs fall into phylogenetic clade represented by plant MAPKs bearing dual phosphorylation TEY motif. Many MAPKs from this clade have been shown to be involved in responses of model and crop species to abiotic and biotic stress. For the purposes of biochemical characterization of two newly identified MAPKs harboring TEY motif (HvMPK5 and HvMPK6), monospecific antibodies JK5 and JK6 were prepared *de novo* commercially. Using Western Blot with JK5 and JK6 antibodies, proteins with molecular weights approximately corresponding to predicted molecular weights of HvMPK5 and HvMPK6 were specifically detected in control and stressed barley plants. Barley MAPKs containing TEY motif were further studied using phosphospecific antibody pERK1/2 that specifically detects plant MAPKs with phosphorylated TEY motif. Using Western Blot with pERK1/2 antibody, the activity of probably several different MAPKs containing TEY motif was detected in barley roots exposed to abiotic stress.

Keywords	mitogen-activated protein kinases, barley, osmotic stress, oxidative stress, wounding, Western Blot
Number of pages	79
Number of appendices	0
Language	Czech

OBSAH

CÍLE PRÁCE

1 ÚVOD	11
2 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY	12
2.1 MAP kinasy rostlin	12
2.1.1 MAPK signalizační kaskáda	12
2.1.2 MAPKs	13
2.1.3 MAPKKs	15
2.1.4 MAPKKKs	16
2.1.5 MAP kinasy jednoděložných rostlin	17
2.2 Reakce rostlin na stres	18
2.2.1 Oxidativní stres	19
2.2.2 Teplotní stres	21
2.2.3 Osmotický stres	22
2.2.4 Poranění	23
2.2.5 Sucho	25
3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	26
3.1 Materiál a metody	26
3.1.1 Chemikálie	26
3.1.2 Rostlinný materiál	26
3.1.3 Roztoky a média	27
3.1.4 Metody	31
3.1.4.1 Identifikace MAPKs ječmene	31
3.1.4.2 Predikce konzervovaných domén a motivů v MAPKs ječmene	32
3.1.4.3 Konstrukce fylogenetického stromu	32
3.1.4.4 Lokalizace MAPKs na chromosomech ječmene	33
3.1.4.5 Příprava specifických protilátek proti HvMPK5 a HvMPK6	33
3.1.4.6 Povrchová sterilizace semen	33
3.1.4.7 Osmotický a oxidativní stres	33
3.1.4.8 Poranění	34
3.1.4.9 Izolace proteinů	35

3.1.4.10 Měření koncentrace proteinů	36
3.1.4.11 SDS elektroforéza	36
3.1.4.12 Western Blot	36
3.1.4.13 „Stripping“ membrán	37
4 VÝSLEDKY	38
4.1 Identifikace a fylogenetická analýza MAPKs ječmene pomocí nástrojů bioinformatiky	38
4.1.1 Kolekce identifikovaných MAPKs ječmene	38
4.1.2 Identifikace domén a motivů MAPKs ječmene	40
4.1.3 Fylogenetická analýza MAPKs ječmene, rýže a Arabidopsis	42
4.1.4 Chromosomální lokalizace MAPKs ječmene	44
4.2 Optimalizace detekce HvMPK5 a HvMPK6 pomocí specifických protilátek JK5 a JK6	45
4.2.1 Selekcce metody pro extrakci proteinů z rostlinného materiálu	45
4.2.2 Optimalizace detekce HvMPK5 a HvMPK6 v rostlinách ječmene vystavených působení osmotického stresu	46
4.2.3 Důkaz specificity primární protilátky JK5 a detekce aktivované HvMPK5 po infiltraci listů $0,015 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{ H}_2\text{O}_2$	48
4.3 Detekce abiotickým stresem aktivovaných MAPKs s TEY motivem pomocí protilátky pERK1/2	53
4.3.1 Detekce aktivních forem MAPKs v kořenech ječmene po inkubaci v $0,015 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{ H}_2\text{O}_2$ a po mírném poranění	53
4.3.2 Vliv poranění na aktivaci MAPKs v závislosti na kultivačních podmínkách a ontogenetickém stádiu vývoje ječmene	56
5 DISKUSE	59
6 ZÁVĚR	65
7 LITERATURA	68
8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	78

CÍLE PRÁCE

Teoretická část:

1. Příprava literární rešerše na téma mitogen aktivované protein kinasy (MAPKs) jednoděložných a dvouděložných rostlin a jejich role v podmínkách působení stresu.

Experimentální část:

1. Identifikace a fylogenetická analýza MAPKs ječmene pomocí nástrojů bioinformatiky.
2. Výběr experimentálních stresových podmínek pro kultivaci ječmene a optimalizace metod pro extrakci proteinů a detekci MAPKs pomocí Western Blotu.
3. Detekce MAPKs ječmene s TEY motivem v listech a kořenech vystavených stresovým podmínkám pomocí Western Blotu se specifickými protilátkami a Western Blotu s fosfospecifickou protilátkou.

1 ÚVOD

Rostliny jsou sesilní organismy a neustále se musí přizpůsobovat měnícím se environmentálním podmínkám. Adaptace zahrnuje zejména rychlou a dynamickou regulaci enzymatické aktivity a modifikaci genové exprese. Fosforylace a defosforylace proteinů je nejběžnější posttranslační modifikace u všech organismů (The Arabidopsis Genome Initiative, 2000; Khurana a Gaikwad, 2005). Fosforylace proteinů je jedním z hlavních mechanismů kontroly mnoha buněčných procesů v organismu (Cheong a Kim, 2010) a jedním z jejích zprostředkovatelů jsou mitogen aktivované protein kinasy (MAPKs), které jsou organizované do signálních kaskád. MAPKs jsou vysoce konzervované multienzymatické komplexy a hrají důležitou roli ve všech eukaryotických buňkách (Colcombet a Hirt, 2008; Suarez-Rodriguez *et al.*, 2010). V rostlinných buňkách jsou MAPKs lokalizované na endomembránách (endoplazmatické retikulum, trans-Golgiho síť, post-Golgiho vezikuly) nebo v subcelulárních kompartmentech (jádro, cytoskelet) (Šamajová *et al.*, 2013). Až 5% genomu zelených rostlin (*Viridiplantae*) kóduje protein kinasy a zhruba 10% všech rostlinných kinas je zapojeno do MAPKs drah (The Arabidopsis Genome Initiative, 2000; Khurana a Gaikwad, 2005). MAPKs moduly jsou zapojeny do odpovědí rostlin na hormony a různé druhy stresů (infekce patogenem, zranění, nízká/vysoká teplota, sucho, zasolení nebo na reaktivní formy kyslíku), do regulace vývoje a růstu, do regulace buněčného cyklu, diferenciace a programované buněčné smrti (Franklin-Tong a Gurlay 2008; Cheong a Kim, 2010; Müller *et al.*, 2010; Sasabe a Machida 2012).

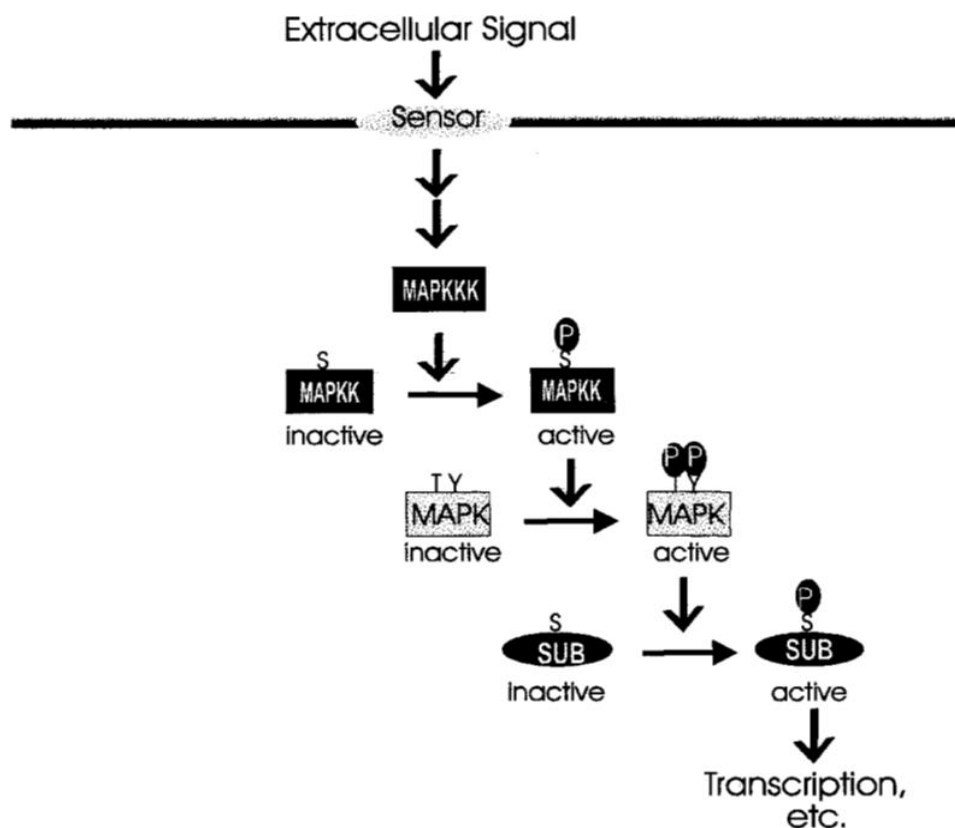
2 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

2.1 MAP kinasy rostlin

2.1.1 MAPK signalizační kaskáda

Kaskáda mitogen-aktivovaných protein kinas (MAPKs) je zapojena do přenosu extracelulárních signálů dovnitř buňky u rostlin, živočichů i hub. Skládá se ze tří kinas: MAP kinasy kinasy kinasy (MAPKKK, MAP3K nebo MEKK), MAP kinasy kinasy (MAPKK, MAP2K nebo MKK) a MAP kinasy (MAPK nebo MPK) (Keshet a Seger, 2010). MAPKs jsou aktivovány MAPKKs dvojitou fosforylací threoninu a tyrosinu v místě T-x-Y (Thr-x-Tyr, x je jakákoliv aminokyselina) motivu, který je lokalizován v aktivační smyčce (T-smyčka) mezi kinasovými podjednotkami VII a VIII. MAPKKs jsou aktivovány MAPKKKs fosforylací serin/threoninových zbytků v S/T-X3-5-S/T motivu, který je také lokalizován v T-smyčce. (Jonak *et al.*, 2002; Nakagami *et al.*, 2005). MAPKKKs jsou pak aktivovány buď interakcí s malou GTPasou a/nebo fosforylací pomocí protein kinas asociovaných s receptory na povrchu buňky (Morrison, 2012). Interakce mezi jednotlivými komponentami MAPK kaskády jsou schematicky znázorněny na Obr. 1. MAPK dráha spojuje různé signály prostřednictvím interakce s jinými kinasami nebo G-proteinem. Ty často fungují jako spojníky mezi receptorovými proteiny lokalizovanými v plazmatické membráně, které rozpoznávají extracelulární signály, a MAPK modulem. Aktivace cytoplazmatické MAPK na konci modulu způsobuje translokaci MAPK do jádra, kde kinasa aktivuje určitou skupinu genů prostřednictvím fosforylace specifických transkripčních faktorů. V jiném případě může MAPK také translokovat fosforylované specifické enzymy (protein kinasy, fosfatasy, lipasy) nebo složky cytoskeletu (Jonak *et al.*, 1999).

MAPK dráhy jsou známy u mnoha různých druhů rostlin, jako jsou *Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana*), tabák (*Nicotiana tabacum*), rajče (*Lycopersicon esculentum*), vojtěška (*Medicago sativa*) a rýže (*Oryza sativa*). V genomu *Arabidopsis* bylo identifikováno 20 MAPKs, 10 MAPKKs a 80 MAPKKKs (Cheong a Kim, 2010).



Obr. 1 Schematické zobrazení percepcie extracelulárního signálu a jeho transdukce mezi jednotlivými členy MAPK kaskády (Jonak *et al.*, 1999). Extracelulární signál, který je přijat receptorem na membráně, postupně aktivuje všechny složky MAPK kaskády (MAPKKK, MAPKK, MAPK). Aktivní MAPKs mohou dále fosforylovat jiné protein kinas, fosforylovat složky cytoskeletu nebo být translokovány do jádra, kde aktivují transkripční faktory a tím indukují expresi specifických genů. Šipky znázorňují směr aktivace.

2.1.2 MAPKs

Aktivita MAP kinas může být ve všech eukaryotických buňkách regulována na úrovni transkripce, translace nebo posttranslačních modifikací (fosforylace, defosforylace). Mohou vykazovat také tyrosin kinasovou aktivitu a možnou autofosforylaci na threoninových a tyrosinových zbytcích (Wu *et al.*, 1991).

Ačkoliv jsou serin/threonin kinasové domény vysoce konzervované, ve všech rostlinných MAPKs bylo zjištěno, že mají N-terminální nebo C-terminální doménu, která vykazuje vyšší diverzitu než vlastní doména katalytická. Na základě fylogenetické analýzy jejich aminokyselinových sekvencí dělíme rostlinné MAPKs na čtyři skupiny (I-IV). U skupin MAPKs I-III se v klastru aktivační smyčky nachází TEY (Thr-Glu-Tyr) motiv, kdežto skupina MAPKs IV obsahuje motiv TDY (Thr-Asn-Tyr) (Hanks *et al.*, 1988; Huang *et al.*, 2002). Charakteristickým rysem TDY skupiny je prodloužení domény na karboxylovém konci (Jonak *et al.*, 2002).

Skupina MAPKs I je zapojena do hormonálních a environmentálních odpovědí rostlin (Hamel *et al.*, 2006; Colcombet a Hirt, 2008). Tato skupina zahrnuje AtMPK3 a AtMPK6 u *Arabidopsis*, které jsou aktivovány patogenem, osmotickým nebo oxidativním stresem (Asai *et al.*, 2002; Ichimura *et al.*, 2002; Colcombet a Hirt, 2008). Do této skupiny dále patří SIPK a WIPK tabáku, které jsou aktivovány kyselinou salicylovou (SA) nebo poraněním (Zhang a Klessig, 2001). Při poranění WIPK aktivuje transkripční faktor NtWIF, který je zapojen do indukce exprese genů (Seo *et al.*, 1995; Yap *et al.*, 2005).

MAPKs ze skupiny II hrají roli při různých odpovědích rostlin na stres z vnějšího prostředí a při buněčném dělení, nicméně tato skupina není zdaleka tak dobře prostudovaná jako skupina I. Patří sem MPK4 u *Arabidopsis*, která se podílí na obranné signalizaci rostlin (Peterson *et al.*, 2010).

Úloha skupiny MAPKs III v signálních drahách rostlin ve stresových podmínkách je také dosud málo objasněna. Blíže byla popsána pouze MPK7, která se podílí na regulaci cirkadiálního rytmu u *Arabidopsis* (Schaffer *et al.*, 2001).

Skupina MAPKs IV obsahuje v T-smyčce TDY motiv a má prodlouženou C-terminální doménu. Do této skupiny patří AtMPK8, AtMPK9 a AtMPK15 *Arabidopsis*, OsBWMK1 rýže a TDY1 vojtěšky. AtMPK8, AtMPK9 a AtMPK15 mají také prodloužený N-terminální konec (60-80 aminokyselin) a MPK9 obsahuje navíc oblasti bohaté na serin a kyselinu glutamovou. Více studií prokázalo, že OsBWMK1 a TDY1 jsou aktivovány poraněním nebo infekcí houbovým patogenem *Magnaporthe grisea*. OsBWMK1 hraje důležitou roli v obranné signalizaci rýže tím, že aktivuje transkripční faktory, jako například OsEREBP a OsWRKY33 (He *et al.*, 1999; Schoenbeck *et al.*, 1999; Cheong *et al.*, 2003).

MAPKs zařazené do skupin I a II mají na prodlouženém C-konci CD doménu, která slouží jako dokovací místo pro MAPKK, fosfatasy a proteiny. CD doména obsahuje sekvence aminokyselin, které se skládají ze dvou sousedních kyselých zbytků (D a E). Ty jsou nezbytné pro interakci s klastry bazických aminokyselin (K a R), které jsou zase součástí MAPKK (Tanoue *et al.*, 2000).

Arabidopsis obsahuje více MAPKs s TEY motivem (12 genů) než s TDY motivem (8 genů) (Reyna a Yang, 2006).

2.1.3 MAPKKs

Dosud bylo u rostlin blíže popsáno 21 MAPKKs (MKKs), jako jsou například MKK1-5 u *Arabidopsis*, SIMKK a PRKK u vojtěšky, NtMEK1-2 a SIPKK u tabáku, LeMEK1 u rajčete a ZmMEK1 u kukuřice (*Zea mays*) (Ichimura *et al.*, 2002; Hamel *et al.*, 2006). Typickými znaky rostlinných MAPKKs jsou S/T-X₅-S/T motiv a N-terminální MAPK dokovací doména, která je charakteristická klastrem obsahujícím hydrofobní aminokyselinové zbytky (K/R-K/R-K/R-X₁₋₆-LX-L/V/I). V genomu *Arabidopsis* bylo identifikováno 10 MAPKKs, které můžeme klasifikovat do čtyř různých skupin (A-D). V signálních drahách odpovědných za reakce rostlin na stres byly doposud popsány jen MAPKKs patřící do skupin A, B a C (Ichimura *et al.*, 2002). Zajímavým faktem je, že geny pro MAPKKs ve skupinách C a D neobsahují žádné introny (Bardwell a Thorner, 1996). Bylo prokázáno, že autofosforylace MAPKKs může zvyšovat jejich afinitu k MAPKs (Haystead *et al.*, 1992).

Do skupiny MAPKKs A patří MKK1 a MKK2 u *Arabidopsis*, které jsou „upstream“ regulátory MPK4 a jsou aktivovány poraněním a abiotickým stresem (Mészáros *et al.*, 2006). MKK2 je také aktivátorem MPK6, která zajišťuje signalizaci při chladovém a solném stresu. MKK2 je aktivována prostřednictvím MEKK1, stresem indukované MAPKKK. Rostliny se zvýšenou expresí MKK2 se vyznačují konstitutivní kinasovou aktivitou MPK4 a MPK6, expresí markerových genů charakteristických pro stresové reakce rostlin a zvýšenou odolností vůči mrazu a soli (Teige *et al.*, 2004). Do skupiny A patří také MKK6, která aktivuje „downstream“ MPK13 (Melikant *et al.*, 2004).

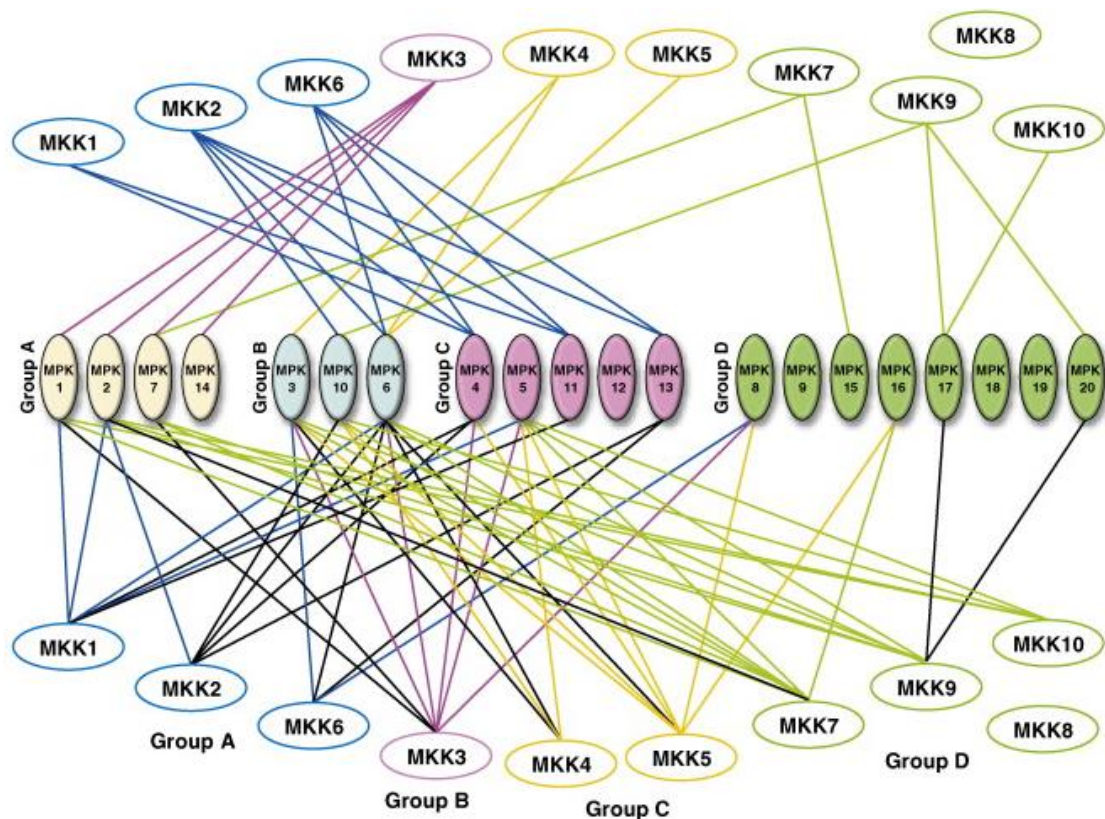
Skupina MAPKKs B má neobvyklou strukturu, pro kterou je typická doména pro interakci s nukleárním transportním faktorem 2 (NTF2), nacházející se v C-terminální oblasti proteinu (Quimby *et al.*, 2000). NTF2 je malý protein, který se podílí zejména na transportu mezi cytoplazmou a jádrem a zprostředkovává import Ran-GDP do jádra buňky (Quimby *et al.*, 2000). Do skupiny B řadíme MKK3 u *Arabidopsis*, která je součástí MAPK dráhy indukované bakterií *Pseudomonas* a je negativně regulovaná kyselinou jasmonovou (JA) (Dóczi *et al.*, 2007; Takahashi *et al.*, 2007). Rovněž sem patří NPK2 u tabáku (Quimby *et al.*, 2000).

Skupina MAPKKs C obsahuje MKK4 a MKK5 u *Arabidopsis* a SIMKK u vojtěšky, která aktivuje SIMK a reguluje MAPK signální dráhu indukovanou solí nebo elicitory (Kiegerl *et al.*, 2000). Patří sem také NtMEK2 u tabáku, která se podílí nejen na aktivaci SIPK a WIPK, ale rovněž na indukci buněčné smrti v listech (Yang *et al.*, 2001).

Do skupiny MAPKKs D zařazujeme MKK7, MKK8, MKK9 a MKK10 u Arabidopsis (Andreasson a Ellis, 2010). Vzájemné interakce mezi jednotlivými MAPKKs a MAPKs u Arabidopsis jsou schematicky znázorněny na Obr. 2.

2.1.4 MAPKKs

MAPKKs u rostlin tvoří největší skupinu proteinů MAPK kaskády. Mají rozmanitou primární strukturu i složení domén. Rostlinné MAPKKs dělíme do dvou podskupin: MEKK-typ a Raf-typ (Ichimura *et al.*, 2002). Zástupci MEKK-typu jsou OMTK1 u vojtěšky (oxidativním stresem aktivovaná MAPKKK), AtMEKK1 u Arabidopsis a NPK1 u tabáku (Mizoguchi *et al.*, 1996; Nishihama *et al.*, 2001; Nakagami *et al.*, 2004).



Obr. 2 Vzájemné interakce jednotlivých MAPKs a MAPKKs u Arabidopsis (Andreasson a Ellis, 2010). MAPKs a MAPKKs jsou zorganizovány a barevně rozděleny podle příslušných fylogenetických skupin. Interakce znázorněné v horní části obrázku reflektují výsledky získané pomocí kvasinkových dvouhybridních systémů, zatímco interakce ve spodní části obrázku představují fosforylace MAPKs prostřednictvím MAPKKs prokázané *in vitro* a/nebo *in planta*. Černé spojnice v dolní části obrázku znázorňují případy, kdy byla kromě fosforylace dokázána i proteinová interakce MAPK-MAPKK páru.

AtMEKK1 působí jako aktivátor MKK1-2 a MKK4-5 v obranných reakcích rostlin na abiotický stres (Ichimura *et al.*, 2000; Asai *et al.*, 2002; Teige *et al.*, 2004). Do druhé podskupiny řadíme EDR1 a CTR1 u *Arabidopsis*. EDR1 působí jako negativní regulátor v obraně proti patogenům (Frye *et al.*, 2001; Tang a Innes, 2002) a CTR1 je negativním regulátorem v signalizaci ethylenu (Kieber *et al.*, 1993).

2.1.5 MAP kinasy jednoděložných rostlin

Znalosti týkající se role a funkce MAPK kaskád u jednoděložných rostlin jsou značně omezeny ve srovnání s dvouděložnými rostlinami. V posledním desetiletí byla největší pozornost při zkoumání MAPK signálních drah u jednoděložných rostlin zaměřena na modelový druh rýže (Goff *et al.*, 2002; Yu *et al.*, 2002). První MAPK u rýže, na základě přijaté nomenklatury pro MAPKs pojmenována BWMK1 (OsBWMK1), byla vyzolovaná z indické odrůdy IR36. V původní studii bylo prokázáno, že je indukovaná infekcí patogenem *Magnaporthe grisea* nebo mechanickým poraněním (He *et al.*, 1999). Objevení BWMK1 poskytlo také první důkaz o existenci MAPK kaskád u rýže a jejich zapojení do obranných mechanismů.

Dosud bylo popsáno 9 různých MAPKs u rýže, zejména u japonské odrůdy Nipponbare – OsBWMK1, OsBIMK1, OsMAP1, OsMAPK2, OsMSRMK2, OsMAPK3, OsMSRMK3, OsMAPK4 a OsWJUMK1 (He *et al.*, 1999; Agrawal *et al.*, 2002; Fu *et al.*, 2002; Huang *et al.*, 2002; Song a Goodman, 2002; Wen *et al.*, 2002; Agrawal *et al.*, 2003a). MAPKs rýže si zachovávají charakteristické rysy všech členů MAPK rodiny – obsahují protein kinasovou (PK) doménu se všemi 11 konzervovanými PK subdoménami, fosforylační aktivované motivy TEY a TDY (Hanks *et al.*, 1988) a dělí se do tří skupin (A, C a D) ze čtyř definovaných (A-D) (Ichimura *et al.*, 2002). Do skupiny A patří OsMAPK2, OsMSRMK2, OsMAP1 a OsBIMK1 a do skupiny C řadíme OsMAPK4, OsMSRMK3 a OsMAPK3. Obě tyto skupiny mají v aktivační smyčce TEY motiv. Do skupiny D patří OsWJUMK1, obsahující TDY motiv a mající prodlouženou C-terminální oblast, ve které se nenacházejí žádné domény. Karboxylový konec OsBWMK1 nese doménu homologní k alkohol dehydrogenase (ADH) a fosforylační místo pro tyrosin kinasy (TK). Je známo, že gen pro ADH je indukován například nedostatkem kyslíku, dehydratací, nízkou teplotou a elicitory (Matton *et al.*, 1990; Dolferus *et al.*, 1994; He *et al.*, 1999). Skupina B a orthologní geny podskupiny A2 u rýžových MAPKs zatím nebyly identifikovány. Bylo zjištěno, že genom rýže

obsahuje téměř dvounásobný počet MAPKs s motivem TDY než s TEY motivem (Reyna a Yang, 2006).

Fylogenetický strom MAPKs u rýže poukazuje na jejich vzájemnou podobnost v jednotlivých podskupinách. Například OsMAPK2, OsMSRMK2, OsMAP1 a OsBIMK1 z podskupiny A1 jsou více než na 99% homologní. OsMAPK2 a OsBIMK mají v rámci podskupiny rozdílnou pouze jedinou aminokyselinu (A místo G v pozici 46 - OsMAPK2 a I místo F v pozici 367 - OsBIMK). OsMSRMK2 a OsMAP1 jsou identické. MAPKs z podskupiny C2 OsMAPK4 a OsMSRMK3 se liší v pozicích dvou aminokyselin (Y místo V a A místo V v pozicích 35 a 331) a s MAPK OsMAPK3 ze stejné podskupiny jsou identické na 92%. MAPKs z podskupiny D1 jsou navzájem homologní na 63% (Agrawal *et al.*, 2003b).

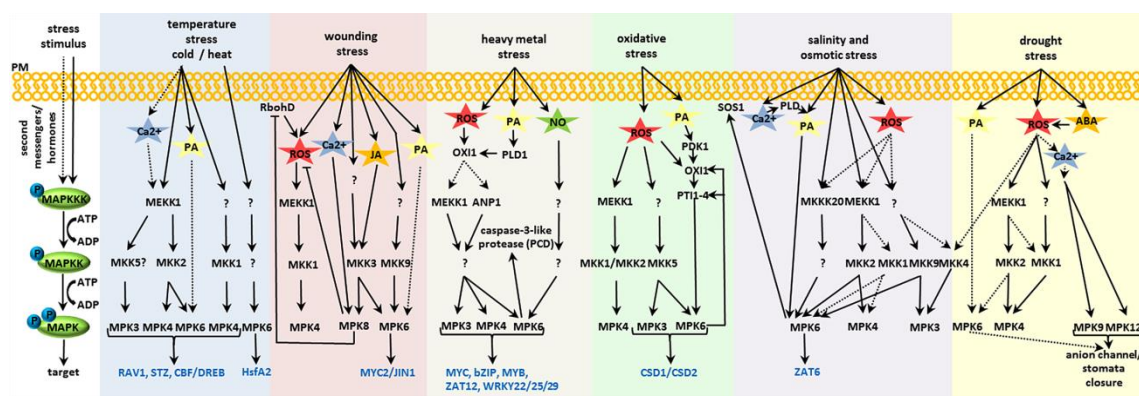
2.2 Reakce rostlin na stres

Rostliny jsou často vystavovány vnějším nepříznivým podmínkám (biotický a abiotický stres), které negativně působí na jejich růst a vývoj (Dat *et al.*, 2000). Abiotický stres zahrnuje působení vysokých a nízkých teplot, sucha, ozonu, UV záření, zvýšené salinity a mechanického poranění. Během evoluce si rostliny vytvořily komplex regulačních mechanismů sloužících k adaptaci na tyto nepříznivé vlivy, jako je například syntéza hormonů (kyselina abscisová – ABA), spouštějící sekundární odpovědi a expresi specifických genů (Munnik a Meijer, 2001). Jako odpověď na biotický stres si rostliny vyvinuly obranné systémy k ochraně proti patogenům, kterých jsou schopny rozpoznat na základě přítomnosti mikrobiálních elicitorů a různých komponent buněčné stěny. Následuje transdukce intracelulárního signálu v obranné reakci na stres, vedoucí až k hypersenzitivní reakci (HR – hypersensitive response), neboli k programované buněčné smrti (Cheong a Kim, 2010). V místě invaze patogena rostliny generují různé signalizační molekuly, jako jsou například SA, JA, ethylen a oxid dusnatý (NO), které se podílejí na systémové odpovědi rostlin (Cheong a Kim, 2010). Může také docházet k mechanickému zpevnění buněčných stěn, k syntéze fytoalexinů a proteinů souvisejících s patogenezí (PR proteins – pathogenesis related proteins) a k indukci transkripce obranných genů (Zhang *et al.*, 2006). Jedním z důsledků stresu je také zvýšení koncentrace reaktivních forem kyslíku (ROS) v buňce, které se následně přeměňují na kyslík ($^1\text{O}_2$), superoxidový anion (O_2^-), hydroxylový radikál (OH) a zejména na peroxid vodíku (H_2O_2) (Quan *et al.*, 2008).

Nezastupitelnou roli v reakcích rostlin na stresové podmínky hrají kromě druhých posílů a hormonů také MAPK kaskády. Některé komponenty MAPK kaskád mohou být aktivovány více než jedním typem abiotického nebo biotického stresu, což naznačuje konvergenci signalizačních drah při percepci a transdukcii signálu během odpovědi rostlin na stres (Zhang *et al.*, 2006). Vzájemná propojení jednotlivých hormonů, druhých posílů a MAPK kaskád regulujících odpovědi rostlin na různé typy abiotických stresů jsou znázorněna na Obr. 3.

2.2.1 Oxidativní stres

ROS patří mezi hlavní, přirozeně se vyskytující vedlejší produkty aerobního metabolismu buněk (Suzuki *et al.*, 2011), ale jejich tvorba může být rovněž indukována působením abiotických stresových faktorů (Suzuki *et al.*, 2012), nebo během napadení rostlin patogeny (O'Brien *et al.*, 2012). ROS (zejména H₂O₂) jsou v rostlinách ve velkém množství produkovány v mitochondriích, chloroplastech, peroxizomech, glyoxyzomech, na plazmatické membráně a v buněčné stěně. Ovlivňují činnost mnoha proteinů tvořících součásti signalizačních drah (fosfatasy, kinasy a transkripční faktory) (Cheng a Song, 2006). Hrají také důležitou roli ve fyziologických procesech rostlin



Obr. 3 Schematické znázornění vzájemného propojení druhých posílů, hormonů a MAPK modulů regulujících odpovědi na různé typy abiotických stresů u *Arabidopsis* (Smékalová *et al.*, 2013). V levé části obrázku je zobrazen obecný průběh a aktivace MAPK kaskády. Hlavní část obrázku obsahuje šest základních typů abiotických stresů, které jsou navzájem barevně odlišeny. U každého ze stresů jsou znázorněny signalizační dráhy zahrnující druhé posly, hormony, MAPK kaskády a efekторы zodpovídající za reakce rostlin na jednotlivé typy stresu. Plné čáry označují známé signalizační dráhy a přerušované čáry představují ty předpokládané. Otazníky zobrazují komponenty MAPK kaskád, které nebyly doposud identifikovány. Modrou barvou jsou znázorněny transkripční faktory.

jako jsou senescence (Peng *et al.*, 2005), fotorespirace a fotosyntéza (Noctor a Foyer, 1998), pohyb průduchů (Bright *et al.*, 2005), buněčný cyklus (Mittler *et al.*, 2004), růst a vývoj (Foreman *et al.*, 2003). Bylo prokázáno, že H_2O_2 se akumuluje více ve starších listech a podílí se na indukci otevírání a zavírání průduchů zprostředkovaném prostřednictvím ABA (Pei *et al.*, 2000; Neill *et al.*, 2002). V kombinaci s jinými stresovými faktory (ultrafialové záření, sůl, sucho, těžké kovy, vysoká či nízká teplota), produkce H_2O_2 v rostlinách napomáhá k získávání jejich odolnosti vůči stresu a k ochraně před poraněním.

Naopak, akumulace ROS i H_2O_2 způsobuje oxidativní poškození buňky nebo buněčnou smrt. Na detoxikaci H_2O_2 se podílí řada enzymů, jako jsou superoxid dismutasa (SOD), glutation reduktasa (GR), katalasa (CAT) – konvertuje H_2O_2 na vodu a molekulový kyslík, peroxidasa (POD) – podílí se na lignifikaci, zesíťování strukturních proteinů v buněčné stěně a na obraně před patogeny a askorbát peroxidasa (APX) – zodpovídá za přesun H_2O_2 do chloroplastů, peroxizomů a mitochondrií. Na degradaci H_2O_2 se ale podílí i neenzymatické antioxidanty, jako jsou například tokoferoly, kyselina askorbová a glutation (Scandalios, 1987; Asada, 1992; Wingsle a Hallgren, 1993; Kocsy *et al.*, 1996; Noctor *et al.*, 1998; Kawano, 2003). Produkci ROS je možné snížit přesměrováním elektronů do transportního řetězce chloroplastů a mitochondrií pomocí alternativních oxidas (AOXs), které redukují kyslík na vodu (Mittler, 2002).

Peroxid vodíku může vystupovat buď jako signální molekula nebo jako regulátor exprese některých genů v buňce. V případě nízké koncentrace se H_2O_2 jako signální molekula podílí na vytváření tolerance rostliny vůči abiotickým a biotickým stresům (Fukao a Bailey-Serres, 2004; Laloi *et al.*, 2004; Mittler *et al.*, 2004). Vysoké koncentrace H_2O_2 způsobují řízenou buněčnou smrt (Dat *et al.*, 2000).

Zvýšené hladiny ROS indukují u *Arabidopsis* aktivaci MPK3 a MPK6 (Lumbreras *et al.*, 2010), ale také MPK4, která je součástí MEKK1-MKK1/MKK2 signalizační dráhy (Pitzschke *et al.*, 2009). Fosforylaci MPK3 a MPK6 zprostředkovává MAPKK MKK5 (Miles *et al.*, 2009; Xing *et al.*, 2013). Bylo zjištěno, že na úplnou aktivaci obou MAPKs při oxidativním stresu je nevyhnutelná přítomnost serin/threonin kinasy OX11 (oxidative signal-inducible 1), jejíž exprese je u *Arabidopsis* rovněž indukována působením ROS (Rentel *et al.*, 2004). Dalším proteinem hrajícím roli v signalizaci během působení oxidativního stresu je MAPK fosfatasa 2 (MKP2). MKP2 je lokalizována převážně v jádře, kde interaguje s MPK3 a MPK6 a způsobuje jejich

defosforylaci, čím zvyšuje toleranci rostlin vůči oxidativnímu stresu (Lee a Ellis, 2007; Lumberras *et al.*, 2010).

2.2.2 Teplotní stres

Nízká a vysoká teplota jsou jednými z nejdůležitějších abiotických faktorů, ovlivňujícími růst, produktivitu i geografické rozložení zemědělských plodin. Mnoho rostlin zvyšuje v chladu svou toleranci v reakci na nízkou teplotu (CA - cold acclimation). Je to proces, který umožňuje u odolných rostlin rozvíjet toleranci na chlad prostřednictvím biochemických a biologických změn, kdy dochází k přeprogramování exprese genů (Mishra *et al.*, 2006; Heidarvand a Amiri, 2009; Huang *et al.*, 2012). Výsledky studií naznačují, že primárním místem kontaktu chladu s buňkou je její membránový systém. Rostliny mohou reagovat na změny teploty okolního prostředí změnou fyzikálních vlastností plazmatické membrány (Levitt, 1980; Steponkus, 1984). Pokles teploty snižuje fluiditu membrány, nárůst teploty ji naopak zvyšuje (Meija *et al.*, 1995; Alonso *et al.*, 1997; Wang *et al.*, 2003; Mittler *et al.*, 2012). Bylo prokázáno, že fluidita membrány moduluje také aktivitu iontových kanálů, nacházejících se na povrchu buňky (Mazars *et al.*, 1997).

Vystavení rostlin nízkým teplotám vede k fyziologickým odpovědím, způsobujícím zásadní změny v expresi genů indukovaných aktivací MAPKs (Mishra *et al.*, 2006; Huang *et al.*, 2012). I když přesný mechanismus percepce chladového stresu nebyl doposud odhalen, současné poznatky poukazují na účast většího množství procesů vyvolávajících odpověď buňky na nízké teploty, kde podstatnou roli sehrávají druzí poslové. Tyto procesy zahrnují rigidifikaci plazmatické membrány (Sangwan a Dhindsa, 2002), mobilizaci Ca^{2+} (Zhu *et al.*, 2013), aktivaci histidin kinas (Nongpiur *et al.*, 2012), zvýšení produkce bioaktivní kyseliny fosfatidové (PA) a fosfatidylinositolu (PI) prostřednictvím činnosti fosfolipasy D (PLD)/diacyl-glycerol kinasy (DGK) a fosfoinosityd fosfolipasy C (PI-PLC) (Delage *et al.*, 2012; Arisz *et al.*, 2013). Následná konvergence jednotlivých biochemických drah zprostředkovaných druhými posly vyúsťuje do aktivace Ca^{2+} -dependentních protein kinas (CDPKs) (Ludwig *et al.*, 2004) a MAPKs (Solanke a Sharma, 2008). Důležitými efektory chladem-indukované transkripční regulace jsou také C-opakování vážoucí faktory (CBF/DREB), myc-podobný transkripční faktor indukující expresi CBF (ICE1) a myb-podobný transkripční faktor (SNOW1), který interaguje s ICE1 a zapojuje se tak do regulace exprese

CBF/DREB (Lissarre *et al.*, 2010; Zhou *et al.*, 2011). Kromě přímé regulace transkripce může chladový stres ovlivňovat procesy na úrovni posttranskripčních úprav, jako jsou sestřih pre-mRNA, export a degradace mRNA (Chinnusamy *et al.*, 2007; Zhu *et al.*, 2007).

U *Arabidopsis* hrají důležitou roli v odpovědi na chladový stres MAPKs MPK4 a MPK6, které jsou aktivovány už v krátkém čase po vystavení rostlin nízkým teplotám (Ichimura *et al.*, 2000; Teige *et al.*, 2004). Na základě studií proteinových interakcí v kvasinkových dvouhybridních systémech byly zjištěny interakce mezi MEKK1 (MAPKKK), MKK2 (MAPKK) a MPK4 (MAPK) a rovněž přímá interakce mezi MEKK1 a MPK4 (Ichimura *et al.*, 2000). Následně bylo prokázáno, že MKK2 je klíčovým signálním enzymem v reakci rostlin *Arabidopsis* na chladový stres (Teige *et al.*, 2004). MKK2 je aktivována prostřednictvím MEKK1 a její fosforylace vede k aktivaci MPK4 a MPK6 (Teige *et al.*, 2004; Pitzschke *et al.*, 2009). Bylo také pozorováno, že MPK4 může být kromě MKK2 aktivovaná i pomocí MKK1 (Matsuoka *et al.*, 2002).

2.2.3 Osmotický stres

Zasolení je jedním z důležitých stresových faktorů, které ovlivňují růst rostlin a vedou ke snížení produktivity zemědělských plodin (Munns a Tester, 2008). Pro soli indukovaný stres jsou charakteristické dvě komponenty – iontový stres (narušení homeostázy iontů, hlavně Na⁺) a hyperosmotický stres (změna osmotických poměrů v buňce), které se podílejí na reakcích rostlin na zvýšenou salinitu (Hasegawa *et al.*, 2000; Zhu, 2001; Munns a Tester, 2008; Galvan-Ampudia a Testerink, 2011). Osmotický stres nastává ihned po zvýšení koncentrace soli v bezprostředním okolí buňky a může být kromě soli vyvolán také působením hypertonických roztoků jiných osmoticky aktivních látek (např. sacharosa, manitol, sorbitol, PEG) (De Castro *et al.*, 2000; Kubitscheck *et al.*, 2000; Lin a Kao, 2002; Bahaji *et al.*, 2003; Mazel *et al.*, 2004; Huang *et al.*, 2009; Luo *et al.*, 2009; Vollger *et al.*, 2011).

Osmotický stres vede ke změnám turgoru a objemu rostlinných buněk. U rostlin indukuje produkci a akumulaci stabilizujících osmolytů a antioxidantů, vedoucí ke zvýšení tolerance vůči osmotickému stresu (Hanson *et al.*, 1994; Hasegawa *et al.*, 2000). Jako předpokládaný receptor hrající roli v signalizaci osmotického stresu byla identifikována histidin kinasa 1 (AtHK1) u *Arabidopsis*, strukturně podobná

bakteriálním, kvasinkovým a rostlinným dvoukomponentním histidin kinasám (Urao *et al.*, 1999). Bylo prokázáno, že AtHK1 se hromadí v podmínkách vysoké a nízké osmolarity a studie v kvasinkových systémech potvrdily schopnost AtHK1 přenášet signál během osmotického stresu.

V případě zvýšené koncentrace soli dochází k indukci tvorby některých protein kinas, včetně AtMEKK1 u *Arabidopsis* (Mizoguchi *et al.*, 1996). Funkční analýzy v kvasinkách ukázaly, že AtMEKK1 je schopná aktivovat AtMKK1 (Ichimura *et al.*, 1998). Následně bylo prokázáno, že AtMKK1 hraje roli v signalizačních procesech během osmotického stresu a aktivovaná AtMKK1 fosforyluje AtMPK4 (Matsuoka *et al.*, 2002). Kromě AtMPK4 se na transdukcii signálu v podmínkách zvýšené salinity a osmotického stresu u *Arabidopsis* podílejí také AtMPK3 a AtMPK6 (Droillard *et al.*, 2004; Kim *et al.*, 2011; Persak a Pitzschke, 2013). Důležitou roli při tom sehrává AtMKK2, která je hlavním aktivátorem těchto MAPKs a u mutantních rostlin *mkk2* s narušenou funkcí AtMKK2 byla pozorována hypersenzitivní odpověď na stres vyvolaný solí (Teige *et al.*, 2004). Studie vlivu osmotického stresu na suspenzní buňky tabáku ukázaly, že tabáková MAPK SIPK je aktivovaná hyperosmotickým i hypoosmotickým stresem, na rozdíl od MAPK WIPK, která je indukovaná pouze hypoosmotickým stresem (Droillard *et al.*, 2000; Hoyos a Zhang, 2000; Mikolajczyk *et al.*, 2000). Bylo také zjištěno, že solný stres indukuje v buňkách tabáku tvorbu kinasy patřící do třídy SNF1 (Mikolajczyk *et al.*, 2000). Buňky vojtěšky odpovídají na hyperosmotické podmínky syntézou 38 kDa kinasy, která je příbuzná s kinasami patřícími do třídy SNF1, zatímco mírný osmotický stres vyvolává aktivaci MAPK SIMK (Munnik *et al.*, 1999). S využitím kvasinkového dvouhybridního systému byla vyzolována SIMKK, blízký homolog AtMKK4/AtMKK5 u *Arabidopsis* a NtMEK2 u tabáku, která je specifickým aktivátorem SIMK (Kiegerl *et al.*, 2000).

2.2.4 Poranění

Poranění představuje neustálou hrozbu přežití všech organismů. Rostliny jsou organismy ukotvené do půdy kořenovým systémem, pomocí něhož získávají vodu a živiny. Postrádají tedy možnost vyhnout se poranění způsobené hmyzem nebo býložravci. Jako přirozená mechanická bariéra jim na obranu před škůdci slouží například tvorba kutikuly, depozice různých organických a anorganických látek do buněčné stěny, tvorba trichomů a specializovaných derivátů epidermy. Odpovědi na

poranění jsou studovány na rostlinách, které jsou v přírodě vystavovány environmentálním stresům (vítr, písek, krupobití a déšť). Otevřené poranění způsobené mechanickým poškozením je vhodným místem pro napadení patogeny, kdy u rostlin dochází k indukci exprese celé řady genů prostřednictvím JA nebo kyseliny oxofytodienové (OPDA) (Creelman a Mullet, 1997; Farmer *et al.*, 1998). Prvními zjištěnými a popsány obrannými proteiny u rostlin byly inhibitory proteinas I a II u brambor (*Solanum tuberosum*) a rajčat (Graham *et al.*, 1986; Ryan, 1990).

Poranění aktivuje obranné mechanismy v celé rostlině, jak v poraněných tkáních (lokální odpověď), tak i v nezraněných oblastech (systémová odpověď). V obou případech dochází k metabolickým změnám a k indukci exprese genů. V přímo poškozených tkáních navíc dochází k narušení buněčných struktur, dekompartmentaci a k velkým ztrátám vody. Jako regulátory v signalizaci poranění slouží oligopeptid systemin (Pearce *et al.*, 1991), oligosacharidy uvolněné z poškozené buněčné stěny (Bishop *et al.*, 1981) a látky s hormonální aktivitou jako jsou například JA (Farmer a Ryan, 1990), ethylen (O'Donnell *et al.*, 1996) a ABA (Peña-Cortés *et al.*, 1989).

Ihned po poranění rostliny přechodně produkují v poškozených tkáních ROS, zejména superoxidový anion. Peroxid vodíku se generuje v případě poranění lokálně i systémově a také v nepoškozených tkáních po aplikaci systeminu (Orozco-Cárdenas a Ryan, 1999). Stres poraněním spouští rovněž translokaci Ca^{2+} do cytoplazmy a fosforylaci proteinů (Takahashi *et al.*, 2011). Ca^{2+} přímo interaguje s některými transkripčními faktory a může tak ovlivňovat aktivitu protein kinas a protein fosfatas (Das a Pandey, 2010). Produkce ROS v odpovědích na zranění je pevně spjata s Ca^{2+} signalizací. Takahashi *et al.* (2011) studovali MAPK dráhu, která je zapojena do odpovědi rostlin na zvýšenou hladinu ROS a Ca^{2+} a identifikovali její důležitou úlohu při udržování homeostázy ROS. V této MAPK dráze MKK3 aktivuje MPK8, která přímo inhibuje RbohD (NAPDH oxidasa). Následuje inhibice OXI1 a transkripčního faktoru ZAT12. Úplná aktivace MPK8 vyžaduje jak fosforylaci prostřednictvím MKK3, tak přítomnost Ca^{2+} signalizace. Koimunoprecipitační studie odhalily interakci mezi MEKK1 a MKK1 již po pár minutách od poranění. Navíc MEKK1 může také přímo interagovat s MPK4, MPK5 a MPK13, což naznačuje možnou roli MEKK1 v indukci aktivace MPK4 (Nakagami *et al.*, 2004). Bylo zjištěno, že během poranění se rychle a stabilně zvyšuje i exprese MKK9 (Zhou *et al.*, 2009).

2.2.5 Sucho

Globální oteplování a rozšiřování pouštních oblastí vedou k poklesu potenciálu vody v půdě. Většina suchozemských rostlin je velmi citlivá na dostupnost vody. Na jakékoli změny vlhkosti půdy reagují aktivací mechanismů zodpovědných za reakce rostlin na tento typ stresu, nebo adaptacemi zmírňujícími nepříznivé účinky způsobené nedostatkem vody. Sucho rychle zvyšuje produkci PA (Bargmann *et al.*, 2009; Hong *et al.*, 2010) a ROS (Choudhury *et al.*, 2013, Yao *et al.*, 2013). Indukce ROS je úzce spojena s uzavíráním průduchů (Miura *et al.*, 2013; Zhou *et al.*, 2013), což je důležitý mechanismus při redukci ztrát vody prostřednictvím transpirace. Dlouhodobé odpovědi rostlin na stres suchem ovlivňují remodelaci genové exprese. Tyto procesy jsou zprostředkovány transkripčně a posttranslačně prostřednictvím transkripčních faktorů jako jsou WRKY a transkripčních faktorů obsahujících motiv leucinového zipu (Shen *et al.*, 2012; Tang *et al.*, 2012). MAPK signální dráhy regulují transkripci genů indukovanou působením sucha a rovněž krátkodobé a střednědobé odpovědi rostlin na nedostatek vody (Sinha *et al.*, 2011).

O MAPK signalizaci v odpovědích rostlin na sucho je známo, že je úzce propojena se signálními mechanismy zprostředkovanými sekundárními posly (ROS, PA, ABA, Ca²⁺). Pohyby průduchů indukované suchem jsou převážně regulovány prostřednictvím MPK9 a MPK12 u *Arabidopsis*, které jsou rovněž zodpovědné za změny hladiny ABA. Tyto MAPKs jsou přednostně exprimované v průvodních buňkách průduchů (Jammes *et al.*, 2009) a jejich aktivita je také spojena se zavíráním průduchů vyvolaným elicitoru (Jammes *et al.*, 2011; Salam *et al.*, 2012, 2013). MPK6 u *Arabidopsis* je aktivovaná prostřednictvím akumulujících se suchem indukovaných ROS a PA (Yu *et al.*, 2010). Na rozdíl od MPK9 a MPK12 nereaguje na zvýšenou hladinu ABA (Tsugama *et al.*, 2012). Bylo prokázáno, že rostliny se zvýšenou expresí MKK4 rostoucí v prostředí s nízkou půdní vlhkostí se vyznačují nižšími ztrátami vody v porovnání s divokým typem (Kim *et al.*, 2011). To naznačuje, že MPK3, jehož aktivátorem je MKK4, také hraje důležitou roli v reakcích rostlin na sucho. V obilninách a zemědělsky významných rostlinách sucho indukuje aktivaci různých MAPKs. OsMPK3, OsMPK4, OsMPK7, OsMPK14, OsMPK20-4 a OsMPK20-5 u rýže (Shen *et al.*, 2012), GhMPK2 a GhMPK16 u bavlníku (*Gossypium hirsutum*) (Shi *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2011) a ZmMPK3 u kukuřice (Wang *et al.*, 2010).

7 LITERATURA

- Abass M., Morris P.C. (2013): The *Hordeum vulgare* signalling protein MAP kinase 4 is a regulator of biotic and abiotic stress responses. *Journal of Plant Physiology* **170**, 1353-1359.
- Agrawal G.K., Agrawal S.K., Shibato J., Iwahashi H., Rakwal R. (2003a): Novel rice MAP kinases OsMSRMK3 and OsWJUMK1 involved in encountering diverse environmental stresses and developmental regulation, *Biochemical and Biophysical Research Communications* **300**, 775–783.
- Agrawal G.K., Iwahashi H., Rakwal R. (2003b): Rice MAPKs. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **302**, 171-180.
- Agrawal G.K., Rakwal R., Iwahashi H. (2002): Isolation of novel rice (*Oryza sativa* L.) multiple stress responsive MAP kinase gene, OsMSRMK2, whose mRNA accumulates rapidly in response to environmental cues. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **294**, 1009–1016.
- Alonso A., Queiroz C.S., Magalhaes A.C. (1997): Chilling stress leads to increased membrane rigidity in roots of coffee (*Coffea arabica* L.) seedlings. *Biochimica et Biophysica Acta* **1323**, 75-84.
- Andreasson E., Ellis B. (2010): Convergence and specificity in the *Arabidopsis* MAPK nexus. *Trends in Plant Science* **15**, 106-113.
- Arisz S.A., van Wijk R., Roels W., Zhu J.K., Haring M.A., Munnik T. (2013): Rapid phosphatidic acid accumulation in response to low temperature stress in *Arabidopsis* is generated through diacylglycerol kinase. *Frontiers in Plant Science* **4**, 1-15.
- Asada K. (1992): Ascorbate peroxidase: a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants. *Physiologia Plantarum* **85**, 235-241.
- Asai T., Tena G., Plotnikova J., Willmann M.R., Chiu W.L., Gomez-Gomez L., Boller T., Ausubel F.M., Sheen J. (2002): MAP kinase signaling cascade in *Arabidopsis* innate immunity. *Nature* **415**, 977-983
- Bahaji A., Aniento F., Cornejo M.-J. (2003): Uptake of an endocytic marker by rice cells: variations related to osmotic and saline stress. *Plant and Cell Physiology* **44**, 1100-1111.
- Bardwell L., Thorner J. (1996): A conserved motif at the amino termini of MEKs might mediate high-affinity interaction with the cognate MAPKs. *Trends in Plant Science* **21**, 373-374.
- Bargmann B.O., Laxalt A.M., ter Riet B., van Schooten B., Merquiol E., Testerink C., Haring M.A., Bartels D., Munnik T. (2009): Multiple PLDs required for high salinity and water deficit tolerance in plants. *Plant Cell Physiology* **50**, 78–89.
- Bishop P.D., Makus D.J., Pearce G., Ryan C.A. (1981): Proteinase inhibitor-inducing factor activity in tomato leaves resides in oligosaccharides enzymically released from cell walls. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **78**, 3536–3540.
- Bogre L., Ligerink W., Meskiene I., Barker P.J., Heberle-Bors E., Huskisson N.S., Hirt H. (1997): Wounding Induces the Rapid and Transient Activation of a Specific MAP Kinase Pathway. *Plant Cell* **9**, 75-83.
- BRAC: Biotechnology Resources for Arable Crop Transformation home page: <http://www.bract.org> (23.4.2014).
- Bright J., Desikan R., Hancock J.T., Weir I.S., Neill S.J. (2006): ABA-induced NO generation and stomatal closure in *Arabidopsis* are dependent on H₂O₂ synthesis. *Plant Journal* **45**, 113-122.
- Clustal Omega home page: <https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/> (23.4.2014).
- Colcombet J., Hirt H. (2008): *Arabidopsis* MAPKs: a complex signalling network involved in multiple biological processes. *Biochemical Journal* **413**, 217-226.
- Coulombe P., Meloche S. (2007): Atypical mitogen-activated protein kinases: Structure, regulation and functions. *Biochimica et Biophysica Acta* **1773**, 1376-1387.
- Creelman R.A., Mullet J.E. (1997): Biosynthesis and action of jasmonates in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **48**, 355–387.

- Dat J., Vandenabeele S., Vranova E., van Montagu M., Inze D., van Breusegem F. (2000): Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *Cellular and Molecular Life Sciences* **57**, 779-795.
- De Castro R.D., van Lammeren A.A.M., Groot S.P.C., Bino R.J., Hilhorst H.W.M. (2000): Cell division and subsequent radicle protrusion in tomato seeds are inhibited by osmotic stress but DNA synthesis and formation of microtubular cytoskeleton are not. *Plant Physiology* **122**, 327-335.
- Delage E., Ruelland E., Guillas I., Zachowski A., Puyaubert J. (2012): Arabidopsis type-III phosphatidylinositol 4-kinases beta1 and beta2 are upstream of the phospholipase C pathway triggered by cold exposure. *Plant and Cell Physiology* **53**, 565-576.
- Ding H.D., Zhang X.H., Xu S.C., Sun L.L., Jiang M.Y., Zhang Y.A., Jin Y.G. (2009): Induction of Protection against Paraquat-induced Oxidative Damage by Abscisic Acid in Maize Leaves is Mediated through Mitogen-activated Protein Kinase. *Journal of Integrative Plant Biology* **51**, 961-972.
- Dóczy R., Brader G., Pettkó-Szandtner A., Rajh I., Djamei A., Pitzschke A., Teige M., Hirt H. (2007): The *Arabidopsis* mitogen-activated protein kinase kinase MKK3 is upstream of group C mitogen-activated protein kinases and participates in pathogen signaling. *Plant Cell* **19**, 3266-3279.
- Dolferus R., Jacobs M., Peacock W.J., Dennis E.S. (1994): Differential interactions of promoter elements in stress responses of the *Arabidopsis* ADH gene. *Plant Physiology* **105**, 1075-1087.
- Droillard M.J., Boudsoq M., Barbier-Brygoo H., Lauriere C. (2004): Involvement of MPK4 in osmotic stress response pathways in cell suspensions and plantlets of *Arabidopsis thaliana*: activation by hypoosmolarity and negative role in hyperosmolarity tolerance. *FEBS Letters* **574**, 42-48.
- Droillard M.J., Thibivilliers S., Cazale A.C., Barbier-Brygoo H., Lauriere C. (2000): Protein kinases induced by osmotic stresses and elicitor molecules in tobacco cell suspensions: two crossroad MAP kinases and one osmoregulation-specific protein kinase. *FEBS Letters* **474**, 217-222.
- Farmer E.E., Ryan C.A. (1990): Interplant communication: airborne methyl jasmonate induces synthesis of proteinase inhibitors in plant leaves. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **87**, 7713-7716.
- Farmer E.E., Weber H., Vollenweider S. (1998): Fatty acid signaling in *Arabidopsis*. *Planta* **206**, 167-174.
- Foreman J., Bothwell J.H., Demidchik V., Mylona P., Miedema H., Torres M.A., Linstead P., Costa S., Brownlee C., Jones J.D.G., Davies J.M., Dolan L. (2003): Reactive oxygen species produced by NADPH oxidase regulate plant cell growth. *Nature* **422**, 442-446.
- Franklin-Tong V.E., Gourlay C.W. (2008): Role for actin in regulating apoptosis/programmed cell death: evidence spanning yeast, plants and animals. *Biochemical Journal* **413**, 389-404.
- Frye C.A., Tang D., Innes R.W. (2001): Negative regulation of defense responses in plants by a conserved MAPKK kinase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **98**, 373-378.
- Fu S.F., Chou W.C., Huang D.D., Huang H.J. (2002): Transcriptional regulation of a rice mitogen-activated protein kinase gene, OsMAPK4, in response to environmental stresses. *Plant and Cell Physiology* **43**, 958-963.
- Fukao T., Bailey-Serres J. (2004): Plant responses to hypoxia-is survival a balancing act. *Trends in Plant Science* **9**, 449-456.
- Galvan-Ampudia C.S. and Testerink C. (2011): Salt stress signals shape the plant root. *Current Opinion in Plant Biology* **14**, 296-302.
- Goff S.A., Ricke D., Lan T.H., Presting G., Wang R., Dunn M., Glazebrook J., Sessions A., Oeller P., Varma H., Hadley D., Hutchison D., Martin C., Katagiri F., Lange B.M., Moughamer T., Xia Y., Budworth P., Zhong J., Miguel T., Paszkowski U., Zhang S., Colbert M., Sun W.L., Chen L., Cooper B., Park S., Wood T.C., Mao L., Quail P., Wing R., Dean R., Yu Y., Zharkikh A., Shen R., Sahasrabudhe S., Thomas A., Cannings R., Gutin A., Pruss D., Reid J., Tavtigian S., Mitchell J., Eldredge G., Scholl T., Miller R.M., Bhatnagar S., Adey

- N., Rubano T., Tusneem N., Robinson R., Feldhaus J., Macalma T., Oliphant A., Briggs S. (2002): A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. japonica). *Science* **296**, 92-100.
- Graham J.S., Hall G., Pearce G., Ryan C.A. (1986): Regulation of synthesis of proteinase inhibitors I and II mRNAs in leaves of wounded tomato plants. *Planta* **169**, 399–405.
- Gu L., Liu Y., Zong X., Liu L., Li D.P., Li D.Q. (2010): Overexpression of maize mitogen-activated protein kinase gene, ZmSIMK1 in *Arabidopsis* increases tolerance to salt stress. *Molecular Biology Reports* **37**, 4067–4073.
- Hamel L.P., Nicole M.C., Sritubtim S., Morency M.J., Ellis M., Ehling J., Beaudoin N., Barbazuk B., Klessig D., Lee J., Martin G., Mundy J., Ohashi Y., Scheel D., Sheen J., Xing T., Zhang S., Seguin A., Ellis B.E. (2006): Ancient signals: comparative genomics of plant MAPK and MAPKK gene families. *Trends in Plant Science* **11**, 192-198.
- Hanks S.K., Quinn A.M., Hunter T. (1988): The protein kinase family: conserved features and deduced phylogeny of the catalytic domains. *Science* **241**, 42-52.
- Hanson A.D., Rathinasabapathi B., Rivoal J., Burnet M., Dillon M.O., Gage D.A. (1994): Osmoprotective compounds in the Plumbaginaceae: a natural experiment in metabolic engineering of stress tolerance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **91**, 306-310.
- HarvEST:WEB home page: <http://harvest-web.org/hweb/pickassy.wc> (23.4.2014).
- Hasegawa P.M., Bressan R.A. Zhu J.K., Bohnert H.J. (2000): Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **51**, 463-499.
- Haystead T.A., Dent P., Wu J., Haystead C.M., Sturgill T.W. (1992): Ordered phosphorylation of p42mapk by MAP kinase kinase. *FEBS Letters* **306**, 17-22.
- He C., Fong S.H., Yang D., Wang G.L. (1999): BWMK1, a novel MAP kinase induced by fungal infection and mechanical wounding in rice. *Molecular Plant-microbe Interactions* **12**, 1064-1073.
- Hong Y., Zhang W., Wang X. (2010): Phospholipase D and phosphatidic acid signalling in plant response to drought and salinity. *Plant, Cell and Environment* **33**, 627–635.
- Hoyos M.E., Zhang S. (2000): Calcium-independent activation of salicylic acid-induced protein kinase and a 40-kilodalton protein kinase by hyperosmotic stress. *Plant Physiology* **122**, 1355-1363.
- Huang A.X., She X.P., Cao B., Zhang B., Mu J., Zhang S.J. (2009): Nitric oxide, actin reorganization and vacuoles change are involved in PEG 6000-induced stomatal closure in *Vicia faba*. *Physiologia Plantarum* **136**, 45-56.
- Huang G.T., Ma S.L., Bai L.P., Zhang L., Ma H., Jia P., Liu J., Zhong M., Guo Z.F. (2012): Signal transduction during cold, salt, and drought stresses in plants. *Molecular Biology Reports* **39**, 969–987.
- Huang H.J., Fu S.F., Tai Y.H., Chou W.C., Huang D.D. (2002): Expression of *Oryza sativa* MAP kinase gene in developmentally regulated and stress-responsive. *Physiologia Plantarum* **114**, 572-580.
- Chen L., Hu W., Tan S., Wang M., Ma Z., Zhou S., Deng X., Zhang Y., Huang C., Yang G, He G. (2012): Genome-Wide Identification and Analysis of MAPK and MAPKK Gene Families in *Brachypodium distachyon*. *PLoS One* **7**:e46744.
<http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0046744>.
- Cheng Y., Song C. (2006): Hydrogen peroxide homeostasis and signaling in plant cells. *Science in China. Series C, Life Sciences* **49**, 1-11.
- Cheong Y.H., Kim M.C. (2010): Functions of MAPK cascade pathways in plant defense signaling. *Plant Pathology Journal* **26**, 101-109.
- Chinnusamy V., Zhu J., Zhu J.K. (2007): Cold stress regulation of gene expression in plants. *Trends in Plant Sciences* **12**, 444–451.
- Choudhury S., Panda P., Sahoo L., Panda S.K. (2013): Reactive oxygen species signaling in plants under abiotic stress. *Plant Signaling & Behavior* **8**:e23681.
https://www.landesbioscience.com/article/23681/full_text/#load/info/all.

- Ichimura K., Mizoguchi T., Irie K., Morris P., Giraudat J., Matsumoto K., Shinozaki K. (1998): Isolation of ATMEKK1 (a MAP kinase kinase kinase)-interacting protein and analysis of a MAP kinase cascade in *Arabidopsis*. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **253**, 532-543.
- Ichimura K., Mizoguchi T., Yoshida R., Yuasa T., Shinozaki K. (2000): Various abiotic stresses rapidly activate *Arabidopsis* MAP kinases AtMPK4 and AtMPK6. *Plant Journal* **24**, 655-665.
- Ichimura K., Shinozaki K., Tena G., Sheen J., Henry Y., Champion A., Kreis M., Zhang S., Hirt H., Wilson C., Heberle-Bors E., Ellis B.E., Morris P.C., Innes R.W., Ecker J.R., Scheel D., Klessig D.F., Machida Y., Mundy J., Ohashi Y., Walker J.C. (2002): Mitogen activated protein kinase cascades in plants: a new nomenclature. *Trends in Plant Science* **7**, 301-308.
- InterProScan home page: <http://www.ebi.ac.uk/interpro/> (23.4.2014).
- IPK Barley BLAST Server home page: <http://webblast.ipk-gatersleben.de/barley> (23.4.2014).
- Jammes F., Song C., Shin D., Munemasa S., Takeda K., Gu D., Cho D., Lee S., Giordo R., Sritubtim S., Leonhardt N., Ellis B.E., Murata Y., Kwak J.M. (2009): MAP kinases MPK9 and MPK12 are preferentially expressed in guard cells and positively regulate ROS-mediated ABA signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **106**, 20520–20525.
- Jammes F., Yang X., Xiao S., Kwak J.M. (2011): Two *Arabidopsis* guard cell-preferential MAPK genes, MPK9 and MPK12, function in biotic stress response. *Plant Signaling & Behavior* **6**, 1875–1877.
- Jonak C., Okresz L., Bogre L., Hirt H. (2002): Complexity, cross talk and integration of plant MAP kinase signalling. *Plant Biology* **5**, 415-424.
- Jonak C., Ligterink W., Hirt H. (1999): MAP kinases in plant signal transduction. *Cellular and Molecular Life Sciences* **55**, 204 – 213.
- Kawano T. (2003): Roles of the reactive oxygen species generating peroxidase reactions in plant defense and growth induction. *Plant Cell Reports* **21**, 829-937.
- Keshet Y., Seger R. (2010): The MAP Kinase Signaling Cascades: A System of Hundreds of Components Regulates a Diverse Array of Physiological Functions. In: *MAP Kinase Signaling Protocols*. 2nd ed., (Seger R. ed.), Humana Press, New York, USA, 3-38.
- Khurana P., Gaikwad K. (2005): The map-based sequence of the rice genome. *Nature* **436**, 793-800.
- Kieber J.J., Rothenberg M., Roman G., Feldmann K.A., Ecker J.R. (1993): CTR1, a negative regulator of the ethylene response pathway in *Arabidopsis*, encodes a member of the raf family of protein kinase. *Cell* **72**, 427-441.
- Kiegl S., Cardinale F., Siligan C., Gross A., Baudouin E., Liwosz A., Eklöf S., Till S., Bögre L., Hirt H., Meskiene I. (2000): SIMKK, a mitogen-activated protein kinase (MAPK) kinase, is a specific activator of the salt stress-induced MAPK, SIMK. *Plant Cell* **12**, 2247-2258.
- Kim S.H., Woo D.H., Kim J.M., Lee S.Y., Chung W.S., Moon Y.H. (2011): *Arabidopsis* MKK4 mediates osmotic-stress response via its regulation of MPK3 activity. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **412**, 150-154.
- Kocsy G., Brunner M., Ruegsegger A., Stamp P., Brunold C. (1996): Glutathione synthesis in maize genotypes with different sensitivities to chilling. *Planta* **198**, 365-370.
- Kubitscheck U., Homann U., Thiel G. (2000): Osmotically evoked shrinking of guard-cell protoplasts causes vesicular retrieval of plasma membrane into the cytoplasm. *Planta* **210**, 423-431.
- Laloi C., Apel K., Danon A. (2004): Reactive oxygen signaling: the latest news. *Current Opinion in Plant Biology* **7**, 323-328.
- Lee J.S., Ellis B.E. (2007): *Arabidopsis* MAPK phosphatase 2 (MKP2) positively regulates oxidative stress tolerance and inactivates the MPK3 and MPK6 MAPKs. *Journal of Biological Chemistry* **282**, 25020–25029.
- Lian W.W., Tang Y.M., Gao S.Q., Zhang Z., Zhao X., Zhao C.P. (2012): Phylogenetic Analysis and Expression Patterns of the MAPK Gene Family in Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Integrative Agriculture* **11**, 1227–1235.

- Lin C.C., Kao C.H. (2002): Osmotic stress-induced changes in cell wall peroxidase activity and hydrogen peroxide level in roots of rice seedlings. *Plant Growth Regulation* **37**, 177-184.
- Lin F., Ding H., Wang J., Zhang H., Zhang A., Zhang Y., Tan M., Dong W., Jiang M. (2009): Positive feedback regulation of maize NADPH oxidase by mitogen-activated protein kinase cascade in abscisic acid signalling. *Journal of Experimental Botany* **60**, 3221-3238.
- Lissarre M., Ohta M., Sato A., Miura K. (2010): Cold-responsive gene regulation during cold acclimation in plants. *Plant Signaling & Behaviour* **5**, 948-952.
- Ludwig A.A., Romeis T., Jones J.D. (2004): CDPK-mediated signalling pathways: specificity and cross-talk. *Journal of Experimental Botany* **55**, 181-188.
- Lumbreras V., Vilela B., Irar S., Sole M., Capellades M., Valls M., Coca M., Pages M. (2010): MAPK phosphatase MKP2 mediates disease responses in *Arabidopsis* and functionally interacts with MPK3 and MPK6. *Plant Journal* **63**, 1017-1030.
- Luo Y., Liu Y.B., Dong Y.X., Gao X.-Q., Zhang X.S. (2009): Expression of a putative alfalfa helicase increases tolerance to abiotic stress in *Arabidopsis* by enhancing the capacities for ROS scavenging and osmotic adjustment. *Journal of Plant Physiology* **166**, 385-394.
- Matsuoka D., Nanmori T., Sato K., Fukami Y., Kikkawa U., Yasuda T. (2002): Activation of AtMEK1, an *Arabidopsis* mitogen-activated protein kinase kinase, *in vitro* and *in vivo*: analysis of active mutants expressed in *E. coli* and generation of the active form in stress response in seedlings. *Plant Journal* **29**, 637-647.
- Matton D.P., Constabel P., Brisson N. (1990): Alcohol dehydrogenase gene expression in potato following elicitor and stress treatment. *Plant Molecular Biology* **14**, 775-783.
- Mayer K.S.F., Martis M., Hedley P.E., Šimková H., Liu H., Morris J.A., Steuernagel B., Taudien S., Roessner S., Gundlach H., Kubaláková M., Suchánková P., Murat F., Felder M., Nussbaumer T., Graner A., Salse J., Endo T., Sakai H., Tanaka T., Itoh T., Sato K., Platzer M., Matsumoto T., Scholz U., Doležel J., Waugh R., Stein N. (2011): Unlocking the barley genome by chromosomal and comparative genomics. *Plant Cell* **23**, 1249-1263.
- Mazars C., Thion L., Thuleau P., Graziana A., Knight M.R., Moreau M., Ranjeva R. (1997): Organization of cytoskeleton controls changes in cytosolic calcium of cold-shocked *Nicotiana plumbaginifolia* protoplasts. *Cell Calcium* **22**, 413-420.
- Mazel A., Leshem Y., Tiwari B.S., Levine A. (2004): Induction of salt and osmotic stress tolerance by overexpression of an intracellular vesicle trafficking protein AtRab7 (AtRabG3e). *Plant Physiology* **134**, 118-128.
- MEGA home page: <http://www.megasoftware.net> (23.4.2014).
- Mejía R., Gómez-Eichelmann M.C., Fernández M.S. (1995): Membrane fluidity of *Escherichia coli* during heat-shock. *Biochimica et Biophysica Acta* **1239**, 195-200.
- Melikant B., Giuliani C., Halbmayr-Watzina S., Limmongkon A., Heberle-Bors E., Wilson C. (2004): The *Arabidopsis thaliana* MEK AtMKK6 activates the MAP kinase AtMPK13. *FEBS Letters* **576**, 5-8.
- Mészáros T., Helfer A., Hatzimasoura E., Magyar Z., Serazetdinova L., Rios G., Bardoczy V., Teige M., Koncz C., Peck S., Borge L. (2006): The *Arabidopsis* MAP kinase kinase MKK1 participates in defence responses to the bacterial elicitor flagellin. *Plant Journal* **48**, 485-498.
- Mikolajczyk M., Awotunde O.S., Muszynska G., Klessig D.F., Dobrowolska G. (2000): Osmotic stress induces rapid activation of a salicylic acid induced protein kinase and a homolog of protein kinase ASK1 in tobacco cells. *Plant Cell* **12**, 165-178.
- Miles G.P., Samuel M.A., Ellis B.E. (2002): Suramin inhibits oxidant signalling in tobacco suspension cultured cells. *Plant, Cell and Environment* **25**, 521-527.
- Miles G.P., Samuel M.A., Ellis B.E. (2009): Suppression of MKK5 reduces ozone-induced signal transmission to both MPK3 and MPK6 and confers increased ozone sensitivity in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Signaling & Behaviour* **4**, 687-692.
- MIPS barley genome database home page: <http://mips.helmholtz-muenchen.de/plant/barley/> (23.4.2014).
- Mishra N.-S., Tuteja R., Tuteja N. (2006): Signaling through MAP kinase network in plants. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **452**, 55-68.
- Mittler R. (2002): Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science* **7**, 405-410.

- Mittler R., Finka A., Goloubinoff P. (2012): How do plants feel the heat? *Trends in Biochemical Sciences* **37**, 118–125.
- Mittler R., Vanderauwera S., Gollery M., van Breusegem F. (2004): Reactive oxygen gene network plants. *Trends in Plant Science* **9**, 490–498.
- Miura K., Okamoto H., Okuma E., Shiba H., Kamada H., Hasegawa P.M., Murata Y. (2013): SIZ1 deficiency causes reduced stomatal aperture and enhanced drought tolerance via controlling salicylic acid-induced accumulation of reactive oxygen species in Arabidopsis. *Plant Journal* **73**, 91–104.
- Mizoguchi T., Irie K., Hirayama T., Hayashida N., Yamaguchi-Shinozaki K., Matsumoto K., Shinozaki K. (1996): A gene encoding a mitogen-activated protein kinase kinase is induced simultaneously with genes for mitogen-activated protein kinase and an S6 ribosomal protein kinase by touch, cold and water stress in *Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **93**, 765–769.
- Morrison D.K. (2012): MAP kinase pathways. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*
- Motif Scan home page: http://myhits.isb-sib.ch/cgi-bin/motif_scan (23.4.2014).
- Munnik T., Ligterink W., Meskiene I., Calderini O., Beyerly J., Musgrave A., Hirt H. (1999): Distinct osmo-sensing protein kinase pathways are involved in signalling moderate and severe hyper-osmotic stress. *Plant Journal* **20**, 381–388.
- Munnik T., Meijer H. (2001): Osmotic stress activates distinct lipid and MAPK signaling pathways in plants. *FEBS Letters* **498**, 172–178.
- Munns R., Tester M. (2008): Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology* **59**, 651–681.
- Müller J., Beck M., Mettbach U., Komis G., Hause G., Menzel D., Šamaj J. (2010): Arabidopsis MPK6 is involved in cell division plane control during early root development, and localizes to the pre-prophase band, phragmoplast, trans-Golgi network and plasma membrane. *Plant Journal* **61**, 234–248.
- Nakagami H., Kiegerl S., Hirt H. (2004): OMTK1, a novel MAPKKK, channels oxidative stress signaling through direct MAPK interaction. *Journal of Biological Chemistry* **279**, 26959–26966.
- Nakagami H., Pitzschke A., Hirt H. (2005): Emerging MAP kinase pathways in plant stress signalling. *Trends in Plant Science* **10**, 339–346.
- NCBI GenBank home page: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank> (23.4.2014).
- NCBI home page: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov> (23.4.2014).
- Nei M., Kumar S. (2000): *Molecular Evolution and Phylogenetics*. 2nd ed., Oxford University Press, New York, USA, 333 stran.
- Neill S.J., Desikan R., Clarke A., Hancock J.T. (2002): Nitric oxide is a novel component of abscisic acid signaling in stomatal guard cells. *Plant Physiology* **128**, 13–16.
- Nishihama R., Ishikawa M., Araki S., Soyano T., Asada T., Machida Y. (2001): The NPK1 mitogen-activated protein kinase kinase kinase is a regulator of cell-plate formation in plant cytokinesis. *Genes & Development* **15**, 352–363.
- Noctor G., Arisi A.M., Jouanin L., Kunert K.J., Rennenberg H., Foyer C.H. (1998): Glutathione: biosynthesis, metabolism and relationship to stress tolerance explored in transformed plants. *Journal of Experimental Botany* **49**, 623–647.
- Noctor G., Foyer C.H. (1998): Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **49**, 249–279.
- Nongpiur R., Soni P., Karan R., Singla-Pareek S.L., Pareek A. (2012): Histidine kinases in plants: cross talk between hormone and stress responses. *Plant Signaling & Behaviour* **7**, 1230–1237.
- O'Brien J.A., Daudi A., Butt V.S., Bolwell G.P. (2012): Reactive oxygen species and their role in plant defence and cell wall metabolism. *Planta* **236**, 765–779.
- O'Donnell P.J., Calvert C., Atzorn R., Wasternack C., Leyser H.M.O., Bowles D.J. (1996): Ethylene as a signal mediating the wound response of tomato plants. *Science* **274**, 1914–1917.

- Orozco-Cárdenas M., Ryan C.A. (1999): Hydrogen peroxide is generated systemically in plant leaves by wounding and systemin via the octadecanoid pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **96**, 6553-6557.
- Pearce G., Strydom D., Johnson S., Ryan C.A. (1991): A polypeptide from tomato leaves induces wound-inducible proteinase inhibitor proteins. *Science* **253**, 895-898.
- Pei Z.M., Murata Y., Benning G., Thomine S., Klüsener B., Allen G.J., Grill E., Schroeder J.I. (2000): Calcium channels activated by hydrogen peroxide mediate abscisic acid signaling in guard cell. *Nature* **406**, 731-734.
- Peng L.T., Jiang Y.M., Yang S.Z., Pan S.Y. (2005): Accelerated senescence of fresh-cut Chinese water chestnut tissues in relation to hydrogen peroxide accumulation. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology* **31**, 527-532.
- Peña-Cortés H., Sánchez-Serrano J.J., Mertens R., Willmitzer L. (1989): Abscisic acid is involved in the wound-induced expression of the proteinase inhibitor II gene in potato and tomato. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **86**, 9851-9855.
- Persak H., Pitzschke A. (2013): Tight interconnection and multi-level control of Arabidopsis MYB44 in MAPK cascade signalling. *PLoS One* **8**:e57547.
<http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0057547>.
- Petersen M., Brodersen P., Naested H., Andreasson E., Lindhart U., Johansen B., Nielsen H.B., Lacy M., Austin M.J., Parker J.E., Sharma S.B., Klessig D.F., Martienssen R., Mattsson O., Jensen A.B., Mundy J. (2000): *Arabidopsis* MAP kinase 4 negatively regulates systemic acquired resistance. *Cell* **103**, 1111-1120.
- Pitzschke A., Djamei A., Bitton F., Hirt H. (2009): A major role of the MEKK1-MKK1/2-MPK4 pathway in ROS signalling. *Molecular Plant* **2**, 120-137.
- PlantsP home page: <http://plantsp.genomics.purdue.edu> (23.4.2014).
- ProSite home page: <http://prosite.expasy.org> (23.4.2014).
- Quan L.-J., Zhang B., Shi W.-W., Li H.-Y. (2008): Hydrogen peroxide in plants: a versatile molecule of the reactive oxygen species network. *Journal of Integrative Plant Biology* **50**, 2-18
- Quimby B.B., Wilson C.A., Corbett A.H. (2000): The interaction between Ran and NTF2 is required for cell cycle progression. *Molecular Biology of the Cell* **11**, 2617-2629.
- Rentel M.C., Lecourieux D., Ouaked F., Usher S.L., Petersen L., Okamoto H., Knight H., Peck S.C., Grierson C.S., Hirt H., Knight M.R. (2004): OXI1 kinase is necessary for oxidative burst-mediated signalling in *Arabidopsis*. *Nature* **427**, 858-861.
- Reymond P., Weber H., Damond M., Farmer E.E. (2000): Differential Gene Expression in Response to Mechanical Wounding and Insect Feeding in *Arabidopsis*. *The Plant Cell* **12**, 707-719.
- Reyna N.S., Yang Y. (2006): Molecular analysis of the rice MAP kinase gene family in relation to *Magnaporthe grisea* infection. *Molecular Plant-microbe Interactions* **19**, 530-540.
- Rice Genome Annotation Project home page: <http://rice.plantbiology.msu.edu> (23.4.2014).
- Rohila J.S., Yinong Y. (2007): Rice Mitogen-activated Protein Kinase Gene Family and Its Role in Biotic and Abiotic Stress Response. *Journal of Integrative Plant Biology* **49**, 751-759.
- Ryan C.A. (1990): Protease inhibitors in plants: Genes for improving defenses against insects and pathogens. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **28**, 245-249.
- Salam M.A., Jammes F., Hossain M.A., Ye W., Nakamura Y., Mori I.C., Kwak J.M., Murata Y. (2012): MAP kinases, MPK9 and MPK12, regulate chitosan-induced stomatal closure. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* **76**, 1785-1787.
- Salam M.A., Jammes F., Hossain M.A., Ye W., Nakamura Y., Mori I.C., Kwak J.M., Murata Y. (2013): Two guard cell-preferential MAPKs, MPK9 and MPK12, regulate YEL signalling in *Arabidopsis* guard cells. *Plant Biology* **15**, 436-442.
- Sangwan V., Dhindsa R.S. (2002): In vivo and in vitro activation of temperature-responsive plant map kinases. *FEBS Letters* **531**, 561-564.
- Sasabe M., Machida Y. (2012): Regulation of organization and function of microtubules by the mitogen-activated protein kinase cascade during plant cytokinesis. *Cytoskeleton* **69**, 913-918.

- Scandalios J.G. (1987): The antioxidant enzyme genes CAT and SOD of maize: regulation, functional significance, and molecular biology. *Isozymes* **14**, 19-44.
- Seo S., Okamoto M., Seto H., Ishizuka K., Sano H., Ohashi Y. (1995): Tobacco MAP kinase: a possible mediator in wound signal transduction pathways. *Science* **270**, 1988-1992.
- Shen H., Liu C., Zhang Y., Meng X., Zhou X., Chu C., Wang X. (2012): OsWRKY30 is activated by MAP kinases to confer drought tolerance in rice. *Plant Molecular Biology* **80**, 241–253.
- Shi J., Zhang L., An H., Wu C., Guo X. (2011): GhMPK16, a novel stress-responsive group D MAPK gene from cotton, is involved in disease resistance and drought sensitivity. *BMC Molecular Biology* **12**:22.
<http://www.biomedcentral.com/1471-2199/12/22>.
- Schaffer R., Landgraf J., Accerbi M., Simon V., Larson M., Wisman E. (2001): Microarray analysis of diurnal and circadian-regulates genes in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **13**, 113-123.
- Schoenbeck M.A., Samac D.A., Fedorova M., Gregerson R. G., Gantt J.S., Vance C.P. (1999): The alfalfa (*Medicago sativa*) TDY1 gene encodes a mitogen-activated protein kinase homolog. *Molecular Plant-microbe Interactions* **12**, 882-893.
- Sinha A.K., Jaggi M., Raghuram B., Tuteja N. (2011): Mitogen-activated protein kinase signaling in plants under abiotic stress. *Plant Signaling & Behavior* **6**, 196–203.
- SMART home page: <http://smart.embl-heidelberg.de> (23.4.2014).
- Smékalová V., Doskočilová A., Komis G., Šamaj J. (2013): Crosstalk between secondary messengers, hormones and MAPK modules during abiotic stress signalling in plants. *Biotechnology Advances* **32**, 2-11.
 Softberry home page: <http://www.softberry.com> (23.4.2014).
- Solanke A.U., Sharma A.K. (2008): Signal transduction during cold stress in plants. *Physiology and Molecular Biology of Plants* **14**, 69–79.
- Song F., Goodman R.M. (2002): OsBIMK1, a rice MAP kinase gene involved in disease resistance responses. *Planta* **215**, 997–1005.
- Suarez-Rodriguez M.C., Petersen M., Mundy J. (2010): Mitogen-activated protein kinase signaling in plants. *Annual Review of Plant Biology* **61**, 621-649.
- Suzuki N., Koussevitzky S., Mittler R., Miller G. (2012): ROS and redox signalling in the response of plants to abiotic stress. *Plant, Cell and Environment* **35**, 259–270.
- Suzuki N., Miller G., Morales J., Shulaev V., Torres M.A., Mittler R. (2011): Respiratory burst oxidases: the engines of ROS signaling. *Current Opinion in Plant Biology* **14**, 691–699.
- Šamajová O., Komis G., Šamaj J. (2013): Emerging topics in the cell biology of mitogen-activated protein kinases. *Trends in Plant Science* **18**, 140-148.
- Takahashi F., Mizoguchi T., Yoshida R., Ichimura K., Shinozaki K. (2001): Calmodulin-dependent activation of MAP kinase for ROS homeostasis in *Arabidopsis*. *Molecular Cell* **41**, 649–660.
- Takahashi F., Yoshida R., Ichimura K., Mizoguchi T., Seo S., Yonezawa M., Maruyama K., Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K. (2007): The mitogen-activated protein kinase cascade MKK3-MPK6 is an important part of jasmonate signal transduction pathway in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **19**, 805-818.
- Tang D., Innes R.W. (2002): Overexpression of a kinase-deficient form of the EDR1 gene enhances powdery mildew resistance and ethylene-induced senescence in *Arabidopsis*. *Plant Journal* **32**, 975-983.
- Tang N., Zhang H., Li X., Xiao J., Xiong L. (2012): Constitutive activation of transcription factor OsbZIP46 improves drought tolerance in rice. *Plant Physiology* **158**, 1755–1768.
- Tanoue T., Adachi M., Moriguchi T., Nishida E. (2000): A conserved docking motif in MAP kinase common to substrates, activators and regulators. *Nature Cell Biology* **2**, 110-116.
- Teige M., Scheikl E., Eulgem T., Doczi R., Ichimura K., Achinozaki K., Dangl J.L., Hirt H. (2004): The MKK2 pathway mediates cold and salt stress signaling in *Arabidopsis*. *Molecular Cell* **15**, 141-152.
- The Arabidopsis Genome Initiative (2000): Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature* **408**, 796-815.

- The International Barley Genome Sequencing Consortium (2012): A physical, genetic and functional sequence assembly of the barley genome. *Nature* **491**, 711-717.
- Tsugama D., Liu S., Takano T. (2012): Drought-induced activation and rehydration-induced inactivation of MPK6 in *Arabidopsis*. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **426**, 626–629.
- Urao T., Yakubov B., Satoh R., Yamaguchi-Shinozaki K., Seki M., Hirayama T., Shinozaki K. (1999): A transmembrane hybrid-type histidine kinase in *Arabidopsis* functions as an osmosensor. *Plant Cell* **11**, 1743-1754.
- Volgger M., Lang I., Ovečka M., Lichtscheidl I. (2010): Plasmolysis and cell wall deposition in wheat root hairs under osmotic stress. *Protoplasma* **243**, 51-62.
- Wang J., Ding H., Zhang A., Ma F., Cao J., Jiang M. (2010): A novel mitogen-activated protein kinase gene in maize (*Zea mays*), ZmMPK3, is involved in response to diverse environmental cues. *Journal of Integrative Plant Biology* **52**, 442–452.
- Wang W., Vinocur B., Altman A. (2003): Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta* **218**, 1–14.
- Wen J.Q., Oono K., Imai R. (2002): Two novel mitogen-activated protein signaling components, OsMEK1 and OsMAP1, are involved in a moderate low-temperature signaling pathway in rice. *Plant Physiology* **129**, 1880–1891.
- Wingsle G., Hallgren J.E. (1993): Influence of SO₂ and NO₂ exposure on glutathione, superoxide dismutase and glutathione reductase activities in Scots pine needles. *Journal of Experimental Botany* **44**, 463-470.
- Wu T., Kong X.P., Zong X.J., Li D.P., Li D.Q. (2011): Expression analysis of five maize MAP kinase genes in response to various abiotic stresses and signal molecules. *Molecular Biology Reports* **38**, 3967-3975.
- Wu J., Rossomando A.J., Her J.H., Vecchio R., Weber M.J., Sturgill T.W. (1991): Autophosphorylation in vitro of recombinant 42-kilodalton mitogen-activated protein kinase on tyrosine. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **88**, 9508-9512.
- Xing Y., Cao Q., Zhang Q., Qin L., Jia W., Zhang J. (2013): MKK5 regulates high light-induced gene expression of Cu/Zn superoxide dismutase 1 and 2 in *Arabidopsis*. *Plant and Cell Physiology* **54**, 1217–1227.
- Xiong L., Yang Y. (2003): Disease Resistance and Abiotic Stress Tolerance in Rice Are Inversely Modulated by an Abscisic Acid-Inducible Mitogen-Activated Protein Kinase. *Plant Cell* **15**, 745–759.
- Yang K.Y., Liu Y., Zhang S. (2001): Activation of a mitogen-activated protein kinase pathway is involved in disease resistance in tobacco. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **98**, 741-746.
- Yao Y., Liu X., Li Z., Ma X., Rennenberg H., Wang X., Li H. (2013): Drought-induced HO accumulation in subsidiary cells is involved in regulatory signaling of stomatal closure in maize leaves. *Planta* **238**, 217–227.
- Yap Y., Kodama Y., Waller F., Nhung K.M., Ueda H., Nakamura K., Oldsen M., Yoda H., Yamaguchi Y., Sano H. (2005): Activation of a novel transcription factor through phosphorylation by WIPK, a wound-induced mitogen-activated protein kinase in tobacco plants. *Plant Physiology* **139**, 127-137.
- Yu J., Hu S., Wang J., Wong G.K., Li S., Liu B., Deng Y., Dai L., Zhou Y., Zhang X., Cao M., Liu J., Sun J., Tang J., Chen Y., Huang X., Lin W., Ye C., Tong W., Cong L., Geng J., Han Y., Li L., Li W., Hu G., Huang X., Li W., Li J., Liu Z., Li L., Liu J., Qi Q., Liu J., Li L., Li T., Wang X., Lu H., Wu T., Zhu M., Ni P., Han H., Dong W., Ren X., Feng X., Cui P., Li X., Wang H., Xu X., Zhai W., Xu Z., Zhang J., He S., Zhang J., Xu J., Zhang K., Zheng X., Dong J., Zeng W., Tao L., Ye J., Tan J., Ren X., Chen X., He J., Liu D., Tian W., Tian C., Xia H., Bao Q., Li G., Gao H., Cao T., Wang J., Zhao W., Li P., Chen W., Wang X., Zhang Y., Hu J., Wang J., Liu S., Yang J., Zhang G., Xiong Y., Li Z., Mao L., Zhou C., Zhu Z., Chen R., Hao B., Zheng W., Chen S., Guo W., Li G., Liu S., Tao M., Wang J., Zhu L., Yuan L., Yang H. (2002): A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. indica). *Science* **296**, 79–92.

- Yu L., Nie J., Cao C., Jin Y., Yan M., Wang F., Liu J., Xiao Y., Liang Y., Zhang W. (2010): Phosphatidic acid mediates salt stress response by regulation of MPK6 in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytologist* **188**, 762–773.
- Zhang L., Xi D., Li S., Gao Z., Zhao S., Shi J., Wu C., Guo X. (2011): A cotton group C MAP kinase gene, GhMPK2, positively regulates salt and drought tolerance in tobacco. *Plant Molecular Biology* **77**, 17–31.
- Zhang S., Klessig D.F. (1998): The tobacco wounding-activated mitogen-activated protein kinase is encoded by *SIPK*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **95**, 7225–7230.
- Zhang S., Klessig D.F. (2001): MAPK cascades in plant defense signaling. *Trends in Plant Science* **6**, 520–527.
- Zhang T., Liu Y., Yang T., Zhang L., Xu S., Xue L., An L. (2006): Diverse signals converge at MAPK cascades in plant. *Plant Physiology and Biochemistry* **44**, 274–283.
- Zhou C., Cai Z., Guo Y., Gan S. (2009): An Arabidopsis mitogen-activated protein kinase cascade, MKK9–MPK6, plays a role in leaf senescence. *Plant Physiology* **150**, 167–177.
- Zhou M.Q., Shen C., Wu L.H., Tang K.X., Lin J. (2011): CBF-dependent signaling pathway: a key responder to low temperature stress in plants. *Critical Reviews in Biotechnology* **31**, 186–192.
- Zhou X.F., Jin Y.H., Yoo C.Y., Lin X.L., Kim W.Y., Yun D.J., Bressan R.A., Hasegawa P.M., Jin J.B. (2013): CYCLIN H;1 regulates drought stress responses and blue light-induced stomatal opening by inhibiting ROS accumulation in Arabidopsis. *Plant Physiology* **162**, 1030–1041.
- Zhu J., Dong C.H., Zhu J.K. (2007): Interplay between cold-responsive gene regulation, metabolism and RNA processing during plant cold acclimation. *Current Opinion in Plant Biology* **10**, 290–295.
- Zhu J.K. (2001): Cell signaling under salt, water and cold stresses. *Current Opinion in Plant Biology* **4**, 401–406.
- Zhu X., Feng Y., Liang G., Liu N., Zhu J.K. (2013): Aequorin-based luminescence imaging reverses stimulus- and tissue-specific Ca²⁺ dynamics in Arabidopsis plants. *Molecular Plant* **6**, 444–455.

8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

ABA	kyselina abscisová
ADH	alkohol dehydrogenasa
AK	aminokyselina
AOX	alternativní oxidasa
APS	persíran amonný
APX	askorbát peroxidasa
BCP	1-bromo-3-chloropropan
BSA	hovězí sérový albumin
CA	aklimace na chlad
CAT	katalasa
CDPK	Ca ²⁺ -dependentní protein kinasa
DGK	diacyl-glycerol kinasa
DTT	dithiotreitol
EGTA	kyselina ethylenglykol-bis-(2-aminoethylether)tetraoctová
GR	glutation reduktasa
HEPES	kyselina 2-[4-(2-hydroxyethyl)-1-piperaziny] ethansulfonová
HR	hypersenzitivní reakce
JA	kyselina jasmonová
MAPK	mitogen aktivovaná protein kinasa
MAPKK	MAP kinasa kinasa
MAPKKK	MAP kinasa kinasa kinasa
MAP2K	MAP kinasa kinasa
MAP3K	MAP kinasa kinasa kinasa
MEKK	MAP kinasa kinasa kinasa
MKK	MAP kinasa kinasa

MPK	MAP kinasa
MS médium	Murashige & Skoog médium
NJ	„neighbor-joining“
NTF2	nukleární transportní faktor 2
OPDA	kyselina oxofytodienová
PA	fosfatidová kyselina
PI	fosfatidylinositol
PEG	polyethylenglykol
PI-PLC	fosfoinosityd fosfolipasy C
PK	protein kinasa
PLD	fosfolipasa D
POD	peroxidasa
PR proteiny	proteiny související s patogenezi
ROS	reaktivní formy kyslíku
SA	kyselina salicylová
SDS	dodecylsulfát sodný
SOD	superoxid dismutasa
TBS	Tris-HCl solný pufr
TBS-T	Tris-HCl solný pufr s přídavkem Tween 20
TEMED	N,N,N',N'-tetramethylethylendiamin
TK	tyrosin kinasa