

Odgovor biljaka na stres uzrokovan hladnoćom

Bujak, Andrej

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:845774>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-22**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Andrej Bujak

**Odgovor biljaka na stres uzrokovan
hladnoćom**

Završni rad

Zagreb, 2023.

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Andrej Bujak

Response of Plants to Cold Stress

Bachelor thesis

Zagreb, 2023.

Ovaj završni rad je izrađen u sklopu studijskog programa Molekularne biologije na Botaničkom zavodu Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu, pod mentorstvom prof. dr. sc. Željke Vidaković-Cifrek.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Završni rad

Odgovor biljaka na stres uzrokovan hladnoćom

Andrej Bujak

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Niske temperature usporavaju rast i razvoj biljaka, a smrzavanje dovodi do mehaničkih oštećenja što može uzrokovati i smrt stanica. Hladnoća nepovoljno djeluje na biokemijske i fiziološke procese u biljnim stanicama, uključujući fotosintezu. Dovodi do brojnih promjena na razini ekspresije gena, biosinteze proteina te metabolizma. Odgovor je biljnih stanica na hladnoću složen jer obuhvaća različite mehanizme. Proces i aklimatizacije i deaklimatizacije osiguravaju preživljavanje hladnih uvjeta te rast i razvoj biljaka. Jedan od čimbenika koji uvjetuje sposobnost odgovora na hladnoću jest starost biljke. Ovaj rad obuhvaća opis staničnih promjena nastalih izlaganjem biljaka hladnoći te staničnoga odgovora biljaka na hladnoću, uključujući procese aklimatizacije i deaklimatizacije. Ukratko su opisani stratifikacija i vernalizacija, razvojni procesi u biljkama koji su ovisni o utjecaju hladnoće.

Ključne riječi: aklimatizacija, deaklimatizacija, fotosinteza, stratifikacija, vernalizacija
(30 stranica, 3 slike, 139 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Mentor: prof. dr. sc. Željka Vidaković-Cifrek

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Bachelor thesis

Response of Plants to Cold Stress

Andrej Bujak

Rooseveltova trg 6, 10000 Zagreb, Croatia

Low temperatures affect plant growth and development, while freezing causes mechanical damage and leads to cell death. Cold adversely affects biochemical and physiological processes in plant cells, including photosynthesis. It causes various changes related to gene expression, protein biosynthesis, and metabolism. Since the response of cold-stressed plant cells is quite complex, it consists of many different mechanisms. Cold acclimation and deacclimation are adaptive mechanisms responsible for the survival of the plant during the cold and for the continuation of growth and development. Age is just one of the factors that influence the cold tolerance of plants. This paper describes the cellular changes induced by the exposure to cold stress, and the response of plant cells to cold stress, including the process of acclimation and deacclimation. The paper also briefly reviews stratification and vernalization, plant developmental processes that are dependent on cold stimuli.

Keywords: chilling, acclimation, deacclimation, photosynthesis, stratification, vernalization
(30 pages, 3 figures, 139 references, original in: Croatian)
Thesis is deposited in Central Biological Library.

Mentor: Prof. Željka Vidaković-Cifrek, PhD

Sadržaj

1. UVOD.....	1
2. UTJECAJ HLADNOĆE NA BILJKE	2
2.1. DOSADAŠNJA SAZNAJNA O UTJECAJU HLADNOĆE NA BILJKE	2
2.2. USPOREDBA UČINKA HLADNOĆE NA ODRASLE BILJKE I KLIJANCE	3
2.3. UTJECAJ HLADNOĆE NA FOTOSINTETSKI APARAT	5
3. MEHANIZMI ODGOVORA BILJAKA NA HLADNOĆU	6
3.1. AKLIMATIZACIJA BILJAKA NA HLADNOĆU	6
3.2. GENI INDUCIRANI HLADNOĆOM	11
3.3. STRATIFIKACIJA I VERNALIZACIJA	14
4. ZAKLJUČAK	16
LITERATURA.....	17

1. Uvod

U određenim je klimatskim područjima hladnoća vrlo važan okolišni čimbenik jer utječe na životni ciklus biljaka uvjetujući klijanje sjemena i vrijeme cvjetanja, ali i ograničava rasprostranjenost biljnih vrsta (Kreyling i sur. 2015). Temperature niže od optimalnih usporavaju rast biljaka, dok smrzavanje dovodi do mehaničkih ozljeda te simptoma sličnih onima koje uzrokuje suša, a naposljetku može dovesti i do smrti stanica (Leuendorf i sur. 2020). Također, stres uvjetovan hladnoćom nepovoljno djeluje na prinos i kvalitetu prinosa žitarica i drugih poljoprivrednih usjeva (Chinnusamy i sur. 2006; Yadav 2010). Aklimatizacija na hladnoću potaknuta je niskim temperaturama koje ne dovode do uginuća biljke. Sposobnost aklimatizacije imaju biljke umjerenih i borealnih područja, a ona podrazumijeva mehanizme koji dovode do bolje otpornosti biljaka na smrzavanje (Xin i Browse 2000). Promjene koje se očituju tijekom aklimatizacije na hladnoću uključuju izmijenjenu regulaciju ekspresije transkripcijskih faktora i drugih gena *COR* (engl. *cold-regulated genes*) (Chinnusamy i sur. 2006). Smatra se da je signalni put *ICE-CBF-COR* ključan prilikom aklimatizacije na hladnoću. *ICE* (engl. *inducer of CBF-expression*) je induktor ekspresije skupine *CBF*-a (engl. *C-repeat-binding-factor*) koja potiče ekspresiju gena *COR* (Nurhasanah Ritonga i Chen 2020). Hladnoća uzrokuje i brojne druge promjene u biljkama poput kavitacije u provodnim elementima, povišenja stope prijenosa šećera iz listova te zadebljanja listova (Hajihashemi i sur. 2018), a ujedno inhibira aktivnost fotosustava II, koji je važna sastavnica lanca prijenosa elektrona u svjetlosnim reakcijama fotosinteze (Paredes i Quiles 2015).

Kada je period hladnih uvjeta prekratak da bi se postigla aklimatizacija, primjena prethodnoga tretmana hladnoćom (engl. *priming*) može pomoći biljkama u zaštiti od hladnoće (Baier i sur. 2019). Biljke tijekom godine prolaze kroz procese aklimatizacije i deaklimatizacije, odnosno gubitka tolerancije smrzavanja. Što je hladni period kraći, deaklimatizacija je brža i učinkovitija (Gorsuch i sur. 2010; cit. van Buer i sur. 2016). Deaklimatizacija biljkama omogućava postizanje optimalne stope rasta i razvoja u ponovno uspostavljenim povoljnim temperaturnim uvjetima (Vyse i sur. 2019). Proces reaklimatizacije važan je za višegodišnje biljke jer im omogućava preživljavanje zima (Pagter i Arora 2013). Zbog globalnoga zatopljenja zime postaju sve kraće i blaže što povećava broj izmjena stanja aklimatiziranosti biljaka na hladnoću (Vyse i sur. 2019).

Cilj ovoga rada jest napraviti pregled saznanja o odgovoru biljaka na stres uzrokovan hladnoćom.

2. Utjecaj hladnoće na biljke

2.1. Dosadašnja saznanja o utjecaju hladnoće na biljke

Hladnoća djeluje na brojne biljne stanične procese. Od značajnijih učinaka hladnoće na biljne stanice izdvaja se promjena fluidnosti staničnih membrane. Pri određenoj temperaturi dolazi do prelaska membrane iz tzv. semifluidnoga u semikristalinično stanje što se odražava i na njezinu funkciju. Nadalje, pri niskim temperaturama mijenjaju se i katalitička svojstva enzima što utječe na metaboličke reakcije. Uzrok mehaničkih oštećenja stanica uslijed stresa uzrokovanog niskom temperaturom leži u nastajanju kristala leda. Led se počinje stvarati u prostoru apoplasta, a u slučaju oštećenja plazmatske membrane dolazi do izlaska citosola u apoplast (Yadav 2010). Jedno od ranije objavljenih istraživanja na temu prilagodbe biljaka na hladnoću provedeno je na subarktičkoj vrsti *Diapensia lapponica*, a Pihakaski i Junnila (1988) proučili su kako prilagodba na hladnoću utječe na otpornost biljke na smrzavanje. Već su tada otkrili da na otpornost uvelike utječe starost tkiva te duljina dana – u biljaka izloženima dugomu danu uočili su bolju prilagodbu na hladnoću. Tih je godina objavljen niz istraživanja u kojima je dokazano da apscizinska kiselina potiče odgovor biljaka na hladnoću (Chen i sur. 1983; Keith i McKersie 1986; Guy 1990; Wisniewski i Arora 1993). Iako nisu bili poznati biokemijski mehanizmi odgovora biljnih stanica na hladnoću, istraživači su pretpostavili da dolazi do promjena u koncentraciji, aktivnosti i stabilnosti proteina (McCown i sur. 1969; Riov i Brown 1976; Graham i Patterson 1982; Guy i Carter 1984), ali tadašnja istraživanja većinski se nisu bavila ekspresijom gena biljnih stanica u hladnim uvjetima (Alberdi i Corcuera 1991). Ipak, Guy i sur. (1985) postavili su temelje za istraživanja usredotočena na promijenjenu ekspresiju gena u biljaka tijekom izlaganja hladnoći. Nakon toga su opisani geni *COR* kao skupina gena čija se ekspresija aktivira tijekom odgovora stanica na hladnoću (Thomashow 1998). U novije se vrijeme istražuju molekularni mehanizmi odgovora biljnih stanica na stres uzrokovan hladnoćom, a posebno se naglašava značajnost signalnoga puta *ICE-CBF-COR* (Nurhasanah Ritonga i Chen 2020). Nedavno je pokazano da vrsta *Arabidopsis thaliana* ima i mogućnost „zapamtiti“ stres uvjetovan hladnoćom što poboljšava odgovor biljke na naknadno izlaganje takvome stresu (Leuendorf i sur. 2020). Također, današnja se istraživanja sve češće bave i procesom deaklimatizacije kojemu se u ranijim istraživanjima nije pridavalo puno pažnje (Vyse i sur. 2019).

2.2. Usporedba učinka hladnoće na odrasle biljke i klijance

Tijekom izmjene razvojnih faza u životnome ciklusu biljke, tj. od razvoja klijanaca u odrasle biljke i do prelaska u fazu starenja, prisutne su brojne promjene. Mijenja se morfologija biljnih organa, razina biljnih hormona, ravnoteža u prijenosu organskih tvari između organa sinteze i organa potrošnje ili skladištenja tvari, a svi ti čimbenici zajedno utječu na sposobnost odgovora biljke na stresne uvjete (Rankenberg i sur. 2021). Razlika u odgovoru jedinki u različitim razvojnim fazama leži u mogućnosti izbjegavanja stresnog čimbenika zahvaljujući morfološkoj plastičnosti, drugačijoj razini tolerancije oksidacijskog stresa te sposobnosti preraspodjele hranjivih tvari i makromolekula kako bi biljke preživjele stresne uvjete (Rankenberg i sur. 2021).

Leuendorf i sur. (2020) proučavali su kako utječe starost klijanaca na njihovu sposobnost prilagodbe na hladnoću. U svrhu istraživanja izložili su klijance vrste *Arabidopsis thaliana* stare 7, 14 te 21 dan hladnim uvjetima u trajanju od 16 sati. Jednu su grupu uzoraka činili klijanci koji su prvobitno bili izloženi temperaturi od 4 °C jednu noć, odnosno bili su prethodno tretirani (P1), drugu su grupu činili oni izloženi dvije noći (P2), a kontrolnu su skupinu (C) činili klijanci koji nisu bili prethodno izloženi hladnoći. Kako bi ispitali odgovor klijanaca različitih starosti na hladnoću, Leuendorf i sur. (2020) su na kraju noći određivali ekspresiju gena *CBF1*, *CBF3*, *COR15A* i *COR78*, koji ukazuju na pokretanje odgovora na hladnoću. U prvom dijelu pokusa analizirali su klijance C i P1 svih triju starosnih skupina. U najmlađih ispitivanih klijanaca, onih starih 7 dana, utvrđena je manja količina mRNA *CBF3* i *COR15A* u odnosu na starije klijance u kontrolnim uvjetima rasta, no i mladi klijanci na hladnoću odgovaraju podjednako dobro kao i stariji klijanci. Nadalje, koliko dobro klijanci podnose smrzavanje određivali su u drugom dijelu pokusa na temelju vrijednosti LT_{50} (engl. *50% damage in electrolyte leakage measurements*) koja predstavlja temperaturu koja uzrokuje 50 % veći izlazak elektrolita iz stanice zbog propustljivosti membrane. Ta metoda mjerenja ukazuje na stupanj oštećenja biljnog tkiva, a temelji se na pretpostavci da oštećene stanične membrane propuštaju veću količinu tvari u apoplast (Lindén i sur. 2000). Leuendorf i sur. (2020) mjerili su vrijednosti LT_{50} klijancima skupine P2 i C starim 7, 14 i 21 dan. Najveća vrijednost LT_{50} , koja ujedno označava najmanju razinu otpornosti na hladnoću, uočena je u klijanaca starih 7 dana u kontrolnim uvjetima. Također, za razliku od klijanaca skupine P2 starih 7 dana, stariji klijanci prethodno tretirani hladnoćom dvije noći pokazuju jaču sposobnost odgovora na hladnoću. Kao potvrda ovakvih rezultata poslužio je i test preživljavanja kojim je utvrđeno da stariji klijanci bolje podnose izlaganje temperaturi od -6 °C u

usporedbi s mlađim klijanacima. Prethodni tretman klijanaca i u ovome slučaju se pokazao značajnim za starije klijanice, ali ne i za mlađe.

Dakle, Leuendor i sur. (2020) zaključili su da odgovor klijanaca na hladnoću i promjena u transkriptomu prilikom izlaganja niskim, temperaturama koje ne uzrokuju smrzavanje ne ovisi o dobi samih klijanaca. Međutim, kada su klijanici izloženi temperaturama koje uzrokuju smrzavanje, uočili su da stariji klijanici bolje podnose smrzavanje nego oni koji su stari 7 dana. Mlađi klijanici očito ne razvijaju toleranciju na smrzavanje što znači da aktivacija puta *CBF/COR* nije dovoljna za povećanje takve tolerancije. Tek dva tjedna nakon sijanja klijanici su bili u potpunosti spremni odgovoriti na stres uzrokovan hladnoćom.

Nadalje, van Buer i sur. (2019) proučavali su ekspresiju gena proteina s domenom C_2H_2 -EAR cinkovih prstiju (engl. *C₂H₂-EAR zinc finger protein*, *ZAT10*) i proteina ovisnoga o *BON1* (engl. *BON1-associated protein 1*, *BAP1*) nakon što su biljke *Arabidopsis thaliana* starosti 2, 4 i 6 tjedana podvrgnuli hladnome tretmanu. U svome su istraživanju imali četiri skupine različitih tretmana, a one su bile kontrolna skupina (C), skupina koju su činile biljke izložene samo prethodnom tretmanu, tj. temperaturi od 4 °C u trajanju od 24 sata (P), skupina koja nije bila izložena prethodnom tretmanu poput skupine P, ali je bila tretirana hladnoćom 5 dana (T) i skupina koja je bila izložena prethodnom tretmanu prije glavnog tretmana hladnoćom (PT). Pokazali su da starost biljke utječe na intenzitet ekspresije gena *ZAT10* i *BAP1*. Dok je indukcija gena *ZAT10* rasla sa starošću biljke, ona je za *BAP1* dosegla maksimalnu vrijednost u biljkama srednje starosti, odnosno biljkama starim 4 tjedna. Međutim, niti jedan od ova dva gena nije pokazao različitu razinu indukcije kada su se usporedile T i PT biljke stare dva tjedna. Što se tiče *ZAT10*, taj gen pokazao je najveću razinu indukcije u biljkama starim četiri tjedna, a na indukciju gena *BAP1* nije dokazan utjecaj prethodnog tretmana. Nadalje, istražili su je li razlika između biljaka starih 6 tjedana prisutna u određenim listovima ili u svim listovima u rozeti (van Buer i sur. 2019). Uspoređivanjem transkripcijskih razina gena *ZAT10* i *BAP1* u mladim, srednje starim i starim listovima biljaka starih 6 tjedana nije uočena značajna razlika između T i PT biljaka, no, ipak, najstariji listovi pokazali su najvišu stopu indukcije gena.

Nedavna su istraživanja pokazala da starije višegodišnje biljke *Rhododendron* dostižu veću razinu tolerancije hladnoće, tj. bolje se prilagođavaju u odnosu na mlađe biljke (Lim i sur. 2014). Također, starije biljke *Phellodendron* imaju nižu stopu smrtnosti uslijed smrzavanja nego mlađe (McNamara

i Pellett 2000). Višu stopu fotosinteze u hladnim uvjetima imaju trave *Thinopyrum intermedium* stare pet godina nego one stare dvije godine (Jaikumar i sur. 2016). Zaključno, dob biljaka ima značajni utjecaj na njihovu sposobnost prilagodbe na hladnoću. Starije biljke bolje se prilagođavaju na hladnoću jer su im razvijeni različiti mehanizmi koji se aktiviraju pri stresnim uvjetima što im osigurava višu stopu preživljavanja.

2.3. Utjecaj hladnoće na fotosintetski aparat

Hladnoća nepovoljno utječe na fotosintezu zbog visoke osjetljivosti fotosintetskog aparata na različite stresne uvjete (Banerjee i Roychoudhury 2019). Procjenom učinkovitosti fotosintetskog aparata primjenom metode mjerenja fluorescencije klorofila *a* (Maxwell i Johnson 2000), utvrđene su promjene u regulaciji fotosinteze (Kitajima i sur. 1975; cit. van Buer i sur. 2016). Budući da se u uvjetima hladnoće poremeti i biosinteza klorofila, posljedica su promjene na kompleksima antena promijenjena funkcija fotosustava II (Ensminger i sur. 2006; cit. Adam i Murthy 2014).

Van Buer i sur. (2016) istraživali su kako duljina trajanja prethodnoga tretmana temperaturom od 4 °C djeluje na odgovor biljaka *Arabidopsis thaliana* na hladnoću kada ih se pet dana po završetku prethodnog tretmana ponovo izloži temperaturi od 4 °C. Rezultati njihovog pokusa ukazuju da fotosustavi biljaka izloženih jednodnevnom ili dvotjednom prethodnom tretmanu nisu pokazivali znakove oštećenja. No, dvotjedni prethodni tretman je povećao učinkovitost fotosinteze u hladnim uvjetima, a jednodnevni prethodni tretman nije se pokazao značajnim (van Buer i sur. 2016). Fotosustav II vrste *Hibiscus rosa-sinensis* inhibiran je niskom temperaturom, a zabilježen je i pad transporta elektrona (Paredes i Quiles 2015). Vjeruje se da hladnoća dovodi do redukcije fotosustava II što je posljedica poremećaja u transportu elektrona između fotosustava II i fotosustava I (Suzuki i sur. 2011), a ciklički tok elektrona ima ulogu zaštite fotosustava (Paredes i Quiles 2015). Očekivano, antioksidacijski sustav u ovome slučaju igra važnu ulogu, stoga se pretpostavlja da je ksantofilski ciklus ključan prilikom odgovora biljaka na hladnoću (Adam i Murthy 2014). Hladnoća u sprezi sa svjetlošću niskoga intenziteta više inhibira fotosustav I nego fotosustav II (Zhang i Scheller 2004). Nepovoljan učinak hladnoće na fotosustav II očituje se i u narušavanju ravnoteže degradacije i biosinteze te ugradnje novosintetiziranoga proteina D1 koji je sastavni dio reakcijskoga centra fotosustava II. Naime, hladnoća snižava stopu biosinteze proteina D1 (Gombos i sur. 1994; cit. Adam i Murthy 2014). Procesi biosinteze ugljikohidrata su osjetljiviji

na hladnoću nego ostale faze procesa fotosinteze (Leegood i Edwards 1996), pri čemu hladnoća najnepovoljnije utječe na sintezu škroba (Pollock i Lloyd 1987). Snižena aktivnost Rubisco-a, posljedica oštećenja samoga enzima, uzrok je pada stope fotosinteze uslijed djelovanja hladnoće (Adam i Murthy 2014). Također, hladnoća utišava ekspresiju gena za proteine koji vežu klorofil te gena za Rubisco (Smeekens 2000). Budući da povišena stopa sinteze saharoze snižava razinu inhibicije fotosinteze pri niskim temperaturama (Strand i sur. 1997), očigledno je kako topivi šećeri igraju važnu ulogu u regulaciji stope fotosinteze u uvjetima hladnoće. Tomu u prilog govori i činjenica da biljke kao odgovor na hladnoću nakupljaju topive šećere u visokim koncentracijama (Wang i sur. 2008; Xiao i sur. 2009; cit. Adam i Murthy 2014), što je očekivano jer je nakupljanje topivih šećera važan mehanizam prilikom zaštite stanica od smrzavanja (Wanner i Juntila 1999). Jedna od uloga šećera je i povećavanje krio stabilnosti membrana, a određene kriozaštitne tvari (engl. *cryoprotectins*) vežu se za tilakoidne membrane (Adam i Murthy 2014). Stabilizacijom tilakoidnih membrana proteini i šećeri doprinose pospješivanju fotosinteze u hladnim uvjetima. Prilagodba biljaka na hladnoću obuhvaća prilagodbu aktivnosti enzima uključujući enzime Calvinova ciklusa, učinkovitije rasipanje energije u uvjetima visokog intenziteta svjetlosti, povećanu koncentraciju antioksidansa i promjene u sastavu membrana (Ramalho i sur. 2003; Quartin i sur. 2004; cit. Adam i Murthy 2014).

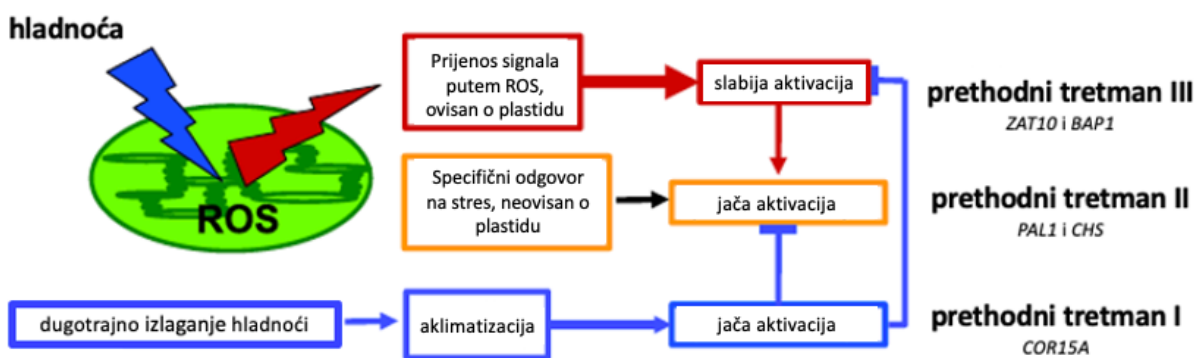
3. Mehanizmi odgovora biljaka na hladnoću

3.1. Aklimatizacija biljaka na hladnoću

Aklimatizacija na hladnoću jest način na koji se biljke pripremaju izlaganju niskim temperaturama koje mogu uzrokovati smrzavanje. Do aklimatizacije dolazi kada se biljke po prvi puta izlože hladnoći koja ne uzrokuje smrt stanica i tkiva, a uključuje sintezu i nakupljanje kriozaštitnih tvari, promjene u sastavu staničnih membrana te promjenu ekspresije gena u stanicama (Leuendorf i sur. 2020). Aklimatizirane biljke bolje podnose stres uzrokovan hladnoćom nego one koje nisu aklimatizirane (Levitt 1980). Iako su određene prednosti aklimatizacije vidljive već 24 sata nakon početka procesa, cjelokupni proces traje danima (Baier i sur. 2019). Tijekom aklimatizacije aktivira se signalizacija kalcijevim ionima, nakupljaju se reaktivni kisikovi oblici (engl. *reactive oxygen species*, ROS), H₂O₂ i jasmonska kiselina, a nakon nekoliko dana nakupljaju se i šećeri, prolin te

apscizinska kiselina, ali i antioksidansi (Černý i sur. 2014; Gilmour i sur. 1988, 1998; Hu i sur. 2013; Kaplan i sur. 2004; Lee i sur. 2005; Prasad i sur. 1994a). Sve su to čimbenici koji doprinose aklimatizaciji biljaka na hladnoću (Baier i sur. 2019), a dokazano je da aklimatizirane biljke hladnoću podnose bolje nego one koje su bile samo izložene prethodnom tretmanu (Leuendorf i sur. 2020). Prethodni tretman opisan je kao vremenski ograničeno izlaganje organizama stresnom čimbeniku u svrhu učinkovitijeg odgovora na taj čimbenik u budućnosti (Li i sur. 2014). Ono podrazumijeva „pamćenje“ određenog okolišnog čimbenika te tako omogućava vrstama koje nemaju razvijen živčani sustav pripremu na buduće stresne uvjete (Hilker i sur. 2015). Pohrana informacije o stresnom čimbeniku odvija se tijekom perioda u kojemu biljka nije pod stresom. Ako se nakon pohrane informacije biljka opet izloži istom stresnom čimbeniku, njezin će odgovor biti drugačiji u usporedbi s prvim odgovorom (van Buer i sur. 2016). Prethodno tretirane biljke na stresne uvjete odgovaraju brže i snažnije nego biljke koje nisu bile prethodno izložene stresnom čimbeniku (Conrath i sur. 2015). Smatra se da u periodu između prethodnog tretmana i jačega stresa dolazi do nakupljanja proteina i metabolita, sinteze i degradacije molekula mRNA i miRNA te modifikacije proteina i histona što pohranjuje informaciju o prethodnim stresnim uvjetima (Beckers i Conrath 2007; Bruce i sur. 2007; Conrath i sur. 2015; Crisp i sur. 2016; Hilker i sur. 2015; Stief i sur. 2014). Ekspresija nekih gena inducira se pod utjecajem prethodnoga tretmana, ali postoje i geni čija ekspresija jenjava nakon prethodnoga tretmana biljaka hladnoćom (van Buer i sur. 2016). Van Buer i sur. (2016) predložili su tri procesa koji usporedno pripremaju biljnu stanicu na buduće izlaganje hladnoći (**Slika 1.**). Za pokretanje jednoga od triju procesa potrebno je dugotrajnije izlaganje biljke hladnoći, pri čemu dolazi do aklimatizacije na hladnoću (**Slika 1.**, prethodni tretman I). Drugi proces ovisan je o aktivaciji gena halkon-sintaze (engl. *chalcone synthase*, *CHS*) i fenilalanin-amonijak-liaze (engl. *phenylalanine ammonia-lyase*, *PAL1*) do čega dolazi i nakon kraćeg izlaganja hladnoći, odnosno prethodnoga tretmana hladnoćom (**Slika 1.**, prethodni tretman II). Navedeni geni važni su za stabilizaciju stanične stijenke, cijeljenje rana, zaštitu fotoreakcijskih centara te pri aktivaciji antioksidacijskoga sustava (Havaux i Kloppstech 2001; Olsen i sur. 2008; Scott i sur. 2004). Nakon prethodnoga tretmana hladnoćom geni *BAP1* i *ZAT10* manje su eksprimirani (**Slika 1.**, prethodni tretman III). Preciznije, vjeruje se da dolazi do blokiranja ekspresije ovih dvaju gena određenim regulacijskim mehanizmima te uslijed aklimatizacije biljke na hladnoću (van Buer i sur. 2016). Nadalje, van Buer i sur. (2016) zaključuju da unutarstanična raspodjela askorbat-peroksidaze, enzima koji djeluje kao sastavnica

antioksidacijskoga sustava te eliminira vodikov peroksid (Asada 1992; Laxa i sur. 2019), regulira učinak prethodnoga tretmana i regulira signalni put ROS u plastidima, a zaštita tilakoida pravovremenom aktivacijom askorbat-peroksidaze bitna je za pohranu informacije o prethodnome tretmanu preko kapaciteta antioksidacijskoga sustava kloroplasta (Baier i sur. 2019). U svojim su pokusima Mittler i sur. (2006) također pokazali da smanjena ekspresija gena *ZAT10* poboljšava otpornost biljaka na stres, a drugi su znanstvenici otkrili da smanjena ekspresija gena *BAP1* pospešuje aktivaciju obrambenih odgovora (Hua i sur. 2001; Yang i sur. 2007).

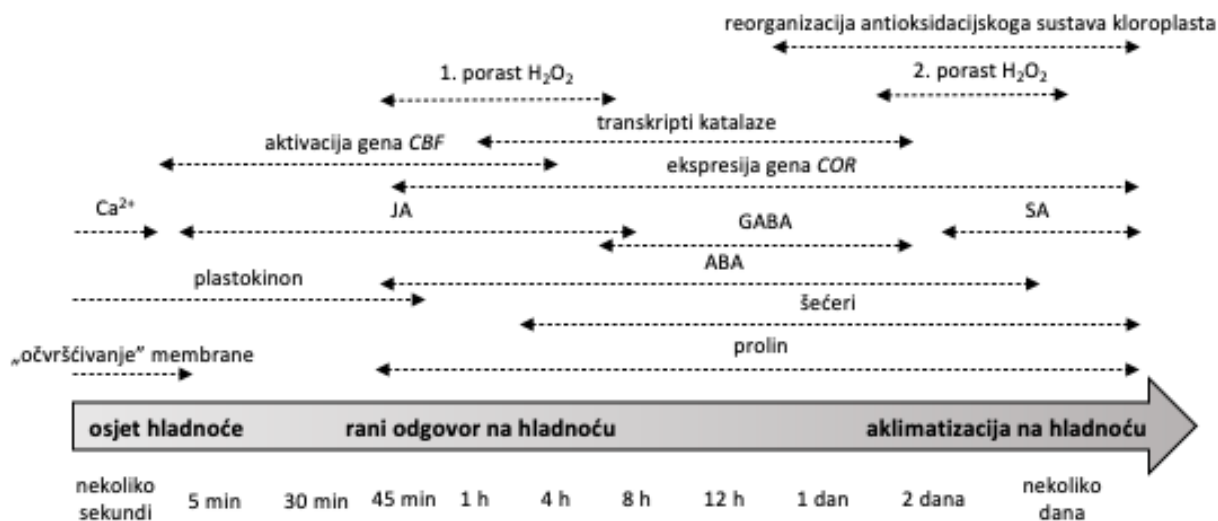


Slika 1. Prethodni tretman biljke *Arabidopsis thaliana* dovodi do smanjene razine aktivacije signalizacije reaktivnim kisikovim oblicima od kloroplasta prema jezgri (engl. *chloroplast-to-nucleus ROS signalling*) u slučaju kratkoga podražaja (prethodni tretman III) u usporedbi sa specifičnim odgovorom na stres aktivacijom neplastidnih gena (engl. *non-plastid specific stress response genes*) (prethodni tretman II). Prikazan je i učinak aklimatizacije na hladnoću (prethodni tretman I). Nakon izlaganja duljim periodima hladnoće započinje proces aklimatizacije što oslabljuje djelovanje prethodnoga tretmana. *ZAT10* – gen proteina s domenom C_2H_2 -EAR cinkovih prstiju (engl. *C₂H₂-EAR zinc finger protein*); *BAP1* – gen proteina ovisnoga o BON1 (engl. *BON1-associated protein 1*); *PAL1* – fenilalanin-amonijak-liaze (engl. *phenylalanine ammonia-lyase*); *CHS* – gen halkon-sintaze (engl. *chalcone synthase*); *COR15A* – gen proteina inducirana hladnoćom (engl. *cold-regulated genes*). Preuzeto iz i prilagođeno prema van Buer i sur. (2016).

Aklimatizacija biljaka na hladnoću i prethodni tretman biljaka hladnoćom važni su kako bi biljke preživjele izlaganje temperaturama koje uzrokuju smrzavanje (Li i sur. 2014; Thomashow 2001). Neki od učinaka aklimatizacije i prethodnoga tretmana su aktivacija različitih signalnih puteva, promjena u sastavu hormona, djelovanje transkripcijskih faktora i promjena ekspresije gena (van Buer i sur. 2016; Hossain i sur. 2017). Prethodni tretman hladnoćom može biti koristan kao metoda

razvijanja otpornosti usjeva na različite stresne uvjete (Hossain i sur. 2017). Budući da i dalje nisu poznati svi mehanizmi aklimatizacije niti procesi koje uzrokuje prethodni tretman hladnoćom, postoji mnoštvo zanimljivosti koje treba istražiti kako bismo ove procese uistinu razumjeli. Ključno je da prethodni tretman dovodi do nakupljanja raznih sekundarnih glasnika koji nakon drugoga izlaganja hladnoći utječu na signalne putove. Također dolazi i do nakupljanja molekula koje uzrokuju utišavanje provođenja signala. Primjer su antioksidansi koji utišavaju signalizaciju putem ROS-ova. Zajednički je učinak svih navedenih promjena nastanak signalnih čvorišta preko kojih biljne stanice odgovaraju na iznenadni hladni period (Baier i sur. 2019).

Slijed događaja u stanici nakon izlaganja biljke hladnoći prikazan je na **Slika 2**. U odgovoru na stres uzrokovan hladnoćom prijenos signala započinje „očvršćivanjem“ stanične membrane nakon čega poraste koncentracija kalcijevih iona u citosolu, što je dio mehanizma osjeta hladnoće (Knight i sur. 1996; Miura i Furumoto 2013). Kalcijevi se ioni oslobađaju iz apoplasta, endomembranskoga sustava i organela (Knight i sur. 1991; Tähtiharju i sur. 1997), a to potiče stanični odgovor koji uključuje različite kinaze (Huang i sur. 2011; Knight i Knight 2012). „Očvršćivanje“ stanične membrane te promjena oksidacijskoga stanja i količine plastokinona uzrokuju promjenu u ekspresiji gena u jezgri i kloroplastu (Ensminger i sur. 2006; Örvar i sur. 2000). Ubrzo nakon izlaganja hladnoći uočljiv je porast razine ekspresije gena *CBF*, a geni *COR* ekspimiraju se tek nekoliko sati nakon izlaganja hladnoći (Thomashow i sur. 2001). Koncentracija jasmonske kiseline povisi se nekoliko minuta poslije izlaganja biljke hladnoći (Hu i sur. 2013). Može se uočiti da razina H_2O_2 prvo poraste nakon nekog vremena, potom je prisutna povišena razina transkripta katalaze, enzima koji katalizira dismutaciju H_2O_2 (Mhamdi i sur. 2010), pa koncentracija H_2O_2 opet poraste (Prasad i sur. 1994a, 1994b; Sin'kevich i sur. 2016; Zhao i sur. 2017). Kao dio ranog odgovora na hladnoću djeluju još apscizinska kiselina (Fowler i Thomashow 2002), šećeri, prolin i γ -aminomaslačna kiselina (Kaplan i sur. 2007). Nadalje, do nekoliko dana nakon podražaja uzrokovanog hladnoćom, tijekom aklimatizacije, mijenja se antioksidacijski sustav kloroplasta (Juszczak i sur. 2012, 2016) i dolazi do porasta koncentracije salicilne kiseline (Scott i sur. 2004) (**Slika 2.**).



Slika 2. Vremenski tijek odgovora biljne stanice na hladnoću. ABA – apscizinska kiselina; *CBF* – geni za faktore koji se vežu na promotore gena *COR*; *COR* – geni inducirani hladnoćom; GABA – γ -aminomaslačna kiselina; JA – jasmonska kiselina; SA – salicilna kiselina. Preuzeto iz i prilagođeno prema Baier i sur. (2019).

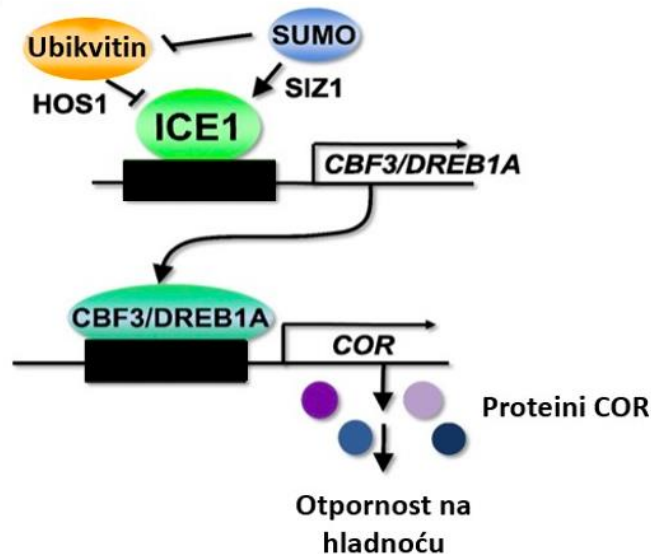
Deaklimatizacija se događa kada se već aklimatizirane biljke nađu u toplijim uvjetima što dovodi do gubitka sposobnosti tolerancije smrzavanja (Oono i sur. 2006). Ona biljkama omogućava nastavak rasta i razvoja jer se metaboliti i energija koji su bili usmjereni u odgovor na stres mogu ponovo koristiti za rast i razvoj, a zbog toga je i deaklimatizacija važna za preživljavanje biljaka u zimskim periodima (Xin i Browse 2000; Vyse i sur. 2019). Pretpostavlja se da raspon niskih temperatura koje neka vrsta može preživjeti ovisi o jesenskim i proljetnim temperaturama koje uvjetuju procese aklimatizacije i deaklimatizacije (Rapacz i sur. 2017; Vitasse i sur. 2014; Vitra i sur. 2017). Ukoliko do deaklimatizacije dođe prekasno u proljeće, skraćuje se period tijekom kojega biljke mogu rasti. Međutim, ako proces deaklimatizacije započne prerano, biljkama prijete opasnost od smrzavanja (Vyse i sur. 2019). Globalno zatopljenje uvelike utječe na deaklimatizaciju jer se povećava broj toplijih dana, pa je izmjena stanja između aklimatizacije i deaklimatizacije sve češća (Pagter i Arora 2013; Vitasse i sur. 2014). Dulji dani dovode do brže deaklimatizacije (Poirier i sur. 2010), ali dinamika toga procesa ovisna je i o genotipu te tipu organa (Vyse i sur. 2019). Nadalje, deaklimatizacija je brz proces te je većina promjena vidljiva već nakon 24 sata. Promjene se prije odraze na transkriptom nego na metabolom (Pagter i sur. 2017). Porast koncentracije topivih šećera i pad koncentracije škroba tijekom aklimatizacije upućuju na mobilizaciju topivih

šećera kako bi se pospješila tolerancija smrzavanja. Nasuprot, tijekom deaklimatizacije dolazi do ponovne sinteze zaliha šećera što pomaže pupanju u proljeće, a u prilog tome govore smanjenje koncentracije topivih šećera i rast koncentracije škroba (Vyse i sur. 2019). Također, ekspresija proteina potrebnih za rast i razvoj te supresija onih svojstvenih stresnim uvjetima dio su procesa deaklimatizacije (Pagter i sur. 2014). Na primjer, dehidrini, proteini povezani s toleriranjem smrzavanja i proteinske kinaze pojačano se eksprimiraju tijekom aklimatizacije (Andersen i sur. 2017; Miki i sur. 2019), a proteini povezani s raznim metaboličkim procesima jače su eksprimirani za vrijeme deaklimatizacije (Rowland i sur. 2012). Nakaminami i sur. (2014) otkrili su niz molekula mRNA koje se prepisuju u hladnim uvjetima, ali se u proteinski produkt prevode tek prilikom deaklimatizacije te osiguravaju nastavak rasta i razvoja biljke. Iz ograničenog broja istraživanja transkriptoma zaključeno je da postoji 48 gena ključnih za proces deaklimatizacije (Vyse i sur. 2019). U deaklimatiziranih biljaka može doći do reaklimatizacije koja se očituje u potpunome povratku sposobnosti tolerancije smrzavanja. Ipak, nakon nekoliko ciklusa reaklimatizacije poslije deaklimatizacije biljke više ne mogu steći potpunu sposobnost tolerancije smrzavanja (Shin i sur. 2015). Reaklimatizacija je potaknuta iznenadnim hladnim periodima u proljeće (Vyse i sur. 2019). Budući da reaklimatizacija može rezultirati boljim toleriranjem smrzavanja, taj je mehanizam od važnosti prilikom prethodnoga tretmana biljaka (Baier i sur. 2019; Hilker i sur. 2015). Za potpunije razumijevanje procesa deaklimatizacije potrebna su dodatna istraživanja da bi se sa sigurnošću mogli odrediti molekularni mehanizmi koji sudjeluju u tom procesu. Potrebno je identificirati najvažnije sastavnice deaklimatizacije, a praćenjem ekspresije određenih gena mogli bi se odrediti i regulacijski sustavi ovoga procesa (Vyse i sur. 2019). S obzirom na globalno zatopljenje, procesi aklimatizacije, deaklimatizacije i prethodnoga tretmana poprimaju sve veću važnost. Razumijevanje ovih procesa omogućilo bi predviđanje utjecaja globalnoga zatopljenja na biljne vrste.

3.2. Geni inducirani hladnoćom

Tijekom aklimatizacije na hladnoću bitno se mijenja ekspresija gena i proteina u biljnoj stanici (Hoermiller i sur. 2017; Miki i sur. 2019; Thomashow 1999; Zuther i sur. 2019). Za mnoge promjene u ekspresiji gena odgovorna je signalizacija putom ovisnim o transkripcijskim faktorima CBF (Leuendorf i sur. 2020). Transkripcijski faktori CBF potiču ekspresiju gena uključenih u

sintezu kriozaštitnih tvari te ekspresiju gena *COR* (Gilmour i sur. 1998). U gene *COR* ubrajaju se geni *COR15A* i *COR15B* koji stabiliziraju membrane kloroplasta te na taj način povećavaju sposobnost tolerancije smrzavanja u biljaka (Artus i sur. 1996; Thalhammer i sur. 2014). Hladnoćom se induciraju i geni koji nisu pod utjecajem regulacijskoga sustava *CBF*, pa hladnoća inducira gen *CHS* čiji je produkt, halkon-sintaza, zaslužan za sintezu antocijana (Fowler i Thomashow 2002; Leyva i sur. 1995). Budući da je u mladim klijancima, koji posjeduju slabiju otpornost na hladnoću, opažena ekspresija gena *CBF3* i *COR15A*, zasigurno postoji veći broj signalnih putova ovisnih o hladnoći, ali oni se uspostavljaju tek kasnije tijekom razvoja biljke (Leuendorf i sur. 2020). Uz transkripcijske aktivatore *CBF* postoje i transkripcijski aktivatori s domenom leucinskoga zatvarača (engl. *leucine zipper domain transcription factors*, bZIP) (Kim 2006). S obzirom na to da inaktivacija kalcijevih kanala dovodi do slabije aktivacije gena *COR*, pretpostavlja se da su upravo kalcijevi kanali uključeni u zamjećivanje promjene fluidnosti membrane (Knight i sur. 1991). Transkripcijski faktori *ICE* reguliraju signalizaciju u hladnim uvjetima preko transkripcijskih faktora *CBF*, koji vežu i elemente ovisne o dehidraciji, pa se još nazivaju *DREB1* (engl. *dehydration-responsive element-binding*), te potiču ekspresiju gena *COR* (Miura i Furumoto 2013) (**Slika 3.**). U vrsti *Arabidopsis thaliana* postoje tri transkripcijska faktora *CBF/DREB1* (*CBF1/DREB1B*, *CBF2/DREB1C* i *CBF3/DREB1A*) (Gilmour i sur. 2004), a aktivnost transkripcijskoga faktora *ICE1* regulirana je pomoću ubikvitinacije (Dong i sur. 2006) i sumoilacije (Miura i sur. 2007).



Slika 3. Signalni put *ICE-CBF-COR* uključuje transkripcijski faktor *ICE1* (engl. *inducer of CBF-expression*) koji se veže na promotor i potiče ekspresiju gena *CBF3/DREB1A* (engl. *C-repeat-binding-factor; dehydration-responsive element-binding*). Transkripcijski faktor *CBF3/DREB1A* potiče ekspresiju gena *COR* (engl. *cold-regulated genes*) čiji su produkti odgovorni za toleranciju hladnoće. Ubikvitinaciju transkripcijskoga faktora *ICE1* katalizira ubikvitin-ligaza *HOS1* (engl. *high expression of osmotically responsive gene1*). Ubikvitinacija dovodi do degradacije transkripcijskoga faktora *ICE1*. Sumoilaciju toga transkripcijskoga faktora potiče enzim *SIZ1*, *SUMO* E3 ligaza, što dovodi do stabilizacije transkripcijskoga faktora *ICE1*. Preuzeto iz i prilagođeno prema Miura i Furumoto (2013).

U mnogim biljnim vrstama prekomjerna ekspresija gena *ICE1* i njegovih homologa poboljšava toleranciju hladnoće što se očituje nakupljanjem više topivih šećera i prolina (Badawi i sur. 2008; Liu i sur. 2010; Miura i sur. 2012b, 2012a). Otkriveno je da transkripcijski faktori *CBF/DREB1* reguliraju otprilike 12 % gena *COR* (Zeller i sur. 2009). Povećanje tolerancije hladnoće i ekspresije *CBF1/DREB1B* i *CBF3/DREB1A* u biljci *Arabidopsis thaliana* kojoj je utišana ekspresija gena *CBF2/DREB1C* govori kako je transkripcijski faktor *CBF2/DREB1C* zaslužan za negativnu regulaciju gena drugih dvaju transkripcijskih faktora, *CBF1/DREB1B* i *CBF3/DREB1A* (Novillo i sur. 2004). Neki od proteina *COR* su dehidrini, poput proteina *COR15A*, koji pripadaju grupi proteina kasne embriogeneze (engl. *late embryogenesis abundant*, *LEA*) (Ingram i Bartels 1996). Upravo su proteini *LEA* ključni za stabilizaciju membrane, no, također, sprječavaju agregaciju

proteina (Hundertmark i Hinch 2008). Još jedna skupina proteina čija je ekspresija potaknuta hladnoćom jest skupina proteina toplinskoga šoka (engl. *heat shock protein*, HSP) (Timperio i sur. 2008). HSP štite membranu i djeluju kao šaperoni, pa sudjeluju u ponovnom smatanju denaturiranih proteina i sprječavanju agregacije proteina (Renaut i sur. 2006; Timperio i sur. 2008). Janská i sur. (2010) uočili su da određeni enzimi, poput hitinaza i β -1,3-glukanaze, doprinose zaštiti od smrzavanja inhibirajući nastajanje leda u apoplastu te stanicama sprječavajući dehidraciju stanica. Mnoštvo je enzima uključeno u odgovor na stres uzrokovan hladnoćom u biljaka, a neki od njih djeluju u detoksikaciji, antioksidacijskim procesima, fotosintezi, sekundarnom metabolizmu i sintezi različitih kemijskih spojeva (Janská i sur. 2010). Škrob, steroli i oligosaharidi neki su od spojeva čija je sinteza inducirana hladnoćom (Janská i sur. 2010). Kao dio složenog odgovora na hladnoću sudjeluju i biljni hormoni među kojima su apscizinska kiselina, etilen, salicilna kiselina i drugi. Također, obrada mRNA igra važnu ulogu u regulaciji odgovora na hladnoću (Miura i Furumoto 2013). Protein bogat glicinom (engl. *glycine-rich protein 7*, GRP7) zadužen je za prijenos mRNA iz jezgre u citoplazmu u hladnim uvjetima (Kim i sur. 2008), što je jedan od načina na koji je taj prijenos reguliran u uvjetima hladnoće (Miura i Furumoto 2013).

Središnju ulogu u regulaciji odgovora na hladnoću u biljaka ima signalni put *ICE-CBF-COR*, ali uz njega su bitne i dorada molekula mRNA te kasnije modifikacije proteina (Miura i Furumoto 2013). Iako je signalni put *ICE-CBF-COR* glavni način regulacije odgovora na hladnoću, on zasigurno nije jedini te postoje i drugi transkripcijski faktori uključeni u taj proces (Leuendorf i sur. 2020). Mehanizam odgovora na hladnoću u biljaka složen je i reguliran na više razina (Miura i Furumoto 2013). Postoji više proteina za koje se smatra da bi mogli biti senzori niskih temperatura, a buduća se istraživanja trebaju usmjeriti u točno određivanje istih (Miura i Furumoto 2013).

3.3. Stratifikacija i vernalizacija

Stratifikacija hladnoćom je proces koji uvjetuje klijanje biljnog sjemena nakon što je sjeme bilo izloženo niskim, ali stalnim temperaturama (Cavieres i Sierra-Almeida 2018). Osnove za proces stratifikacije uspostavljaju se tijekom razvoja sjemena, a stabiliziraju se za vrijeme sazrijevanja istoga (Bewley 1997). U novorazvijenome sjemenu dolazi do ekspresije gena za sintezu apscizinske kiseline i aktivira se katabolizam giberelina (Debeaujon i Koornneef 2000; Footitt i

sur. 2011; Shu i sur. 2013; Tuttle i sur. 2015). Tijekom dormancije sjeme sadrži niske koncentracije giberelina, a više apscizinske kiseline čija se koncentracija smanjuje u zimskim uvjetima (Baier i sur. 2019). Izlaganje sjemena koje sadrži manje količine apscizinske kiseline niskim temperaturama dovodi do sinteze jasmonske kiseline čime se dodatno snižava razina apscizinske kiseline i potiče se klijanje (Jacobsen i sur. 2013; Xu i sur. 2016). Dakle, stratifikacija jest hormonski regulirana (Baier i sur. 2019).

Vernalizacija omogućava cvjetanje biljaka nakon duljeg izlaganja hladnoći (Song i sur. 2012). To je epigenetički kontroliran proces (Baier i sur. 2019). U biljkama ovisnima o vernalizaciji ekspresija gena za cvjetanje (engl. *flowering locus C*, *FLC*), koji je središnji represor cvjetanja (Tian i sur. 2019), utišava ekspresiju floemskoga florigena (engl. *flowering locus T*, *FT*) (Sheldon i sur. 2000). Ako njegova ekspresija ne bi bila utišana, *FT* bi usmjerio vršni meristem izdanka u generativno stanje (Baier i sur. 2019). Kada se biljka nađe u hladnim uvjetima, epigenetički se utišava gen *FLC* pomoću kompleksa PRC2 (engl. *polycomb repressing complex 2*) (Bastow i sur. 2004; Kim i Sung 2017). Da bi došlo do metilacije lizina na histonu 3, na PRC2 najprije se mora vezati nekodirajuća molekula RNA *COLDAIR* (engl. *cold assisted intronic noncoding RNA*) (Angel i sur. 2011; Heo i Sung 2011; cit. Baier i sur. 2019). Zajedno s *COLDAIR* epigenetičko utišavanje gena *FLC* pojačava i nekodirajuća RNA *COLDWRAP* prepisana s utišanoga promotora gena *FLC* (Kim i Sung 2017). Utišavanje *FLC* tijekom vernalizacije temelji se na stvaranju kromatinske omče za što su potrebni PRC2 i nekodirajuće molekule RNA (Kim i Sung 2017). Aktivirajući podražaj nakon vernalizacije, kao što su uvjeti dugog dana, uzrokuje cvjetanje, a regulacija je posredovana supresorom prekomjerne ekspresije gena *constans1* (engl. *suppressor of overexpression of constans1*, *SOC1*) (Helliwell i sur. 2006; Yoo i sur. 2005). Dok *SOC1* potiče ekspresiju gena *COR* (Lee i sur. 2015; Seo i sur. 2009), suprotno njemu u regulaciji cvjetanja i aklimatizacije djeluje gen osjetljiv na osmolarnost (engl. *high expression of osmotically responsive gene 1*, *HOS1*). *HOS1* utišava ekspresiju gena *COR* i potiče ekspresiju gena *FLC* (Ishitani i sur. 1998; Jung i sur. 2013). Očigledno postoji poveznica između vernalizacije i aklimatizacije na hladnoću. Moguće je da su ta dva procesa povezana i preko proteina koji inducira metilaciju gena *FLC* (engl. *vernalization induced 3*, *VIN3*), a inhibira ekspresiju gena *COR* (Banerjee i sur. 2017; Sung i Amasino 2004).

4. Zaključak

S obzirom na to da su sesilni organizmi, biljke su razvile brojne regulacijske mehanizme kao odgovore na promjenjive okolišne uvjete (Kim i Sung 2017). Niske temperature, uzrokovale one smrzavanje ili ne, čine okoliš nepovoljnim za rast i razvoj biljaka na što su one razvile različite prilagodbe (Yadav 2010). Hladnoća utječe na klijanje sjemena, rast biljaka i uvjetuje vrijeme cvjetanja (Leuendorf i sur. 2020). Odgovor na hladne uvjete složen je te uključuje metaboličke i genetske promjene (Zuther i sur. 2019). Sposobnost odgovora na hladnoću i aklimatizacija ovisi i o starosti biljaka (van Buer i sur. 2019; Leuendorf i sur. 2020). Izlaganje biljaka hladnoći nepovoljno utječe na fotosintezu pri čemu se narušava funkcionalnost fotosustava II i dolazi do poremećaja u biosintezi klorofila (Ensminger i sur. 2006; cit. Adam i Murthy 2014). Aklimatizacija biljaka potaknuta je ubrzo nakon što je biljka bila izložena niskoj temperaturi koja ne uzrokuje smrzavanje (Ristic i Ashworth 1993). Aklimatizacija na hladnoću i prethodni tretman biljaka hladnoćom omogućavaju biljkama preživljavanje zimskih, niskih temperatura (Li i sur. 2014; Thomashow 2001). Tijekom tih dvaju procesa aktiviraju se signalni putevi, mijenja se sastav biljnih hormona, mobiliziraju se transkripcijski faktori i uzrokuju promjenu ekspresije gena (van Buer i sur. 2016; Hossain i sur. 2017). Po završetku hladnih uvjeta u biljci započinje deaklimatizacija što dovodi do daljnjega rasta i razvoja biljke (Oono i sur. 2006; Xin i Browse 2000). Dakle, odgovor na hladnoću uključuje brojne promjene i ne postoji jedinstveni metabolit, gen ili signalni put koji bi bio zasebno odgovoran za toleranciju hladnoće (Korn i sur. 2010). Najbolje je istražen signalni put *ICE-CBF-COR*, a transkripcijski faktori CBF odgovorni su za poticanje ekspresije oko 12 % svih gena *COR* (Zeller i sur. 2009). Aktivirajući kalcijeve kanale, promjene u fluidnosti stanične membrane dovode do porasta koncentracije kalcijevih iona u citosolu, pa se smatra kako je to, uz sudjelovanje staničnih kinaza, dio mehanizma osjeta hladnoće (Huang i sur. 2011; Knight i sur. 1996; Knight i Knight 2012; Yadav 2010). Stratifikacija i vernalizacija dva su razvojna procesa povezana s hladnoćom. Stratifikacija osigurava klijanje sjemena, a o vernalizaciji ovisi cvjetanje biljaka (Cavieres i Sierra-Almeida 2018; Song i sur. 2012). Uz sva dosadašnja saznanja odgovor biljaka na hladnoću još nije u potpunosti istražen. Potrebno je odrediti membranske prijenosnike koji su zaduženi za primanje signala o hladnim uvjetima (Miura i Furumoto 2013). Također, uz signalni put *ICE-CBF-COR*, potrebno je istražiti i druge potencijalne putove aktivacije odgovora na hladnoću. U doba klimatskih promjena poželjno je istraživati i proces deaklimatizacije jer i on dobiva na značaju u prirodnim uvjetima.

Literatura

- Adam S., Murthy S.D.S. (2014): Effect of Cold Stress on Photosynthesis of Plants and Possible Protection Mechanisms. *Approaches to Plant Stress and their Management* 219–226.
- Alberdi M., Corcuera L.J. (1991): Cold Acclimation in Plants. *Phytochemistry* **30**: 3177–3184.
- Andersen U.B., Kjaer K.H., Erban A., Alpers J., Hinch D.K., Kopka J., Zuther E., Pagter M. (2017): Impact of Seasonal Warming on Overwintering and Spring Phenology of Blackcurrant. *Environmental and Experimental Botany* **140**: 96–109.
- Artus N.N., Uemura M., Steponkus P.L., Gilmour S.J., Lin C., Thomashow M.F. (1996): Constitutive Expression of the Cold-Regulated *Arabidopsis thaliana* *COR15A* Gene Affects Both Chloroplast and Protoplast Freezing Tolerance. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **93**: 13404–13409.
- Asada K. (1992): Ascorbate Peroxidase – a Hydrogen Peroxide-Scavenging Enzyme in Plants. *Physiologia Plantarum* **85**: 235–241.
- Badawi M., Reddy Y.V., Agharbaoui Z., Tominaga Y., Danyluk J., Sarhan F., Houde M. (2008): Structure and Functional Analysis of Wheat *ICE* (Inducer of CBF Expression) Genes. *Plant and Cell Physiology* **49**: 1237–1249.
- Baier M., Bittner A., Prescher A., Buer J. van (2019): Preparing Plants for Improved Cold Tolerance by Priming. *Plant, Cell & Environment* **42**: 782–800.
- Banerjee A., Roychoudhury A. (2019): Cold Stress and Photosynthesis. *Photosynthesis, Productivity, and Environmental Stress* 27–37.
- Banerjee A., Wani S.H., Roychoudhury A. (2017): Epigenetic Control of Plant Cold Responses. *Frontiers in Plant Science* **8**.
- Bastow R., Mylne J.S., Lister C., Lippman Z., Martienssen R.A., Dean C. (2004): Vernalization Requires Epigenetic Silencing of *FLC* by Histone Methylation. *Nature* **427**: 164–167.
- Beckers G.J., Conrath U. (2007): Priming for Stress Resistance: From the Lab to the Field. *Current Opinion in Plant Biology* **10**: 425–431.
- Bewley J.D. (1997): Seed Germination and Dormancy. *The Plant Cell* **9**: 1066.

- Bruce T.J.A., Matthes M.C., Napier J.A., Pickett J.A. (2007): Stressful “Memories” of Plants: Evidence and Possible Mechanisms. *Plant Science* **173**: 603–608.
- Buer J. van, Cvetkovic J., Baier M. (2016): Cold Regulation of Plastid Ascorbate Peroxidases Serves as a Priming Hub Controlling ROS Signalling in *Arabidopsis thaliana*. *BMC Plant Biology* **16**: 1–20.
- Buer J. van, Prescher A., Baier M. (2019): Cold-Priming of Chloroplast ROS Signalling Is Developmentally Regulated and Is Locally Controlled at the Thylakoid Membrane. *Scientific Reports* **9**: 1–14.
- Cavieres L.A., Sierra-Almeida A. (2018): Assessing the Importance of Cold-Stratification for Seed Germination in Alpine Plant Species of the High-Andes of Central Chile. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* **30**: 125–131.
- Černý M., Jedelský P.L., Novák J., Schlosser A., Brzobohatý B. (2014): Cytokinin Modulates Proteomic, Transcriptomic and Growth Responses to Temperature Shocks in *Arabidopsis*. *Plant, Cell and Environment* **37**: 1641–1655.
- Chen H.-H., Li P.H., Brenner M.L. (1983): Involvement of Abscisic Acid in Potato Cold Acclimation. *Plant Physiology* **71**: 362–365.
- Chinnusamy V., Zhu J., Zhu J.K. (2006): Gene Regulation During Cold Acclimation in Plants. *Physiologia Plantarum* **126**: 52–61.
- Conrath U., Beckers G.J.M., Langenbach C.J.G., Jaskiewicz M.R. (2015): Priming for Enhanced Defense. *Annual Review of Phytopathology* **53**: 97–119.
- Crisp P.A., Ganguly D., Eichten S.R., Borevitz J.O., Pogson B.J. (2016): Reconsidering Plant Memory: Intersections Between Stress Recovery, RNA Turnover, and Epigenetics. *Science Advances* **2**.
- Debeaujon I., Koornneef M. (2000): Gibberellin Requirement for *Arabidopsis* Seed Germination Is Determined Both by Testa Characteristics and Embryonic Abscisic Acid. *Plant Physiology* **122**: 415–424.
- Dong C.H., Agarwal M., Zhang Y., Xie Q., Zhu J.K. (2006): The Negative Regulator of Plant Cold Responses, HOS1, Is a RING E3 Ligase that Mediates the Ubiquitination and Degradation of

- ICE1. Proceedings of the National Academy of Sciences **103**: 8281–8286.
- Ensminger I., Busch F., Huner N.P.A. (2006): Photostasis and Cold Acclimation: Sensing Low Temperature through Photosynthesis. *Physiologia Plantarum* **126**: 28–44.
- Footitt S., Douterelo-Soler I., Clay H., Finch-Savage W.E. (2011): Dormancy Cycling in *Arabidopsis* Seeds Is Controlled by Seasonally Distinct Hormone-Signaling Pathways. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **108**: 20236–20241.
- Fowler S., Thomashow M.F. (2002): *Arabidopsis* Transcriptome Profiling Indicates That Multiple Regulatory Pathways Are Activated during Cold Acclimation in Addition to the CBF Cold Response Pathway. *The Plant Cell* **14**: 1675–1690.
- Gilmour S.J., Fowler S.G., Thomashow M.F. (2004): *Arabidopsis* Transcriptional Activators CBF1, CBF2, and CBF3 Have Matching Functional Activities. *Plant Molecular Biology* **54**: 767–781.
- Gilmour S.J., Hajela R.K., Thomashow M.F. (1988): Cold Acclimation in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol* **87**: 745–750.
- Gilmour S.J., Zarka D.G., Stockinger E.J., Salazar M.P., Houghton J.M., Thomashow M.F. (1998): Low Temperature Regulation of the *Arabidopsis* CBF Family of AP2 Transcriptional Activators as an Early Step in Cold-Induced *COR* Gene Expression. *The Plant Journal* **16**: 433–442.
- Graham D., Patterson B.D. (1982): Responses of Plants to Low, Nonfreezing Temperatures: Proteins, Metabolism, and Acclimation. *Annual Review of Plant Physiology* **33**: 347–372.
- Guy C.L. (1990): Cold Acclimation and Freezing Stress Tolerance: Role of Protein Metabolism. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **41**: 187–223.
- Guy C.L., Carter J. V. (1984): Fatty Acid Composition During Rapid Low-Temperature Induced Cold Acclimation of *Cornus sericea*. *Plant Science Letters* **34**: 95–101.
- Guy C.L., Niemi K.J., Brambl R. (1985): Altered Gene Expression During Cold Acclimation of Spinach. Proceedings of the National Academy of Sciences **82**: 3673–3677.
- Hajjhashemi S., Noedoost F., Geuns J.M.C., Djalovic I., Siddique K.H.M. (2018): Effect of Cold

- Stress on Photosynthetic Traits, Carbohydrates, Morphology, and Anatomy in Nine Cultivars of *Stevia rebaudiana*. *Frontiers in Plant Science* **9**: 1430.
- Havaux M., Kloppstech K. (2001): The Protective Functions of Carotenoid and Flavonoid Pigments Against Excess Visible Radiation at Chilling Temperature Investigated in *Arabidopsis npq* and *tt* Mutants. *Planta* **213**: 953–966.
- Helliwell C.A., Wood C.C., Robertson M., James Peacock W., Dennis E.S. (2006): The *Arabidopsis* FLC Protein Interacts Directly *in vivo* with *SOCl* and *FT* Chromatin and Is Part of a High-Molecular-Weight Protein Complex. *The Plant Journal* **46**: 183–192.
- Hilker M., Schwachtje J., Baier M., Balazadeh S., Bäurle I., Geiselhardt S., Hinch D.K., Kunze R., Mueller-Roeber B., Rillig M.C., Rolff J., Romeis T., Schmülling T., Steppuhn A., Dongen J. van, Whitcomb S.J., Wurst S., Zuther E., Kopka J. (2015): Priming and Memory of Stress Responses in Organisms Lacking a Nervous System. *Biological Reviews* **91**: 1118–1133.
- Hoermiller I.I., Naegele T., Augustin H., Stutz S., Weckwerth W., Heyer A.G. (2017): Subcellular Reprogramming of Metabolism During Cold Acclimation in *Arabidopsis thaliana*. *Plant, Cell and Environment* **40**: 602–610.
- Hossain M.A., Li Z.G., Hoque T.S., Burritt D.J., Fujita M., Munné-Bosch S. (2017): Heat or Cold Priming-Induced Cross-Tolerance to Abiotic Stresses in Plants: Key Regulators and Possible Mechanisms. *Protoplasma* **255**: 399–412.
- Hu Y., Jiang L., Wang F., Yu D. (2013): Jasmonate Regulates the INDUCER OF CBF EXPRESSION–C-REPEAT BINDING FACTOR/DRE BINDING FACTOR1 Cascade and Freezing Tolerance in *Arabidopsis*. *The Plant Cell* **25**: 2907–2924.
- Hua J., Grisafi P., Cheng S.H., Fink G.R. (2001): Plant Growth Homeostasis is Controlled by the *Arabidopsis BON1* and *BAP1* Genes. *Genes & Development* **15**: 2263–2272.
- Huang C., Ding S., Zhang H., Du H., An L. (2011): CIPK7 Is Involved in Cold Response by Interacting with CBL1 in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Science* **181**: 57–64.
- Hundertmark M., Hinch D.K. (2008): LEA (Late Embryogenesis Abundant) Proteins and Their Encoding Genes in *Arabidopsis thaliana*. *BMC Genomics* **9**: 1–22.
- Ingram J., Bartels D. (1996): The Molecular Basis of Dehydration Tolerance in Plants. *Annual*

- Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology **47**: 377–403.
- Ishitani M., Xiong L., Lee H., Stevenson B., Zhu J.K. (1998): HOS1, a Genetic Locus Involved in Cold-Responsive Gene Expression in *Arabidopsis*. The Plant Cell **10**: 1151–1161.
- Jacobsen J. V., Barrero J.M., Hughes T., Julkowska M., Taylor J.M., Xu Q., Gubler F. (2013): Roles for Blue Light, Jasmonate and Nitric Oxide in the Regulation of Dormancy and Germination in Wheat Grain (*Triticum aestivum* L.). Planta **238**: 121–138.
- Jaikumar N.S., Snapp S.S., Sharkey T.D. (2016): Older *Thinopyrum intermedium* (*Poaceae*) plants Exhibit Superior Photosynthetic Tolerance to Cold Stress and Greater Increases in Two Photosynthetic Enzymes under Freezing Stress Compared with Young Plants. Journal of Experimental Botany **67**: 4743–4753.
- Janská A., Maršík P., Zelenková S., Ovesná J. (2010): Cold Stress and Acclimation – What Is Important for Metabolic Adjustment? Plant Biology **12**: 395–405.
- Jung J.H., Park J.H., Lee S., To T.K., Kim J.M., Seki M., Park C.M. (2013): The Cold Signaling Attenuator HIGH EXPRESSION OF OSMOTICALLY RESPONSIVE GENE1 Activates FLOWERING LOCUS C Transcription via Chromatin Remodeling under Short-Term Cold Stress in *Arabidopsis*. The Plant Cell **25**: 4378–4390.
- Juszczak I., Cvetkovic J., Zuther E., Hinch D.K., Baier M. (2016): Natural Variation of Cold Deacclimation Correlates with Variation of Cold-Acclimation of the Plastid Antioxidant System in *Arabidopsis thaliana* Accessions. Frontiers in Plant Science **7**.
- Juszczak I., Rudnik R., Pietzenuk B., Baier M. (2012): Natural Genetic Variation in the Expression Regulation of the Chloroplast Antioxidant System among *Arabidopsis thaliana* Accessions. Physiologia Plantarum **146**: 53–70.
- Kaplan F., Kopka J., Haskell D.W., Zhao W., Schiller K.C., Gatzke N., Sung D.Y., Guy C.L. (2004): Exploring the Temperature - Stress Metabolome of *Arabidopsis*. Plant Physiology **136**: 4159–4168.
- Kaplan F., Kopka J., Sung D.Y., Zhao W., Popp M., Porat R., Guy C.L. (2007): Transcript and Metabolite Profiling During Cold Acclimation of *Arabidopsis* Reveals an Intricate Relationship of Cold-Regulated Gene Expression with Modifications in Metabolite Content. The Plant Journal **50**: 967–981.

- Keith C.N., McKersie B.D. (1986): The Effect of Abscisic Acid on the Freezing Tolerance of Callus Cultures of *Lotus corniculatus* L. *Plant Physiology* **80**: 766–770.
- Kim D.-H., Sung S. (2017): Vernalization-Triggered Intragenic Chromatin Loop Formation by Long Noncoding RNAs. *Developmental Cell* **40**: 302-312.
- Kim J.S., Jung H.J., Lee H.J., Kim K.A., Goh C.H., Woo Y., Oh S.H., Han Y.S., Kang H. (2008): Glycine-Rich RNA-Binding Protein7 Affects Abiotic Stress Responses by Regulating Stomata Opening and Closing in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal* **55**: 455–466.
- Kim S.Y. (2006): The Role of ABF Family bZIP Class Transcription Factors in Stress Response. *Physiologia Plantarum* **126**: 519–527.
- Knight H., Trewavas A.J., Knight M.R. (1996): Cold Calcium Signalling in *Arabidopsis* Involves Two Cellular Pools and a Change in Calcium Signature after Acclimation. *The Plant Cell* **8**: 489–503.
- Knight M.R., Campbell A.K., Smith S.M., Trewavas A.J. (1991): Transgenic Plant Aequorin Reports the Effects of Touch and Cold-Shock and Elicitors on Cytoplasmic Calcium. *Nature* **352**: 524–526.
- Knight M.R., Knight H. (2012): Low-Temperature Perception Leading to Gene Expression and Cold Tolerance in Higher Plants. *New Phytologist* **195**: 737–751.
- Korn M., Gärtner T., Erban A., Kopka J., Selbig J., Hinch D.K. (2010): Predicting *Arabidopsis* Freezing Tolerance and Heterosis in Freezing Tolerance from Metabolite Composition. *Molecular Plant* **3**: 224–235.
- Kreyling J., Schmid S., Aas G. (2015): Cold Tolerance of Tree Species Is Related to the Climate of Their Native Ranges. *Journal of Biogeography* **42**: 156–166.
- Laxa M., Liebthal M., Telman W., Chibani K., Dietz K.J. (2019): The Role of the Plant Antioxidant System in Drought Tolerance. *Antioxidants* **8**: 94.
- Lee B.H., Henderson D.A., Zhu J.K. (2005): The *Arabidopsis* Cold-Responsive Transcriptome and Its Regulation by ICE1. *The Plant Cell* **17**: 3155–3175.
- Lee J.H., Jung J.H., Park C.M. (2015): INDUCER OF CBF EXPRESSION 1 Integrates Cold Signals into FLOWERING LOCUS C-Mediated Flowering Pathways in *Arabidopsis*. *The*

- Plant Journal **84**: 29–40.
- Leegood R.C., Edwards G.E. (1996): Carbon Metabolism and Photorespiration: Temperature Dependence in Relation to Other Environmental Factors. *Photosynthesis and the Environment* 191–221.
- Leuendorf J.E., Frank M., Schmülling T. (2020): Acclimation, Priming and Memory in the Response of *Arabidopsis thaliana* Seedlings to Cold Stress. *Scientific Reports* **10**: 1–11.
- Levitt J. (1980). *Responses of Plants to Environmental Stress*. Academic Press., New York.
- Leyva A., Jarillo J.A., Salinas J., Martinez-Zapater J.M. (1995): Low Temperature Induces the Accumulation of Phenylalanine Ammonia-Lyase and Chalcone Synthase mRNAs of *Arabidopsis thaliana* in a Light-Dependent Manner. *Plant Physiology* **108**: 39–46.
- Li X., Cai J., Liu F., Dai T., Cao W., Jiang D. (2014): Cold Priming Drives the Sub-Cellular Antioxidant Systems to Protect Photosynthetic Electron Transport against Subsequent Low Temperature Stress in Winter Wheat. *Plant Physiology and Biochemistry* **82**: 34–43.
- Lim C.C.K., Krebs S.L., Arora R. (2014): Cold Hardiness Increases with Age in Juvenile *Rhododendron* populations. *Frontiers in Plant Science* **5**: 542.
- Lindén L., Palonen P., Lindén M. (2000): Relating Freeze-Induced Electrolyte Leakage Measurements to Lethal Temperature in Red Raspberry. *Journal of the American Society for Horticultural Science* **125**: 429–435.
- Liu L., Duan L., Zhang J., Zhang Z., Mi G., Ren H. (2010): Cucumber (*Cucumis sativus* L.) Over-Expressing Cold-Induced Transcriptome Regulator ICE1 Exhibits Changed Morphological Characters and Enhances Chilling Tolerance. *Scientia Horticulturae* **124**: 29–33.
- Maxwell K., Johnson G.N. (2000): Chlorophyll Fluorescence - a Practical Guide. *Journal of Experimental Botany* **51**: 659–668.
- McCown B.H., McLeester R.C., Beck G.E., Hall T.C. (1969): Environment-Induced Changes in Peroxidase Zymograms in the Stems of Deciduous and Evergreen Plants. *Cryobiology* **5**: 410–412.
- McNamara S., Pellett H. (2000): Cold Hardiness of *Phellodendron sachalinense* Friedr. Schmidt Seedlings Increases with Age. *HortScience* **35**: 304–305.

- Mhamdi A., Queval G., Chaouch S., Vanderauwera S., Breusegem F. Van, Noctor G. (2010): Catalase Function in Plants: A Focus on *Arabidopsis* Mutants as Stress-Mimic Models. *Journal of Experimental Botany* **61**: 4197–4220.
- Miki Y., Takahashi D., Kawamura Y., Uemura M. (2019): Temporal Proteomics of *Arabidopsis* Plasma Membrane During Cold- and Deacclimation. *Journal of Proteomics* **197**: 71–81.
- Mittler R., Kim Y.S., Song L., Coutu J., Coutu A., Ciftci-Yilmaz S., Lee H., Stevenson B., Zhu J.K. (2006): Gain- and Loss-of-Function Mutations in *ZAT10* Enhance the Tolerance of Plants to Abiotic Stress. *FEBS Letters* **580**: 6537–6542.
- Miura K., Furumoto T. (2013): Cold Signaling and Cold Response in Plants. *International Journal of Molecular Sciences* **14**: 5312–5337.
- Miura K., Jing B.J., Lee J., Chan Y.Y., Stirm V., Miura T., Ashworth E.N., Bressan R.A., Yun D.J., Hasegawa P.M. (2007): SIZ1-Mediated Sumoylation of ICE1 Controls *CBF3/DREB1A* Expression and Freezing Tolerance in *Arabidopsis*. *The Plant Cell* **19**: 1403–1414.
- Miura K., Sato A., Shiba H., Kang S.W., Kamada H., Ezura H. (2012a): Accumulation of Antioxidants and Antioxidant Activity in Tomato, *Solanum lycopersicum*, Are Enhanced by the Transcription Factor SIICE1. *Plant Biotechnology* **29**: 261–269.
- Miura K., Shiba H., Ohta M., Kang S.W., Sato A., Yuasa T., Iwaya-Inoue M., Kamada H., Ezura H. (2012b): SIICE1 Encoding a MYC-Type Transcription Factor Controls Cold Tolerance in Tomato, *Solanum lycopersicum*. *Plant Biotechnology* **29**: 253–260.
- Nakaminami K., Matsui A., Nakagami H., Minami A., Nomura Y., Tanaka M., Morosawa T., Ishida J., Takahashi S., Uemura M., Shirasu K., Seki M. (2014): Analysis of Differential Expression Patterns of mRNA and Protein During Cold-Acclimation and Deacclimation in *Arabidopsis*. *Molecular and Cellular Proteomics* **13**: 3602–3611.
- Novillo F., Alonso J.M., Ecker J.R., Salinas J. (2004): CBF2/DREB1C Is a Negative Regulator of *CBF1/DREB1B* and *CBF3/DREB1A* Expression and Plays a Central Role in Stress Tolerance in *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **101**: 3985–3990.
- Nurhasanah Ritonga F., Chen S. (2020): Physiological and Molecular Mechanism Involved in Cold Stress Tolerance in Plants. *Plants* **9**: 560.

- Olsen K.M., Lea U.S., Slimestad R., Verheul M., Lillo C. (2008): Differential Expression of Four *Arabidopsis* *PAL* Genes; *PAL1* and *PAL2* Have Functional Specialization in Abiotic Environmental-Triggered Flavonoid Synthesis. *Journal of Plant Physiology* **165**: 1491–1499.
- Oono Y., Seki M., Satou M., Iida K., Akiyama K., Sakurai T., Fujita M., Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K. (2006): Monitoring Expression Profiles of *Arabidopsis* Genes During Cold Acclimation and Deacclimation Using DNA Microarrays. *Functional and Integrative Genomics* **6**: 212–234.
- Örvar B.L., Sangwan V., Omann F., Dhindsa R.S. (2000): Early Steps in Cold Sensing by Plant Cells: The Role of Actin Cytoskeleton and Membrane Fluidity. *The Plant Journal* **23**: 785–794.
- Pagter M., Alpers J., Erban A., Kopka J., Zuther E., Hinch D.K. (2017): Rapid Transcriptional and Metabolic Regulation of the Deacclimation Process in Cold Acclimated *Arabidopsis thaliana*. *BMC Genomics* **18**: 1–17.
- Pagter M., Arora R. (2013): Winter Survival and Deacclimation of Perennials under Warming Climate: Physiological Perspectives. *Physiologia Plantarum* **147**: 75–87.
- Pagter M., Sergeant K., Møller S.M., Bertram H.C., Renaut J. (2014): Changes in the Proteome and Water State in Bark and Xylem of *Hydrangea paniculata* During Loss of Freezing Tolerance. *Environmental and Experimental Botany* **106**: 99–111.
- Paredes M., Quiles M.J. (2015): The Effects of Cold Stress on Photosynthesis in *Hibiscus* Plants. *PLOS ONE* **10**.
- Pihakaski K., Junnila S. (1988): Cold Acclimation of Subarctic *Diapensia lapponica* L. *Functional Ecology* **2**: 221.
- Poirier M., Lacoïnte A., Améglio T. (2010): A Semi-Physiological Model of Cold Hardening and Dehardening in Walnut Stem. *Tree Physiology* **30**: 1555–1569.
- Pollock C.J., Lloyd E.J. (1987): The Effect of Low Temperature upon Starch, Sucrose and Fructan Synthesis in Leaves. *Annals of Botany* **60**: 231–235.
- Prasad T.K., Anderson M.D., Martin B.A., Stewart R. (1994a): Evidence for Chilling-Induced Oxidative Stress in Maize Seedlings and a Regulatory Role for Hydrogen Peroxide. *The Plant*

Cell **6**: 65–74.

Prasad T.K., Anderson M.D., Stewart C.R. (1994b): Acclimation, Hydrogen Peroxide, and Abscisic Acid Protect Mitochondria against Irreversible Chilling Injury in Maize Seedlings. *Plant Physiology* **105**: 619–627.

Rankenberg T., Geldhof B., Veen H. van, Holsteens K., Poel B. Van de, Sasidharan R. (2021): Age-Dependent Abiotic Stress Resilience in Plants. *Trends in Plant Science* **26**: 692–705.

Rapacz M., Jurczyk B., Sasal M. (2017): Deacclimation May Be Crucial for Winter Survival of Cereals under Warming Climate. *Plant Science* **256**: 5–15.

Renaut J., Hausman J.F., Wisniewski M.E. (2006): Proteomics and Low-Temperature Studies: Bridging the Gap between Gene Expression and Metabolism. *Physiologia Plantarum* **126**: 97–109.

Riov J., Brown G.N. (1976): Comparative Studies of Activity and Properties of Ferredoxin–NADP+ Reductase During Cold Hardening of Wheat. *Canadian Journal of Botany* **54**: 1896–1902.

Ristic Z., Ashworth E.N. (1993): Changes in Leaf Ultrastructure and Carbohydrates in *Arabidopsis thaliana* L. (Heyn) cv. Columbia During Rapid Cold Acclimation. *Protoplasma* **172**: 111–123.

Rowland L.J., Alkharouf N., Darwish O., Ogden E.L., Polashock J.J., Bassil N. V., Main D. (2012): Generation and Analysis of Blueberry Transcriptome Sequences from Leaves, Developing Fruit, and Flower Buds from Cold Acclimation through Deacclimation. *BMC Plant Biology* **12**: 1–18.

Scott I.M., Clarke S.M., Wood J.E., Mur L.A.J. (2004): Salicylate Accumulation Inhibits Growth at Chilling Temperature in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* **135**: 1040–1049.

Seo E., Lee H., Jeon J., Park H., Kim J., Noh Y.S., Lee I. (2009): Crosstalk between Cold Response and Flowering in *Arabidopsis* Is Mediated through the Flowering-Time Gene *SOC1* and Its Upstream Negative Regulator FLC. *The Plant Cell* **21**: 3185–3197.

Sheldon C.C., Rouse D.T., Finnegan E.J., Peacock W.J., Dennis E.S. (2000): The Molecular Basis of Vernalization: The Central Role of FLOWERING LOCUS C (*FLC*). *Proceedings of the*

- National Academy of Sciences **97**: 3753–3758.
- Shin H., Oh Y., Kim D. (2015): Differences in Cold Hardiness, Carbohydrates, Dehydrins and Related Gene Expressions under an Experimental Deacclimation and Reacclimation in *Prunus persica*. *Physiologia Plantarum* **154**: 485–499.
- Shu K., Zhang H., Wang S., Chen M., Wu Y., Tang S., Liu C., Feng Y., Cao X., Xie Q. (2013): ABI4 Regulates Primary Seed Dormancy by Regulating the Biogenesis of Abscisic Acid and Gibberellins in *Arabidopsis*. *PLOS Genetics* **9**.
- Sin'kevich M.S., Selivanov A.A., Antipina O. V., Kropocheva E. V., Alieva G.P., Suvorova T.A., Astakhova N. V., Moshkov I.E. (2016): Activities of Antioxidant Enzymes of *Arabidopsis thaliana* Plants During Cold Hardening to Hypothermia. *Russian Journal of Plant Physiology* **63**: 749–753.
- Smeeckens S. (2000): Sugar-Induced Signal Transduction in Plants. *Annual Review of Plant Biology* **51**: 49–81.
- Song J., Angel A., Howard M., Dean C. (2012): Vernalization - A Cold-Induced Epigenetic Switch. *Journal of Cell Science* **125**: 3723–3731.
- Stief A., Altmann S., Hoffmann K., Pant B.D., Scheible W.R., Bäurle I. (2014): *Arabidopsis* miR156 Regulates Tolerance to Recurring Environmental Stress through SPL Transcription Factors. *The Plant Cell* **26**: 1792–1807.
- Strand Å., Hurry V., Gustafsson P., Gardeström P. (1997): Development of *Arabidopsis thaliana* Leaves at Low Temperatures Releases the Suppression of Photosynthesis and Photosynthetic Gene Expression despite the Accumulation of Soluble Carbohydrates. *The Plant Journal* **12**: 605–614.
- Sung S., Amasino R.M. (2004): Vernalization in *Arabidopsis thaliana* Is Mediated by the PHD Finger Protein VIN3. *Nature* **427**: 159–164.
- Suzuki K., Ohmori Y., Ratel E. (2011): High Root Temperature Blocks Both Linear and Cyclic Electron Transport in the Dark During Chilling of the Leaves of Rice Seedlings. *Plant and Cell Physiology* **52**: 1697–1707.
- Tähtiharju S., Sangwan V., Monroy A.F., Dhindsa R.S., Borg M. (1997): The Induction of *kin*

- Genes in Cold-Acclimating *Arabidopsis thaliana*. Evidence of a Role for Calcium. *Planta* **203**: 442–447.
- Thalhammer A., Bryant G., Sulpice R., Hinch D.K. (2014): Disordered Cold Regulated15 Proteins Protect Chloroplast Membranes during Freezing through Binding and Folding, But Do Not Stabilize Chloroplast Enzymes *in vivo*. *Plant Physiology* **166**: 190–201.
- Thomashow M.F. (1998): Role of Cold-Responsive Genes in Plant Freezing Tolerance. *Plant Physiology* **118**: 1–8.
- Thomashow M.F. (1999): Plant Cold Acclimation: Freezing Tolerance Genes and Regulatory Mechanisms. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **50**: 571–599.
- Thomashow M.F. (2001): So What’s New in the Field of Plant Cold Acclimation? Lots! *Plant Physiology* **125**: 89–93.
- Thomashow M.F., Gilmour S.J., Stockinger E.J., Jaglo-Ottosen K.R., Zarka D.G. (2001): Role of the *Arabidopsis* CBF Transcriptional Activators in Cold Acclimation. *Physiologia Plantarum* **112**: 171–175.
- Tian Y., Zheng H., Zhang F., Wang S., Ji X., Xu C., He Y., Ding Y. (2019): PRC2 Recruitment and H3K27me3 Deposition at *FLC* Require FCA Binding of *COOLAIR*. *Science Advances* **5**: 7246–7270.
- Timperio A.M., Egidi M.G., Zolla L. (2008): Proteomics Applied on Plant Abiotic Stresses: Role of Heat Shock Proteins (HSP). *Journal of Proteomics* **71**: 391–411.
- Tuttle K.M., Martinez S.A., Schramm E.C., Takebayashi Y., Seo M., Steber C.M. (2015): Grain Dormancy Loss Is Associated with Changes in ABA and GA Sensitivity and Hormone Accumulation in Bread Wheat, *Triticum aestivum* (L.). *Seed Science Research* **25**: 179–193.
- Vitasse Y., Lenz A., Körner C. (2014): The Interaction between Freezing Tolerance and Phenology in Temperate Deciduous Trees. *Frontiers in Plant Science* **5**.
- Vitra A., Lenz A., Vitasse Y. (2017): Frost Hardening and Dehardening Potential in Temperate Trees from Winter to Budburst. *New Phytologist* **216**: 113–123.
- Vyse K., Pagter M., Zuther E., Hinch D.K. (2019): Deacclimation After Cold Acclimation - a Crucial, but Widely Neglected Part of Plant Winter Survival. *Journal of Experimental Botany*

70: 4595–4604.

- Wanner L.A., Junttila O. (1999): Cold-Induced Freezing Tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* **120**: 391–399.
- Wisniewski M., Arora R. (1993): Adaptation and Response of Fruit Trees to Freezing Temperatures. *Cytology, Histology, and Histochemistry of Fruit Tree Diseases* 299–320.
- Xin Z., Browse J. (2000): Cold Comfort Farm: The Acclimation of Plants to Freezing Temperatures. *Plant, Cell and Environment* **23**: 893–902.
- Xu Q., Truong T.T., Barrero J.M., Jacobsen J. V., Hocart C.H., Gubler F. (2016): A Role for Jasmonates in the Release of Dormancy by Cold Stratification in Wheat. *Journal of Experimental Botany* **67**: 3497–3508.
- Yadav S.K. (2010): Cold Stress Tolerance Mechanisms in Plants. A Review. *Agronomy for Sustainable Development* **30**: 515–527.
- Yang H., Yang S., Li Y., Hua J. (2007): The *Arabidopsis BAPI* and *BAP2* Genes Are General Inhibitors of Programmed Cell Death. *Plant Physiology* **145**: 135–146.
- Yoo S.K., Chung K.S., Kim J., Lee J.H., Hong S.M., Yoo S.J., Yoo S.Y., Lee J.S., Ahn J.H. (2005): CONSTANS Activates SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS 1 through FLOWERING LOCUS T to Promote Flowering in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* **139**: 770–778.
- Zeller G., Henz S.R., Widmer C.K., Sachsenberg T., Rättsch G., Weigel D., Laubinger S. (2009): Stress-Induced Changes in the *Arabidopsis thaliana* Transcriptome Analyzed Using Whole-Genome Tiling Arrays. *The Plant Journal* **58**: 1068–1082.
- Zhang S., Scheller H.V. (2004): Photoinhibition of Photosystem I at Chilling Temperature and Subsequent Recovery in *Arabidopsis thaliana*. *Plant and Cell Physiology* **45**: 1595–1602.
- Zhao C., Wang P., Si T., Hsu C.C., Wang L., Zayed O., Yu Z., Zhu Y., Dong J., Tao W.A., Zhu J.K. (2017): MAP Kinase Cascades Regulate the Cold Response by Modulating ICE1 Protein Stability. *Developmental Cell* **43**: 629.
- Zuther E., Schaarschmidt S., Fischer A., Erban A., Pagter M., Mubeen U., Giavalisco P., Kopka J., Sprenger H., Hincha D.K. (2019): Molecular Signatures Associated with Increased Freezing

Tolerance due to Low Temperature Memory in *Arabidopsis*. *Plant, Cell and Environment* **42**: 854–873.

Životopis

Rođen sam u Osijeku gdje sam završio osnovnoškolsko obrazovanje u OŠ Vijenac. Srednjoškolsko sam obrazovanje nastavio u Isusovačkoj klasičnoj gimnaziji s pravom javnosti u Osijeku, a diplomu sam stekao u *The Storm King School* u saveznoj državi New York u Sjedinjenim Američkim Državama završivši četvrti razred srednje škole. Potom sam 2020. godine započeo prijediplomski studij Molekularna biologija na Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkoga fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. U sklopu studija sam volonterski sudjelovao na Noći biologije 2022. godine. Tijekom akademske godine 2022./2023. obavljao sam laboratorijsku stručnu praksu iz područja fiziologije bilja pod vodstvom prof. dr. sc. Željke Vidaković-Cifrek. U travnju 2023. godine primljen sam na *Eidgenössische Technische Hochschule* u Zürichu u Švicarskoj na diplomski studij Molekularna i strukturna biologija.