

# Fyziologie rostlin

Učební text k přednášce Bi4060 na přírodovědecké fakultě MU v Brně.  
Určeno pouze ke studijním účelům. Autor textu Jan Gloser.

## 4. ČÁST - STRESOVÁ FYZIOLOGIE

### Funkce rostlin v různých typech prostředí - obecné problémy

Většina základních fyziologických poznatků byla získána na omezeném počtu "modelových" druhů rostlin, a to ještě pěstovaných za stálých podmínek blízkých optima. Pro analytické poznávání jednotlivých funkcí je tento postup jistě výhodný. V přírodě však rostliny rostou často za podmínek mnohem méně příznivých. Faktory prostředí, které je obklopuje, kolísají v širokých mezích, často až na samou hranici existenčního minima. Přežití v těchto podmínkách by bylo sotva možné bez schopnosti *přizpůsobování (adaptability)*. Čím více a déle se vnější prostředí odchyluje od optima, tím více trvalých změn struktur a funkcí nacházíme u organismů žijících v tomto prostředí.

Každý rostlinný druh prošel od svého vzniku složitým selekčním sítím nejrůznějších kombinací vnějších podmínek. Selektce neprobíhala na úrovni jednoho procesu či funkce, ale vždy na úrovni fenotypových projevů celého organismu. Úspěšné druhy nemusejí mít proto zrovna nejlepší parametry v určitém znaku, který považujeme za nejdůležitější. Rozhodující bývá často vyrovnanost ve více znacích. Limitujícími faktory totiž působí na rostlinu v průběhu krátké doby obvykle více a přizpůsobení k nim může klást protichůdné požadavky na funkční i strukturní změny. Také kolísání některých faktorů prostředí (např. záření, teploty, vlhkosti půdy) je velké a nepravidelné, takže jednoznačně optimální přizpůsobení ani není možné.

**Přizpůsobením** rozumíme veškeré modifikace funkcí a struktury rostliny pod vlivem určitého typu prostředí, které zvyšují pravděpodobnost přežití a reprodukce. Dědičně fixované změny označujeme jako *adaptace*, krátkodobé, nedědičné změny v rámci fenotypové plasticity jistého genotypu jsou *aklimace*.

Oba uvedené typy přizpůsobení mohou mít povahu *kvalitativní* (např. syntéza látek nové struktury) či *kvantitativní* (syntéza většího množství již dříve přítomných sloučenin). Může k nim docházet na buněčné úrovni i na úrovních organizačně vyšších (pletiva, orgány, celá rostlina). Přizpůsobení struktury (morfologie) a fyziologických funkcí je obvykle na sebe velmi úzce vázáno. Přejídné, aklimační zvýšení odolnosti může být založeno jak na změnách rychle pomíjivých (zvýšení aktivity některého enzymu, tvorba specifických metabolitů), tak i trvalejších (změny v tvorbě nových orgánů a v jejich vnitřní struktuře).

**Prostředí** ovlivňující funkce rostlin v přírodě je složitý komplex faktorů, který nelze charakterizovat jedním souhrnným znakem, ale je nutný rozklad na jednotlivé složky. Nejběžnější je dělení faktorů prostředí do tří kategorií: *fyzikální, chemické a biotické*.

Z prostorového hlediska je možné dělení na faktory *klimatické* (působící na nadzemní části rostlin) a *edafické* (půdní). Někdy je také výhodné rozdělit složky prostředí na *zdrojové* (tedy zdroje hmoty a energie pro rostliny - fotosynteticky aktivní záření, oxid uhličitý, voda a minerální živiny) a *modifikační* (např. teplota, toxické látky, biotické vlivy).

U těch složek prostředí, které jsou nezbytné pro funkce rostliny, můžeme stanovit jejich *prahovou hodnotu* (= úroveň, při které je již působení na rostlinu měřitelné), *hodnotu nasycení* (saturace, zabezpečující optimální funkci) a dále hodnoty inhibiční až letální. Velmi často se mohou účinky jednotlivých faktorů sčítat či násobit (*aditivní a multiplikativní působení*), někdy mohou být i ve složitějších typech vzájemných interakcí.

Intenzivní výzkum vztahů mezi prostředím a fyziologickými procesy je velmi často motivován potřebou přispět k řešení závažných *ekologických* problémů. V prvé řadě jde o vysvětlení příčin výskytu a prosperity různých druhů rostlin v určitých typech prostředí, o poskytnutí podkladů pro mechanistické prediktivní modely utváření a vývoje rostlinných společenstev a rychlosti produkce rostlinné biomasy. Na tuto problematiku se zaměřuje *ekologická fyziologie* (*ekofyziologie*), která se v současné době velmi rychle rozvíjí. Jejím cílem není tedy studium základních principů fyziologických procesů, ale spíše využití detailních znalostí těchto procesů pro syntetické hodnocení významnosti různých mechanismů adaptace a aklimace rostlin k převažujícím vnějším podmínkám. Jde o rozsáhlou hraniční disciplínu, ve které nevystačíme jen se sběrem dat o fyziologických procesech rostlin v určitém typu prostředí. Obvykle je nutno s nemenší intenzitou sledovat i variabilitu faktorů prostředí, strukturní charakteristiky rostlin (např. orientaci jednotlivých orgánů v prostoru, horizontální variabilitu rozmístění rostlin v porostech, druhové složení porostů, populační dynamiku, atd.). V ekologické fyziologii často nejde jenom o zkoumání schopností přizpůsobení k *aktuálnímu* působení prostředí, ale také o posouzení výhodnosti jistého typu chování rostlin v *delším časovém měřítku* (měsíce, roky). Fyziologické procesy jsou pak chápány jako regulační člen celkového koloběhu uhlíku, vody a minerálních živin v ekosystémech. Užitečný může být také "ekonomický" pohled na funkce rostlin, spojený s hodnocením účinnosti transformace zdrojů hmoty a energie, či s aplikací analýzy náklady-prospěch (*cost-benefit analysis*).

V rámci ekologické fyziologie se zvláště bouřlivě rozvíjí dílčí směr označovaný jako *stresová fyziologie*. Ta se speciálně zaměřuje jen na *nepříznivé působení* jednotlivých faktorů prostředí (= *stresové faktory*, *stresory*) na rostliny. Kromě rostlinných ekologů má velký zájem na tomto výzkumu zemědělská praxe, neboť vyšlechtění nových genotypů polních plodin s větší odolností k nepříznivým podmínkám je z mnoha důvodů velmi žádoucí. Racionální postup při tvorbě odolnějších genotypů by měl vycházet ze znalostí fyziologických mechanismů podmiňujících zvýšenou odolnost.

## Koncepční přístup ke studiu stresu u rostlin

Termín *stres* je obvykle (i když nejednotně) používán pro souhrnné označení *stavu*, ve kterém se rostlina nachází pod vlivem stresorů. Nejde přitom nikdy o nějaký ustálený a snadno definovatelný stav, ale spíše o dynamický komplex mnoha reakcí. Problematika stresu je u rostlin komplikovanější než ve fyziologii živočichů. Je to dáno nejen jejich přisedlým způsobem života, který neumožňuje únik před působením stresorů, ale také tím, že u rostlin je mnohem větší mezidruhová variabilita i heterogenita vnitřního prostředí (buněk, pletiv). Ta se projevuje značným kolísáním fyzikálně-chemických parametrů rostlinných buněk i v průběhu „normálního“ fungování. Potíže se stanovením reakční normy se pak nutně přenáší i do stanovení počátku „nenormálních“, tedy stresových reakcí.

Výzkum vztahů mezi vnějším prostředím a stresem v rostlinách obvykle začíná studiem přenosu podnětů vyvolávajících stres na rozhraní orgánů rostliny s vnějším prostředím, a dále pak přenosem signálů uvnitř rostliny. Stresové faktory, ať už fyzikálně-chemické či biotické, mohou pronikat do vnitřního prostředí rostlin různých druhů nesterjně snadno, a to především v důsledku různě vyvinutých ochranných struktur. Tento způsob ochrany má převážně pasivní a dlouhodobý charakter (např. tlustá kutikula na listech, výrazná impregnace buněčných stěn, rezervoáry vody a snadno rozložitelných organických látek, tlumící jejich nedostatek). Jedná se vlastně o schopnost *vyhnout se stresu* (*stress avoidance*, Levitt 1980), ke které přispívají také vhodně načasované životní cykly.

Z fyziologického hlediska jsou mnohem zajímavější mechanismy *aktivní odolnosti* (*stress tolerance*), omezující negativní dopad stresorů až po jejich proniknutí k plazmatické membráně buněk a do symplastu. V takovém případě dochází ke spuštění řetězce změn, který

bývá označován jako *stresová reakce*. S vědomím značné dávky zjednodušení lze i u rostlin přijmout obecné schéma průběhu reakce organismu na stres, známé z živočišné fyziologie. Bezprostředně po začátku působení stresového faktoru dochází k narušení buněčných struktur a funkcí (*poplachová fáze*). Pokud intenzita působení stresoru nepřekročí letální úroveň, dochází záhy k mobilizaci kompenzačních mechanismů (*restituční fáze*), které směřují ke zvýšení odolnosti rostliny vůči působícím faktorům (*fáze rezistence*). Ne vždy však toto zvýšení má trvalý charakter. Při dlouhodobém a intenzivním působení stresového faktoru může být vystřídáno dalším poklesem (*fáze vyčerpání*).

Základní schéma průběhu stresové reakce ale nevypovídá vůbec nic o rozmanitosti vlastního působení stresorů, ani o koordinaci složitého komplexu reakcí, kterými je podložena odpověď rostliny na jejich působení. Tato neobyčejně rozsáhlá problematika je v současné době intenzivně studována na různých organizačních úrovních, od molekulových a genetických základů až po integrující projevy celé rostliny. V následujícím textu bude možné podat jen velmi stručné shrnutí základních poznatků, a to jednak o zvláštích působení jednotlivých stresorů, jednak o některých společných mechanismech stresových reakcí.

Předem je však potřeba zdůraznit, že průběh stresové reakce a její konečný výsledek závisí jak na intenzitě a délce působení stresového faktoru na danou rostlinu, tak i na geneticky vázaných předpokladech odpovědi, souhrnně označovaných jako *adaptační schopnosti*. Zvýšení odolnosti a opětovné ustavení homeostáze i za dlouhodobého působení stresorů bývá obvykle dosahováno jen za cenu jistých dodatečných energetických nákladů, hlavně na syntézu specifických metabolitů. I některé další změny v metabolismu zajišťující vysokou odolnost (např. udržování zvýšené koncentrace osmoticky aktivních látek) bývají často provázány snížením rychlosti získávání nových zdrojů hmoty a energie, a tedy i snížením rychlosti tvorby biomasy. Změny struktur a funkcí rostliny vedoucí k nízké efektivitě získávání zdrojů mohou přetrvávat ještě hodně dlouho po návratu vnějších podmínek k optimu, někdy i po celý zbytek vegetačního období.

Působení stresorů (např. nízké teploty) však může na druhé straně podmiňovat průběh důležitých morfogenetických procesů, např. klíčení či tvorbu květních orgánů, a tím zvýšit reprodukční schopnosti i kompetiční úspěšnost. Nelze se tomu divit, vždyť celý dlouhý proces evoluce rostlin nepochybně probíhal pod vlivem stresových faktorů. Ty z nich, které měly dostatečně pravidelný, periodický výskyt, mohly být "využity" nejen ke spouštění stresové reakce, ale i jako signál pro řízení jiných fyziologických procesů, které se zvýšením odolnosti neměly žádnou přímou souvislost. Z toho je zřejmé, jak obtížné může být posuzování příznivosti či nepříznivosti vnějších faktorů pro rostliny a současně jak významné je časové měřítko při tomto hodnocení.

Studium stresu u rostlin rostoucích v přírodních podmínkách je dále komplikováno tím, že často více stresových faktorů působí současně (např. silné záření, vysoká teplota a nedostatek vody). Interakce mezi nimi mohou podstatně měnit charakter stresové reakce ve srovnání s působením každého faktoru odděleně. Působení stresorů bývá také často omezeno jen na jednu část rostliny (listy či kořeny) ve které dochází k lokální stresové reakci, ale ta může druhotně způsobovat stres i v ostatních orgánech.

## **Společné mechanismy stresových reakcí**

Stresové a aklimační reakce, podobně jako některé jiné projevy fenotypové plasticity, neprobíhají nahodile. Jsou závislé na "programech" aktivace určitých genů, které mohou být za jistých okolností spuštěny, a to někdy i několika odlišnými mechanismy. Tyto programy jsou často evolučně velice staré. Proto také například náhlým zvýšením teploty (teplotním šokem) můžeme indukovat tvorbu skupiny proteinů, jejichž zastoupení je shodné nejen u všech druhů rostlin, ale i u mikrobů a živočichů. Hlavní abiotické stresové faktory, jako např. nedostatek vody, extrémní teploty či zasolení, formovaly metabolické procesy živých

organismů už od samého začátku kolonizace souší. Dokonalá a *trvalá* adaptace k široké amplitudě kolísání vnějších faktorů nebyla možná, už jen z důvodů fyzikálně-chemických vlastností základních stavebních kamenů živé hmoty, makromolekul a membrán. Jediným možným řešením byla *dočasná* úprava struktur a metabolických cest podle aktuálního stavu vnějších podmínek, a také zajištění rychlé opravy poškozených součástí.

Metabolické změny v buňkách při působení i velmi odlišných stresorů mají sice řadu společných znaků, avšak představa jediné obecně platné stresové reakce je nereálná. Jedná se spíše o jisté *dílčí komplexy* společných reakcí, které vedou ke zvýšení odolnosti vůči několika stresorům současně. Připomeňme si alespoň ty nejčastější společné stresové reakce rostlin.

#### a) Příjem a vnitrobuněčný přenos signálů

Stresové reakce jsou spouštěny *podněty (signály)*, které mají fyzikální nebo chemickou povahu a pro které je v buňce vhodný receptor. Prakticky všechny dnes známé receptory jsou specializované proteiny umístěné především v plazmatické membráně, ale i v jiných částech buňky (např. v buněčné stěně, v cytosolu, v jádře). Přenos signálu z receptoru ke konečným *efektorům* (obvykle proteinům, na kterých bezprostředně závisí nějaká fyziologická funkce - např. enzymy primárního i sekundárního metabolismu, transportní proteiny v membránách, cytoskelet, transkripční faktory ovlivňující expresi genů) není podle našich současných znalostí realizován jedním lineárním řetězem mezičlánků (druhotných přenašečů, *second messengers*), ale spíše složitou sítí více paralelních cest.

Klíčovou úlohu v této síti mají jednak ionty *vápníku*, jednak početná skupina (více než 70) *proteinkináz*. Mnoho proteinů, zvláště enzymů, je totiž aktivováno až po navázání  $\text{Ca}^{2+}$  (za asistence proteinu *calmodulinu*) nebo fosfátové skupiny (pomocí proteinkináz). Ovšem jen zřídka přenáší receptor signál přímo na proteinkinázy či na vápníkové kanály, častěji bývá přenos zprostředkovan pomocí *G-proteinů* (či GTP-áz). Tyto proteiny se energeticky aktivují navázáním GTP (guanosintrifosfát), respektive jeho přeměnou z GDP (guanosin difosfát), ke které dojde kontaktem se stimulovanou molekulou receptoru. Aktivované G-proteiny jsou pak schopny přivádět do funkčního stavu další proteiny zapojené do šíření signálu (viz obrázek):

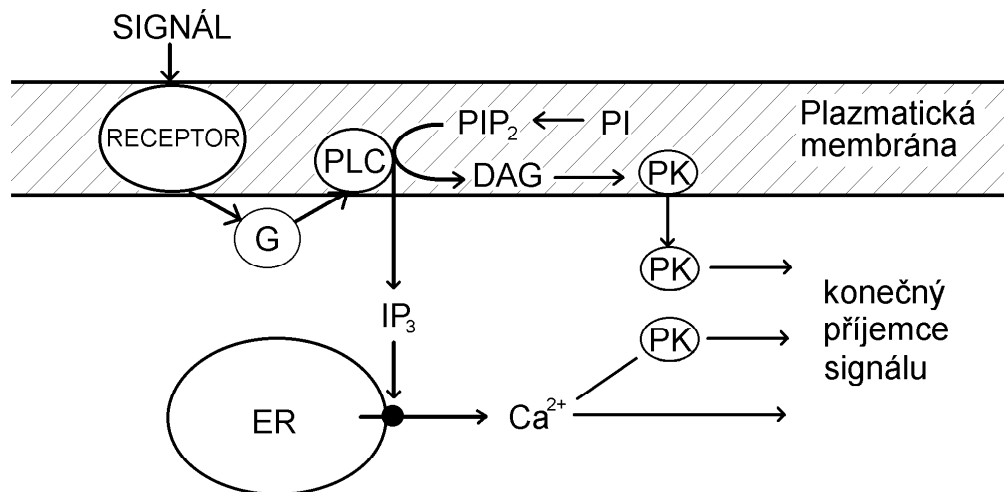


Schéma vnitrobuněčného přenosu signálu pomocí fosfoinositidového mechanismu: po zachycení signálu v receptoru dojde pomocí G-proteinu (G) k aktivaci fosfolipázy typu C (PLC). Ta štěpí fosfatidylinositol-4,5-bisfosfát ( $\text{PIP}_2$ ), vznikající z fosfatidylinositolu (PI), na inositol-1,4,5-trisfosfát ( $\text{IP}_3$ ) a diacylglycerol (DAG).  $\text{IP}_3$  stimuluje otevření vápníkových kanálů v endoplazmatickém retikulu (ER) a ionty vápníku pak aktivují příslušný efektor buď přímo či zprostředkovaně pomocí proteinkináz (PK). Paralelně může být zapojen do přenosu signálu i diacylglycerol. Přenos signálu obvykle končí aktivací specifického genu, aktivací některého z metabolicky významných enzymů, anebo také aktivací určitých transportních proteinů v membránách.

K otevření vápníkových kanálů (nejen v ER, ale i v plazmatické membráně a v tonoplastu) může dojít i přímým působením G-proteinů, změnou transmembránového potenciálu, i mechanickými podněty (např. změnami turgorového tlaku v buňce). Vzhledem k tomu, že koncentrace  $\text{Ca}^{2+}$  iontů v apoplastu, ve vakuole či v ER je nejméně tisíckrát větší než v cytosolu, probíhá transport otevřeným iontovým kanálem velmi rychle (asi  $10^6$  iontů za sekundu!). Po odeznění signálu je vápník transportován zpět z cytosolu pomocí vápníkových pump ( $\text{Ca}^{2+}$ -ATPáz) či pomocí  $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$  sekundárně aktivních přenašečů. K signalizaci mohou sloužit i rychlé změny (oscilace, vlny) koncentrace  $\text{Ca}^{2+}$  v buňce. Úloha iontů vápníku je pro vnitrobuněčnou signalizaci skutečně zásadní, je totiž známo více než sto enzymů aktivovaných navázáním  $\text{Ca}^{2+}$ . Aktivace neprobíhá současně v celém vnitřním prostoru buňky, nýbrž je lokalizovaná jen na místa s výskytem enzymu, který má být aktivován.

Přenos signálu pomocí proteinkináz může probíhat zcela nezávisle na iontech vápníku. Obvyklá cesta navazujících aktivací je: *receptor* → *G-protein* → *proteinkináza* → *efektor*, existují ovšem i další alternativní cesty a častá je taky funkce některých proteinkináz jako primárních receptorů signálu. U rostlin, stejně jako u živočichů, bývá někdy signál přenášen pomocí *kaskády proteinkináz*, ve které kináza aktivující efektorový protein je nejprve aktivována jinou (specifickou) kinázou, která ale opět vyžaduje aktivaci dalším typem kinázy - jedná se tedy o soustavu nejméně tří na sobě závislých kináz typu MAPK (*mitogen activated protein kinases*).

Popsaný způsob přenosu signálu je používán nejen za stresových situací, ale i k přenosu informací koordinujících růstové procesy, kdy primárním (vnějším) signálem může být záření či fytohormony. Za stresových situací však význam rychlé signalizace zvláště výrazně stoupá a k druhotným přenosům se využívají i některé další sloučeniny (např. peroxid vodíku, glutation, askorbát, jasmonáty a polyaminy).

### **b) Tvorba stresových proteinů**

Pod vlivem náhlého působení stresových faktorů a za asistence příslušných receptorů s navazujícím řetězcem vnitrobuněčných přenašečů signálů dochází často již během jedné hodiny k velmi dramatickým změnám v kvantitativním i kvalitativním zastoupení proteinů v buňkách. Tvorba některých prudce stoupá, tvorba jiných se naopak zastavuje. V hojně míře se ale také syntetizují proteiny, které se za normálních okolností vůbec nedají v buňkách zjistit. Změny v syntéze proteinů obvykle kulminují několik hodin po začátku působení stresoru. Poté dochází k pomalému návratu do původního stavu. Z několika desítek proteinů, jejichž syntéza se prudce zvyšuje (*stresové proteiny*), jen jistá část je specificky vázána na určitý stresový faktor. K indukci mnoha dalších dochází zcela pravidelně pod vlivem stresu obecně, tedy bez ohledu na to, jakým typem stresoru je vyvolán.

Nově tvořené stresové proteiny mají velmi rozmanitou velikost i funkci. Není příliš obtížné rozdělit je pomocí vhodných detekčních metod (např. pomocí dvojrozměrné gelové elektroforézy, přesněji pak pomocí hmotnostní spektrometrie) do skupin podle molekulové hmotnosti, která bývá obvykle v rozmezí od 8 do 260 kDa. Mnohem obtížnější je určit jejich funkci. Nejčastěji se jim přisuzuje významná úloha v *ochraně strukturní integrity* proteinů, nukleových kyselin a membrán (např. udržováním hydratačních obalů), a podílí se také na odstraňování či reparaci poškozených buněčných struktur. Někdy se jedná o *konstitutivní proteiny*, které patří k pravidelné výbavě všech buněk, ovšem za stresu se jejich množství mnohonásobně zvyšuje. Často plní funkci *chaperonů*, které slouží nejen k řízení změn konformace proteinů při transportech přes membrány, ale jsou schopny upravit jejich konformaci i při mírném poškození. Pokud ovšem dojde k velkým, nenapravitelným změnám, pak je takový protein „označen“ malou molekulou *ubikvitinu* a rozložen pomocí *proteáz* na aminokyseliny, které jsou využity k syntéze nových proteinů.

### c) *Koordinace stresových reakcí pomocí fytohormonů*

Pro zvýšení odolnosti vůči stresům je obvykle výhodné, aby reakce v jednotlivých buňkách probíhaly koordinovaně, a to i v okolí postiženého místa. To je zvláště důležité při mechanickém poranění rostliny či při pronikání patogenní houby. K šíření signálů mezi buňkami i na delší vzdálenosti využívají rostliny hlavně fytohormony. I když jsou to sloučeniny značně mobilní a mohou pronikat nejen k receptorům v plazmatické membráně, ale až do buněčného jádra, jejich působení na buněčné funkce (zejména na aktivaci genů) je téměř vždy zprostředkováno pomocí některého z článků vnitrobuněčné soustavy přenosu signálu, jak již bylo popsáno v kapitolách o fytohormonech ve 3. části učebních textů.

*Kyseliny abscisová (ABA), etylén a brassinosteroidy* patří k základním fytohormonům, jejichž zvýšená tvorba pravidelně provází působení většiny stresorů. Známe již desítky genů aktivovaných za stresových situací těmito fytohormony, ovšem zdaleka ještě neznáme význam všech nově syntetizovaných produktů. Vedle vyloženě kladných účinků (např. aktivace tvorby stresových proteinů a některých hydroláz) mají i výrazné *inhibiční* účinky na tvorbu některých enzymů (např. Rubisco,  $\alpha$ -amyláza, aj.), což vede ke zpomalení růstu. Význam ABA a brassinosteroidů pro zvýšení odolnosti vůči suchu a mrazu je všeobecně uznáván, úloha etylénu je již poněkud nejednoznačná - kromě aktivace antistresových mechanismů působí i rychlejší stárnutí postižených orgánů.

*Jasmonáty* (kyselina jasmonová, metyljasmonát), *polyaminy* (především spermin, spermidin a putrescin) a *kyselina salicylová* patří také k látkám fytohormonálního typu, jejichž koncentrace za stresu roste a jejichž ochranný účinek byl bezpečně prokázán. Jejich větší významnost je však omezena jen na některé taxonomické skupiny rostlin.

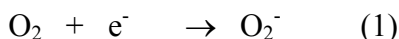
### d) *Tvorba a odstraňování reaktivních forem kyslíku*

Stresové reakce rostlin jsou neodmyslitelně spojeny se zvýšením tvorby reaktivních forem kyslíku (singletní kyslík, superoxidový radikál, hydroxylový radikál a peroxid vodíku), ale současně i se zvýšením potenciálu pro jejich odstraňování. Mechanismus jejich vzniku i způsob odstraňování je dosti různý. Také úloha těchto látek ve stresovaných rostlinách je značně rozmanitá a do jisté míry rozporná. Jednak vznikají jako nebezpečné produkty při působení řady stresových faktorů, ale někdy *mohou mít kladnou úlohu jako signály či ochranné látky při některých typech stresů*.

*Tvorba reaktivních forem kyslíku* probíhá u všech rostlin, a to i při jejich růstu v optimálních podmínkách. Je nevyhnutelně spojena s transformací energie a s redoxními reakcemi v různých částech buňky včetně buněčné stěny. Stresové faktory mohou tuto tvorbu podstatně zrychlit, a to zejména:

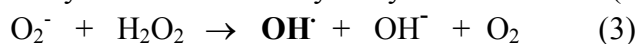
- selektivním ovlivněním metabolických reakcí spojených s redoxními výměnami,
- celkovým poškozením metabolismu a tím i poklesem účinnosti antioxidantních systémů.

První sloučeninou vznikající částečnou redukcí kyslíku je *superoxid* a jeho další redukcí dochází ke tvorbě peroxidu vodíku:

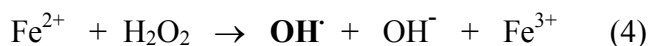


Reakce (1) vyžaduje dodání energie, zatímco reakce (2) probíhá samovolně, ovšem velmi pomalu. Katalytickým působením enzymu *superoxiddismutázy* se její průběh velmi zrychluje.

Superoxid a peroxid vodíku nejsou příliš nebezpečné sloučeniny, ale jejich společný výskyt může vést ke vzniku vysoce reaktivního hydroxylového radikálu (**OH** $\cdot$ ):



Tvorba hydroxylového radikálu je velmi zrychlována v přítomnosti železnatých či měďnatých iontů:



Největší množství aktivních forem kyslíku se vytváří v chloroplastech, vznikají však i v mitochondriích a v jiných membránových systémech (plazmalema, tonoplast, peroxisomy, glyoxysomy). Ve většině případů jako redukční činidlo slouží *NAD(P)H* ve spojení s příslušnou *NAD(P)H oxidázou*.

Negativní působení reaktivních forem kyslíku spočívá především v *peroxidaci lipidů*. Nejvíce náchylné jsou membránové lipidy s vysokým obsahem nenasycených mastných kyselin. Poškozeny mohou být i některé aminokyseliny, proteiny a nukleové kyseliny, přičemž nejvíce náchylný k poškození je histidin, metionin, tryptofan a guanin.

**Mechanismy ochrany před oxidativním poškozením:** Nejuniverzálnější ochranu před poškozením reaktivními formami kyslíku ve všech částech buňky poskytují některé specializované enzymy a antioxidační substráty. K hlavním enzymům patří především již zmíněná *superoxiddismutáza* (SOD), která katalyzuje přeměnu superoxidu na peroxid vodíku. V rostlinách se vyskytují dokonce tři typy SOD (Cu/Zn SOD, Mn SOD a Fe SOD), a ve většině buněčných organel nacházíme alespoň jeden z nich. Peroxid vodíku je dále rozkládán buď *katalázou* (především v peroxisomech a glyoxisomech), nebo *askorbátperoxidázou* (AP, zejména v chloroplastech, kde chybí kataláza, někdy i v cytosolu jinými typy peroxidáz). K reakci katalyzované AP je nutný askorbát a k regeneraci vznikajícího dehydroaskorbátu také redukovaná forma glutationu, společně s enzymy dehydroaskorbátreduktázou a glutationreduktázou. Klíčovou úlohu v antioxidační ochraně hraje *askorbát* a *glutation*. Obou sloučenin bývá zejména v chloroplastech velké množství. Askorbát může reagovat se superoxidem a singletním kyslíkem i přímo, bez účasti enzymů, navíc přispívá k regeneraci *α-tokoferolu* (vitamin E), významné lipofilní sloučeniny chránící membránové lipidy před peroxidací.

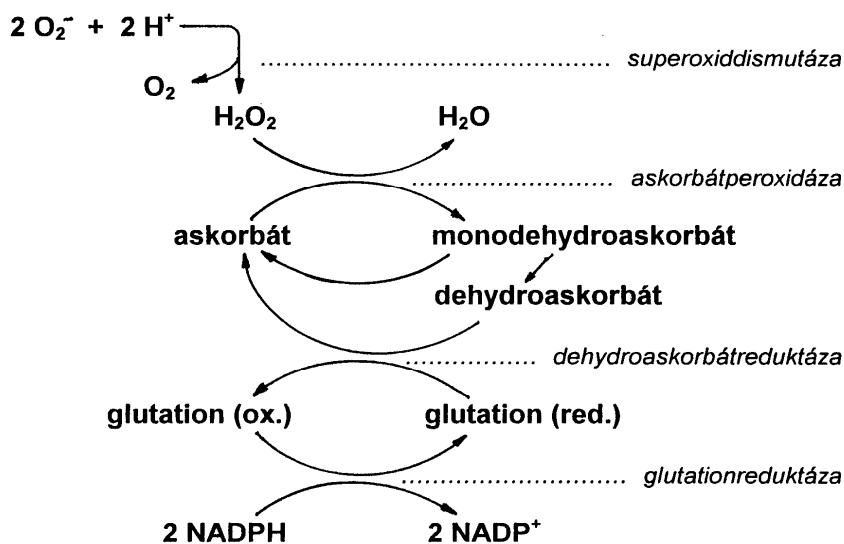


Schéma inaktivace superoxidu a peroxidu vodíku s navazujícími regeneračními cykly askorbátu a glutationu s finální redukcí pomocí NADPH.

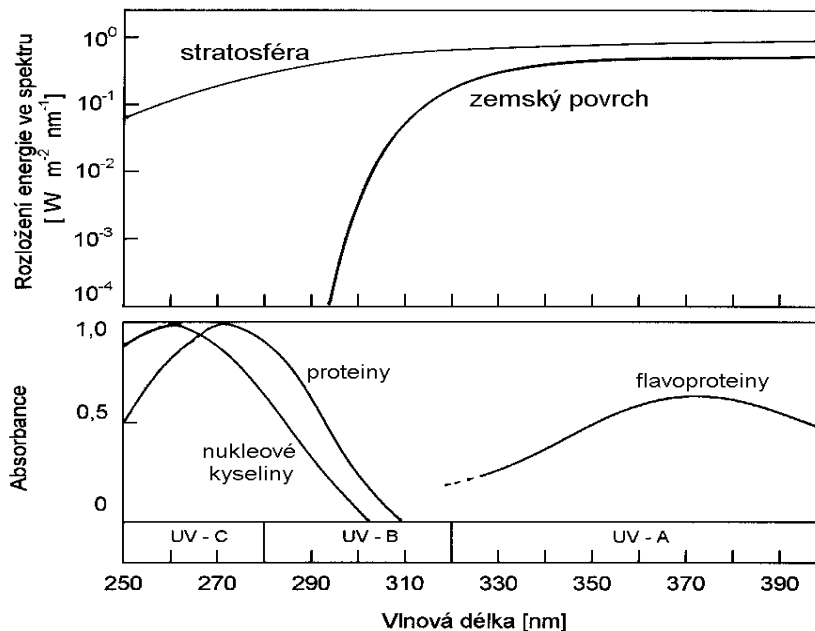
**Protistresová úloha reaktivních forem kyslíku** dosud není uspokojivě prozkoumána ve všech souvislostech. Zcela zásadní roli mají nepochybně v *hypersensitivní reakci* (bude blíže popsána později). Peroxid vodíku je zapojen i do dalších obranných reakcí rostliny při napadení patogeny. Zrychluje *tvorbu ligninu* (a tedy zpevnění buněčné stěny), může působit na otevření vápníkových kanálů - vtok  $Ca^{2+}$  má pak dalekosáhlé aktivační účinky. V součinnosti s kyselinou salicylovou (ta je schopna inaktivovat katalázu a tím dočasně udržet zvýšenou koncentraci peroxidu vodíku v buňce) indukuje tvorbu některých stresových proteinů. Funkce peroxidu vodíku jako *přenašeče signálu* pro expresi některých genů je významná i u živočichů a bakterií.

## Působení abiotických stresových faktorů

### Záření jako stresový faktor

**Ultrafialové (UV) záření** v oblasti vlnových délek 200 až 400 nm představuje jen asi 7 % z celkového slunečního záření dopadajícího na naši planetu. UV záření kratších vlnových délek, označované jako UV-C (200 až 280 nm), a částečně i UV-B (280 - 320 nm) je z větší části absorbováno v atmosféře Země, zejména pak ve stratosférické ozónové vrstvě. Nejméně je atmosférou filtrována oblast UV-A (320-400 nm), která však má na živé organismy mnohem méně škodlivý účinek než pronikající zbytek záření UV-B.

UV záření s kratší vlnovou délkou (B, C) je velmi silně absorbováno celou řadou biologicky významných sloučenin, zvláště pak aromatickými aminokyselinami a nukleotidy, a tudíž i makromolekulami proteinů a nukleových kyselin. Po absorpci UV záření dochází u excitovaných molekul k fotochemickým reakcím, které poškozují jejich normální funkce. K nejčastějším změnám u proteinů patří fotooxidace thyrosinu a tryptofanu, a také rozštěpení disulfidických můstků mezi cysteinovými zbytky, které zajišťují správnou terciární strukturu proteinů. U nukleových kyselin dochází po excitaci ke vzniku nových vazeb mezi blízkými pyrimidinovými nukleotidy. Zvláště častá je tvorba dimerů thyminu uvnitř jednoho či mezi dvěma vlákny DNA - následkem jsou poruchy v replikaci DNA i v expresi genetické informace. UV záření může způsobit u rostlin také poškození asimilačního aparátu a tím snížení rychlosti fotosyntézy. Nejvíce citlivé jsou proteiny D1 a D2 ve fotosystému II, a také proteiny centra oxidace vody. Poškozeny však mohou být i asimilační pigmenty a redoxní systémy, zejména plastochinony.



V horní části obrázku je uvedeno zastoupení UV-záření ve spektru slunečního záření jednak nad stratosférou a jednak po průchodu atmosférou s neporušenou ozónovou vrstvou na zemský povrch. V dolní části obrázku jsou uvedeny křivky relativní absorpce některých významných součástí buněk

Adaptace rostlin směřující k omezení škodlivých účinků UV záření spočívá především v zamezení jeho vstupu do vnitřních částí exponovaných orgánů, zejména tedy do asimilačního parenchymu listů. Velmi účinnou ochranu představují kutikulární vosky na vnějším povrchu a zejména pak *flavonoidní pigmenty* ve vakuolách epidermálních buněk. Při vyšších dávkách UV záření se syntéza ochranných pigmentů velmi rychle zvyšuje.

K rychlé opravě poškozených *nukleových kyselin* slouží především skupina specifických



enzymů *fotohydrolyz*, které štěpí vazby nově vzniklých dimerů. Tento proces se nazývá *fotoaktivace*. Fotohydrolyzy jsou flavoproteiny aktivované krátkovlnným zářením (370 - 450 nm). Radiační energie zachycená flavinovým chromoforem a přenesená na redoxní skupinu FADH (na tomtéž proteinu) je využita ke štěpení nežádoucího dimeru. Kromě toho může být poškozená DNA opravena, i když pomaleji, pomocí jiných enzymatických systémů (endonukleázy, DNA-polymerázy, ligázy). Poškozené *proteiny* je obvykle nutno rozložit a nahradit novými. Rychlost resyntézy proteinů tedy rozhoduje době nutné k návratu buněčných funkcí do původního stavu.

V běžných přírodních podmínkách dochází jen velmi zřídka k vážnějšímu poškození vyšších rostlin UV zářením. Výsledky pokusů ukazují, že i při zvýšení toku UV-B záření na zemský povrch o 10 % (v důsledku oslabení filtrační vrstvy ozónu ve stratosféře) budou ochranné mechanismy většiny běžných druhů rostlin ještě dostatečně spolehlivě chránit před vážnějším poškozením. Nesmíme však zapomínat na skutečnost, že rostliny pěstované ve stínu či v umělých podmínkách (např. ve sklenicích - sklo nepropouští UV záření!) nemají dostatečně vyvinuté strukturní ani funkční ochranné mechanismy vůči působení UV záření. Při jejich náhlém přemístění na volné prostranství může k poškození dojít.

**Viditelné záření** (světlo) v oblasti vlnových délek 400 až 700 nm představuje energeticky nejbohatší část spektra slunečního záření a je listy rostlin velmi účinně absorbováno. K absorpci slouží hojné asimilační pigmenty napojené na centra zpracování zachycené energie ve fotochemických procesech. Ne vždy však může být veškerá absorbovaná energie také skutečně využita. Plně osluněné listy absorbují mnohem více záření, než mohou fotochemicky zpracovat. Rostliny, jejichž růst a metabolismus je zpomalen např. nízkými teplotami či nedostatkem vody, mají možnosti využití radiační energie ještě menší, přesto však i v jejich listech probíhá absorpce záření a přenos excitonů do asimilačních center.

Zpracování velkých dávek absorbované radiační energie v chloroplastech je pro všechny rostliny velmi nebezpečná operace, neboť v relativně uzavřeném prostoru s vysokou koncentrací kyslíku se vytvářejí silná oxidační i redukční činidla, která mohou poškodit velmi jemné struktury thylakoidní membrány. K závažným změnám struktury a funkce fotosyntetického aparátu působením světla také skutečně běžně dochází - souhrnně jsou označovány jako *fotoinhibice*. Projevují se snížením jak maximální rychlosti fotosyntézy (při saturační ozáření), tak snížením hodnot kvantového výtěžku. Toto snížení bývá obvykle plně vratné, ale až po několika hodinách či dnech.

**Mechanismus vzniku fotoinhibice** je v současné době velmi intenzivně studován a naše poznatky o něm nejsou tudíž zdaleka ještě úplné. Víme však, že nejvíce náchylný na poškození je fotosystém II, ve kterém dochází k oxidaci vody a k počátku přenosu uvolněného elektronu necyklickou cestou. Při nedostatečné rychlosti odvodu elektronů z fotosystému II (např. v důsledku hromadění nevyužitých produktů primárních procesů fotosyntézy, ATP a NADPH) zůstávají po delší dobu v plně redukovaném stavu volné plastochinony i chinony  $Q_A$  a  $Q_B$ . Nejsou tedy schopny přijímat elektron, který je předáván z chlorofylu P680 na feofytin. Rekombinací náboje mezi oxidovaným chlorofylem P680 a redukovaným feofytinem dojde k přechodu molekuly P680 do tripletního stavu. Následnou reakcí s běžným (tripletním) kyslíkem vzniká vysoce reaktivní singletní kyslík. Ten pak může způsobit poškození součástí elektrontransportního řetězce ve fotosystému II a poškození vlastního proteinu D1. Popsaný sled událostí se označuje jako *fotoinhibice na akceptorové straně* a přítomnost kyslíku je zde nutná. Avšak i bez účasti kyslíku může dojít k fotoinhibici, a to zejména tehdy, když je omezena funkčnost centra štěpení vody a nelze tudíž zajistit dostatečně rychlou redukci molekuly chlorofylu P680. Tato molekula je po separaci náboje mimořádně silným oxidačním činidlem schopným poškodit součásti reakčního centra (*fotoinhibice na donorové straně*).

K fotoinhibici může docházet i poškozením fotosystému I, ale již méně často. Také zde

může vznikat tripletní molekula chlorofylu reakčního centra P700 a tím i reaktivní singletní kyslík. Dalším toxickým produktem necyklického transportu elektronů je superoxidový radikál, který vzniká přenosem elektronů z redukovaného ferredoxinu na kyslík (Mehlerova reakce, viz dále), a může poškodit redoxní systémy ve fotosystému I. Singletní kyslík, superoxid a další odvozené formy aktivního kyslíku vznikající jako vedlejší, nežádoucí produkty fotochemických procesů, mohou poškozovat nejen fotosystémy, ale i jiné součásti chloroplastu, včetně chlorofylu, membránových lipidů, enzymů a nukleových kyselin.

**Ochrana asimilačního aparátu před poškozením** zahrnuje jednak regulační mechanismy, které směřují k *předcházení vzniku fotoinhibice*, a jednak mechanismy směřující k *nápravě škod*, tedy zejména k rychlé obměně poškozených proteinů a k rychlému odstraňování reaktivních forem kyslíku. Zmíním se stručně alespoň o těch nejdůležitějších.

a) *snížení účinnosti funkce světlosběrných komplexů (antén)*.

Asimilační pigmenty v anténách absorbují většinu dopadajícího záření a zachycenou energii jsou schopny s velkou účinností (až 85 % u fotosystému II) převést do reakčních center k využití ve fotochemických procesech. Zbývající část se ztrácí přeměnou na teplo (asi 10 %) a na fluorescenční záření (5 %). Přeměnou na teplo (nepřímo, reakcí s karotenoidy) jsou deexcitovány hlavně ty molekuly chlorofylu, které přešly do tripletního stavu. Karotenoidy v anténách za normálních podmínek tedy velmi účinně brání reakci tripletních chlorofylů s kyslíkem, která by vedla ke vzniku nebezpečného singletního kyslíku. V případě nadbytku radiační energie lze pozorovat aktivaci dalších systémů ochrany, jejichž smyslem je snížit množství energie převáděné z antén k reakčním centrům:

- dochází ke strukturálním změnám ve vnějších anténách fotosystému II, a sice k aglomeraci molekul chlorofylu, k agregaci proteinpigmentových jednotek a dokonce i k odpojení části antén od fotosystému II a k jejich přesunu k fotosystému I.
- dochází k podstatnému zvýšení deexcitační činnosti karotenoidů, které přebírají a přeměňují na teplo energii nejen od tripletních, ale i od singletních excitovaných molekul chlorofylu, a v případě potřeby zneškodňují i singletní kyslík.

Obě tyto reakce "automaticky", reversibilně a hlavně velmi rychle reagují na aktuální energetickou potřebu fotochemických procesů pomocí *citlivosti na změny pH* v lumen tylakoidu. Při nasycení fotochemických procesů zářením dochází k zvláště velkému nahromadění vodíkových iontů v lumen (není dostatek ADP pro tvorbu ATP) a nízké pH aktivuje enzymy, které se podílejí na zmíněných změnách. Ochranná funkce xantofylů při přeměně nadbytku radiační energie na teplo je mimořádně významná - zvláště účinný je v tomto směru *zeaxantin*, který se vytváří snadnou deoxidací z neúčinného violaxantinu právě jen za nadbytku záření a poklesu pH v lumen:

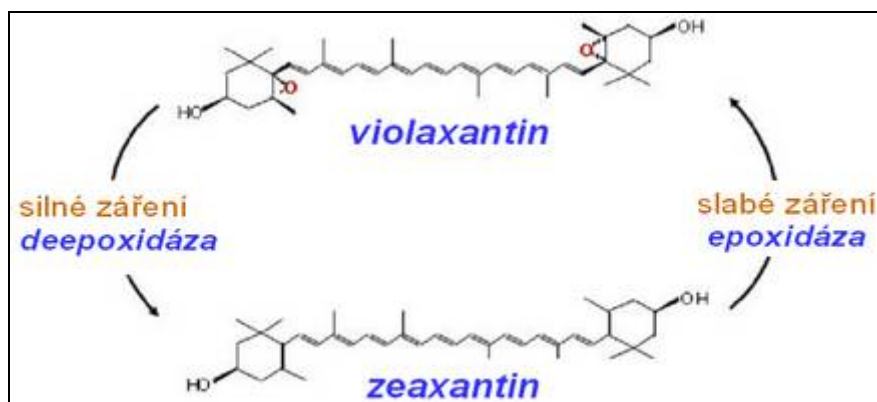


Schéma funkce xantofylového cyklu při regulaci přeměn excitační energie ve světlosběrných komplexech. Aktivita *deepoxidázy* je stimulována nízkým pH (= za silného záření), naopak *epoxidáza* má optimální funkci při pH 7,5 a je tedy nejvíce aktivní za tmy či za velmi slabého záření.

### *b) snížení účinnosti vlastních fotochemických procesů.*

Hromadění produktů primárních procesů fotosyntézy, ať už v důsledku jejich příliš rychlé tvorby (vysoká ozáření), nebo jejich malé spotřeby (zpomalení růstu působením stresu) vede ke zpomalení až zastavení fotochemických procesů, a tím i ke zvýšení nebezpečí fotodestrukce. Snížení účinnosti energetických přeměn v primárních procesech fotosyntézy, tedy i snížení rychlosti tvorby ATP a NADPH, může být v uvedených případech výhodné, neboť umožňuje zachovat po delší dobu transport elektronů. Jednou z cest ke snížení účinnosti primárních procesů by mohl být přenos části elektronů z plastochinonů na cytochrom  $b_{559}$ , který je součástí fotosystému II, a jejich návrat zpět do reakčního centra na chlorofyl P680. O skutečné významnosti tohoto cyklického transportu ve fotosystému II u rostlin v přírodních podmínkách však dosud mnoho nevíme.

Nepochybně významný je však jiný způsob "znehodnocení" transformované energie, a to v samém závěru lineárního transportu elektronů, které z redukovaného ferredoxinu nepostupují obvyklou cestou na NADP, nýbrž redukují kyslík (*Mehlerova reakce*). Vznikající silně reaktivní superoxid je ale nutno velmi rychle inaktivovat pomocí enzymu superoxid-dismutázy a navazující série reakcí v přítomnosti antioxidačních substrátů, askorbátu a glutationu, kterých je v chloroplastech vždy velké množství. Reakce již byly schematicky znázorněny na straně 7. Je zřejmé, že se při nich spotřebovává i jisté množství NADPH. Zachování lineárního toku elektronů pomocí Mehlerovy reakce i při nedostatku obvyklého akceptoru (NADP) pomáhá tedy udržovat transport protonů do lumen tylakoidu. Nízké pH v lumen, jak již víme, má zásadní důležitost pro správnou funkci dalších ochranných mechanismů, především xantofylového cyklu.

### *c) snížená rychlost opravy fotosystému II.*

Poškození proteinu D1 ve fotosystému II je nejčastějším průvodním znakem fotoinhibice. Současně je však možná i jeho velmi snadná výměna (syntéza probíhá v chloroplastu a je mimořádně rychlá!). K výměně poškozeného proteinu se však musí celý fotosystém přemístit z přitisknuté (granální) části tylakoidní membrány do volné (stromatální) části. Ukazuje se, že snadná inaktivace proteinu D1 může být vlastně velmi účinným způsobem ochrany ostatních částí chloroplastu před poškozením. Proces obnovy proteinu D1 je totiž zajímavě regulován. Jeho syntéza se zrychluje se vzestupem ozáření, ovšem po dosažení saturačních hodnot se opět zpomaluje. Většina inaktivovaných fotosystémů zůstává za nadměrné ozáření ve granální části membrán a absorbované záření se v nich přeměňuje na teplo. Teprve po poklesu ozáření přestávají plnit ochrannou funkci a jsou rychle opraveny.

## **Stresové účinky příliš vysokých a nízkých teplot**

### ***Vliv vysokých teplot***

Při zvýšení teploty zhruba nad 40°C dochází u většiny druhů rostlin k zásadním změnám ve fyzikálně-chemických vlastnostech buněčných membrán i proteinů. U některých zvláště citlivých druhů lze tyto změny zaznamenat již v teplotním intervalu 35 až 40°C. Lipidová vrstva membrán přechází do lamelárně-kapalného (superfluidního) stavu, ve kterém nemůže plnit svoje základní funkce. Stává se propustnou pro ionty a přestává poskytovat dostatečně pevnou oporu pro membránové proteiny. U proteinů (nejen membránových) dochází navíc za vysoké teploty ke změnám konformace, a tím i ke ztrátě jejich funkce.

K nejsnáze postiženým pravidelně patří thylakoidní membrány v chloroplastech. Velmi nápadným indikátorem vznikajícího stresu je poškození fotosystému II, které lze lehce zjistit měřením fluorescence chlorofylu *in vivo*. Za zvyšující se teploty dochází nejprve k rozpadu jednotlivých částí fotosystému (především k odtržení světlosběrných komplexů), a teprve až později k denaturaci proteinů.

Jinou rychlou metodou k určování stupně odolnosti k vysokým teplotám je mikroskopické pozorování buněk za postupného zvyšování jejich teploty. Dosažení kritické teploty se projeví zastavením proudění cytoplazmy v důsledku rozpadu cytoskeletu.

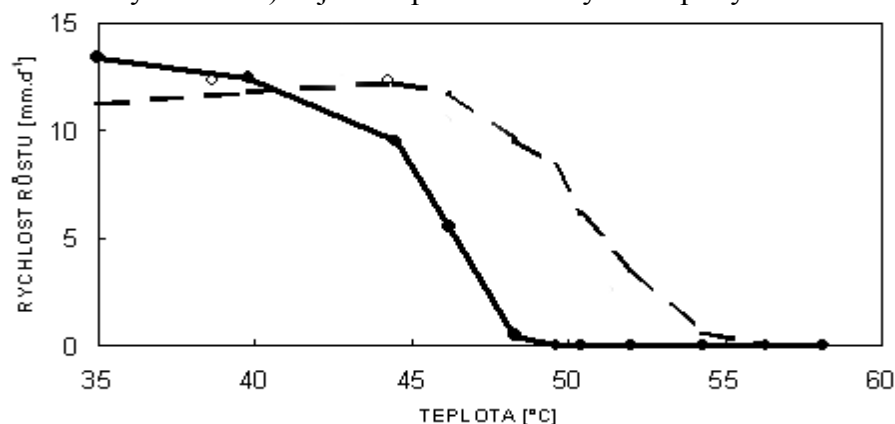
Teplotní rozmezí přechodu membránových lipidů do tekutého stavu, vedoucí ke ztrátě funkčnosti membrány, závisí hlavně na jejich chemickém složení. Ke zvýšení kritické teploty (a tím i ke zvýšení odolnosti k vysokým teplotám) přispívá vyšší podíl nasycených mastných kyselin (v poměru k nenasyceným kyselinám), a také vyšší obsah sterolů v lipidové vrstvě. Stavová změna lipidové vrstvy je vratná a při poklesu teploty pod kritickou hodnotu dochází rychle k obnovení původní struktury a funkce. Poškození termolabilních proteinů, včetně enzymů s klíčovým postavením v metabolických a transportních procesech, je mnohdy nevratné a je nutné je nahradit novými. Obnova normálního provozu buňky po snížení teploty tedy závisí na tom, do jaké míry zůstala zachována funkčnost proteosyntetického aparátu.

Celkový stupeň poškození buněk je dán součinem aktuální teploty a doby jejího působení. Při teplotách nad 50 až 55°C i krátkodobé působení, trvající několik desítek minut, způsobuje nevratné poškození exponovaného orgánu a jeho odumření. K vzácným výjimkám patří některé vytrvalé druhy rostlin z teplých pouští a polopouští. Zejména pak sukulenty, které se velmi špatně "zbavují" tepla jak konvekcí (malý povrch), tak i výparem (mají zavřené průduchy v nejteplejší části dne). U několika druhů nopálu (*Opuntia*) bylo dokázáno úspěšné přežití teplot 60 až 65°C po dobu několika desítek minut. To už je ale skutečně horní hranice termotolerance pro eukaryotní organizmy v aktivním stavu; odolnější jsou již jen některé sinice a bakterie žijící např. v horkých pramenech při teplotách blízkých bodu varu.

V dormantním stavu mají rostliny vyšší odolnost k přehřátí než za aktivního růstu. Zcela mimořádně odolná jsou semena, která v některých případech přežívají bez poškození krátkodobé zvýšení teploty na 120°C. Semena některých druhů rostlin z oblastí s častým výskytem požárů dokonce takové teploty vyžadují ke stimulaci klíčení.

Aklimační reakce na zvýšenou teplotu lze pozorovat již za necelou hodinu od začátku působení, a to především ve výrazných změnách v zastoupení proteinů. Ke změnám chemického složení membrán dochází pomaleji, obvykle až za několik dní. Díky aklimačním změnám může být kritická teplota posunuta až o pět stupňů.

*Proteiny indukované zvýšenou teplotou (heat shock proteins, HSP)* patří k nejdéle známým a také k evolučně nejstarším, neboť řada z nich se vytváří při zvýšení teploty (přibližně nad 35 °C) jak u rostlin a živočichů, tak i u bakterií a hub. K indukci jejich tvorby dochází po navázání specifických proteinů regulujících transkripci (*heat-shock factors*) na příslušné úseky DNA (*heat-shock elements*) v těsné blízkosti genů pro HSP. Regulační proteiny jsou přítomny v buňkách stále, ovšem v nefunkčním stavu. K jejich aktivaci (spojením do trimerových shluků) dojde až po náhlém zvýšení teploty.



Závislost rychlosti růstu na teplotě u mladých rostlin prosa ( $C_4$  rostlina s optimem růstu za vyšších teplot!). Plná čára - kontrolní rostliny pěstované při teplotě 35°C, čárkované jsou vyznačeny reakce rostlin vystavených 24 hodin před měřením teplotě 45°C (po dvě hodiny).

### Poškození rostlin chladem

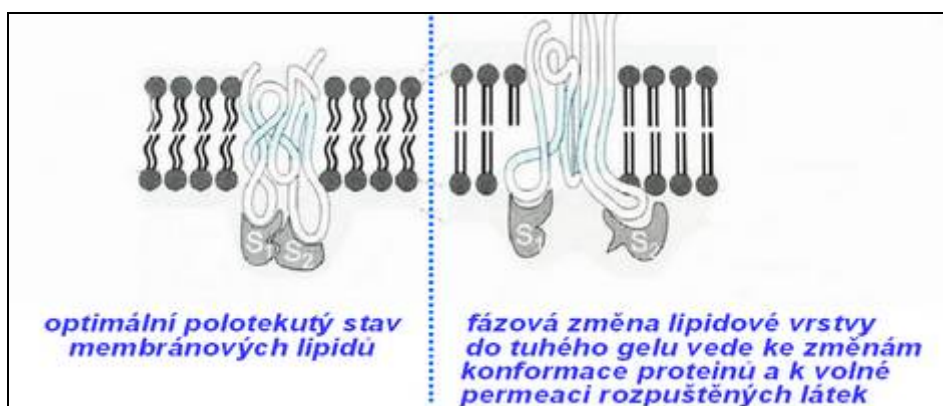
Mnoho tropických a subtropických rostlin, u nás pak některé užitkové rostliny původem z teplejších oblastí (např. okurky, rajčata, papriky a kukuřice), mohou být vážně poškozeny nízkými teplotami ještě *nad* bodem mrazu (= *chladem*). Doba, po kterou chlad působí, je velmi důležitá. Například listy okurky jsou poškozeny při teplotě +10°C až po týdenní expozici, při +8°C již za 3 dny a při +3°C již během několika hodin. Velmi citlivé na chlad jsou také květní orgány v raném stadiu vývoje a v průběhu gametogeneze, a to i u rostlin, jejichž vegetativní orgány na chlad citlivé nejsou.

Většina proteinů není nízkými teplotami poškozována, a tak primární účinky nepříznivého působení chladu je nutno hledat především ve změně fyzikálně-chemických vlastností *membrán*. Pokud jejich lipidová vrstva přejde z optimální polotekuté konzistence do stavu pevného gelu, nedaří se již udržovat dokonalou celistvost membrány, a to zejména v důsledku oslabení vazby lipidů k membránovým proteinům. Volná propustnost membrán pro ionty pak vede ke ztrátě transmembránového potenciálu, k zastavení selektivního a aktivního transportu, a také k poruše osmotických funkcí, včetně udržování turgorového tlaku. Propustnost thylakoidních membrán v chloroplastech a vnitřní membrány mitochondrií znemožňuje nahromadění vodíkových iontů při transportech elektronů, a *není tudíž možné vytvářet ATP* pomocí H<sup>+</sup>-ATP-syntáz. Po jisté době trvání tohoto stavu (několik hodin až dní) musí nutně dojít k vyčerpání energetických zdrojů a k odumření buňky.

K poruše struktury a funkce membrán při působení chladu může dojít i nepřímo peroxidací membránových lipidů. Nebezpečí tohoto *oxidativního poškození membrán* vzrůstá za nízkých teplot hlavně proto, že jsou zpomaleny až zastaveny růstové procesy. Hromadění nevyužitých produktů fixace CO<sub>2</sub> v chloroplastech působí inhibičně na tvorbu produktů fotochemických procesů a přebytek excitační energie vede k tvorbě reaktivních forem kyslíku. Obecné zpomalení všech biochemických procesů za nízkých teplot vede, kromě jiného, i ke snížení rychlosti syntézy antioxidantních substrátů, což jen přispívá ke zvýšení nebezpečí oxidačního poškození.

Za nízkých teplot bývají zjišťovány i změny ve struktuře cytoskeletu (depolymerace mikrotubulů). Z organel jsou nejcitlivější na nízké teploty chloroplasty, méně již mitochondrie a peroxisomy. Tonoplast a plazmatická membrána patří k relativně nejvíce odolným buněčným strukturám.

*Aklimační změny* za nízkých teplot jsou spojeny s hromaděním osmoticky aktivních látek, s tvorbou stresových (chladových) proteinů, s tvorbou "antioxidantních" enzymů a substrátů, a se změnami chemického složení lipidové vrstvy membrán. Zvyšuje se v ní zastoupení nenasycených mastných kyselin, které vede ke snížení kritické teploty přechodu lipidů do gelového stavu. Na řízení aklimačních změn se podílejí i některé fytohormony, ze kterých nejvýznamnější úlohu má *kyselina abscisová*.



Změny struktury biologických membrán pod vlivem nízké teploty

### **Poškození rostlin mrazem**

Při poklesu teplot pod nulu °C (= mráz) již voda může přejít do pevného skupenství, což představuje pro *všechny* rostliny vážné nebezpečí. Toto nebezpečí vyplývá nejen z možného mechanického poškození buněk krystalky ledu, ale i z náhlého snížení tenze vodních par nad ledovými krystalky (tedy velké "suchosti" vzduchu). Led se může tvořit ve všech vodou bohatých strukturách, v symplastu i v apoplastu, tedy i v cévách a sítkovicích. Led vytvořený *uvnitř* živých buněk vede téměř vždy k jejich rychlému odumírání, ovšem tento typ mrznutí se vyskytuje jen výjimečně u zcela neodolných rostlin či při velmi rychlém poklesu teploty. Nejčastěji dochází k tvorbě ledu jen v apoplastu, tedy v buněčných stěnách a v xylému.

Voda v apoplastu rostlin začíná mrznout při teplotách -1 až -3°C, v závislosti na obsahu osmotik, které snižují bod tuhnutí. Avšak ani při teplotách nižších než je očekávaný bod tuhnutí nemusí ještě nutně dojít k tvorbě ledu. Pokud nejsou přítomná vhodná krystalizační jádra, zůstává voda v apoplastu i v symplastu v tekutém podchlazeném (metastabilním) stavu, a to v krajním případě až do teploty -38°C, kdy už dochází ke spontánní krystalizaci. K iniciaci krystalizace podchlazené vody v apoplastu mohou přispívat i některé proteiny vylučované některými druhy bakterií, které žijí na povrchu listů (např. *Pseudomonas syringae*, *Erwinia herbicola*). Jejich odstranění vede k výraznému zvýšení odolnosti listů k poškození mrazem.

Při delší době trvání mrazu se krystalky ledu postupně rozrůstají. Růst krystalů je podporován pasivním přesunem vody z cytosolu v důsledku značně nízkého vodního potenciálu na povrchu ledu (při -5°C jen asi -6 MPa!). Při překročení jisté hranice procesu mrznutí, která je specifická pro různá pletiva a druhy, dochází k nevratnému poškození buněk. Bezprostřední příčinou odumírání může být jednak silná *dehydratace* buněčného obsahu, jednak mechanické poškození buněčné stěny a plazmalemy ostrými krystalky ledu pronikajícími z apoplastu. Krystaly ledu také indukují tuhnutí zbytků tekuté vody udržované v podchlazeném stavu uvnitř buňky.

Odolnost rostlin vůči mrazu (*mrazuvzdornost*) je založena v prvé řadě na schopnosti *zabránit vzniku ledu uvnitř buněk (v symplastu) a dlouhodobě tolerovat přítomnost ledu v apoplastu* (omezit jeho mechanické i dehydratační účinky). Snížení bodu tuhnutí roztoků v symplastu je možné přítomností velkého množství osmoticky aktivních látek (cukrů, aminokyselin, polyalkoholů ...). Tyto sloučeniny mají současně i významný vliv na tlumení negativních účinků *dehydratace* (společně s některými stresovými proteiny, viz níže). Další možností je schopnost udržovat po dlouhou dobu vodu v symplastu v tekutém podchlazeném stavu, což je podmíněno odstraněním všech látek, které by mohly sloužit jako krystalizační jádra. K omezení destruktivních účinků ledu, vznikajícím v apoplastu, je nutná zvýšená mechanická pevnost buněčné stěny.

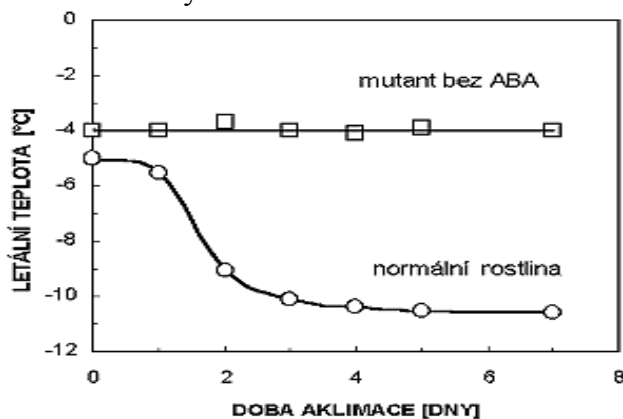
Odolnost k *extrémně nízkým* teplotám (pod -25 až -30°C) je vždy spojena se schopností snášet silnou dehydrataci buněk (vakuoly téměř mizí, voda zůstává v tenkých zbytcích cytosolu okolo organel a plazmalemy). Bližší popis mechanismů, na kterých je založena tolerance značného vyschnutí cytosolu, je uveden v následující kapitole věnované vlivu nedostatku vody na rostliny.

*Proteiny indukované nízkou teplotou* mají mimořádně významnou úlohu při zvyšování odolnosti vůči chladu a mrazu. Časté jsou glykoproteiny a několik typů silně hydrofobních proteinů s velmi účinnou schopností chránit některé enzymy před denaturací. Nízkou teplotou je indukována exprese celé řady genů, která vede k syntéze jak kryoprotektantů a odolnějších enzymů, tak i strukturních proteinů. Tak například v buněčných stěnách hrachu se po několikadenním pěstování za teploty 2 °C zdvojnásobilo množství proteinů bohatých na hydroxyprolin (především extensin), které zpevňují buněčnou stěnu a tím omezují její poškození při tvorbě ledu i při dehydrataci. Chladem a se také indukují enzymy lipidového metabolismu, jejichž činností dochází ke změnám složení lipidové vrstvy membrán.

Zvláštní skupinu tvoří *protimrazové proteiny (antifreeze proteins)*, které se objevují v hojném množství v apoplastu mrazuvzdorných druhů po indukci nízkou teplotou. Mají unikátní schopnost přilnutí (adsorbce) na povrch vznikajících krystalků ledu. Přístup dalších molekul vody ke krystalku je pak omezen a jeho růst se velmi zpomalí. Tímto způsobem je také inhibována rekrystalizace ledu, při které přednostně rostou velké krystaly na úkor malých. Při vzniku velkých krystalků vždy vzrůstá nebezpečí mechanického poškození buněčné stěny a plazmatické membrány.

Dosažení vysoké odolnosti k nízkým teplotám je spojeno s utlumením většiny buněčných funkcí a vlastní proces dehydratace musí probíhat pomalu, řízeně. Nelze jí tedy dosáhnout náhlým poklesem teploty ani trvale udržovat jako konstituční znak. Odolnost vůči mrazu má z těchto důvodů silně sezónní charakter. I ty druhy, které jsou v zimním období vysoce odolné (naše jehličnaté dřeviny, ozimé obiloviny, aj.), by v letních měsících utrpěly vážné poškození při náhlém poklesu teplot pod  $-3$  až  $-4^{\circ}\text{C}$ .

Proces zvyšování odolnosti vůči mrazu (*otužování*) má u různých druhů odlišný charakter. Nejsložitější bývá u dřevin, kdy k zastavení růstu a k některým dalším přípravným změnám dochází již koncem léta. Pod vlivem postupně se snižujících denních teplot a zkracování délky dne dochází pak k plynulému zvyšování odolnosti až do nástupu zimních mrazů. U většiny mrazuvzdorných bylin je indukce odolnosti rychlejší a jednodušší, obvykle stačí několik dnů s teplotami blízkými nule. Indukce odolnosti vůči mrazu je podmíněna přítomností kyseliny abscisové ve zvýšené koncentraci a dostatkem asimilátů.



Průběh změn v odolnosti vůči mrazu u rostlin *Arabidopsis thaliana* po přenesení do kultivačního boxu s teplotním režimem  $4^{\circ}\text{C}$  ve dne a  $2^{\circ}\text{C}$  v noci. Z obrázku je zřejmá jednak rychlost aklimačních změn, a jednak neschopnost aklimace rostlin s poruchou tvorby kyseliny abscisové (ABA). Po ošetření rostlin postřikem ABA k aklimaci došlo.

### **Periodická aklimace rostlin k nízkým teplotám u našich dřevin před příchodem zimy („podzimní syndrom“)**

**Počátečním signálem** k zahájení aklimace je **zkracující se délka dne** (obvykle již v srpnu, tedy bez vlivu nízkých teplot!)

**Počáteční fyziologickou reakcí** je výrazná změna v hladinách **fytohormonů** (vzestup konc. kyseliny abscisové, snížení auxinů, cytokininů a giberelinů).

**Následuje série změn struktur a funkcí**, např.

- ◆ zastavuje se činnost meristémů (v pupenech i ve stoncích – kambium)
- ◆ zpomaluje se respirace a většina syntetických procesů,
- ◆ mění se ultrastruktura buněk (centrální vakuola se dělí na menší, plazmodesmy se uzavírají, plazmalema vytváří záhyby, zmenšují se mitochondrie, atd.)
- ◆ terminální pupeny se mění na zimní typ.

**K dokončení vstupu do dormance** a k výraznému **zvýšení odolnosti** vůči mrazu je již nutné **působení nízkých teplot** (průměr  $0$  až  $7^{\circ}\text{C}$ ).

**Ke ztrátě vnitřní dormance** dochází za 5-10 týdnů působení nízkých teplot. Pak už je dormance udržovaná jen vnějšími faktory (= vynucená dormance).

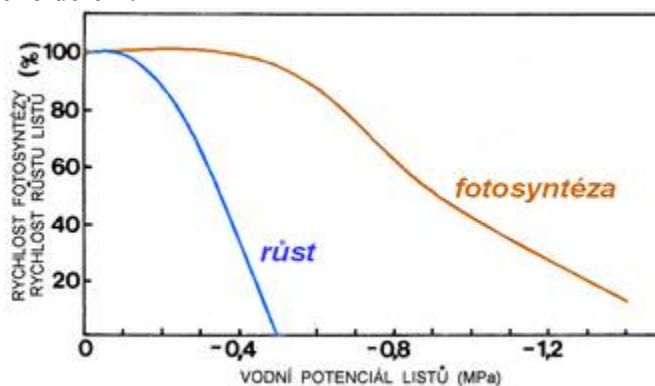
## Vliv nedostatku vody na funkce rostlin

Ze všech abiotických faktorů, které omezují růst a produktivitu rostlinstva na kontinentech naší planety, stojí na prvním místě nedostatek vody. Voda, na rozdíl od minerálních živin, má velmi rychlý koloběh v ekosystémech a její zásoba v rostlinách i v půdě stačí jen na poměrně krátkou dobu. Doplnění zásob vody srážkami bývá obvykle nepravidelné, náhodné, a nejsou tedy vyloučeny ani delší periody sucha. Navíc vodní potenciál vzduchu v okolí listů je po jistou část dne velmi nízký, a proto terestrické rostliny ve všech typech prostředí jsou ohroženy vodním stresem.

K udržení maximální rychlosti růstu je zapotřebí udržovat plně turgescenční stav buněk, což se však v denních hodinách daří jen velmi zřídka. Příjem oxidu uhličitého pro fotosyntézu otevřenými průduchy je obvykle spojen s takovou ztrátou vody, jakou nelze okamžitě nahradit. Nejvíce postiženým orgánem jsou vždy listy. U běžných mezofytních druhů rostlin hodnoty vodního potenciálu listů do  $-0,5$  MPa indikují působení mírného vodního stresu, od  $-0,5$  do  $-1,5$  MPa stres středně velký. Při hodnotách pod  $-1,5$  MPa jde o stres velmi silný, při kterém již často klesá turgorový tlak v buňkách listů na nulu a listy začínají vadnout.

Nejcitlivější reakce na nedostatek vody bývá pravidelně zjišťována u dlouhivého růstu buněk postižených orgánů. Je to pochopitelné, vždyť rychlost růstu je od jisté prahové hodnoty lineárně závislá na turgorovém tlaku. K měřitelnému zpomalení růstu dochází již při velmi malé ztrátě vody, kdy turgor klesne jen o  $0,1$  až  $0,2$  MPa z maximální hodnoty (tomu odpovídá pokles vodního potenciálu z nuly na přibližně  $-0,1$  až  $-0,2$  MPa). Úplné zastavení růstu nastává při poklesu turgoru na prahovou hodnotu pro růst, která leží obvykle mezi  $0,3$  až  $0,4$  MPa. K zastavení růstu tedy dojde dříve než ke zjevnému vadnutí listu (nulový turgor), či k ovlivnění hlavních metabolických procesů včetně fotosyntézy. V důsledku toho se v rostlině hromadí nevyužité asimiláty.

Při dalším poklesu vodního potenciálu buněk zhruba na hodnotu  $-0,2$  až  $-0,8$  MPa dochází k rychlým změnám aktivity enzymů. Aktivita některých se snižuje (např. nitrátoreduktázy), u jiných naopak stoupá ( $\alpha$ -amyláza, ribonukleáza a některé dalších hydrolázy). To má za následek změny v rychlosti mnoha procesů, dochází např. ke zrychlení hydrolýzy škrobu a naopak ke zpomalení redukce nitrátů. Dále je snížena tvorba cytokininů a zpomaluje se buněčné dělení.



Rozdíly mezi citlivostí růstových procesů a fotosyntézy na pokles vodního potenciálu u slunečnice.

Přibližně ve stejném rozmezí hodnot vodního potenciálu dochází v buňkách k velmi podstatnému (až čtyřicetinasobnému) zvýšení koncentrace kyseliny abscisové, zejména v listech, kde má za následek zavírání průduchů. Změna v otevřenosti průduchů pak vede ke snížení rychlosti výměny plynů, a tím i rychlosti fotosyntézy a transpirace. Existuje řada důkazů, že zvýšení koncentrace kyseliny abscisové je při působení vodního stresu řízeno poklesem turgorového tlaku přes receptory mechanického napětí v plazmatické membráně,



nikoli tedy přímo změnami termodynamického stavu (chemického potenciálu) vody.

Při větším poklesu vodního potenciálu k hodnotám okolo -1,0 MPa dochází u mnoha druhů k tvorbě aminokyseliny *prolinu*, jejíž koncentrace se zvyšuje často až stonásobně. Některé druhy reagují syntézou jiných metabolitů, zejména cukrů, složitějších alkoholů (polyolů) a kvartérních dusíkatých sloučenin (betainy). Tyto syntézy vedou k výraznému zvýšení osmotického tlaku v buňkách (tzv. osmotické přizpůsobení, angl. *osmotic adjustment*), které umožňuje osmotický příjem vody do buněk i za klesajícího obsahu vody (a tím i sníženého vodního potenciálu) v buněčných stěnách, v xylému a v půdě okolo kořenů. Zmíněné organické sloučeniny nenarušují ani ve větší koncentraci enzymatické procesy v buňkách (= kompatibilní osmotika) a hrají také významnou úlohu při ochraně hydratačních obalů buněčných makromolekul (proteinů, nukleových kyselin) a biomembrán.

Jestliže se vodní potenciál listů dále snižuje (od -1,0 do -2,0 MPa), dochází již u běžných mezofytních rostlin k vážným metabolickým změnám. Rychlost fotosyntézy klesá na nulu a zpomalují se vnitrobuněčné transportní procesy. Aktivita hydrolytických procesů (a někdy i rychlost respirace) se obvykle naopak zvyšuje. Překvapivě málo citlivé k vodnímu stresu jsou dálkové transportní procesy v lýku. To umožňuje rostlinám i při velkém vodním deficitu mobilizovat rezervy organických látek ve starších orgánech a přesunout je do mladších, zejména pak do generativních orgánů k dokončení reprodukčního procesu.

Pokud v této pokročilé fázi vodního stresu dojde k doplnění ztrát vody, všechny buněčné funkce se postupně vracejí do normálního stavu, i když tento návrat není okamžitý (obvykle trvá několik dní). V případě delšího trvání nedostatku vody může silnou dehydratací dojít k tak vážným změnám (především funkce membrán a organel), že odumření orgánu či celé rostliny je nevyhnutelné.

Uvedené komplexní změny metabolických procesů v průběhu působení nedostatku vody jsou spojeny s regulací genové aktivity, na které bezprostředně závisí zvyšování či snižování rychlosti tvorby enzymů i strukturních proteinů, nepřímo pak rychlosti tvorby ostatních metabolitů. Kyselina abscisová patří k významným mediátorům exprese genů pro stresové proteiny za nedostatku vody.

*Proteiny indukované dehydratací (dehydration-induced proteins)* jsou do značné míry podobné skupině chladových proteinů a také skupině stresových proteinů indukovaných vysokým obsahem solí v půdě. Je to pochopitelné, protože jak za nízkých teplot, tak při zasolení půdy jsou rostliny ohroženy dehydratací buněk. Je ale potřeba upozornit na to, že tvorba části chladových proteinů je indukována pouze nízkou teplotou a nikoliv dehydratací či kyselinou abscisovou. Dehydratace vyvolává především tvorbu enzymů nezbytných pro zvýšení syntézy osmoticky aktivních látek. Tak např. k syntéze glycinbetainu z cholinu je nutná cholinmonoesteráza a betainaldehyddehydrogenáza. Podstatně se zvyšuje tvorba řady enzymů metabolismu sacharidů, což vede k hromadění jednoduchých cukrů a fruktanů. Jejich významná úloha pro zachování funkčnosti membrán a stabilizaci struktury proteinů i za pokročilého vodního stresu byla již mnohokrát dokázána.

Zvláštní skupinou asi dvaceti stresových proteinů které se nově vytvářejí při nedostatku vody v buňkách jsou *dehydriny*. Jsou prakticky totožné s proteiny které se hromadí při normálním (tedy nestresovém) procesu zasychání embrya v dozrávajících semenech, a pro které bylo již dříve zavedeno označení LEA-proteiny (*Late Embryogenesis Abundant proteins*). Nejčastěji se jim přisuzuje funkce *ochrany strukturní integrity* proteinů, nukleových kyselin a membrán (udržováním hydratačních obalů), a také spoluúčast na reparaci poškozených buněčných struktur. Tvorba dehydrinů je regulována fytohormonálně (především kyselinou abscisovou a brassinosteroidy). Pro přežití silné dehydratace jsou naprosto nezbytné.

Suchovzdorné rostliny (xerofyty nesukulentního typu), rostoucí v aridních oblastech (pouště, polopouště), obvykle tolerují mnohem větší pokles obsahu vody v buňkách než

mezofytní druhy z oblastí na srážky bohatších. Extrémním případem suchovzdornosti jsou druhy, které snášejí téměř úplné vyschnutí bez vážného poškození. Tuto obdivuhodnou schopnost mají nejen některé evolučně starší skupiny organismů (řasy, lišejníky a některé mechy), ale i některé cévnaté rostliny - jednak část kapradin (asi 200 druhů), ale i krytosemenných (asi 100 druhů, např. z čeledí *Poaceae*, *Cyperaceae*, *Scrophulariaceae*, *Gessneriaceae*), rostoucích hlavně v aridních oblastech Afriky a Austrálie. U některých z nich byla dokázána úspěšná regenerace všech orgánů i po několikaměsíčním uložení v téměř absolutně suchém vzduchu.

Funkční podstata vysoké odolnosti k vyschnutí je založena na několika současně přítomných strukturně-funkčních znacích (předpokladech). Je nutno zejména:

- *zabránit mechanickému poškození* plazmatické membrány a plazmodesmat,
- *obnovit funkčnost xylému* po úplném zavzdušnění (kavitaci) cév,
- *zabránit destrukci membrán a proteinů* při ztrátě vody z hydratačních obalů,
- *zabránit oxidačnímu poškození* buněčných struktur reaktivními formami kyslíku.

Je potřeba zdůraznit, že schopnost tolerovat vyschnutí měly všechny prvotní terestrické rostliny. V průběhu evoluce však pokročilejší skupiny rostlin byly schopny dlouhodobě udržovat vodu ve svých tělech - jednak jejím efektivnějším příjmem a transportem (rozvoj kořenů, vznik xylémové transportní soustavy), jednak omezením ztrát výparem (tvorba kutikuly, průduchová regulace). U těchto skupin rostlin pak došlo ke ztrátě schopnosti tolerovat vyschnutí, ovšem genetická informace pro tuto schopnost zůstala v jejich genomu zachována. Došlo tedy ve skutečnosti jen ke ztrátě vybavení genetické informace, která se může opět obnovit vhodným procesem indukce:



Popsaná tolerance k velkým ztrátám vody je vcelku pasivní adaptační strategie (ve smyslu překonávání období s nedostatkem vody v téměř inaktivním stavu). Je výhodná v oblastech se silnou periodicitou srážek, kde růst a reprodukce může proběhnout v příznivější části roku. Pokud ovšem silný vodní stres působí *trvale* po celý rok, pak dočasný útlum životních procesů nic neřeší. V takových podmínkách musí být rostliny schopny nejen přežít, ale i vytvářet dostatečné množství asimilátů pro svůj růst. Úspěšnost adaptace je tím větší, čím více uhlíku se jim podaří fixovat na jednotku vydané vody.

K minimalizaci ztrát vody při příjmu nezbytného množství CO<sub>2</sub> pro fotosyntézu slouží v první řadě průduchová regulace výměny plynů mezi listem a okolním vzduchem. Její základní principy byly již dříve vysvětleny. Zbývá jen dodat, že i u rostlin rostoucích na stejném stanovišti bývá obvykle velká mezidruhová variabilita v reakcích průduchů na vodní stres. Již zmíněný mechanismus zavírání průduchů, spouštěný snížením turgoru a přenosem signálu pomocí kyseliny abscisové, je kupodivu častější u mezofytů než u xerofytů. U této druhé skupiny bývá zato vyvinuta extrémně citlivá zavírací reakce působením snížené

vlhkosti vzduchu přímo na svěrací buňky (tedy i za plné turgescence mezofylových buněk!). Na druhé straně jsou však známy xerofytní druhy, které zavírají průduchy až při značné ztrátě vody, při hodnotách vodního potenciálu okolo -4 až -5 MPa. Nejčastěji však u xerofytů dochází k zavírání průduchů při -1 až -2 MPa, zatímco u mezofytů při -0,5 až -1,0 MPa.

Mimořádně účinnou adaptací k omezení ztrát vody při asimilaci uhlíku jsou varianty fixačních cest typu C<sub>4</sub> a CAM, které se hojně vyskytují u rostlin ve všech aridních oblastech. Jak již víme z výkladu o biochemické podstatě těchto fixačních cest, dochází při jejich fungování ke zvýšení koncentrace CO<sub>2</sub> v okolí chloroplastů. Současně však, díky vysoké afinitě PEP-karboxylázy, bývá snížena koncentrace CO<sub>2</sub> v intercelulárách listů. Při stejné otevřenosti průduchů je u rostlin typu C<sub>4</sub> rychlejší tok CO<sub>2</sub> do listů, a tudíž transpirační spotřeba vody na jednotku vytvořené sušiny (*transpirační koeficient*) je podstatně menší než u rostlin typu C<sub>3</sub>:

| <i>typ rostliny</i> | <i>transpirační koeficient</i> [kg (vody). kg <sup>-1</sup> (sušiny)] |
|---------------------|---|
| C <sub>3</sub>      | 500 - 800   |
| C <sub>4</sub>      | 200 - 350   |
| CAM                 | 50 - 100  |

Sukulentní rostliny vybavené metabolickou cestou CAM jsou ze všech rostlin nejdokonaleji adaptované k úspornému hospodaření s vodou. Je nutno zdůraznit, že hlavní podíl na jejich úspěšnosti nemají zásoby vody ve zdužnatělých orgánech, ale právě metabolismus CAM, umožňující ponechat průduchy ve světelné periodě dne zcela uzavřené. Koncentrace osmoticky aktivních látek je u nich pravidelně velmi malá, a tím i možnost většího snížení vodního potenciálu při zachování turgescence není možná. Nemohou proto přijímat vodu z tak suché půdy jako jiné xerofyty a jsou odkázány pouze na rychlý příjem při náhodných srážkách. Existuje však celá řada adaptačních mechanismů, které usnadňují rychlé a účinné využití srážkové vody (např. rychlý růst tenkých sorpčních kořenů kaktusů po ovlhčení půdy, okamžité naplnění kapacity velamenu u kořenů orchidejí či příjem vody sorpčními šupinami na povrchu listů bromélií).

Fixační cesta CAM u sukulentních rostlin umožňuje udržovat fotosyntetickou aktivitu a pozitivní uhlíkovou bilanci i v podmínkách, kdy je příjem vody dočasně zastaven. Tyto rostliny mají také možnost dlouhodobě uzavřít průduchy a provádět vnitřní recyklaci uhlíku. Jde tedy o vynikající adaptaci pro podmínky extrémního sucha, ovšem v méně extrémních podmínkách není již tak prospěšná. I v případě přechodu na přímou efektivnější fixaci CO<sub>2</sub> (u fakultativních CAM-rostlin) nelze změnit základní morfologické charakteristiky nevýhodné pro rychlý růst (zdužnatělé orgány s malým asimilačním povrchem), a sotva proto mohou obstát v konkurenci s rychleji rostoucími druhy.

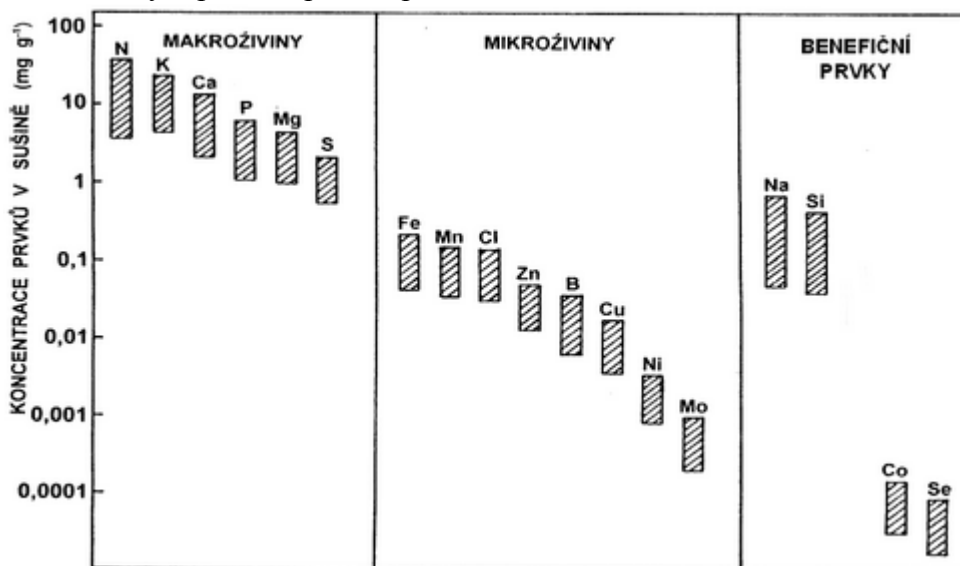
## Vliv nedostatku minerálních živin v prostředí

Nejpotřebnějšími prvky pro růst rostlin jsou uhlík, kyslík a vodík, které tvoří více než 90% biomasy. Rostlina je přijímá hlavně v plynné formě ze vzduchu (CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>), a také z vody. Všechny ostatní nezbytné prvky (= minerální živiny) získává rostlina z půdy, kde se vyskytují ve formě solí. Dostupné množství těchto prvků v půdě však mnohdy nestačí pokrýt potřebu rostlin, a pak dochází ke zpomalení růstu až k vážnému poškození.

Za *nezbytné prvky* považujeme ty, bez kterých rostlina nemůže dokončit svůj životní cyklus, neboť jsou složkou některé nepostradatelné sloučeniny v rostlinném organismu. K nim patří v první řadě (kromě C, H, O), šest **makroživin** (*makroelementů*): **N, P, K, Ca, Mg, S**, jejichž obsah v jednom kilogramu sušiny rostlinné biomasy obvykle přesahuje jeden gram.

Podstatně nižší zastoupení (obvykle méně než 0.1 g.kg<sup>-1</sup>) mají některé další prvky, označované jako **mikroživiny** (*mikroelementy*). Nepochybně nezbytné pro všechny rostliny

jsou **Fe, Cl, B, Mn, Zn, Cu, Mo, Ni**, i když v některých případech (např. u niklu) zásoba v semenech postačuje k pokrytí potřeby i více generací. Kromě uvedených minerálních živin známe ještě několik prvků, které pro rostliny nejsou sice nezbytné, ale pro jisté skupiny rostlin jsou velmi *prospěšné (benefiční)*, neboť stimulují jejich růst a zvyšují jejich odolnost ke stresům. K takovým prvkům patří např. **Na, Si, Co, Se**.



Obsah makroživin, mikroživin a benefičních prvků v sušině lučních rostlin. Sloupečky udávají obvyklý rozsah variability hodnot (bez extrémů) u různých druhů rostlin v různých typech prostředí.

Jen velice vzácně může dojít k tomu, že by některý z nezbytných prvků v půdě zcela chyběl. Častějším případem je snížená koncentrace v přijatelné iontové formě. Způsob, jakým se projeví nedostatek živiny závisí zejména na tom, jakou má v rostlině funkci a jak snadno může být translokována ze starších orgánů do mladších.

Nedostatek živin se obvykle projevuje mnohem *pomalejší* změnou funkcí rostliny, jako tomu bývá u jiných stresových faktorů. Nejčastěji pozorujeme zpomalení růstu, fotosyntézy a jiných procesů až po několikadenním působení. Rostliny mívají jistou část živin uloženou v zásobních formách, ze kterých mohou čerpat při jejich náhlém nedostatku v půdě. Také sama půda má značné tlumící schopnosti dané postupným doplňováním odčerpaných živin mikrobiální dekompozicí půdní organické hmoty, zvětráváním minerálních částic a uvolňováním iontů živin z vazeb na koloidních částicích sorpčního komplexu půdy.

Změny v rychlosti růstu, ve tvaru a v barvě orgánů, či dokonce jejich zrychlené stárnutí a odumírání lze pozorovat jen při velmi vážném nedostatku živin. Proto *vizuální diagnóza* poruch v minerální výživě není spolehlivá. *Analýza obsahu živin v půdě* také neposkytuje dostatečně uspokojivou informaci o jejich možném nedostatku pro rostliny. Ne vždy je totiž možné stanovit chemickou analýzou půdních extraktů skutečnou dostupnost živin pro kořeny.

*Analýza rostlin* (obvykle listů) je již spolehlivější, i když i tento přístup má svoje úskalí. Především je nutno empiricky zjistit, jaký je vlastně optimální obsah té které živiny v biomase rostliny pro zajištění všech funkcí. Potíž je právě v tom, že optimální hodnoty (či spíše rozmezí hodnot) obsahu jednotlivých živin jsou silně závislé na druhu a stáří rostlin, a navíc jsou ovlivňovány vzájemnými interakcemi (mezi jednotlivými živinami). Užitečné informace lze získat i pomocí biochemických metod, neboť nedostatek některých mikroživin se projevuje velmi specifickými změnami enzymatické aktivity (viz dále u jednotlivých prvků).

Mladé, rostoucí části rostlin získávají minerální živiny nejen přímo z půdy, ale i z jiných, stárnoucích orgánů. To je velmi časté u těch prvků, které nejsou zabudovány v příliš pevných vazbách. K prvkům s *velkou mobilitou* uvnitř rostliny patří dusík, fosfor, draslík, hořčík

a chlor. Jsou snadno translokovány především ze starých listů do mladých (a také do plodů), proto první příznaky nedostatku se objeví u starých listů. Mnohem *menší mobilitu* má síra, zinek, mangan a měď. Vápník, železo a bor jsou po zabudování do biomasy téměř imobilní. Jejich nedostatkem proto trpí nejvíce listy mladé. Podívejme se nyní na nejzávažnější následky nedostatku jednotlivých živin.

**Dusík** je nejdůležitější ze všech minerálních živin - je přijímán z půdy v daleko největším množství a jeho hmotnostní podíl v biomase rostlin bývá obvykle 2 až 4 %. Přijatelných forem dusíku (hlavně nitrátových a amonných iontů) je v půdě vždy jen omezené množství, které navíc velice kolísá v závislosti na činnosti půdní mikroflóry. Proto je v přírodě růst rostlin téměř vždy do jisté míry omezován nedostatkem dusíku. Průvodním znakem většího nedostatku je pokles obsahu bílkovin. Velmi nápadný je také snížený obsah chlorofylu. Listy, zvláště ty starší, jsou světleji zelené, později žloutnou a usychají. Úměrně s poklesem obsahu dusíku v listech se snižuje rychlost fotosyntézy listů a v důsledku toho i rychlost růstu. Nedostatek dusíku v půdě je pravidelně provázen zvýšením poměru biomasy kořenů k nadzemním částem. Z toho je zřejmé, že nedostatek dusíku ovlivňuje procesy regulující meziorganovou distribuci asimilátů v rostlině a tím i růstové procesy. Existuje několik hypotéz o možném regulačním mechanismu vycházejících jednak z působení metabolitů asimilace dusíku (některé aminokyseliny) a uhlíku (sacharóza) na alokaci asimilátů, jednak ze změny obsahu fytohormonů (cytokininy, kyselina abscisová, strigolaktony) a následného ovlivnění růstových procesů. Stresové účinky nemusí mít jen celkový nedostatek dusíku, ale i jeho jednostranná nabídka v amonné formě (např. v kyselých, podmáčených či v trvale chladných půdách, kdy je inhibována aktivita nitrifikačních bakterií). Příjem a asimilace amonných iontů jsou procesy spojené s výdejem vodíkových iontů, a tudíž i s poklesem pH jak v buňkách kořenů, tak i v rhizosféře. V citlivosti na toxické působení amonných iontů jsou ovšem velké mezidruhové rozdíly.

**Fosfor** bývá v půdním roztoku vždy jen ve velmi malé koncentraci (pod 2  $\mu\text{M}$ ). Malá je také jeho celková zásoba ve většině půd a rychlost uvolňování z půdních minerálů i z půdní organické hmoty. Proto rostliny trpí velmi často jeho nedostatkem. Fosfor (vesměs ve formě fosfátových iontů) plní v rostlinách velmi rozmanité funkce:

- je stavební součástí nukleových kyselin a fosfolipidů,
- zajišťuje rychlé energetické výměny pomocí vazeb v nukleotidech (ATP, GTP, aj.),
- aktivuje enzymy (fosforylací proteinu - apoenzymu),
- svou koncentrací reguluje celou řadu procesů (rychlost respirace, fotosyntézy, transportu).

Nadbytečné (rezervní) fosfátové ionty jsou ve vegetativních částech rostlin ukládány ve vakuolách, v semenech bývá fosfor uložen ve formě polyfosfátů (*fyáty*).

Příznaky deficiencie se projevují zcela jinak než u dusíku. Listy zůstávají sytě zelené, neboť obsah proteinů a chlorofylu na jednotku listové plochy nebývá snížen. Stonky a listy zakrňují, a také rychlost růstu kořenů se zpomaluje, i když méně než u nadzemních částí. Dozrávání plodů bývá za nedostatku fosforu opožděno. Pohyb fosforu v rostlině je snadný a tudíž i jeho translokace ze stárnučích orgánů do mladých, rostoucích částí je zcela běžné.

**Draslík** je prvek, jehož nedostatek v přírodě bývá mnohem méně častý než v případě dusíku a fosforu. Obsah draslíku v půdě velmi závisí na typu matečné horniny - živce, slídy i některé jíly mají draslíku dostatek a půdy na nich vzniklé jsou jím bohatě zásobeny. V případě nedostatku draslíku je silně omezen růst všech orgánů, vytvářejí se malé plody a hlízy, na listech vznikají nekrózy (od špičky a okrajů směrem k bázi). Stonky i kořeny jsou slabé a málo odolné vůči infekci i vůči jiným stresovým faktorům (sucho, mráz). Draslík není stavební součástí žádných trvalých struktur, ale přesto je nejhojnějším kationtem v rostlinných tekutinách (100 až 200 mM, jak v cytosolu, tak i ve vakuolách a v chloroplastech). V rostlinách není metabolizován,

nevytváří pevné komplexy (na rozdíl od  $\text{Ca}^{2+}$  a  $\text{Mg}^{2+}$ ). Není proto kompetitorem pro jiné kationty a jeho transport v rostlině je mimořádně rychlý, k čemuž přispívají i hojně draslíkové kanály v membránách. Draslík má v rostlině několik značně odlišných funkcí:

- aktivuje mnoho enzymů, a to především udržováním optimální konformace a afinity k substrátu. Při nedostatku draslíku proto dochází kromě jiného i k hromadění primárních asimilátů v listech, neboť nejsou aktivní příslušné syntázy a kinázy katalyzující syntézu škrobu a transportních forem sacharidů,
- aktivuje procesy syntézy proteinů a činnost ATP-ázy v plazmatické membráně,
- je nutný pro dálkový transport aniontů jako doprovodný kationt, v lýku i jako osmotikum,
- je nutný pro všechny procesy závislé na osmotickém tlaku, tedy především pro dlouhivý růst, pohyby průduchů a některé další nastické pohyby (jako hlavní osmotikum zajišťuje dostatečný turgorový tlak).

**Síra** ve formě snadno rozpustných síranů bývá v půdě obvykle v dostatečném množství, a proto ke zjevnému nedostatku dochází jen velmi zřídka. Pokud k němu dojde, pak se vizuálně projevuje blednutím mladých listů, neboť redistribuce ze starších listů je velmi malá. Asimilace síry v rostlině byla již probrána ve 2. části učebních textů. Z přijatých síranů je vždy asimilováno jen takové množství, které rostlina nutně potřebuje. Neredukované sírany mohou být uloženy ve vakuole, ale také zabudovány do sulfolipidů a polysacharidů. Významnou zásobárnou redukované síry představuje glutation, kterého je zvláště velké množství (asi 50 %) v chloroplastech. Tam také plní významnou antioxidační funkci. Glutation je výchozí sloučeninou pro tvorbu fytochelatinů (viz dále v kapitole o působení těžkých kovů). Síru obsahuje i celá řada sekundárních metabolitů (např. alliin v česneku a cibuli, glukosinoláty u brukvovitých). Nedostatek síry vyvolává poruchu syntézy proteinů a chlorofylu, a v důsledku toho dochází ke zpomalení růstu nadzemních částí. Kořeny obvykle nebývají postiženy.

**Hořčík** je také prvek, kterého bývá ve většině půd dostatek. Přesto se v současné době stává hlavní limitující živinou pro vegetaci v oblastech s kyselými půdami. Za nízkého pH a za zvýšeného přísunu aniontů ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ) ve srážkové vodě bývá vyplavován ze sorpčního komplexu rhizosféry do hlubších vrstev půdy. K prvním symptomům nedostatku hořčíku patří žloutnutí starších listů (úbytek chlorofylu), snížený obsah proteinů a snížená rychlost fotosyntézy. Kromě vazby v molekule chlorofylu hořčík aktivuje celou řadu enzymů, včetně hlavního karboxylačního enzymu *Rubisco*.

**Vápník** je obsažen v nedostatečném množství pouze v některých velmi kyselých půdách. Obdobně jak u hořčíku, kyselé deště přispívají k jeho rychlému vyplavování z půdy. Nedostatek vápníku se nejvíce projevuje u mladých orgánů. Vápník (na rozdíl od hořčíku) není transportován lýkem a proto také není retranslokován ze starých orgánů do mladých. Nejvíce jeho nedostatkem trpí meristematická pletiva, protože bez Ca-pektátu nelze vytvořit střední lamelu při dělení buněk a ani dostatečně pevnou buněčnou stěnu. Dochází k deformacím růstu, někdy až k odumření meristémů. Také správná funkce membrán není bez vápníku možná - je nutný k zachování soudržnosti fosfolipidové vrstvy. Celkový obsah vápníku bývá v rostlinách (zejména dvouděložných) značný, ovšem většinou se na něm podílejí nerozpustné soli (hlavně uhličitan a šřavelan) uložené ve vakuole či v buněčné stěně. Koncentrace vápníku v cytosolu je přísně udržována na velmi nízké úrovni (0,1 až 0,2  $\mu\text{M}$ ). Důvodů prototo omezení je několik. Především by mohlo dojít k inaktivaci fosfátů tvorbou nerozpustných vápenatých solí. Za vyšší koncentrace v cytosolu by také vápník sotva mohl plnit významnou úlohu při vnitrobuněčných přenosech signálů a u celé řady enzymatických aktivit. Při transportu v buňkách je vápník obvykle vázán na specifickou bílkovinu *calmodulin*.

**Železo** se vyskytuje v hojné míře prakticky ve všech půdách, ovšem ne vždy ve formě dostupné pro rostliny. Při hodnotě pH 5 a více přechází za dostatku kyslíku většina rozpustných železnatých sloučenin na mnohem méně rozpustné soli železité. Nedostatek dostupného železa je proto častý na půdách s alkalickou reakcí (např. na vápencovém podkladu). Zjevné příznaky špatného zásobení rostlin železem jsou podobné jako u hořčíku (ztráta chlorofylu), avšak s tím rozdílem, že jako prvé jsou postiženy mladé listy. Translokace železa ze starších listů není téměř možná, neboť je vázáno v pevných komplexech. Železo je významnou součástí mnoha enzymů, především v hemových skupinách cytochromů, peroxidázy a katalázy, ale i v nehemových vazbách Fe-S proteinů (např. ferredoxin, akonitáza, Fe-superoxiddismutáza). Všechny tyto enzymy mají redoxní funkci, neboť snadná a vratná změna oxidačního stupně železa umožňuje přenosy elektronů. Známe ovšem i neredoxní typy enzymů s obsahem železa, které jsou nutné pro syntézu etylénu, mastných kyselin a chlorofylu. Proto se nedostatek železa projevuje nejnápadněji blednutím listů (= sníženým obsahem chlorofylu).

Pro příjem železa z málo rozpustných forem v půdě jsou u některých druhů rostlin vyvinuty zajímavé adaptace. Jednou z možností, kterou využívají hlavně dvouděložné rostliny, je vylučování komplexotvorných organických kyselin a fenolických látek. Železité ionty jsou pak na povrchu kořenů uvolněny z komplexů, redukovány na  $Fe^{2+}$  a teprve pak přijímány. Dokonalejší adaptační strategií, účinnou i na velmi alkalických půdách, je chelátová vazba trojmocného železa bez nutnosti okyselovat okolí kořene. Předpokladem však je tvorba a vyloučení zvláště silných chelatizačních sloučenin, označovaných jako *fyto siderofory* (obvykle typu iminokarboxylových kyselin). Rostlina pak přijímá celý chelátový komplex, a až v kořenech dochází k uvolnění  $Fe^{3+}$  a k redukcí na  $Fe^{2+}$ . Tato cesta získávání železa je obvyklá jen u trav.

**Chlor** je přijímán ve formě chloridů, a to obvykle ve větším množství, než kolik je nutné. Příznaky jeho nedostatku se u rostlin v přírodě neprojevují, lze je však vyvolat pokusně: růst je pak velmi zpomalen, listy blednou a vadnou. Stopová množství chloru lze nalézt v rostlinách ve více než stovce organických sloučenin (včetně bílkovin), z nichž mnohé zabezpečují zcela základní funkce (např. fotolýzu vody při fotosyntéze, aktivaci ATP-ázy v tonoplastu, dělení buněk, růstové regulace). Významná je i funkce chloridových iontů jako osmotika, zejména při pohybech prùduchů.

**Manganu** je všude v přírodě dostatek, i když, obdobně jako v případě železa, rozpustnost jeho solí je při vyšším pH malá. Je přijímán jako  $Mn^{2+}$  či v chelátové formě a jeho nedostatek (což je vzácný případ) se projeví v prvé řadě rozpadem thylakoidních membrán chloroplastů, navenek pak mozaikovitou chlorózou listů. Mangan má klíčovou úlohu při fotolýze vody, je aktivátorem několika desítek enzymů a součástí některých redoxních systémů.

**Bór** je prvek, jehož obsah v půdách značně kolísá a příznaky jeho nedostatku byly pozorovány už dávno (srdéčková hniloba řepy, skvrnitost jablek, snížení rychlosti fixace dusíku hlízkovými bakteriemi, aj.). Často jde však o interakci s jinými prvky. Prvním, i když méně zjevným příznakem nedostatku bóru, je zpomalení buněčného dělení v apikálních meristémeh, což se dává do souvislosti s prokázanou inhibicí syntézy nukleových kyselin, syntézy membrán a buněčné stěny. Detailní informace o všech aspektech mechanismu působení bóru v rostlině nám dosud chybí. Není součástí žádného ze známých enzymů, ani žádný neaktivuje. Zcela jistě však má nezastupitelnou úlohu při tvorbě funkčních komplexů s řadou sacharidů, hemicelulóz a fenolických látek.

**Zinek, měď, molybden a nikl** patří sice mezi prvky nezbytné pro růst, avšak jejich potřeba je tak nepatrná, že se s projevy nedostatku v přírodě sotva setkáme. Všechny tyto prvky jsou především významnou součástí některých enzymů.

**Zinek** obsahují např. alkalické fosfatázy, RNA-polymeráza, alkoholdehydrogenáza a karbonátanhydráza. Kromě toho aktivuje několik desítek dalších enzymů nutných pro syntézu proteinů, pro metabolismus sacharidů, degradaci RNA, syntézu tryptofanu a auxinů.

**Měď** je součástí mnoha proteinů s redoxní funkcí, např. cytochromoxidázy, askorbát-oxidázy, polyfenoloxidázy a plastocyaninu.

**Molybden** je obsažen především v molybdopterinovém kofaktoru enzymů nitrogenázy, nitrátreduktázy a xantinoxidázy/reduktázy. Nedostatek molybdenu se projevuje zpomalením růstu, chlorózami a nekrózami listů. Zvláště náchylné jsou bobovité rostliny, kukuřice a květák.

**Nikl** byl zařazen mezi nezbytné prvky teprve nedávno (Dalton et al. 1988), když se ukázalo, že nikl obsahující enzym ureáza je skutečně nutná pro biochemické funkce rostlin, zejména pak těch druhů, které vytvářejí hodně ureidů jako transportních dusíkatých látek (např. bobovité a javorovité).

**Sodík** patří už mezi *benefiční prvky*, stejně tak jako následující křemík, kobalt a selen. Zvláště důležitý je pro halofytní rostliny, ale i pro některé další tzv. natrofilní druhy včetně řepy a kukuřice. U halofytů může nahrazovat draslík v úloze hlavního osmotika. U C<sub>4</sub> rostlin významně stimuluje syntézu fosfoenolpyruvátu z pyruvátu.

**Křemík** je zvláště hojně přijímán rostlinami z čeledi šachorovitých a lipnicovitých. Zpevňuje buněčnou stěnu a tím zvyšuje i mechanickou odolnost listů a stébel vůči mechanickému poškození (poléhání), i vůči ataku herbivorů a patogenů.

**Kobalt** je nutný pouze pro zdárný vývoj symbiotické fixace dusíku u těch druhů rostlin, které jsou ji schopny provozovat (je součástí vitamínu B<sub>12</sub> v hlízkových bakteriích).

**Selen** je vázán v aminokyselinách selenocysteinu a selenometioninu. Na rozdíl od živočichů však pro rostliny tyto aminokyseliny nejsou nezbytné.

## Nedostatek kyslíku

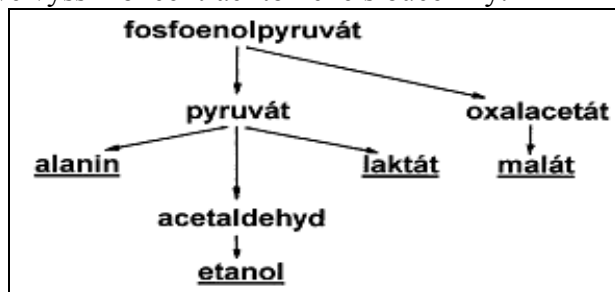
Nadzemní části rostlin jsou obklopeny vzdušným prostředím, ve kterém je koncentrace kyslíku vysoká a stálá (přibližně 21 objemových procent). Ve zcela jiné situaci jsou ale podzemní orgány, neboť koncentrace kyslíku v plynné fázi půdního systému je trvale snížena ve srovnání s volnou atmosférou. Kyslík je totiž nepřetržitě odebírán nejen respiračními procesy kořenů, ale i respirační půdní mikroflórou. V půdě s dostatkem velkých pórů není toto snížení velké (nanejvýš na polovinu koncentrace ve volné atmosféře), díky rychlému doplňování difúzním tokem ze vzduchu nad povrchem půdy. Pokud je ovšem vzdušných pórů málo a navíc jsou úzké, jak tomu bývá u těžkých jílových půd, nebo v důsledku zvýšeného obsahu vody v půdě (zamokření), pak může koncentrace kyslíku v rhizosféře klesnout na hodnoty blízké nule. Tyto hypoxické až anoxické podmínky způsobují vážný stres u těch druhů rostlin, které nemají vhodné adaptace.

Jakmile koncentrace kyslíku v půdním vzduchu v okolí kořenů klesne pod 2 až 4 % (objemová), dochází k inhibici aerobních respiračních procesů, a to jak v buňkách kořenů, tak i u půdních mikroorganismů. V prvé řadě je zpomalena až zastavena funkce elektronového transportního řetězce v mitochondriích a hromadí se NADH inhibuje činnost citrátového cyklu. Glykolýza inhibována není, neboť nevyžaduje kyslík a její hlavní produkt, pyruvát, může být zpracován náhradní anaerobní cestou (fermentací). Při fermentačním metabolismu je spotřebováván i NADH vznikající při glykolýze, takže nic nebrání tomu, aby reakce probíhaly tak dlouho, dokud je k dispozici primární substrát.

Přechod na uvedené anaerobní disimilační procesy má pro rostlinu velmi vážné následky. Především trpí nedostatkem energie. Zatímco z jednoho molu glukózy lze získat aerobní



cestou až 32 molů ATP, anaerobním rozkladem jen dva. Na pokrytí normálních energetických potřeb musí proto rostlina v prostředí bez kyslíku spotřebovat mnohonásobně větší množství organických látek (zrychlenou glykolýzou), což brzy vede k jejich úplnému vyčerpání. Dalším nebezpečím jsou konečné produkty fermentace, neboť etanol a zejména kyselina mléčná jsou ve vyšší koncentraci toxické sloučeniny.



Možné cesty zpracování produktů glykolýzy při zablokování oxidačních procesů v mitochondriích nedostatkem kyslíku.

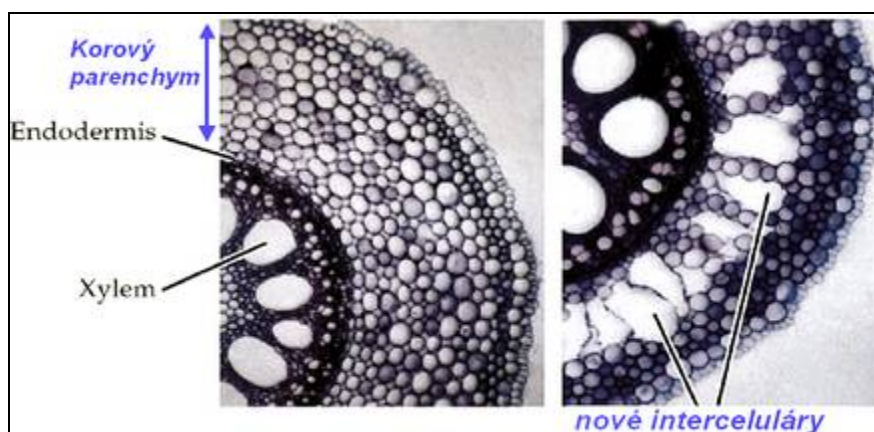
Kromě přímého negativního působení nedostatku kyslíku na fyziologické procesy dochází i v chemismu půdy k celé řadě změn, které nepřímě ohrožují rostliny. Mnoho druhů půdních mikroorganismů je dobře adaptováno pro život v anaerobním prostředí. Mají totiž schopnost při svých respiračních procesech využívat místo kyslíku i jiné látky jakožto akceptory elektronů a převádět je do redukovaného stavu. Jednou z možností je redukce nitrátů na molekulový dusík (denitrifikace). Pro rostliny mnohem nebezpečnější je však redukce síranů na sirovodík, a také uvolnění dvojmocných iontů železa a manganu redukcí oxidovanějších nerozpustných forem. Vzniklé látky jsou ve vyšší koncentraci toxické a navíc  $\text{Fe}^{2+}$  váže volné fosfátové ionty do nerozpustné soli. Za nedostatku kyslíku je silně inhibována činnost nitrifikačních bakterií. Většina přijatelného dusíku je proto ve formě amonných iontů, které mohou působit ve vyšší koncentraci na některé druhy rostlin inhibičně až toxicky.

Aklimační reakce na náhlé snížení koncentrace kyslíku (např. při silných deštích či po zaplavení půdy) má značně komplexní charakter. Dochází především ke změnám v koncentraci *fytohormonů* a k syntéze stresových proteinů. Zvyšuje se syntéza kyseliny abscisové, která zprostředkovává regulaci řady procesů i v nadzemních orgánech (zavírání průduchů, inhibici růstu, aj.). Tvorba cytokininů v kořenech je naopak zpomalena a stejně tak i tvorba etylénu, protože vyžaduje kyslík. Přesto koncentrace etylénu v kořenech vzrůstá, neboť jsou značně omezeny jeho ztráty difúzí do okolního prostředí. Bylo také zjištěno, že hypoxickém prostředí stoupá citlivost buněk na působení etylénu. Etylén je pravděpodobně hlavním signálem ke spuštění celé řady dalších aklimačních reakcí. Jednou z prvních je indukce tvorby enzymů rozkládajících pektinové střední lamely buněčných stěn. Dochází tak k rychlé tvorbě rozsáhlých intercelulár v parenchymatických pletivech kořenů a stonku. Jejich propojením vznikají podélné kanálky, kterými do kořenů difunduje kyslík z nadzemních částí. Nově vytvářené kořeny v hypoxickém prostředí jsou nápadně ztlustlé a velmi málo větvené.

*Proteiny indukované sníženou koncentrací kyslíku (anaerobic stress proteins, ASP)* můžeme v buňkách dokázat nejen za úplné anoxie, ale už při snížení koncentrace kyslíku ve vzduchu v okolí rostliny asi na 4 %. Jejich indukce je poněkud pomalejší než u předešlých skupin stresových proteinů, nicméně už po pěti hodinách trvání nedostatku kyslíku představuje tvorba ASP přibližně tři čtvrtiny celého objemu proteosyntézy. Je to dáno také tím, že jejich tvorbě předchází útlum syntézy mnoha proteinů vyskytujících se v buňkách za dostatku kyslíku. Početnou skupinu v ASP, kterých celkem známe asi 20, tvoří enzymy nutné pro některé specifické cesty metabolismu sacharidů, ale i pro glykolýzu a fermentační procesy (např. alkoholdehydrogenáza, pyruvátdekarboxyláza a laktátdehydrogenáza, které patří k nejhojnějším).

I přes velmi nepříznivé účinky hypoxického prostředí na rostliny a velmi dramatické změny v buňkách po jeho náhlém navození, známe celou řadu druhů, které úspěšně rostou na trvale zamokřených či zaplavených půdách. Na těchto lokalitách bývají dokonce dosahovány špičkové hodnoty produkce biomasy (např. rákosiny, rýžová pole). Z toho je zřejmé, že adaptační schopnosti některých druhů jsou skutečně dokonalé.

Základem úspěšného přizpůsobení mokřadních rostlin je zajištění rychlého transportu kyslíku do kořenů. Rozsáhlý systém intercelulár, tvořící až 60 % z celkového objemu pletiv ve stoncích a kořenech, patří u nich k trvalým, konstitučním znakům. Transport plynů v intercelulárách neprobíhá pouze difúzí, ale i mnohem rychlejším hromadným tokem (*mass-flow*). K tlakovému rozdílu jakožto hybné síly hromadného toku dochází jednak kolísáním teploty nadzemních částí v průběhu dne, jednak snadným únikem vydýchaného oxidu uhličitého do vody v okolí kořenů. Kyslík transportovaný do kořenů je využíván nejen k respiračním procesům, ale i k detoxikaci rhizosféry, především k oxidaci  $\text{Fe}^{2+}$  a  $\text{Mn}^{2+}$  na nerozpustné sloučeniny



U kořenů rostoucích za dostatku kyslíku v půdě (levý obrázek) nejsou téměř žádné interceluláry, avšak za nedostatku kyslíku (po náhlém zaplavení) se rychle vytvářejí (vpravo).

Adaptované rostliny mají kromě výhodných morfologických znaků i řadu trvalých metabolických zvláštností. Patří k nim např. velmi dokonalé řízení rychlosti glykolýzy a tudíž u nich nedochází za nedostatku kyslíku k tak prudkému zrychlení rozkladných procesů, které by vedlo k vyčerpání rezerv. Také konečné produkty fermentace (především ethanol) bývají velmi účinně vylučovány z kořenů do vnějšího prostředí. Někdy také mohou převažovat méně toxické produkty, jako např. malát, alanin či glycerol. U druhů tolerantních k nedostatku kyslíku dochází k syntéze stresových proteinů rychleji než u druhů netolerantních.

### Silně zasolené a kyselé půdy

Zasolené půdy se vyskytují nejen v blízkosti moře, ale i ve vnitrozemských oblastech, kde potenciální výpar (tj. množství vody které by se za daných klimatických podmínek odpařilo, pokud by byla voda v půdě stále v dostatečném množství) převažuje nad srážkami. Jde především o rozsáhlé pouště a polopouště na všech kontinentech. K lokálnímu zasolení může dojít i na dlouhodobě zavlažovaných pozemcích.

Problémy, kterým rostliny musí čelit při růstu na zasolených půdách, jsou komplexní povahy. Kromě vlastního toxického vlivu vysoké koncentrace některých iontů (zejména  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  a  $\text{Mg}^{2+}$ ) to bývá velmi nízký vodní potenciál a zhoršené fyzikální vlastnosti půdy. Neadaptované rostliny hromadí ve svých buňkách uvedené ionty v takovém množství, které je neslučitelné s normální funkcí enzymů. Velmi brzy pak dochází k zastavení dělivého i dlouhivého růstu a nakonec k odumření celé rostliny.

Přesto známe řadu druhů, které snášejí bez poškození i značné zasolení půdy (halofytní rostliny). Adaptace k zasolení probíhala několika směry. U části druhů je příjem solí dokonale kontrolován vysokou selektivitou plazmatické membrány pro transport iontů do buněk kořenů, takže i v podmínkách silného zasolení (např. u mangrovů na mořských pobřežích) proudí v xylému téměř čistá voda. Tyto druhy mají též schopnost dobrého rozlišení iontů  $\text{Na}^+$  a  $\text{K}^+$  (s preferencí příjmu  $\text{K}^+$ ).

**Glykofyty** - do 1% obsahu solí v půdním roztoku (=  $10 \text{ g l}^{-1}$ )  
**Halofyty** - obvykle do 5 až 10 % (extrém 26% - *Salicornia* sp.)  
**Mořská voda** - průměrný obsah solí 3,5%  
- hlavní složky: **NaCl (78%),  $\text{MgCl}_2$  (10%),  $\text{MgSO}_4$  (5%),  $\text{CaSO}_4$  (4%), KCl (2%)**  
- vodní potenciál **-2,7 MPa!**  
**Pokud hodnota vodního potenciálu vody v půdě klesne pod hodnotu -1,5 MPa, pak běžné rostliny (glykofyty) ji nejsou schopny již přijímat!**  
**Dominantní solí na půdách v blízkosti moře je NaCl, ve vnitrozemských zasolených půdách spíše sírany a uhličitany.**

U většiny halofytů však není příjem solí tak dokonale řízen, což vede k jejich hromadění v listech. Avšak i u těchto druhů jsou orgány a enzymy v cytosolu citlivé na vyšší obsah solí, a proto jsou soli ukládány do vakuoly a apoplastu. Vysoký osmotický tlak vakuolární šťávy musí být vyrovnáván zvýšenou koncentrací kompatibilních osmoticky aktivních látek v cytosolu (sacharidů, prolinu, aj.). Část solí bývá vylučována na povrch listu.

Hodnoty vodního potenciálu zasolených půd bývají běžně sníženy pod -1 MPa. Pokud je vystavena běžná, neadaptovaná rostlina náhlému působení zasolené půdy, jednou z prvních reakcí je zvýšení osmotického tlaku v buňkách kořenů (osmoregulací). Jen tak lze v aktivním (turgescenčním) stavu snížit hodnoty vodního potenciálu na úroveň nižší, než je v půdě, což je podmínkou pro zachování příjmu vody. U halofytů obou uvedených skupin jsou hodnoty osmotického tlaku trvale velmi vysoké (i více než 10 MPa!). Další významnou reakcí je tvorba stresových proteinů, které jsou velmi podobného typu jak při stresech z vysoké teploty a z nedostatku vody.

**Silně kyselé půdy** představují v současné době závažný problém nejen ve střední Evropě, ale i na jiných kontinentech. Nadměrná kyselost půdy může mít velmi rozmanité příčiny i následky pro růst rostlin. Na poklesu pH půdy se podílí nejen vstup vodíkových iontů z kyselých srážek, ale i nevhodný způsob obhospodařování (nadměrné hnojení dusíkatými hnojivy, dlouhodobé pěstování monokultur stejných plodin, sklizeň a odvoz veškeré biomasy). Vzestup koncentrace  $\text{H}^+$  je účinně tlumen pouze na půdách s vyšším obsahem  $\text{CaCO}_3$ . Na většině ostatních půd má dominantní úlohu v řízení pH komplex s hydratovanými ionty hliníku, který umožňuje pokles pH až na hodnotu 3,5. Hodnoty nižší jsou již v přírodě výjimečné (např. některé rašelinné půdy či půdy s vyšším obsahem síry).

Přímé poškození rostlin vysokou koncentrací vodíkových iontů je poměrně vzácné, neboť k němu dochází obvykle až při hodnotě pH 3 a nižší. Mnohem významnější je tedy nepřímé negativní působení zvýšenou rozpustností některých sloučenin v půdě při nízkém pH. Zejména dochází k uvolňování vysoce toxických iontů hliníku ( $\text{Al}^{3+}$ ). Také volné ionty  $\text{Fe}^{2+}$  a  $\text{Mn}^{2+}$  působí v nadbytku toxicky.

Vysoká koncentrace vodíkových iontů v půdě vytěsňuje kationty (zejména  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  a  $\text{K}^+$ ) ze sorpčních vazeb na koloidech a snadno dojde k jejich vyplavení z půdy. Rostliny pak trpí nedostatkem těchto kationtů. Dále je snížena dostupnost fosforu (vazbami na volné ionty hliníku a železa se tvoří nerozpustné sloučeniny) i nitrátového dusíku, protože nitrifikační bakterie jsou citlivé na pokles pH.

Rostliny, které úspěšně rostou na kyselých půdách, jsou adaptovány k tolerování nepřímých vlivů nízkého pH. V první řadě to bývá tolerance k vysoké koncentraci hliníku, manganu a železa. Tyto adaptované druhy nejsou z fyziologického hlediska obligátně acidofytní, neboť v kultivaci dobře rostou ve značně širokém rozmezí pH. Vyhraněná ekologická vazba na stanoviště s nízkým pH půdy bývá podmíněna nepřímo řadou dalších faktorů, které jsou často jen v koincidenci (nikoli tedy v příčinném vztahu) s hodnotou pH.

### **Negativní působení kyselých půd na rostliny**

#### **Primární vlivy:**

- toxické působení vysoké koncentrace  $Al^{3+}$  a  $Mn^{2+}$ ,
- inhibiční vliv nedostatku dostupného P, Ca, Mg.
- inhibiční vliv vysoké koncentrace vodíkových iontů na funkce kořenů (zejména na transportní procesy),
- inhibiční vliv vysoké koncentrace amonných iontů,

#### **Sekundární vlivy** (v důsledku inhibice růstu a funkce kořenů):

- omezený příjem vody ( $\Rightarrow$  náchylnost k vodnímu stresu),
- omezená kapacita příjmu živin ( $\Rightarrow$  zpomalení mnoha fyziologických procesů včetně růstu, náchylnost ke stresům)
- snížená odolnost vůči patogenům.

### **Mechanismus toxického působení iontů $Al^{3+}$**

- blokování vazebných míst pro  $Ca^{2+}$  a  $Mg^{2+}$  v apoplastu a výrazné omezení rychlosti jejich transportu do cytoplasmy,
- rozvrat v signálních a aktivačních procesech, jejichž řízení je normálně závislé na náhlých změnách koncentrace  $Ca^{2+}$ ,
- blokování vazby  $Ca^{2+}$  do pektátů (inhibice dělení a růstu buněk).

*Zřídka bývá nalezena jasná závislost mezi stupněm poškození rostlin a koncentrací  $Al^{3+}$  v půdě či v rostlinách! Poškození spíše záleží na poměru koncentrací  $Ca^{2+}$  a  $Al^{3+}$  v půdním roztoku.*

Při poklesu poměru  $Ca^{2+}/Al^{3+}$ :

- pod 10 - dochází k poškození jen velmi citlivých druhů,
- pod 1 - poškození již dosti odolných druhů (např. smrk),
- pod 0,05 - poškození i těch nejodolnějších druhů (např. acidofilní trávy).

*Přídavkem  $Ca^{2+}$  a  $Mg^{2+}$  do rhizosféry lze tedy toxicitu  $Al^{3+}$  snížit!*

### **Adaptační znaky rostlin velmi odolných k toxickému působení $Al^{3+}$**

- chelatizace Al, Fe, Mn v okolí kořenů vylučováním aniontů organických kyselin (zejména jablečné a citronové) kořeny,
- efektivnější příjem a využití Ca, Mg a P (zejména nedochází k blokování vápníkových kanálů!),
- selektivní vazba  $Al^{3+}$  v buněčných stěnách omezující jeho inhibiční vliv na příjem kationtů živin,
- dokonalejší chelatizace  $Al^{3+}$  v cytosolu (pomocí org. kyselin) a ukládání inaktivních komplexů ve vakuole,
- vyšší selektivita v příjmu forem dusíku (preferenci  $NO_3^-$ ).

## Toxické látky v prostředí (polutanty)

Plynné, kapalné i pevné složky prostředí, ve kterém v přírodě rostliny rostou, jsou velmi pestrá směs desítek chemických sloučenin, z nichž některé mohou mít výrazně inhibiční až toxické účinky. Z plynů je nejvíce nebezpečný ozón a oxid siřičitý, v půdě pak ionty těžkých kovů a aromatické organické látky. Stále vyšší obsah toxických látek v prostředí je spojen hlavně s průmyslovou a zemědělskou činností člověka (spalování fosilních paliv, používání umělých hnojiv, pesticidů, detergentů atd.). Tak se dostávají do prostředí i sloučeniny, které se v přírodě nikdy dříve nevyskytovaly (*xenobiotika*).

**Ozón** je obvykle nejtoxičtější složkou přízemní vrstvy atmosféry (troposféry), i když jeho koncentrace velmi kolísá jak časově tak místně (průměrná hodnota maxim bývá v rozmezí 300 až 500  $\mu\text{g m}^{-3}$ ). Naprostá většina troposférického ozónu vzniká fotolýzou oxidů dusíku ( $\text{NO}$ ,  $\text{NO}_2$ ), a také některých plynných organických sloučenin (uhlovodíků). K rozkladu těchto látek dochází účinkem ultrafialového záření. Velké koncentrace ozónu se proto nejčastěji vytvářejí v horních vrstvách znečištěného ovzduší vystavených intenzivnímu slunečnímu záření, zvláště je-li inverzní typ počasí s malou turbulentní výměnou. Vznikající ozón může být v tom případě velmi nebezpečný pro rostliny v horských oblastech. Koncentrace ozónu ve vzduchu bývá obvykle nejmenší v noci a nejvyšší v odpoledních hodinách. Nejvíce poškozené bývají druhy s intenzivní výměnou plynů v listech.

Ozón vstupuje do listů výhradně průduchy a již v intercelulárách, v kontaktu s vlhkými buněčnými stěnami, se rychle rozkládá. Průnik nerozloženého ozónu přes plazmatickou membránu je stěžejí možný. Při rozkladu ozónu vzniká nejen molekulový kyslík, ale jako meziprodukty i reaktivní superoxid ( $\text{O}_2^-$ ), peroxid vodíku a hydroxylový radikál ( $\text{OH}^\cdot$ ). Tyto sloučeniny v první řadě způsobují nekatalyzovanou oxidaci složek buněčné stěny (zejména proteinů a fenolických látek), a složek plazmatické membrány (lipidů i proteinů).

Tvorba nekrotických skvrn na listech poškozených ozónem velmi často připomíná symptomy hypersensitivní reakce na poškození patogeny (viz str. 37). Na počátku této reakce, vedoucí k náhlé smrti buněk, je také tvorba aktivních forem kyslíku v buněčné stěně a tak lze oprávněně spekulovat o obdobném mechanismu obou reakcí, i když je spuštěn velmi odlišnými primárními podněty. Pak už není tolik překvapující zjištění, že ozónem bývá indukována (kromě jiného) tvorba proteinů se specifickým ochranným účinkem proti patogenům, např. lytické enzymy chitináza a glukonáza. Při působení ozónu dochází velmi rychle ke zvýšené tvorbě etylénu (expresí genu pro ACC-syntázu), ovšem tvorba etylénu spíše urychluje poškození a smrt buněk (při zablokování tvorby etylénu je poškození menší!). K zesílení negativního působení ozónu může pravděpodobně přispívat reakce uvolněného etylénu s ozónem v buněčné stěně provázená vznikem superoxidu a reaktivních aldehydů. Odumírání buněk pod vlivem vyšších dávek ozónu nemusí být způsobováno pouze "programovanou" hypersensitivní reakcí, ale i neregulovaným způsobem po vážném narušení integrity plazmatické membrány peroxidací lipidů.

Ne vždy však působení ozónu musí končit odumíráním buněk. Při interakci menších (neletálních) dávek ozónu s buněčnou stěnou se aktivují i některé *ochranné mechanismy*, které omezují možné poškození buněk. Zvyšuje se aktivita glutathion-s-transferázy, která odstraňuje produkty peroxidace lipidů. Zvyšuje se také aktivita "antioxidačních" enzymů, superoxidodismutázy, askorbátperoxidázy a glutathionreduktázy. Je stimulována tvorba ligninu a extensinu v buněčných stěnách. Při *dlouhodobém působení* i poměrně nízké koncentrace ozónu však může dojít ke chronickému poškození listů, které se vyznačuje snížením antioxidační ochrany, úbytkem enzymu *Rubisco*, poklesem rychlosti fotosyntézy a zrychleným stárnutím. Mechanismus tohoto typu poškození se však experimentálně studuje jen velmi obtížně.

**Oxid siřičitý** se sice v atmosféře Země vyskytoval i před industriální érou (z vulkanických emisí), ovšem v důsledku spalování uhlí s velkým obsahem síry se jeho koncentrace postupně zvyšovala až do fytotoxických hodnot. V současné době již nepůsobí SO<sub>2</sub> tak vážné problémy jako kdysi, neboť uhlí se spaluje již méně a velké spalovny (hlavně tepelné elektrárny) jsou vybaveny odsiřovacím zařízením.

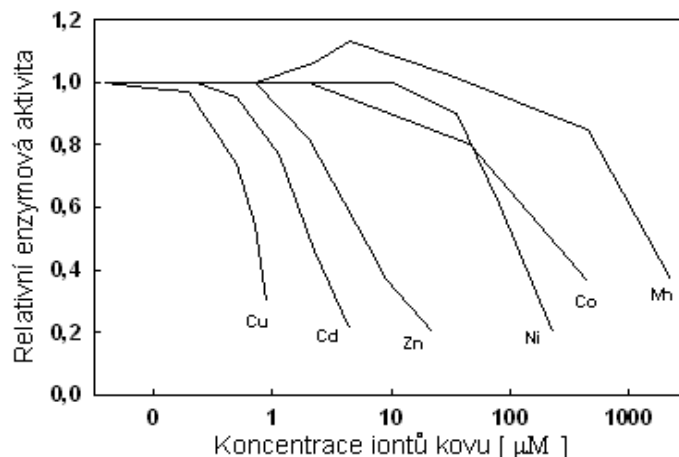
Oxid siřičitý vstupuje do listů hlavně otevřenými průduchy a difúzí v intercelulárách se snadno šíří ke všem buňkám listového mezofylu. Po proniknutí buněčnou stěnou se rychle rozpouští a mění na siřičitanové anionty, jejichž naprostá většina vstupuje do chloroplastů. Tam se v menších koncentracích neprojevují škodlivě, neboť za dostatku záření dochází právě v chloroplastech k jejich redukci (na siřičitanový iont) a k následnému zabudování do organických sloučenin. Ve vyšší koncentraci však siřičitanové ionty způsobují nadměrné snížení pH cytosolu a blokují činnost karboxylačního enzymu *Rubisco*, čímž je inhibován i průběh sekundárních procesů fotosyntézy.

V odolnosti k toxickému působení SO<sub>2</sub> existují velké mezidruhové rozdíly. Nejvíce ohroženy bývají druhy s dlouhověkými listy, zejména jehličnaté stromy, a také některé stélkaté rostliny s růstovou aktivitou v zimním období. V zimě bývá zpravidla koncentrace SO<sub>2</sub> nejvyšší.

Aklimační reakce na působení SO<sub>2</sub> zahrnují zvýšení aktivity enzymů metabolismu síry a také zvýšení tlumící (pufrovací) kapacity buněk. Tato kapacita je ale závislá na dostatečném zásobení rostliny bazickými kationty (Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>). Nedostatek těchto prvků je běžný na acidifikovaných půdách, ke kterým patří většina našich lesních půd, především pak v horských oblastech. Deficitní rostliny z těchto oblastí jsou proto značně náchylnější na poškození oxidem siřičitým.

Bylo zjištěno, že druhy s fixační cestou C<sub>4</sub> jsou mnohem odolnější vůči toxickému působení SO<sub>2</sub> než rostliny typu C<sub>3</sub>. Je to dáno hlavně menší citlivostí PEP-karboxylázy k SO<sub>2</sub> a lokalizací Calvinova cyklu do velmi dobře chráněných buněk pochev cévních svazků se zvýšenou koncentrací CO<sub>2</sub>.

**Těžké kovy**, zejména zinek, olovo a kadmium, se dostávají do půdy ve větších množstvích usazováním prachu z průmyslových procesů, z výfukových plynů, z kontaminovaných odpadních vod a hnojiv. Ionty těchto kovů jsou velmi snadno přijímány kořeny, neboť selektivita transportních proteinů je zřejmě nedostatečná pro jejich rozlišení od těch prvků, které jsou pro život rostliny nezbytné. Po vstupu do buněk inaktivují některé enzymy a redoxní systémy. Inhibice dělení a dlouhivého růstu buněk, která se projevuje zejména zpomalením růstu primárního kořene, bývá jedním z prvních příznaků jejich toxického působení. V kořenech také dochází k největšímu hromadění těžkých kovů.



Vliv iontů těžkých kovů na aktivitu nitrát-reduktázy, která je zvláště citlivá na jejich působení.

Do nadzemních orgánů je translokována jen menší část přijatých iontů těžkých kovů, přesto jejich působení na inhibici základních metabolických procesů v listech (asimilace uhlíku, dusíku, respirace) je obvykle vážné a velmi brzo prokazatelné.

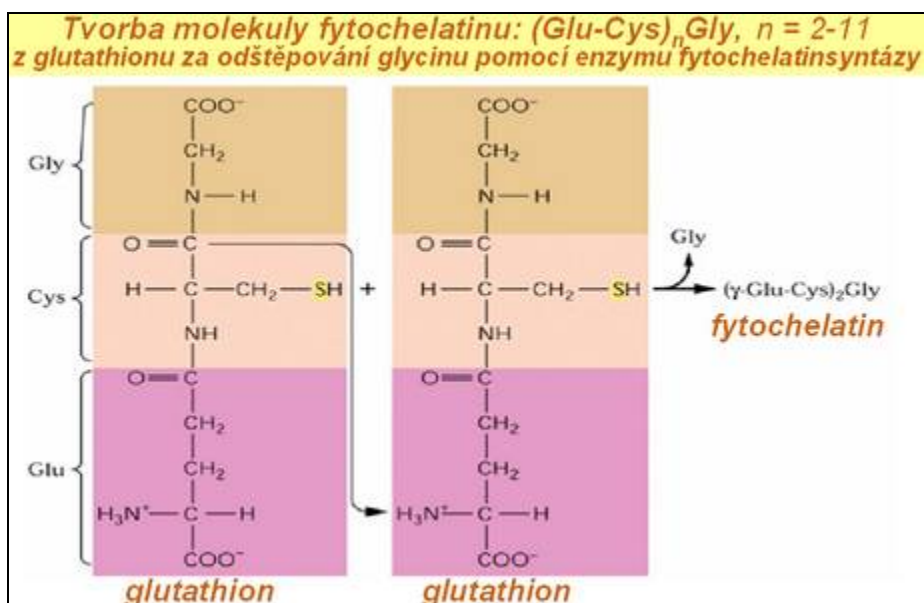
**Zvláštnosti těžkých kovů ve vztahu k rostlinám**

Významnější prvky s hustotou nad  $5 \text{ g cm}^{-3}$  (= těžké kovy):  
**As, Cd, Co, Cu, Cr, Fe, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, Sn, Zn**

- část z nich jsou prvky pro rostliny nezbytné (**mikroživiny**), ovšem všechny jsou v nadbytku toxické,
- v rostlinách mají převážně katalytickou a redoxní funkci,
- v půdě i v rostlinách se mohou vyskytovat ve více formách (z hlediska valence, iontové vazby, hydratace ...),
- snadno vytvářejí chelátové vazby s řadou sloučenin v půdě i v rostlinách,
- v půdě jsou vázány v dosti pevných vazbách, ovšem vzhledem k nepatrné potřebě rostlin (v případě mikroživin) zřídka jsou rostliny omežovány jejich nedostatkem.

V odolnosti rostlin k působení těžkých kovů existují velké rozdíly nejen mezi druhy, ale i uvnitř téhož druhu. Odolné rostliny (např. některé trávy) mohou především značně znesnadňovat vstup toxických iontů do cytosolu, a to jednak vylučováním organických kyselin do rhizosféry, sorpcí na pektinové látky v buněčných stěnách, a konečně i větší selektivitou transportních proteinů v plazmatické membráně.

K vnitrobuněčným detoxifikačním mechanismům patří tvorba obecně stresových (nespecifických) proteinů a odolnějších izoenzymů. Další velmi účinnou aklimační reakcí je tvorba specifických sloučenin (*fytochelatinů*) schopných inaktivovat těžké kovy vazbou do chelátových komplexů. Fytochelatiny jsou zvláštní malé polypeptidy odvozené od tripeptidu glutathionu (viz rámeček). Vznikají spojením dvou až 11 molekul kyseliny  $\gamma$ -glutamové a cysteinu s jednou molekulou glycinu. Syntéza fytochelatinů neprobíhá na ribosomech, ale přímou biochemickou cestou, nicméně je indukována až přítomností iontů kovů v cytosolu. Komplexně vázané toxické ionty jsou transportovány do vakuoly, kde po uvolnění z fytochelatinu jsou opět inaktivovány vysokou koncentrací organických kyselin. Podobnou chelatizační funkci mají i proteiny ze skupiny *metallothioneinů*, které jsou běžné u živočichů, ale jejich tvorba byla prokázána i u některých druhů rostlin.



## Působení biotických faktorů na funkce rostlin

Při studiu vztahů mezi prostředím a funkcemi rostlin nemůžeme zanedbat biotické složky prostředí, protože rostliny v přírodě nežijí nikdy bez interakcí s jinými organismy. Mechanismus vzájemného ovlivňování může být založen na změnách fyzikálně-chemických složek prostředí (kompetice o zdroje, alelopatie), anebo na přímém působení (herbivorie, parazitismus, symbiózy).

### Kompetice, alelopatie, mykorhiza

Ke **kompetici** dochází v těch případech, kdy množství zdrojů hmoty a energie (hlavně záření, vody a minerálních živin) není dostatečné pro optimální růst všech rostlin na určitém místě, a proto rychlost růstu některých z nich (nebo všech) je snížena. Toto snížení však musí být vyvoláno aktivitou sousedících rostlin, nikoli jen obecným nedostatkem zdroje. Různé druhy rostlin nemají obvykle stejnou schopnost využívat zdroje, a tak se velmi často setkáváme s dominancí jednoho, nejlépe adaptovaného druhu nad ostatními.

Zvláště zřetelný je tento vztah při kompetici o záření, kdy vysoká potenciální rychlost růstu stonků a listů rozhoduje o kompetiční úspěšnosti. Vzhledem k jednosměrnému toku záření znamená rychlé vytvoření velké listové plochy jedním druhem v dostatečné výšce nad ostatními téměř úplné využití tohoto zdroje. Konkurence o vodu a živiny, vzhledem k jejich difusnímu charakteru, je méně dramatická a není jen otázkou potenciální rychlosti růstu kořenů. Velmi záleží i na jiných jejich vlastnostech, např. na schopnosti snížit vodní potenciál či na efektivitě příjmu živin.

Základní *mechanismus kompetičních vztahů*, založený na rozdílech ve využívání zdrojů, je jednoduchý, ale jeho fungování v přírodě je často obtížně vysvětlitelné. Především pro silný synergický vztah mezi kořeny a nadzemními částmi - rychlejší příjem živin vede k rychlejšímu růstu listů, a tudíž k výhodě při kompetici o záření. Obdobně zase vrozená schopnost rychlejšího růstu stonků a listů, umožňující dokonalejší příjem záření a vyšší rychlost fotosyntézy, vede i k rychlejšímu růstu kořenů a k výhodě v kompetici o živiny. Určit primární příčinu kompetiční úspěšnosti je velmi obtížné. Často může být založena jen na zcela malém a obtížně měřitelném rozdílu na počátku růstu, který vzhledem k exponenciálnímu průběhu růstových procesů má dalekosáhlé následky.

Kompetice je velmi významnou (nikoli však jedinou) biotickou interakcí, určující strukturu a fungování rostlinných společenstev. Její podstatou jsou genotypově vázané rozdíly v základních fyziologických procesech. Naše znalosti o průběhu těchto procesů v přírodních podmínkách však obvykle nedostačují k uspokojivému vysvětlení kompetice - zjednodušené spekulace mohou velmi zkreslovat skutečný stav.

**Alelopatie** je zvláštním případem vzájemného ovlivňování rostlin na čistě chemickém základu. Každá rostlina obsahuje velké množství sekundárních metabolitů, z nichž některé mohou působit inhibičně až toxicky na jiné rostliny vyskytující se v jejich těsné blízkosti. Pokud skutečně dojde k přenosu účinné látky a k ovlivnění sousední rostliny, pak teprve hovoříme o *alelopatii*.

Významnost alelopatie jako příčiny biotických stresů rostlin v přírodních podmínkách stále patří mezi velmi rozporuplnou a málo probádanou oblast rostlinné fyziologie. Existují sice nesčetná pozorování negativního vzájemného ovlivňování rostlin a také potenciální účinek mnoha rostlinných metabolitů na jiné rostliny je dobře znám, ovšem k důkazu alelopatického působení to ještě zdaleka nestačí. Účinné látky musí být z jedné (zdrojové) rostliny vyloučeny a přeneseny na jinou (cílovou) rostlinu v dostatečné koncentraci. Při tomto transportu nutně dojde k poklesu jejich koncentrace vzhledem k neusměrněnému šíření difúzí, možné sorpci na koloidech či částečnému mikrobiálnímu rozkladu. Z toho ovšem vyplývá, že zdrojová rostlina musí být vůči účinné látce mnohem méně citlivá než rostlina



cílová. Uvolňování a přenos malých koncentrací organických sloučenin je zejména v půdě velmi obtížné sledovat. Ještě obtížnější je ale v silně heterogenním půdním prostředí dokázat, že výsledný efekt (ovlivnění cílové rostliny) byl vyvolán pouze metabolity vyloučenými ze zdrojové rostliny, a ne nějakým jiným způsobem.

Vzhledem k uvedeným potížím je hodnověrných důkazů o alelopatickém působení látek vyloučených z živých rostlin velmi málo. Toto působení je teoreticky možné i u nadzemních orgánů přenosem těkavých látek (hlavně terpenů) či smýváním netěkavých metabolitů vyloučených na povrch listů, ale hlavní význam bude mít nepochybně v kořenové zóně. Velká pozornost je v současné době věnována těm druhům, které sice mají špatné kompetiční předpoklady (zejména pokud mají vrozeně pomalý růst a tudíž i malý odběr živin a vody z půdy), ale přesto v přírodě vytvářejí souvislé porosty, ve kterých se jiným druhům nedaří. K takovým druhům patří např. metlička křivolaká (*Avenella flexuosa*), česnek medvědí (*Alium ursinum*), nebo bažanka lesní (*Mercurialis perennis*). Velmi častým objektem zájmu je také vzájemné ovlivňování trav a jetelovin, u kterých bylo dokázáno alelopatické působení ve zjednodušených podmínkách vodních kultur. K vzájemnému ovlivňování u nich dochází především pomocí fenolických sloučenin (skopoletin, eskulin).

Poněkud lépe prozkoumané je nepřímé alelopatické působení, zprostředkované metabolity uvolněnými mikrobiálním rozkladem z odumřelých částí rostlin. Zvláštní postavení mají i v tomto případě fenolické látky, které se nacházejí v půdě v hojném množství jako produkty rozpadu některých složek biomasy, především ligninu. K těm jednodušším patří např. kyselina fenyloctová, benzoová, hydroxycinnamová, nebo i známý *juglon* (5-hydroxy- $\alpha$ -naftochinon), který způsobuje silnou toxicitu rozkládajících se listů ořešáku na řadu druhů zahradních rostlin. Ze složitějších sloučenin bývají hojné flavonoidy a taniny.

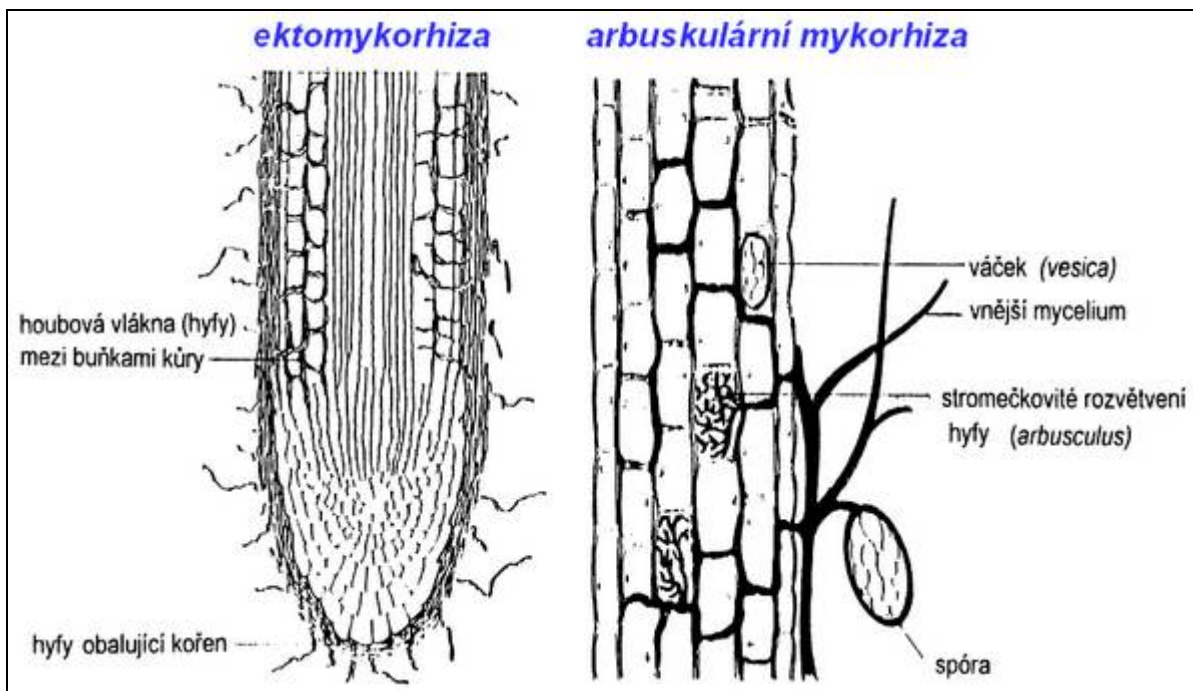
Mechanismus působení látek s potenciálním alelopatickým účinkem je dosud znám velmi nedostatečně. Inhibice membránových funkcí, včetně příjmu iontů minerálních živin, inhibice dělivého i dlouhivého růstu buněk, a inhibice klíčení patří k nejčastěji pozorovaným účinkům. Citlivost různých druhů rostlin je vůči zmíněným sloučeninám značně rozdílná a lze proto předpokládat existenci rozdílně účinných detoxikačních schopností.

**Mykorhiza** je velmi dokonale řízený vztah mezi kořeny rostlin a některými druhy hub. Existuje celá řada strukturně i funkčně odlišných typů tohoto těsného spojení. U *ektomykorhizy* (*EcM*) jsou kořeny obaleny pochvou z houbových vláken, které částečně pronikají i do mezibuněčného prostoru v kůře, ale nikoliv do buněk. Hyfy hub (převážně z třídy hub stopkovýtrusných, *Basidiomycetes*, v menší míře to mohou být i houby vřeckovýtrusné, *Ascomycetes*) jsou nejen nahloučeny kolem kořene, ale bohatě se větví i v půdě. Tento typ mykorhizy je velmi častý u lesních stromů a mykobionty mohou být stovky druhů hub.

U *endomykorhizy* pronikají houbová vlákna přímo do buněk kůry. Kromě velmi specializovaných variant u rostlin čeledi *Orchidaceae* a řádu *Ericales*, je u většiny čeledí vyšších rostlin daleko nejčastější *arbuskulární mykorhiza* (AM). Jedná se o celosvětově nejrozšířenější typ mykorhizy, který zcela dominuje ve všech porostech trav a jiných bylin. Zúčastněných druhů hub je sice jen malý počet (jedná o glomeromycety, *Glomeromycota*) avšak jsou neobyčejně rozšířené. Žijí pouze symbioticky (ne saprofytický, jako většina hub), nelze je tedy pěstovat bez hostitelské rostliny a ani u nich neznáme žádná pohlavní stadia. Jejich hyfy prorůstají do korových buněk, ve kterých se větví do charakteristického "stromčekového" útvaru (*arbusculus*). Na takto zvětšeném povrchu hyf probíhá veškerá výměna metabolitů mezi hostitelskou rostlinou a mykobiontem.

Vnější, mimokořenové mycelium vytváří rozsáhlou síť v okolní půdě a někdy dokonce propojuje několik hostitelských rostlin navzájem. Toto propojení umožňuje i výměnu metabolitů (především uhlíkatých látek) mezi jednotlivými rostlinami v daném společenstvu,

jak bylo v nedávné době bezpečně prokázáno. To může být velmi výhodné např. pro mladé semenáčky stromů, pokud vyrůstají v silně zastíněných podmínkách a mají tudíž nedostatek asimilátů. Přesun části asimilátů ze starších, výhodněji exponovaných jedinců (i jiného druhu!) může zajistit jejich přežití a zrychlení růstu. Síť mycelia dokonce může zprostředkovat i úplné a trvalé parazitování některých nezelených rostlin (např. terestrických orchidejí z čeledi hnilákovitých, *Monotropaceae*) na blízkých dřevinách.



Charakteristické útvary na kořenech rostlin s vyvinutou mykorhizou dvou nejčastějších typů.

Mykorhiza usnadňuje rostlinám příjem vody a minerálních živin. Daleko největší význam má pro příjem fosforu, kterého je v půdním roztoku vždy jen nepatrná koncentrace a transport fosfátových iontů ke kořenům rostlin ze vzdálenějších míst je velmi pomalý. Hyfy hub podstatně zvětšují sorpční povrch (délka hyf je až tisíckrát větší než délka kořenů!), a tím zrychlují odběr živin i z málo koncentrovaného půdního roztoku. Význam mykorhizy vzrůstá nejen v živinami chudé půdě, ale také při malé půdní vlhkosti, kdy difúze vody a solí k sorpčnímu povrchu kořenů je zvláště zpomalena. Mykorhiza je samozřejmě výhodná i pro zúčastněné houby, které získávají z rostliny organické látky (hlavně cukry a aminokyseliny). Tento odběr představuje přibližně 5 až 10 % všech asimilátů vytvářených fotosyntézou.

Arbuskulární mykorhiza, na rozdíl od ektomykorhizy, je velmi proměnlivý typ vzájemného vztahu, jehož intenzita velmi kolísá v průběhu roku. Snadno může také přejít od oboustranně výhodné symbiózy k parazitismu. Rychlost výměn uhlíkatých látek a fosforu mezi houbou a rostlinou velmi závisí na vnějších podmínkách i na vývojovém stádiu rostliny. Proto také rostliny s mykorhizou nemusí mít vždy rychlejší růst (či výnos u zemědělských plodin) ve srovnání s rostlinami stejného druhu bez mykorhizy. Růstová deprese infikovaných rostlin bývá obvykle pozorována na půdách s dostatkem fosforu.

V současné době se množí důkazy o velkém významu mykorhizy pro ochranu kořenů před infekcí patogenními mikroorganismy (hlavně houbami). Zvláště u druhů s kořeny hodně větvenými, které mají velké množství citlivých meristematických zón, může převažovat tato ochranná funkce nad nutričními výhodami, které z mykorhizy mohou plynout. Poznatky o významnosti mykorhizy pro růst a zdravotní stav rostlin se rychle přenášejí i do zemědělské praxe. Semena celé řady plodin (zejména obilovin) se již nezřídka ošetřují před výsevem inokulem vhodných kmenů mykorhizických hub.

## Reakce rostlin na patogenní organismy a ochrana před herbivory

### Interakce s herbivory

Rostliny jsou vystaveny stálému nebezpečí poškození svých orgánů mnoha druhy živočichů, zejména z početných skupin fytofágního hmyzu, ale i pastvou evolučně vyspělejších býložravců. Kromě mnoha morfologických a morfogenetických adaptací k omezení herbivorie (např. ostré trny či trichomy, vysoký obsah tuhých sklerenchymatických pletiv či schopnost rychlé regenerace poškozených orgánů) jsou také velmi časté i rozmanité biochemické adaptace.

Z velkého množství sekundárních metabolitů, které se syntetizují v rostlinách, mnohé působí odpudivě až toxicky na herbivorní živočichy. Z hlediska množství, v jakém se vyskytují, lze je rozdělit do dvou kategorií. První z nich zahrnuje látky *kvalitativně* významné, které se sice vyskytují jen v malých koncentracích, ale zato jsou pro živočichy velmi toxické. Patří sem nejrůznější alkaloidy, glykosidy uvolňující kyanovodík, glukosinoláty a mnoho dalších. Rostliny s kvalitativně významnými ochrannými metabolity jsou sice před většinou herbivorů dobře chráněny, nicméně bývají ohrožovány specializovanými škůdci, kteří v koevolučním procesu získali dokonalou rezistenci vůči příslušnému toxinu (např. vytvářejí specifický enzym, který je schopen toxin inaktivovat).

Do druhé kategorie řadíme *kvantitativně* významné metabolity, které sice nejsou tak toxické, ale ve větším množství (často tvoří více než 10% sušiny!) způsobují špatnou stravitelnost, nechutnost až toxicitu (např. lignin, taniny a fenolické látky). Energetická náročnost syntézy těchto metabolitů je vysoká a rostliny, které jsou jimi vybaveny, mají obvykle pomalejší růst. Tato zdánlivá nevýhoda však za jistých okolností může být vyvážena bezpečnější ochranou před poškozením, neboť jen málo živočišných druhů ji dokáže překonat.

Interakce býložravých živočichů s rostlinami je do značné míry dynamický proces, ve kterém hrají významnou úlohu také stresové reakce postižené rostliny. Jejich podrobný výzkum je teprve v začátcích. Přesto je dokázáno, že syntéza toxických metabolitů, např. inhibitorů proteáz, se může až překvapivě rychle zvýšit po napadení rostliny živočišným škůdcem. Ke zrychlení syntézy dochází nejen v narušeném orgánu, ale i v ostatních částech rostliny, které nebyly narušeny. To ovšem vyžaduje přenos signálu, ke kterému může být využita jak chemická cesta (pomocí sloučenin typu fytohormonů, např. jasmonové kyseliny, viz obrázek), tak i změny elektrického potenciálu. Dokonce existují důkazy o bezkontaktním přenosu signálu k tvorbě inhibitorů proteáz z poraněné rostliny na sousední zdravé rostliny pomocí těkavé sloučeniny metyljasmonátu.

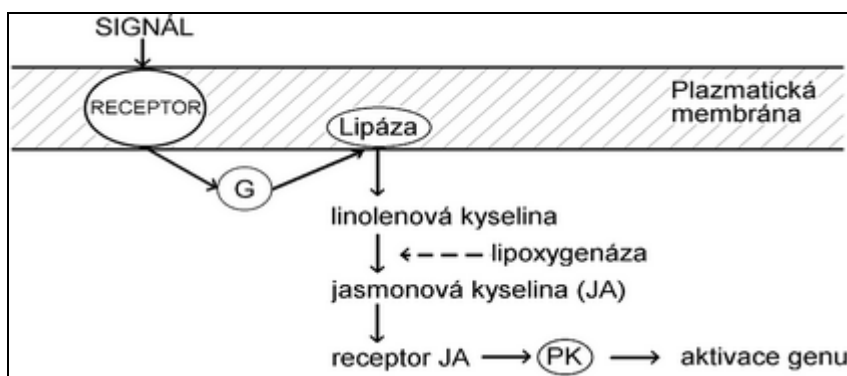


Schéma přenosu signálu pomocí jasmonové kyseliny, která se tvoří z linolenové kyseliny (dehydrací a  $\beta$ -oxidací) za účasti enzymu lipoxygenázy. Linolenová kyselina je uvolňována membránově vázanou lipázou po její aktivaci signálem přeneseným z receptoru. Tato cesta, běžná při poranění listu herbivory i některými patogeny, vede zejména k tvorbě inhibitorů proteáz, které působí herbivorům poruchy trávení. (G = G-protein, PK = proteinkináza).

### **Reakce na patogenní mikroorganismy**

Kromě živočichů ohrožují rostliny i *patogenní mikroorganismy* (viry, bakterie, houby). Jejich průnik do buněk je sice ztížen pevnou buněčnou stěnou, avšak ani ta není pro řadu z nich nepřekonatelnou překážkou. Především patogenní houby disponují celou řadou velmi účinných lytických exoenzymů. Není snad potřeba připomínat, že také každé mechanické poranění rostlinných orgánů představuje otevřenou bránu infekci.

#### **Hlavní skupiny fytopatogenních mikroorganismů**

- **houby:** nejpočetnější skupina (asi 8000 druhů z celkového počtu asi 50 000) a také nejagresivnější (schopnost pronikat i do neporušených pletiv) s širokým spektrem penetračních a nutričních mechanismů,
- **viry:** asi 500 druhů obligátních endoparazitů, pronikají jen do poraněných orgánů, ovšem mohou být v rostlině transportovány cévními svazky a plasmodesmaty.
- **baktérie:** asi 200 druhů z celkového počtu asi 6000, obvykle pronikají jen do poraněných orgánů (ne však vždy), možnost šíření cévními svazky je velmi malá.

Nejen průnik, ale často již kontakt patogenního organismu s buňkou vyvolává celou řadu koordinovaných vnitrobuněčných procesů, jejichž cílem je omezit či zcela eliminovat jeho vstup a šíření do dalších buněk. Jen málo z těchto procesů má zcela obecný charakter, spíše lze pozorovat velkou rozmanitost u jednotlivých skupin rostlinných druhů i u jednotlivých orgánů.

Na počátku všech obranných reakcí musí ovšem být podnět k jejich spuštění, kterým obvykle bývá specifický metabolit (*elicitor*) uvolňovaný při počáteční interakci buňky s patogenem a identifikovaný vhodným receptorem hostitelské rostliny. Jako elicitory mohou sloužit jednak některé metabolity vylučované patogeny (exogenní elicitory, např. některé polysacharidy, specifické enzymy a peptidy), ale i sloučeniny, které se uvolňují z narušovaných buněčných stěn obou organismů (endogenní elicitory). K těm patří např. oligomery chitinu, oligoglukany a glykoproteiny uvolňované hydrolýzou buněčné stěny patogenních hub, či oligogalakturonany uvolňované z buněčné stěny napadené buňky.

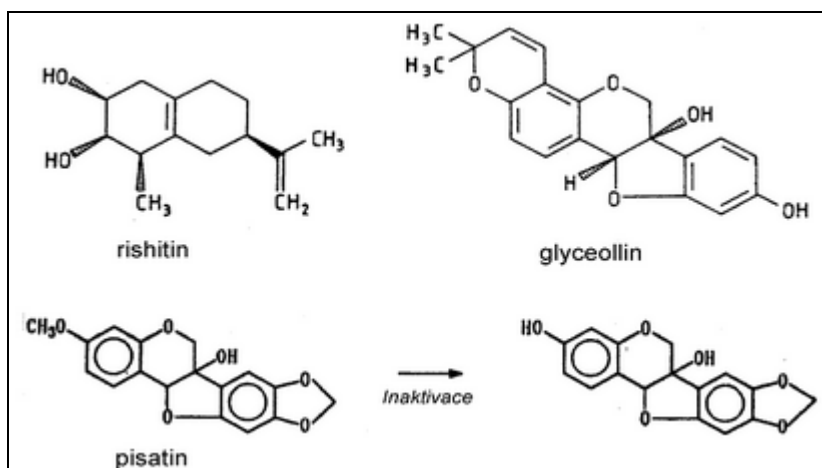
Většina obranných reakcí rostliny je závislá na aktivaci vhodných genů. Elicitory obvykle neovlivňují genovou aktivitu přímo, ale zprostředkovaně pomocí specifických receptorů v plazmatické membráně a navazující sítě vnitrobuněčného přenosu signálu, jejíž obecné rysy byly již zmíněny. Způsob vlastního přenosu se může lišit podle typu elicitoru a intenzity jeho působení. Kromě "klasické" signalizace zvýšenou koncentrací iontů vápníku a aktivací proteinkináz bývá velmi často pozorována i tvorba superoxidu a dalších aktivních forem kyslíku vyvolaná elicitory. Na signalizaci se podílí především peroxid vodíku, jehož zvýšené množství je možné zjistit už po 5 až 10 minutách působení elicitoru. Kromě možného přímého účinku peroxidu vodíku na expresi genů existuje ještě nepřímá cesta, při které nejprve peroxidací lipidů v membránách vzniká kyselina jasmonová a metyljasmonát a ty pak ovlivňují transkripci. Při napadení rostliny patogeny se rychle zvyšuje tvorba etylénu, který se rovněž podílí na iniciaci genové exprese, a to i v buňkách sousedících s buňkou napadenou. Vlastní obranné reakce zahrnují jednak tvorbu specifických stresových proteinů a jednak syntézu a hromadění chemicky jednodušších sloučenin s výrazným antibiotickým účinkem.

*Proteiny indukované patogeny* tvoří mimořádně početnou a různorodou skupinu, která je dále dělena na podskupiny podle velikosti a podle převažujících funkcí. Kromě mnoha obecně stresových proteinů, jejichž význam pro zvýšení nespecifické odolnosti a nápravě poškozených částí buněk byla již zmíněna, vyskytují se zde některé proteiny se specifickými

antimikrobiálními účinky. K těm patří zejména enzymy *chitináza* a *1,3-β-glukanáza*, které jsou schopny hydrolyzovat buněčnou stěnu patogenů a přitom produkovat elicitory dalších obranných reakcí. Silné fungicidní účinky mají proteiny inaktivující ribozomy. Zvláštní skupinu obranných proteinů tvoří *tioniny*, které lze nalézt velmi rychle po kontaktu buňky s patogenem v buněčné stěně. Působí na široké spektrum patogenů, pravděpodobně vytvářením pórů v jejich membránách. Velmi rychle jsou také indukovány proteiny přenášející lipidy. Kromě přenosu lipidů do organel jsou potřebné i k tvorbě zesílené kutikuly. U několika dalších stresových proteinů indukovaných patogeny byl zjištěn silný antivirový účinek.

*Sekundární metabolity s ochrannou funkcí* jsou u některých druhů rostlin přítomny *trvale*, i když v menším množství než při infekci. Patří k nim nejrůznější flavonoidy, terpenoidy, fenolické látky a alkaloidy, které bývají souhrnně označovány jako *fytoncidy* či *inhibitivy*.

Zvláštní skupinu specifických nízkomolekulárních obranných látek tvoří *fytoalexiny*, které se za normálních okolností v buňkách nevyskytují, ale začínají se vytvářet až po napadení patogenem. V současné době je známo více než 300 fytoalexinů, které po chemické stránce patří mezi velmi různorodé typy sloučenin. U systematicky příbuzných druhů se obvykle vyskytují také podobné druhy fytoalexinů. Tak např. u rostlin čeledi *Fabaceae* převažují izoflavonoidy, u jiných čeledí to mohou být seskviterpeny (*Solanaceae*), diterpeny (*Poaceae*), furanokumariny (*Apiaceae*), či stilbeny (*Vitaceae*). U téže rostliny se někdy mohou tvořit dva i více různých typů fytoalexinů. Většina z těchto sloučenin je lipofilní povahy, což jim usnadňuje pronikání přes plazmatickou membránu patogenů. Poškození membránových funkcí patří také k nejčastějším mechanismům působení fytoalexinů na patogenní organismy. Fytoalexiny mají vysoce toxické účinky již v koncentracích od  $10^{-6}$  M hlavně na patogenní houby, méně pak na bakterie.



V horní části obrázku jsou uvedeny chemické vzorce dvou hojných fytoalexinů: *rishitin* (seskviterpenový derivát z infikovaných brambor) a *glyceollin* (izoflavonoid z rostlin sóji). V dolní části obrázku je znázorněn jednoduchý způsob inaktivace fytoalexinu *pisatinu* v rostlinách hrachu patogenní houbou *Nectria haematococca*.

Poměrně častá a překvapivě účinná reakce na průnik patogenů je řízená tvorbou ochranných nektróz. V napadené buňce mohou být během několika desítek minut po kontaktu houbové hyfy s plazmalemou spuštěny biochemické procesy vedoucí k rychlé zkáze jak vlastní buňky, tak i houbové hyfy. Při této tzv. *hypersenzitivní reakci* dochází k rozpadu membránového systému hlavně náhlým zvýšením koncentrace aktivních forem kyslíku ("*oxidative burst*") a aktivací lipáz, i když někdy je provázáno tvorbou některých dalších toxických látek (např. polyfenolů). Tvorba aktivních forem kyslíku obvykle začíná aktivací NADPH-dependentní superoxidsyntázy v plazmatické membráně vhodnými elicitory

vylučovanými buď přímo patogenem či vznikající po narušení buněčné stěny a plazmalemy. Současně také dochází k inhibici antioxidantních enzymů v buňce. V konečném důsledku pak dochází k rychlé peroxidaci a k rozpadu membránových systémů, a tím i ke smrti buňky. V další fázi dojde k odumření buněk i v blízkém okolí místa infekce. Lokalizovaná nekróza většinou dosti spolehlivě zastaví pronikání a další šíření infekce.

Jiným typem obranných reakcí rostlin je rychlé zvýšení tvorby polysacharidu *kalózy* (1,3- $\beta$ -glukan), který pak vyplňuje buňky v okolí infikovaného místa. Kalóza je velmi odolná vůči houbovým hydrolázám. Pokud je šíření infekce pomalé, pak se po jisté době může poblíž ohniska infekce založit sekundární meristém (felogen), produkující silně suberinizované či lignifikované buňky s velmi dobrou ochrannou funkcí. Někdy dochází i k tvorbě odlučovací vrstvy a celá infikovaná část rostliny odpadne.

Uvedená ochranná opatření rostlin vůči patogenům nejsou samozřejmě zcela nepřekonatelná, zejména pro některé silně virulentní kmeny hub. Jejich úspěšnost spočívá jednak v mimořádně rychlém růstu hyf (šíří se rychleji než se stačí aktivovat obranné reakce), jednak v tvorbě specifických látek (*supresorů*), které potlačují vznik hypersenzitivní reakce, tvorbu stresových proteinů a ostatních ochranných metabolitů. Patogenní houby také disponují bohatým arzenálem buněčných jedů, jako je např. fusicoccin (diterpenglukozid houby *Fusicoccum amygdalii*) způsobující hyperpolarizaci buněčných membrán silnou stimulací činnosti protonových pump. Detailním studiem interakcí rostlin s patogenními organismy se zabývá specializovaný vědní obor *fytopatologie*.

## Kontrolní otázky ke 4. části učebního textu Fyziologie rostlin

1. Jaké jsou nejčastější společné typy stresových reakcí rostlin při působení rozmanitých nepříznivých vnějších faktorů?
2. Jakým způsobem (mechanismem) mohou chránit buňky před působením nepříznivých vnějších faktorů stresové proteiny?
3. Jakým mechanismem se mohou deaktivovat v buňkách reaktivní formy kyslíku?
4. Jakými mechanismy se rostliny mohou chránit před destruktivními účinky UV - záření?
5. Jaké buněčné struktury jsou nejcitlivější na působení vysokých teplot, při jak vysoké teplotě začíná být jejich poškození pozorovatelné a jaká teplota již má letální účinek?
6. Proč u citlivých rostlin dochází k trvalému poškození teplotami mírně nad nulou (chladem) jen po jejich delším působení?
7. Jaké jsou dva hlavní mechanismy destruktivního působení mrazu na rostliny?
8. Jakými způsoby mohou rostliny zvyšovat svoji odolnost vůči mrazu?
9. Jaké procesy v rostlinách jsou zvláště citlivé (zpomalují se) již za velmi mírného úbytku vody v buňkách?
10. Jaké strukturní a funkční vlastnosti umožňují některým druhům rostlin snášet bez vážnějšího poškození téměř úplné vyschnutí?
12. K jakým změnám (biochemickým, strukturním) dochází u běžných rostlin, pokud jsou jejich kořeny v anaerobních podmínkách (např. po zaplavení)?
13. Jaké adaptační mechanismy umožňují některým druhům rostlin dlouhodobě růst v zaplavených půdách s nedostatkem kyslíku?
14. Na silně kyselých půdách je růst rostlin jen zřídka omezován přímým účinkem zvýšené koncentrace vodíkových iontů, významnější jsou nepřímé účinky řady pedochemických faktorů. O které se hlavně jedná?
15. Jaké jsou hlavní adaptační mechanismy rostlin směřující k omezení toxického působení sloučenin těžkých kovů na jejich buněčné funkce?
16. Jaké jsou hlavní rozdíly mezi ektomykorhizou a endomykorhizou arbuskulárního typu?
17. Z jakých důvodů bývá mykorhiza pro rostliny obvykle velmi prospěšná?
17. Jaké typy sekundárních metabolitů zvyšují ochranu rostlin před býložravci?
18. Při infekci rostliny patogenními mikroorganismy dochází k rychlé syntéze celé řady funkčně odlišných ochranných metabolitů. Které z nich patří k nejdůležitějším?