



Xenobiochemie rostlin I.



Xenobiotika v rostlinách

**Všechny látky, které vstupují do těla rostlin, ale které rostlina nemůže využít ani jako zdroj energie ani jako prekurzor pro výstavbu vlastních biomolekul označujeme jako tzv. xenobiotika
(K. Hatzios)**

- * **Průmyslové emise a jiné kontaminanty životního prostředí (těžké kovy, PCB, explosiva, ropné produkty...)**
- * **Herbicidy, insekticidy, fungicidy.....**
- * **Rostliny x živočichové**
 - **Biotransformace –základní obranný mechanismus rostlin**

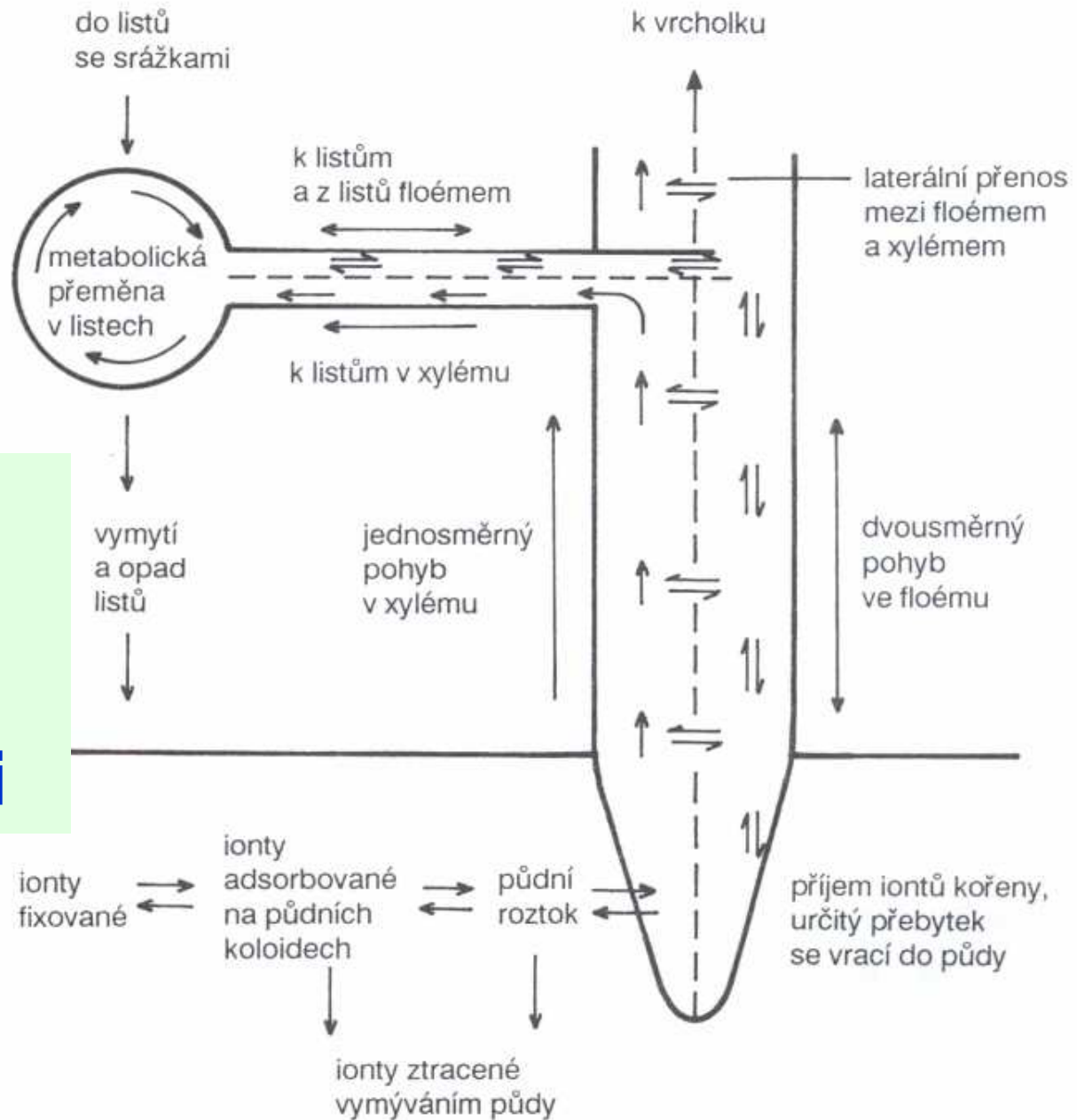


Příjem látek

- 1. nespecifický transport- prostá difuze**
 - zprostředkovaná
(usnadněná) difuze
- 2. aktivní transport- primární**
 - sekundární



Transport látek na dlouhé vzdálenosti

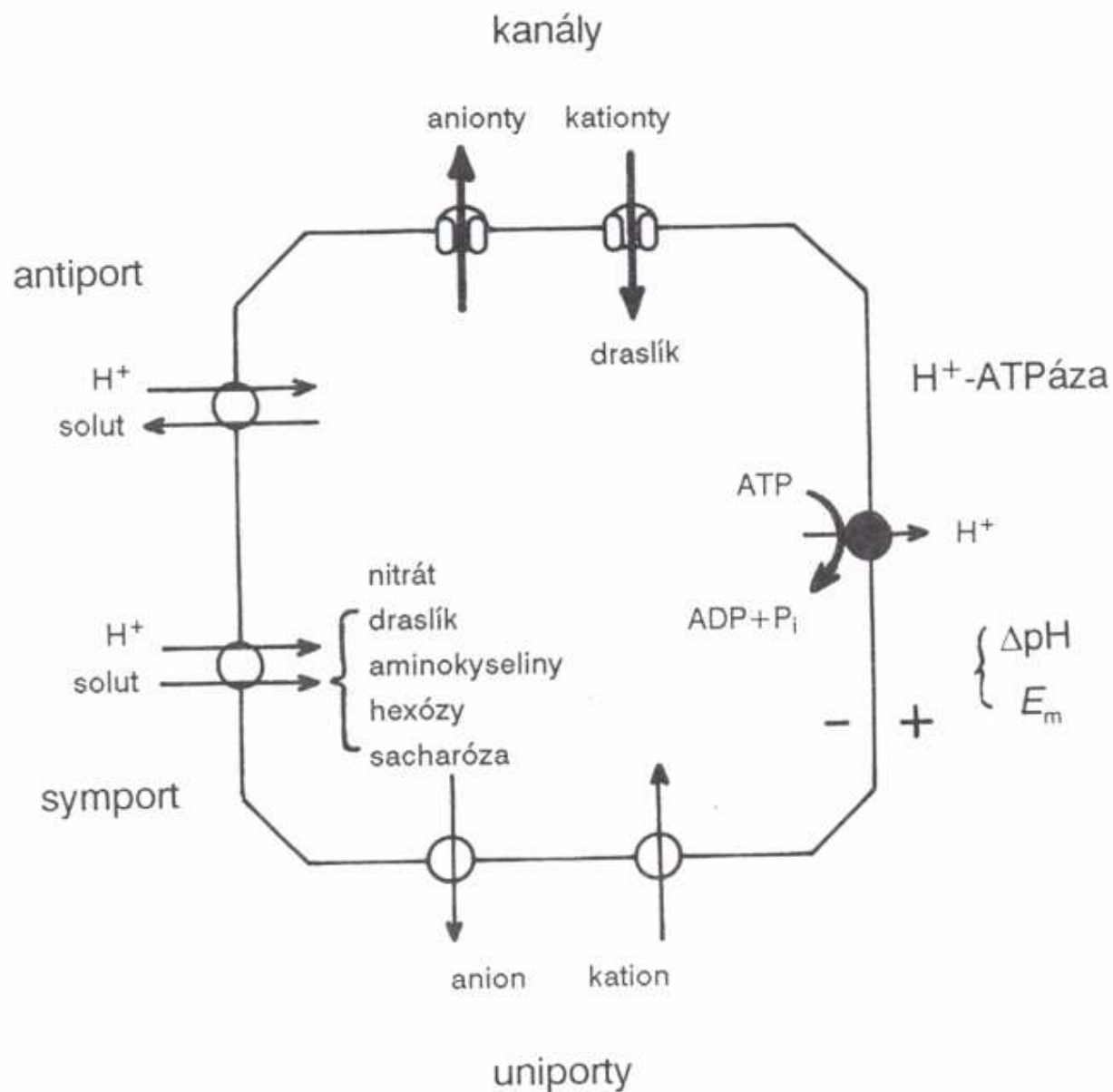


Obr. 3.7 Schéma transportu minerálních živin mezi kořeny a listy. (Podle Sutcliffe a Bakera 1981.)

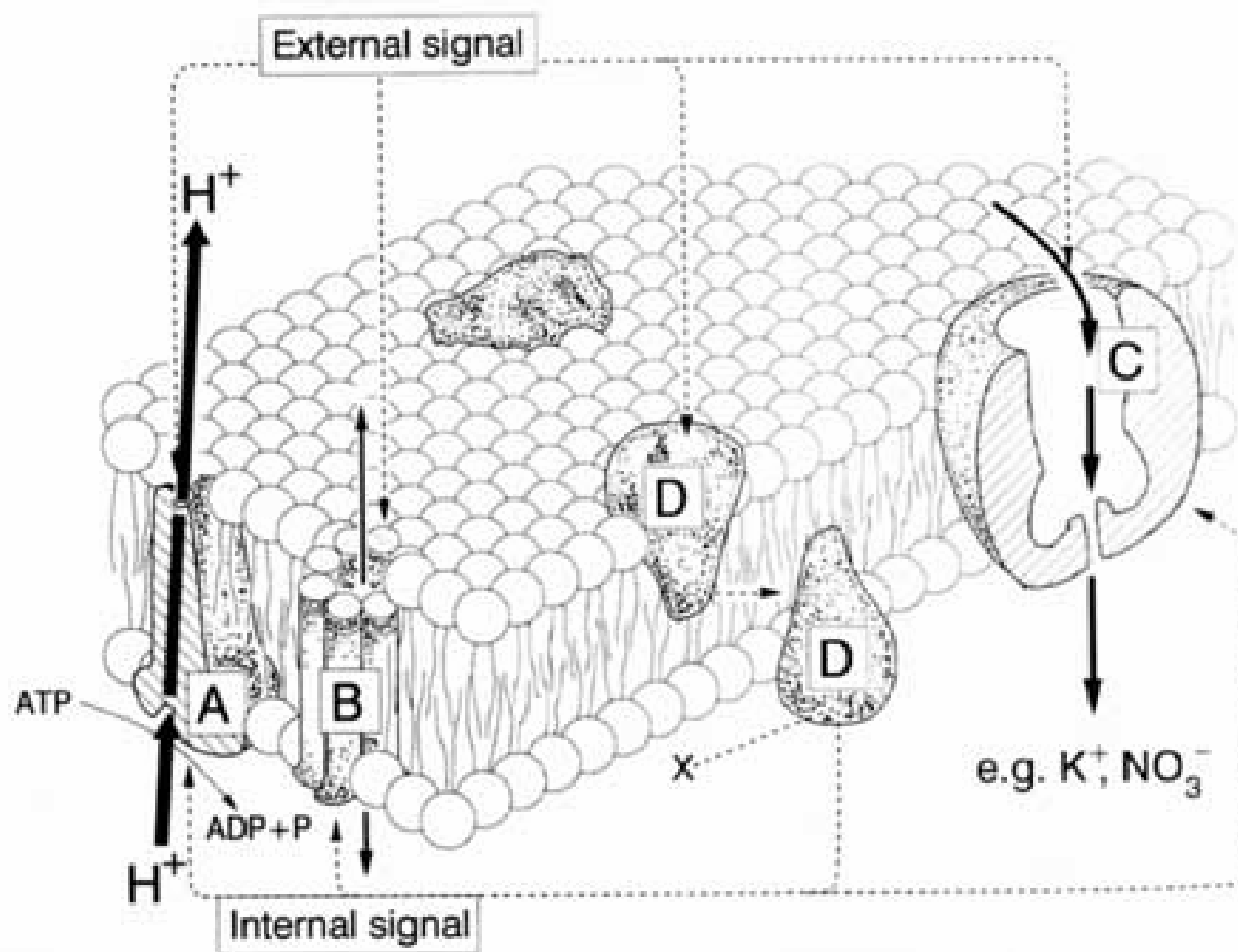


Příjem látek

- 1. nespecifický transport- prostá difuze**
 - zprostředkovaná
(usnadněná) difuze
- 2. aktivní transport- primární**
 - sekundární



Obr. 3.9 Hlavní formy přenosu látek přes plazmalemu. Mezi vnitřní a vnější stranou membrány existuje rozdíl pH (ΔpH) a elektrického potenciálu (E_m). (Podle Micheleta a Boutryho 1995.)



Princip mechanismu transportu iontů přes plazmalemmu. (A) protonová pumpa, (B) iontový kanál, (C) přenašeč, (D) spřažené proteiny pro percepci a transdukci.

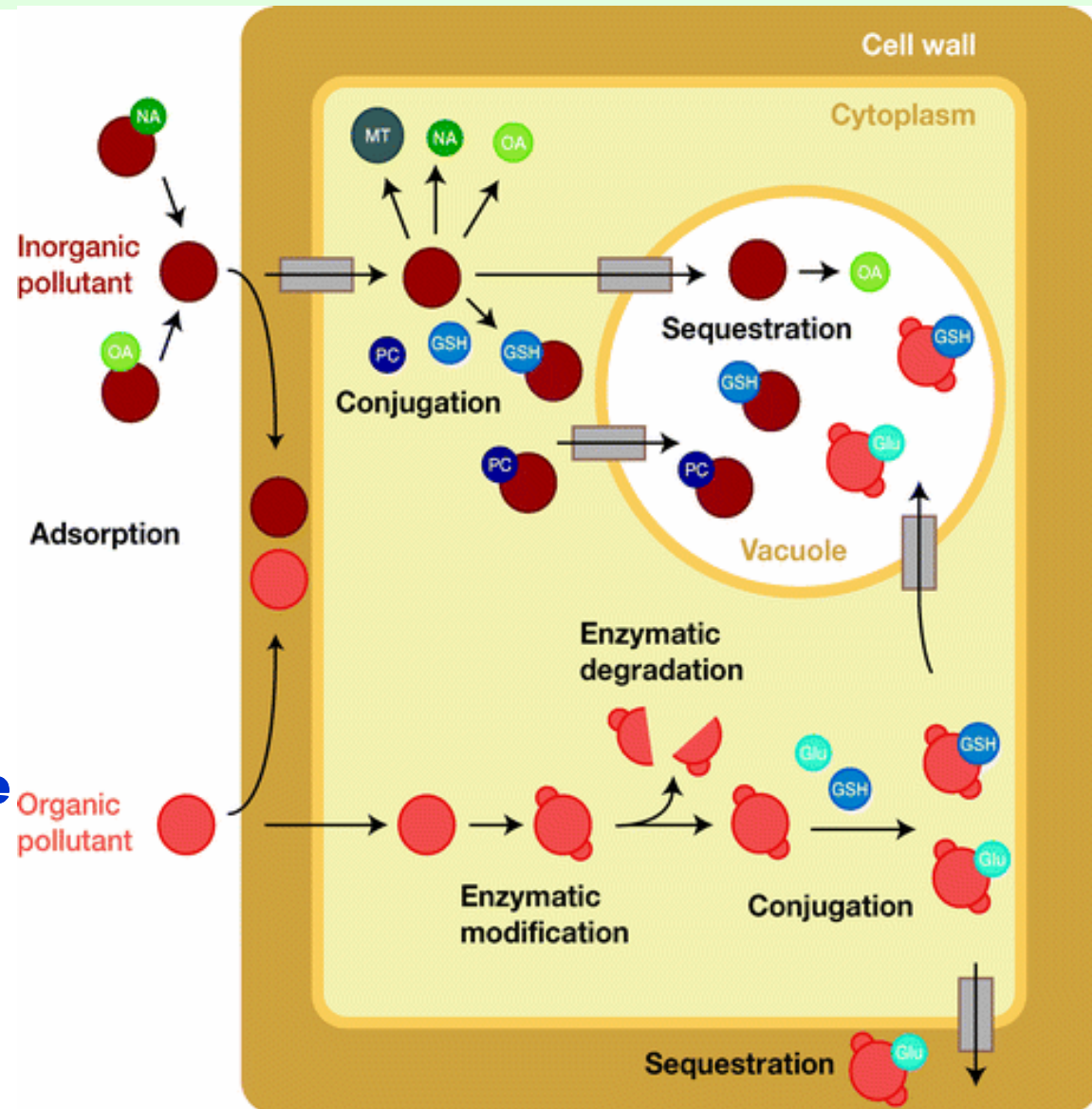


Fáze biotransformace u rostlin

- ★ **I. Konverze**
 - Nesyntetické reakce

- ★ **II. Konjugace**

- ★ **III. Kompartmentace**
 - Uskladnění





Enzymy I. fáze

- ★ **Peroxidasy**
- ★ **Nitroreduktasy**
- ★ **Esterasy**
- ★ **Cytochromy P450**
 - **Stovky isoformem**
 - **Mezidruhové rozdíly**
 - **Konstitutivní x indukovatelné**
 - **Řada indukčních mechanismů**



Enzymy II. fáze

* **Glutathion-S-transferasy**

- **Multifunkční enzymy**
- **Řada isoformem**
- **Cytosolické**
- **Konstitutivní i indukovatelné**
- **Genetický polymorfismus**
- **Významná role v sensitivitě vůči herbicidům**

* **Glukosyltransferasy a malonyltransferasy**

- **Odpovídá živočišné glukuronosyltransferase**
- **Konjugace -OH, -NH₂, -COOH xenobiotika s glukosou nebo kys. malonovou**
- **N- nebo O- glukosylace nebo malonylace**



III.fáze - kompartmentace

★ Místo uskladnění:

- Vakuoly
- Buněčná stěna

★ Důvod:

- Nestabilita konjugátů
- Inhibice konjugačních enzymů produktem

★ Transport:

- Velmi rychlý
- ATP-dependentní přenašeče



Phytoremediation related proteins (PRP)“

**rostlinné enzymy, které se podílejí na
remediaci xenobiotik jejich vazbou,
transformací nebo transportem**



Induktory biotransformačních enzymů rostlin

- * Chemikálie**
- * Světlo**
- * Fytohormony**
- * Stresové faktory**
 - Patogeny**
 - Poranění**
 - Teplotní šok**



Využití biotransformačních enzymů

- ★ **Biomonitorování**
- ★ **Bioremediace**
- ★ **Produkce sekundárních metabolitů**
- ★ **cílené zvýšení selektivity herbicidů herbicidů**

- ★ **Využitím druhově specifických biotransformačních enzymů**
 - **Pro herbicid**
 - **Pro antidota – látky snižující toxické působení herbicidu na vybranou plodinu**
- ★ **Využití transgenních rostlin**
 - **Vnášení genů pro specifické biotransformační enzymy**



Využití biotransformačních enzymů při biomonitorování životního prostředí



Biomonitorování

- ★ **Klasické monitorování stavu životního prostředí**
 - analytické stanovení kontaminantů
- ★ **Biomonitorování**
 - Metoda využívající určitý biologický systém k hodnocení stavu ekosystému
 - Nesleduje přímo kontaminanty, ale biologickou reakci na jejich přítomnost



* **Výhody**

- **Zachytí přítomnost i nepředvídaného kontaminantu**
- **Zahrnuje synergistický či antagonistický efekt**
- **Časová prodleva**

* **Nevýhody**

- **Neodhalí přesnou příčinu, pouze upozorní na narušení ekosystému**
- **Časová prodleva**



Biomarkery

★ Fyziologické

- Zvýšení úmrtnosti
- Teratogenní efekty
- Snížení reprodukce
- Snížení příjmu potravy

★ Sociologické

- Změny v chování jedinců či skupiny

★ Biochemické

- Poškození DNA
- Syntéza stressových proteinů
- Snížení aktivity určitého enzymu
- Indukce (inhibice) biotransformačních enzymů

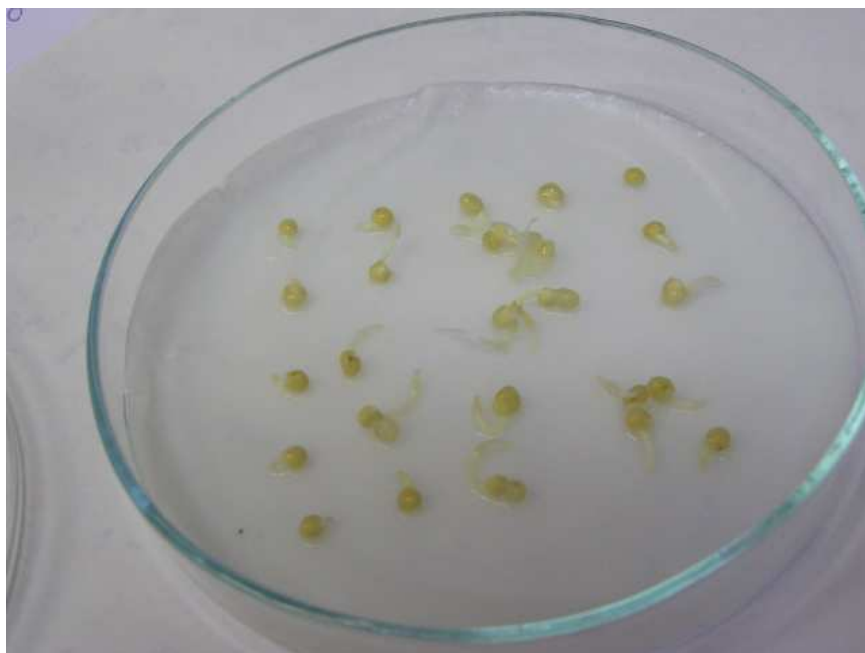


Testy toxicity

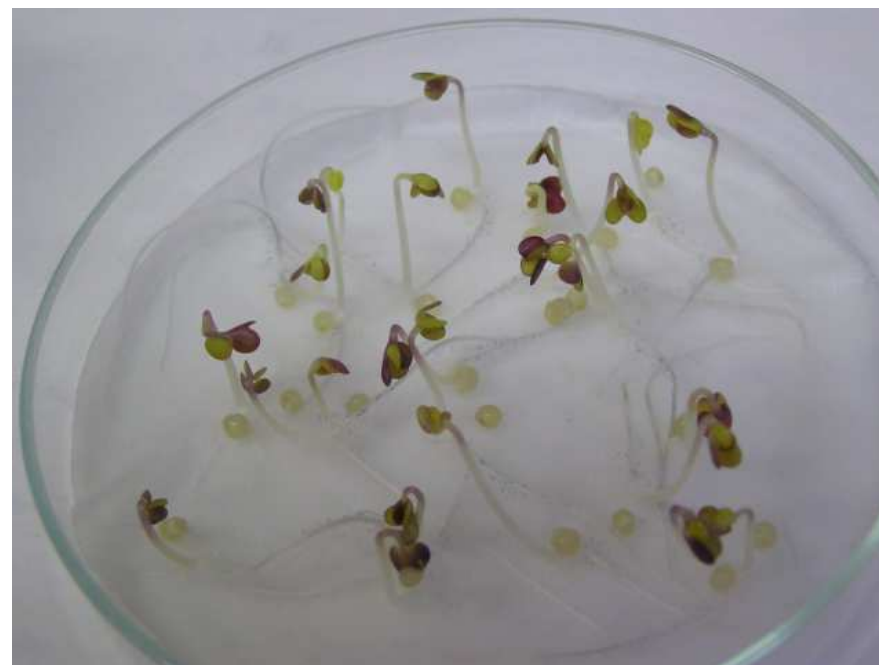
- **v podmínkách přirozených x v laboratorních**
- **krátkodobé x dlouhodobé**
- **EC50 (efektivní koncentrace)**
- **IC50**
- **NOEC (No Observed Effect Concentration)**
- **LOEC (Low Observed Effect Concentration)**



Test toxicity dle normy ISO 7346 - stanovení
inhibice růstu primárního kořene klíčících rostlin
Sinapis alba



DNT 200mg/l



kontrola



Biotransformační enzymy jako biomarkery

★ **Výhoda:**

- **Varovný signál**
- **Zachycení některých xenobiotik v relativně nízké koncentraci**
- **Zjištění výskytu kontaminantů s dlouhodobou toxicitou**
- **Detekce výskytu kontaminantu i po jeho odstranění z ekosystému**

★ **Nevýhoda:**

- **Nezachytí kontaminanty, které nepůsobí indukčně ani inhibičně**



Postup

- ★ **Volba biologického druhu**
 - výskyt, výživa, chování, dostupnost, manipulace
- ★ **Odběr biologického materiálu**
- ★ **Zpracování na subcelulární frakce**
- ★ **Inkubace se specifickými substráty**
- ★ **Imunochemická detekce proteinů**
- ★ **Kvantifikace příslušné mRNA**