

**PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA PALACKÉHO UNIVERZITY
OLOMOUC
KATEDRA EXPERIMENTÁLNÍ FYZIKY
A
ÚSTAV EKOLOGIE KRAJINY AV ČR**

FYZIOLOGIE ROSTLIN
pro biofyziky

Michal V. Marek

1. ÚVODEM

Jednou z nejvýznamnějších úloh úvodní kapitoly každého skriptu je pokus o vymezení oboru a přesvědčení studentů o jeho důležitosti. Proto se nejprve pokusme v několika větách definovat a vymezit obor rostlinná fyziologie.

Co to vlastně rostlinná fyziologie je? Tento obor se dá šířeji definovat jako studium toho, jak rostliny fungují ve smyslu rostlinného růstu, jaký je jejich metabolismus a reprodukce. Za nedílnou součást rostlinné fyziologie je nutné považovat i poměrně rozsáhlý obor zabývající se tím, jak rostliny a tedy i výše uvedené důležité životní projevy reagují na své vlastní vnější prostředí. Tato část fyziologie rostlin se v poslední době definuje jako ekofyziologie rostlin.

Je nasnadě, že fyziologie rostlin je nadstavbovým oborem, který musí vycházet z určitých metodických přístupů jiných vědních disciplín, především biochemie, organická chemie, biofyziky a molekulární biologie. Z tohoto výčtu by se mohlo zdát, že fyziologii rostlin jako vědní obor prostě nelze přesně definovat. Čím se tedy fyziologie rostlin odlišuje od již zmíněných disciplín? Domníváme se, že se především odlišuje tím, že formuluje své vlastní otázky. Formulace otázek pak vede k jejich řešení za použití konkrétních metod. *Např. otázky chování ekosystémů, či dokonce globálního ekosystému, jsou řešeny především metodou matematického modelování, a přesto nemůžeme říci, že je to matematika. Totéž platí i pro rostlinnou fyziologii. Je zřejmé, že současný důraz kladený na molekulární biologii má svůj důsledek ve vlastní rostlinné fyziologii při šlechtění nových druhů rostlin se zcela novými, záměrně vyvolanými vlastnostmi. Přitom jsou to opět rostliny se svými fyziologickými procesy, které reagují na vnější prostředí prostřednictvím fyziologických procesů. Fyziologie rostlin zde tedy nachází své jednoznačné uplatnění.*

V těchto větech jsem se pokusil naznačit, že **rostlinná fyziologie** je obor stále zajímavý a je schopen přispívat k řešení nejzákladnějších otázek spojených s existencí a funkcí rostlinstva v biosféře Země.

Proč je rostlinstvo tak důležitou součástí globálního ekosystému Země? Je to především proto, že rostliny společně s řasami a sinicemi patří k **autotrofům**. To znamená, že v řetězci toku energie a látek stojí na počátku. Patří tedy do skupiny **primárních producentů**. *Je to dáno tím, že jediné rostliny a ostatní autotrofové jsou schopny z látek anorganických a energeticky chudých vytvářet látky organické a energeticky bohaté. Přičemž pro tvorbu těchto látek využívají v naprosté většině vnějšího energetického zdroje. Vyšší rostliny využívají energii elektromagnetického záření. Znamená to tedy, že rostliny - primární producenti zemského ekosystému, vlastně fungují jako zcela unikátní kolektory solární energie a zachycenou energii konvertují do energie chemických vazeb. Tato energie chemických vazeb je pak uschována v organických a energeticky bohatých látkách.*

Rostliny se dále vyznačují tím, že jsou to *organismy nepohyblivé*. To se na první pohled, v porovnání s ostatními organismy, musí zdát jako značná nevýhoda, ale ve skutečnosti je tomu právě naopak. Protože jsou rostliny nepohyblivé, umožňuje jim to plnit právě funkci **primárních autotrofů**. Tato nepohyblivost způsobuje, že rostlina je silně vázána ke svému substrátu. Tato vazba k substrátu je zprostředkována speciální morfologickou strukturou zvanou kořeny, které umožňují, že rostlina je schopna aktivní výměny iontů a jiných látek mezi svým tělem a půdním prostředím a je schopna tyto prvky minerální výživy z půdy

získávat. To je samozřejmě velice důležité pro její existenci a právě proto, aby mohla vytvořit tento speciální systém kořenů, musí být rostlina nepohyblivá.

Z dalších specifických rysů rostlin si je třeba povšimnout toho, že suchozemské rostliny jsou strukturálně postaveny tak, že svým růstem směřují ke slunečnímu světlu, což je opačný směr k působící gravitační síle. Suchozemské rostliny, a rostliny vůbec, kontinuálně ztrácí vodu výparem z povrchu svého těla. To znamená, že mají vyvinuté určité mechanismy, které je ochraňují před vyschnutím, ale i mechanismy, které zabezpečují kontinuálně transport vody z půdního prostředí. Musí mít tedy k dispozici mechanismy, které umožňují odčerpávat vodu a v ní rozpuštěné minerální ionty z půdního prostředí. V rostlinném těle pak voda slouží jako základní transportní systém a minerální ionty jsou v rostlinném těle nějakým způsobem využity.

Fyziologii rostlin lze rozdělit na dva základní podobory:

- 1/ experimentální fyziologii,**
- 2/ ekologickou fyziologii.**

Hranice těchto podoborů není samozřejmě pevně dána. Lze však říci, že experimentální fyziologie většinou studuje vztahy vybraných veličin. Např. sleduje vliv zvýšené koncentrace CO₂, zvýšené intenzity UV záření, či zvýšené koncentrace těžkých kovů v půdě na průběh fotosyntézy, dýchání rostlin atp. Tyto vztahy sleduje ve více méně neměnných podmínkách. Tímto způsobem je možné odhalit jisté vazby a objasnit tak některé složky rozsáhlých fyziologických reakcí. Ekologická fyziologie naproti tomu sleduje fyziologické procesy pod vlivem neustále se měnícího prostředí reálného ekosystému. To znamená, že stanovené vztahy jsou vždy schovány v šumu ostatních působících faktorů. Je nasnadě, že ekologická fyziologie plně využívá výsledků experimentální fyziologie a je vlastně integrující disciplínou. Mnohdy ale toto přejímání není možné, neboť experimentální fyziologii jasně stanovený vztah je úplně skryt či potlačen základní relací danou vlivem prostředí. Pak dochází i k jistým paradoxům, kdy v laboratoři dokonale prověřené vztahy se v reálném světě nikdy neobjeví!

Nyní se v krátkosti zmíníme o systematickém zařazení rostlinstva do veškeré bioty v našem globálním zemském ekosystému. V podstatě budeme věrni základnímu systematickému schématu. Všechny živé organismy mohou být rozděleny do **pěti základních říší**. Názvy těchto říší jsou: **MONERA, PROTISTA, FUNGII, PLANTAE a ANIMALIA**.

Do první říše **MONERA** jsou zařazeny **prokaryota**, tedy *bezjaderné organismy*. Do této říše patří všechny organismy, jejichž hlavním znakem je to, že u nich neexistuje zřetelné buněčné jádro. Prokaryota jsou dělena do dvou základních podskupin: **eubakterie** a **archabakterie**. Eubakterie zahrnují fotosyntetické formy bakterií jako jsou známé cyanobakterie. Archabakterie jsou skupiny organismů, které jsou adaptovány na velice extrémní prostředí. Např. sírné bakterie horkých pramenů anebo bakterie žijící ve vodách z vysokou salinitou. Další říši tvoří **PROTISTA**. Tato říše je nejvíce variabilní a nejvíce rozšířená. Většinou do ní patří jednobuněčná eukaryota, což jsou jednobuněčné organismy, u nichž je již vyvinuté zřetelné buněčné jádro. Pro nás je zajímavé, že do této říše patří i fotosynteticky aktivní protista - *řasy*.

Říši **FUNGI** tvoří houby, které dříve byly v jedné říši s rostlinami, ale podle nového třídění tvoří samostatnou říši. Houby jsou *heterotrofními organismy* tzn., že jsou vždy životně závislé na produkci primárních producentů nebo jiných organismů a vyžadují příjem organických látek z jiných organismů. Dále je známá říše živočichů - **ANIMALIA**, kterou se zde nebudeme zabývat. A konečně poslední říši je ta, která nás zajímá nejvíce - **PLANTAE**.

Tato říše se dělí na **bryofyta**, která se reprodukuje pomocí spór, **cévnaté rostliny** a **rostliny semenné**. Mezi **bryofyta** patří evolučně velice staré rostliny, které se nezdají být přímou evoluční linií vedoucí ke vzniku semenných rostlin. Zdá se, že jde o slepou větev evoluční cesty. Jejich hlavní charakteristikou je, že jsou to většinou rostliny malé, jejichž životní cyklus v době sexuální fáze závisí na vodě. Vodní kapka umožňuje oplodnění tzn. fúzi samčích a samičích gamet, přičemž se vytváří diploidní zygota. Bryofyta stejně jako řasy nemají vyvinutý pravý stonek. Další skupinou jsou *cévnaté rostliny*, které se rozmnožují pomocí spór. Ve srovnání s bryofyty mají tyto rostliny již vyvinuté kořeny, stonky a listy. Mají vyvinuta i vodivá pletiva a taková pletiva, která jsou spojena s vodivými pletivy a mají mechanickou funkci. U těchto rostlin je již vyvinuta jistá forma rostlinného těla. Ve své sexuální fázi jsou tyto rostliny opět závislé na vodě, která slouží jako prostředník pro pohyb samčích gamet směrem k vajíčku.

Nejúspěšnější suchozemské rostliny jsou *rostliny semenné*. Semenné proto, že jejich embryo je lokalizováno v ochranné schránce, která mu umožňuje přežít nepříznivé období. To je obrovská evoluční strategická výhoda. Ve své sexuální fázi nejsou tyto rostliny již závislé na vodě, ale naopak existuje celá šíře prostředí a mechanismů, které umožňují splnutí samčích gamet se samičími, ať je to prostřednictvím větru, vody, hmyzu či jiných živočichů. Základní dělení semenných rostlin je dělení na **rostliny nahosemenné** a **krytosemenné**. **Nahosemenné rostliny** jsou vývojově starším typem. Z těchto rostlin jsou nejznámější skupinou jehličnany. Charakteristické pro ně je, že jejich vajíčka jsou položena, neukrytá, na speciálních strukturách. Sexuální fáze je charakterizovaná výskytem květu dvojího typu, samčího a samičího. Nejdůležitějším faktorem zprostředkujícím sexuální styk je vítr. **Krytosemenné rostliny** mají, naopak tomu, vyvinuty speciální struktury, které slouží reprodukční fázi. Krytosemenné rostliny dále ještě dělíme na tzv. rostliny jednoděložné a dvouděložné, kde je dělícím kritériem existence a počet primárních semenných listů tzv. děloh. Tyto skupiny se od sebe odlišují uspořádáním cévního systému i strukturou květů.

2. ROSTLINNÁ BUŇKA

Všechny fyziologické procesy a jejich interakce s vnějším prostředím se uskutečňují na zcela konkrétních strukturách. Proto je vhodné si v úvodu k fyziologii rostlin zopakovat naše poznatky o základní strukturní a funkční jednotce rostliny, tedy rostlinné buňce. *Nauka o studiu buňky se nazývá cytologie* a nauka studující *stavbu rostlinného těla se nazývá rostlinná anatomie*.

Rostlinná buňka je *základním elementem rostlin, autotrofního organismu*, tedy organismu, který je schopen si sám vytvářet energeticky bohaté látky vlastního těla (cukry, tuky, bílkoviny) přičemž výchozí surovinou jsou látky energeticky chudé. Zdrojem energie pro tyto přeměny je energie slunečního záření. Tuto schopnost nemají pouze rostlinné buňky vyšších rostlin.

Z hlediska vývoje života na Zemi je *autotrofie*, v porovnání s *heterotrofií*, mladší způsob výživy. Původní organismy totiž využívaly jako zdroje energie organické látky vzniklé v pramotech abiogenní cestou.

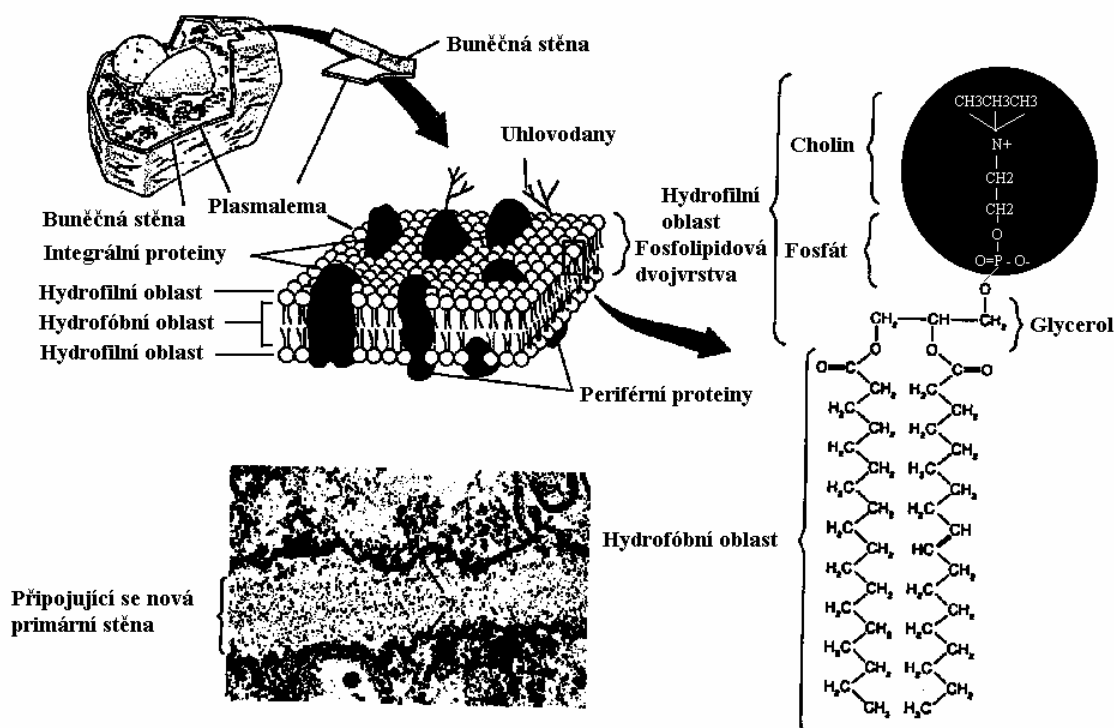
Rostlinné buňky jsou ve své podobě velice různorodé co do tvaru, velikosti a funkce. Buňky jednobuněčných organismů vykonávají všechny funkce nezbytné pro život a reprodukci. U mnohobuněčných organismů naopak dochází k silné specializaci buněk. Tato specializace dosahuje nejvyššího stupně u cévnatých rostlin, u nichž lze nalézt buňky, které si uchovávají autotrofní způsob výživy společně s buňkami schopnými pouze heterotrofie. Velikost buněk je velice rozdílná. Buňky bakterií a sinic svou velikostí leží na hranici viditelnosti pouhým okem a jako protiklad lze užít stélku sifoniálních řas, které sice mají více jader, ale neoddělených přepážkami, dosahující délky 30-100 cm. Tato mnohoadernost bez dalšího rozdělení se však zdá být slepou vývojovou větví.

Rozeznáváme dva druhy buněk: **buňky prokaryotní a eukaryotní**. Základním kritériem pro toto rozdělení je *pozorovatelnost definované struktury zvané buněčné jádro*. *Prokaryotní buňka* neobsahuje morfologicky definované jádro. Je vývojově primitivnější. Nositelem genetické informace je kruhovitá DNA. *Eukaryotní buňka* je vyspělejší strukturou a má morfologicky diferencované jádro. Toto dělení buněk je platné jak pro říši rostlinnou, tak pro říši živočišnou.

V zásadě jsou si tedy obě říše v této základní struktuře velice podobné. V čem jsou zásadní rozdíly mezi buňkou rostlinnou a živočišnou? Rostlinná buňka má *morfologicky zřetelnou buněčnou stěnu*. Tu u buněk živočišných nenalezneme. Dále je u rostlinných buněk velice *zřetelná existence vakuol*. Další fundamentální rozdíl souvisí s *vývojovou biologií*. U živočišných buněk embryonální buňky *cestují v tvořícím se organismu*. Důsledkem toho je, že tkáně a orgány pocházejí z buněk vytvořených v různých částech organismu. U buněk rostlinných toto není možné, neboť právě existence rigidní stěny buněčné a její spojovací lamely tomuto volnému pohybu embryonálních buněk brání. Orgány jsou tedy *závislé pouze na dělivé aktivitě a prodlužování buněk*.

Všechny buňky jsou **uzavřeny v membráně**, která slouží jako jejich vnější hranice. Buněčná membrána odděluje vnitřní obsah buňky - cytoplazmu od vnějšího prostředí a zajišťuje tak odlišné prostředí vnitřního prostoru buňky. Toto oddělení však neznamená izolaci vnitřního prostředí buňky. Tato membrána se nazývá **plazmatická membrána**. Membrána, zvaná též **plazmalema**, *zprostředkovává komunikaci* buňky, zejména transport látek. Na membránu vázané transportní proteiny jsou zodpovědné za selektivní transport látek

přes membránu. U eukaryontních buněk se kromě cytoplazmatické membrány vyvinuly uvnitř buňky další membránové systémy. Tyto membrány tak rozčleňují vnitřní prostor buňky na další kompartmenty, což umožňuje jistou dělbu metabolických aktivit. Všechny biologické membrány mají shodnou molekulární kompozici.

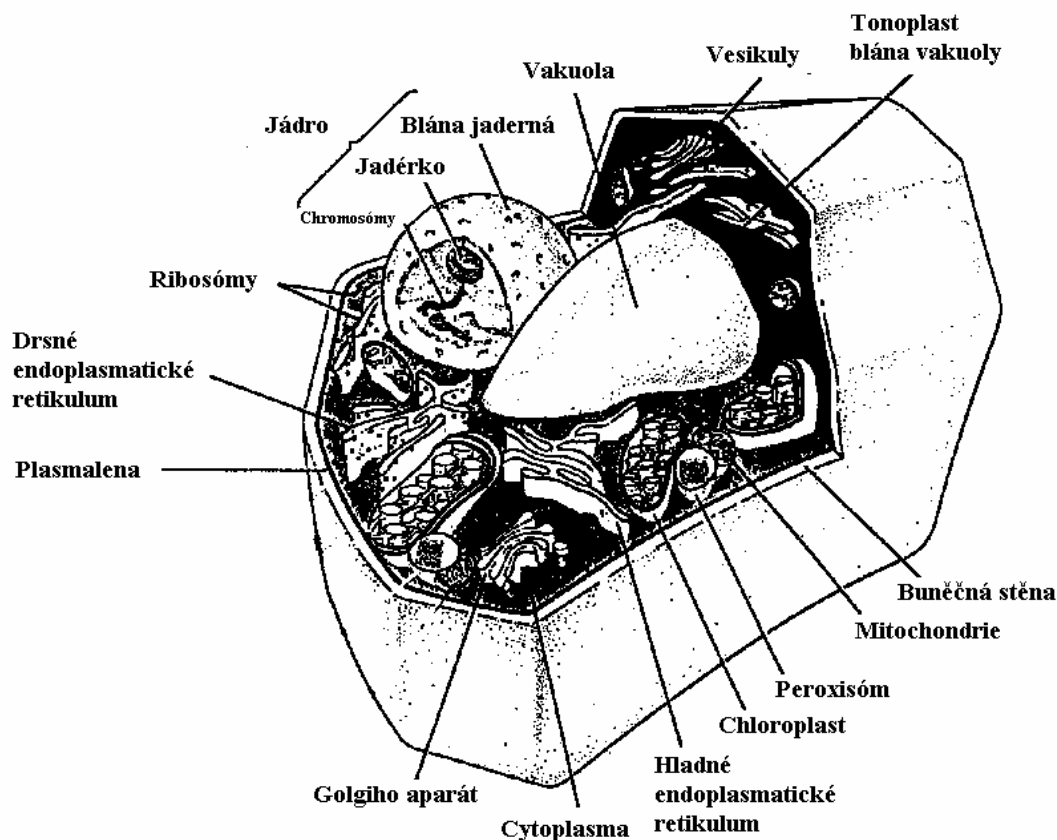


OBR. 2.1: PLASMATICKÁ MEMBRÁNA (PLASMALEMA), SNÍMEK MEMBRÁNY, CHEMICKÉ SLOŽENÍ A ORGANIZACE MOLEKULY FOSFOLIPIDU

Biomembrána plazmalemy se skládá z *dvouvrstevnaté struktury* tvořené hlavně **lipidy** a **proteiny**. Podíl bílkovin v membránách je vysoký, činí 40-60%. V *lipidové složce* jsou nejvíce zastoupeny dvě kategorie **fosfolipidy** a **steroly**, přičemž pro rostlinné biomembrány je charakteristický vyšší podíl fosfolipidů. *Fosfolipidy* jsou skupinou lipidů, ve kterých jsou dvě mastné kyseliny kovalentně vázány ke glycerolu. Glycerol je kovalentně vázán k fosfátové skupině. K této fosfátové skupině jsou pak vázány rozdílné proteinové skupiny, jako je cholin, serin, glycerol. Prostorová organizace fosfolipidů je charakteristická svou *polaritou*. To je důležitá fyzikální vlastnost. Hlavička molekuly fosfolipidu je tvořena **hydrofilními polárními skupinami**, tedy zbytkem kyseliny fosforečné, skupinami $-\text{OH}$, $-\text{NH}_3^+$, $-\text{COO}^-$. **Hydrofóbní část**, tedy ocásky molekul, je tvořena zbytky mastných kyselin. Z toho plyne, že tyto molekuly polárních fosfolipidů jsou amfifilní, což umožňuje, že se mohou vázat jak navzájem, tak s ostatními molekulami, vazbami hydrofilními či hydrofóbními. Další významnou složkou biomembrán jsou *proteiny* především globulární proteiny a glykoproteiny. Tyto proteiny jsou k nosné vrstvě fosfolipidů buď přichyceny pouze povrchně, tedy periferní proteiny, nebo do ní vstupují jako integrované proteiny.

Ocásky fosfolipidů, které směřují do vnitřní zóny bimolekulární membránové vrstvy, jsou volně pohyblivé, což umožňuje, že membrána plave. Rychlost plavání není zanedbatelná,

ale řádově představuje minuty. To způsobuje pohyb proteinů po membráně, nebo jejich otáčení se v membráně. Vzhledem k tomu, že tyto proteiny jsou především enzymy, má jejich existence na membráně mimořádně důležitý katalytický význam.



OBR. 2.2: ROSTLINNÁ BUŇKA

Rostlinná eukaryotická buňka obsahuje pod buněčnou stěnou živý *protoplast*. Protoplast je ohraničen plazmalemou a je tvořen **protoplazmou**, což je veškerá živá metabolizující hmota buňky. *Protoplazmu* tvoří **karyoplazma** - hmota buněčného jádra a **cytoplazma** - ostatní živý obsah buňky. Cytoplazma se někdy ještě dělí na cytoplazmu organel a základní cytoplazmu. V protoplasmě se vyskytují i různé neživé uzavřeniny zvané *inkluzy* a velké množství *membránových útvarů*. Existence těchto útvarů je velice důležitá pro metabolickou aktivitu buňky. Umožňuje kompartmentaci buněčného prostoru, což v podstatě znamená, že vedle sebe v jedné buňce mohou probíhat i naprosto odlišné procesy.

Základní vnitrobuněčnou stukturou je **buněčné jádro** obalené jadernou blánou, která je dalším membránovým systémem v buňce. Jaderná blána obklopuje obsah tzv. **karyoplazmu**. Jaderná blána je dvouvrstevnatá struktura a její vnitřní prostor se nazývá **perinukleárním prostorem**. V bláně je spousta pórů regulujících výměnu látek mezi jádrem

a cytoplazmou. Makromolekuly včetně podjednotek ribozómů tak mohou přecházet z jádra do cytoplazmy a naopak. Šířka pórů, obvykle 9 nm, je taková, aby jimi nemohly procházet chromosomy a celé ribosomy. U mladých buněk je jádro obvykle ve středu buňky a s jejím stárnutím a rozvojem vakuoly se jádro často objevuje v nástěnné vrstvě cytoplazmy. Pokud zůstává ve středu buňky, je s okolím buňky spojeno cytoplazmatickými pruhy vedoucími přes rostoucí vakuolu. Základní složkou karyoplazmy je chromatin, který je tvořen především *deoxyribonukleovou kyselinou* - DNA. Ta je vázána na proteiny. Proteinová složka chromatinu, zaujímající přibližně polovinu jeho hmoty, je tvořena převážně histony. Tyto proteiny obsahují vysoký podíl kladně nabitých aminokyselinových zbytků (Arg, Lys), umožňujících iontovou vazbu se záporně nabitými fosfátovými skupinami DNA. Chromatin je tvořen *despiralizovanými chromozómy*, které v jádře přetrvávají mimo období jaderného dělení. Na povrchu jaderné blány jsou ribozómy. Jádro je důležitým řídicím centrem buňky. Jádro většiny eukaryotních buněk obsahuje zrnitou strukturu zvanou **jadérko**. Jadérko obsahuje chromozomální segmenty nesoucí geny pro ribosomální ribonukleovou kyselinu - rRNA. Tyto geny jsou v jadérku transkribovány na RNA, která se váže na ribosomální proteiny, které přicházejí do jadérka z cytosolu. Výsledkem jsou podjednotky ribosomů. Ty se pak v cytosolu spojují do konečné formy ribosomů.

Jaderný obsah DNA je velice rozmanitý. Například u živočichů se pohybuje obsah DNA kolem čísla 3×10^9 párů bází (pb). Řečeno počítačovou terminologií, každá lidská buňka nese asi 700 Mby (megabytů) informací. U rostlin se tento počet pohybuje v rozmezí 7×10^7 až 2×10^{11} pb. Tento orientační počet párů bází je uveden pro haploidní buňky (tzn. pohlavní buňky s poloviční chromozómovou výbavou). Studium rostlinného genomu dále ukázalo, že DNA má velkou část genomu, která se opakuje. Naopak unikátní složka DNA, tedy složka, která je přímo překládána do proteinů, je poměrně malá. Opakující se složka DNA málokdy kóduje skutečné proteiny.

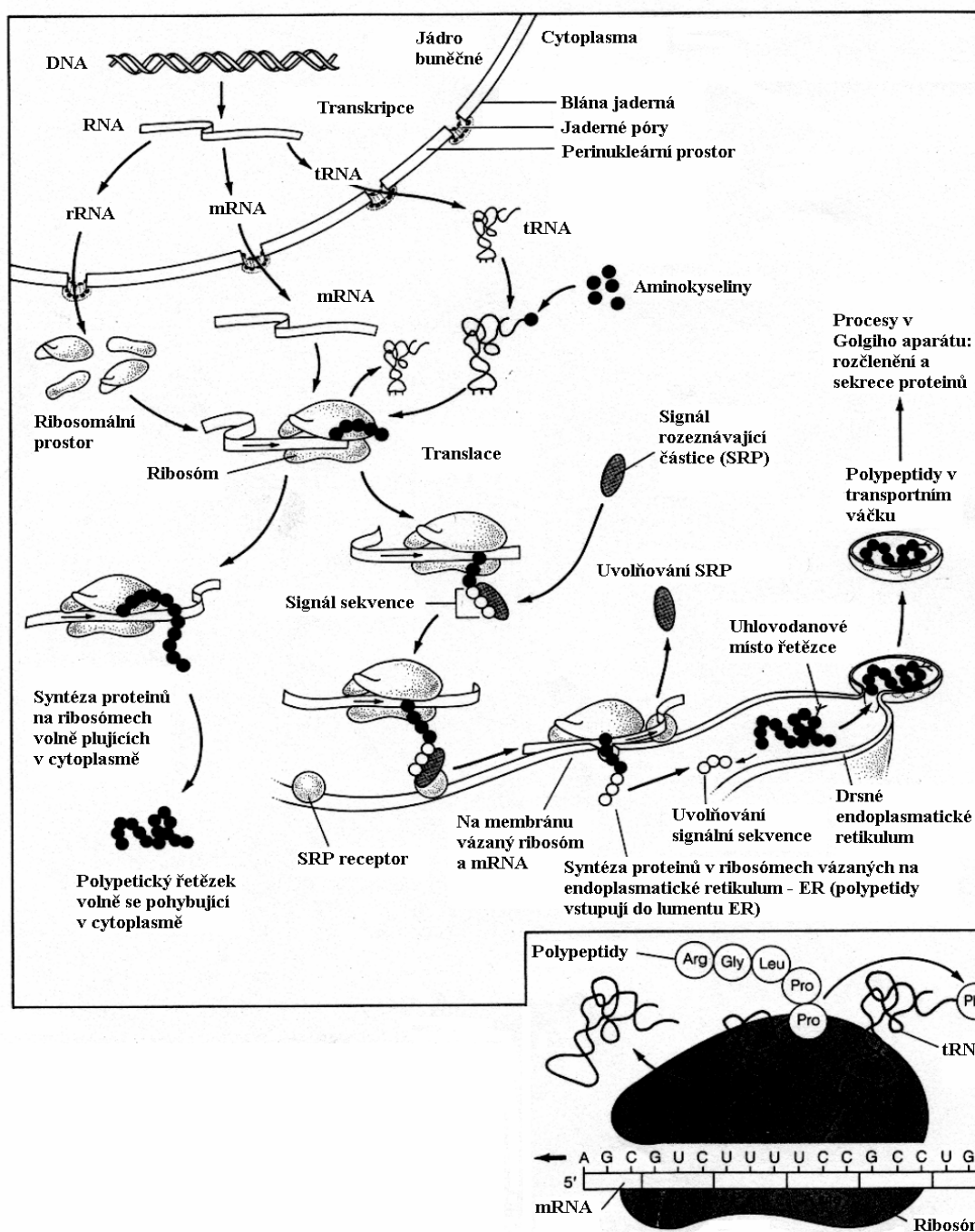
Další zřetelnou vnitrobuněčnou strukturou je **endoplazmatické retikulum**. Jedná se opět o systém membrán tvořících v buňce *soustavu kanálků*, vakovitých **cisteren**, které jsou vzájemně propojeny. Rozeznáváme *dvojí typ* endoplazmatického retikula. **Drsné** a **hladké endoplazmatické retikulum**. Na drsném endoplazmatickém retikulu jsou lokalizovány ribozómy. Zatímco drsné endoplazmatické retikulum je spíše lamelárního charakteru, hladké endoplazmatické retikulum je spíše tubulární. Oba typy endoplazmatického retikula mají i rozličnou fyziologickou funkci. Hladké endoplazmatické retikulum (neobsahuje ribosomy) je hlavním místem syntézy lipidů a složek membrán. Drsné endoplazmatické retikulum je místem pro syntézu membránových bílkovin a proteinů, které jsou sekretovány do vakuoly nebo ven z buňky, tzv. sekreční bílkoviny.

Dictyozómy-Golgiho aparát je dalším vnitřním systémem membrán v buňce. Systém tvoří jednotlivé dictyozómy s hladkou membránou tvarově podobné *shluku plochých měchýřků* a *cisteren* odškrcovaných ze sítě endoplazmatického retikula. Golgiho aparát tvořící polarizovaný membránový systém v blízkosti plazmatické membrány se nazývá *trans typ* a Golgiho aparát soustředěný do středu buňky se nazývá *cis typ*. Fyziologická funkce Golgiho aparátu spočívá ve zpracování proteinů, které jsou k němu transportovány z endoplazmatického retikula a následně uzavřeny měchýřkovitým systémem Golgiho aparátu. Uvnitř Golgiho aparátu jsou pak proteiny různě modifikovány. Z *cisteren* jsou odškrčovány měchýřky vezikuly, které jsou naplněny různými sekrety polysachyridového charakteru. Tyto váčky mají úzkou souvislost s regenerací plazmalemy a často slouží jako reakční povrchy pro různé enzymatické systémy. *Vezikuly* jsou dvojího typu: hladké a opláštěné. Opláštěné vezikuly se podílejí na transportu zásobních proteinů do vakuol. Aby transport v tak rozličném prostředí,

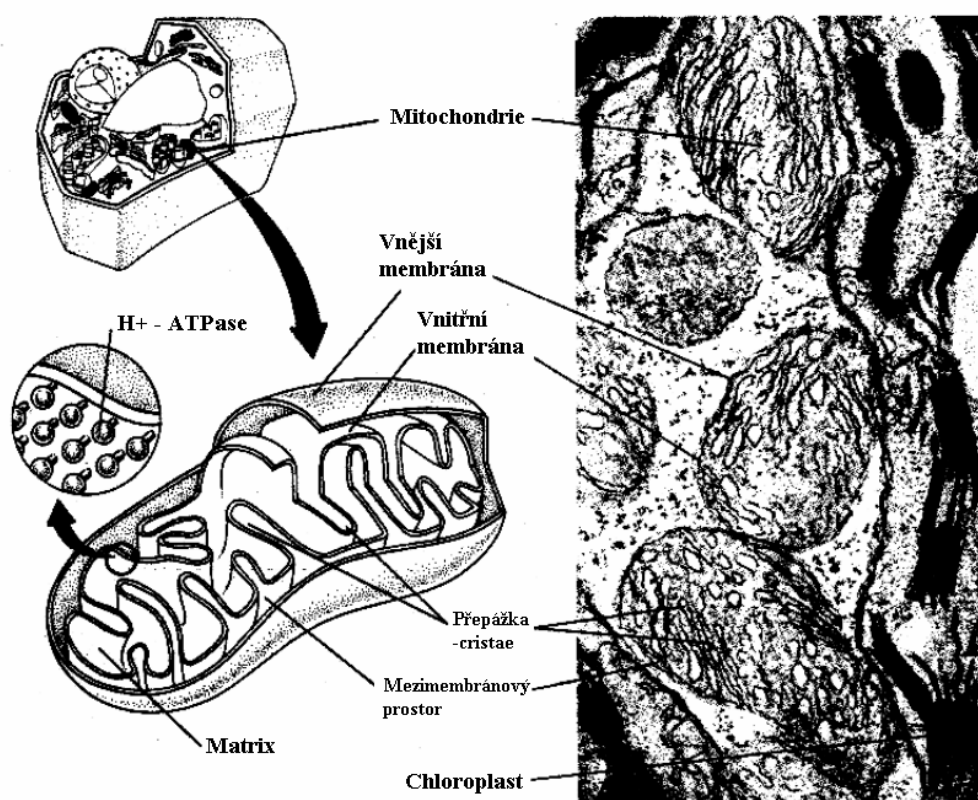
jakým jistě cytoplazma je, mohl být uskutečněn, je plášť vezikulů tvořen speciálním proteinem zvaným *clarithrin*.

Cytologická pozorování ukázala, že dochází k pučení Golgiho aparátu, čímž vznikají **lyzosomy**. Lyzosomy jsou membránové váčky obsahující řadu hydrolytických enzymů. Jejich funkcí je trávit materiály získané endocytózou a recyklovat buněčné komponenty.

Druhým významným rysem rostlinných buněk je existence **vakuol**, což jsou dutiny v buňce obsahující vodné roztoky. Vakuola má vlastní membránu zvanou *tonoplast*. Obsah vakuol je různý: obsahují anorganické ionty, organické kyseliny, cukry, enzymy a spoustu sekundárních metabolitů, které jsou často zapojeny do rostlinných ochranných mechanismů. Vysoká akumulace rozpuštěných látek vytváří výrazný *osmotický potenciál vakuol*. Vakuoly jsou rovněž bohaté na *hydrolytické enzymy* jako jsou *proteázy*, *ribonukleázy* a *glykosidázy*, které se po uvolnění z vakuoly účastní degradačních procesů v buňce. Hydrolytické enzymy se rovněž účastní obrátů buněčných komponent v průběhu života buňky. V semenech lze nalézt *speciální typ vakuol zvaných proteinová tělíska*, které mají funkci základního zdroje



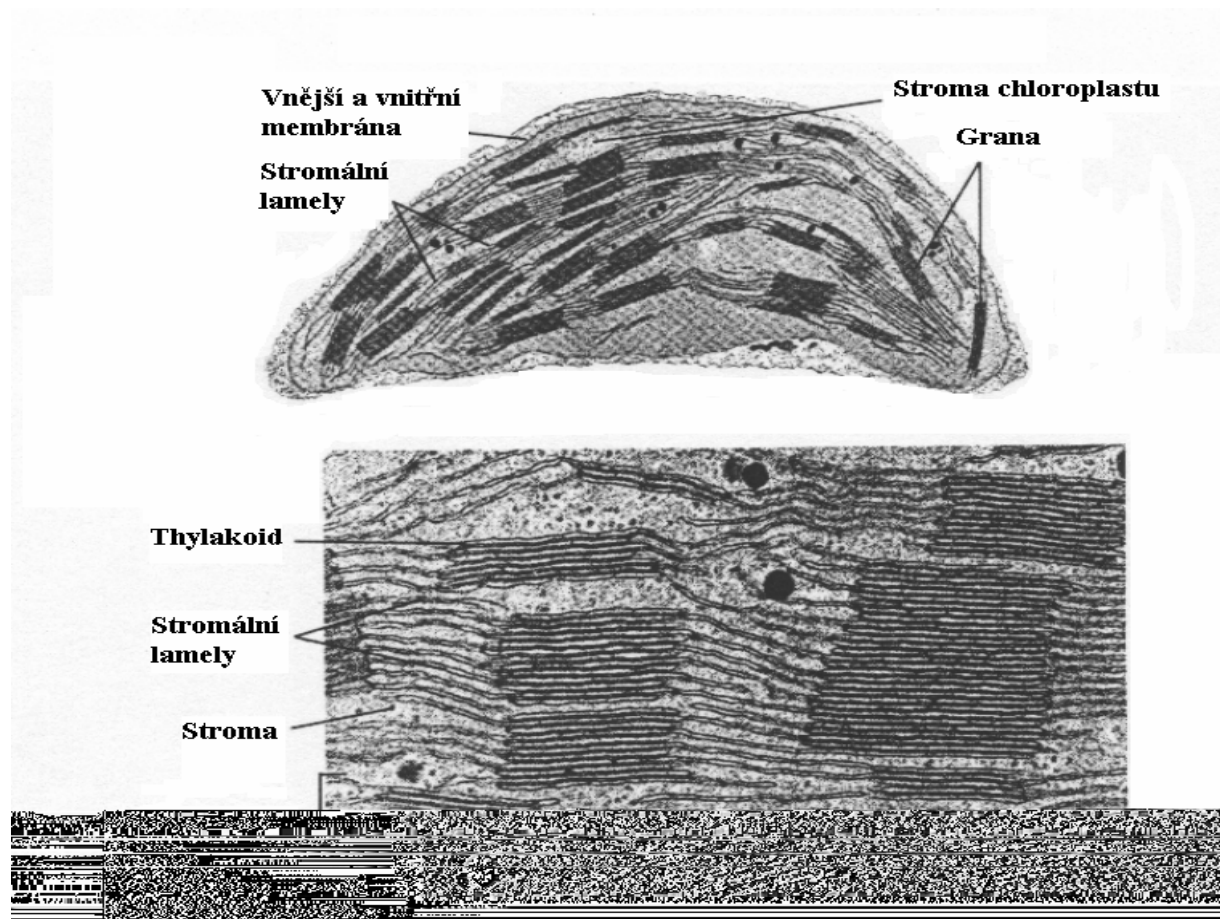
OBR. 2.3: GENOVÁ EXPRESE, TRANS-KRIPCE A -LACE RNA



OBR. 2.4: MITOCHONDRIE A JEJÍ OBRAZ Z ELEKTRO-NOVÉHO MIKROSKOPU

Specifickým rysem mitochondrií a chloroplastů je **existence vlastního genomu**. V obou těchto strukturách byla prokázána vlastní **kruhovitá DNA**, tedy typický genom prokaryotních organismů. Replikace DNA těchto struktur je tedy značně nezávislá na genomu buňky. Tato skutečnost ve spojení s faktem, že jak mitochondrie tak chloroplasty jsou schopny reprodukce příčným dělením, podporuje teorii o vzniku těchto buněčných struktur z původně samostatných symbioticky žijících prokaryotních organismů (bakterií a sinic) s eukaryontní buňkou. Mitochondriální genom je co se velikosti týče velmi variabilní. U člověka činí asi 16 500 párů bází a u kvasinek 78 000 pb. Většina proteinů spojených s mitochondriální kódací patří k řetězci respirace. Ovšem hlavní a klíčové enzymy Krebsova cyklu jsou kódovány

buněčným genomem a do mitochondrie jsou transportovány. Genom chloroplastů je ještě větší, představuje 145 000 pb. Kóduje tak důležité složky jako např. velkou podjednotku enzymu RuBPCO. Malá podjednotka tohoto enzymu je naopak kódována jaderným genomem.



OBR. 2.5: CHLOROPLAST A DETAIL CHLOROPLASTU

Mladé buňky meristemu obsahují **proplastidy**, které nemají vyvinutý systém vnitřních membrán. Rovněž u nich není vyvinut chlorofyl. Vývoj k plnému plastidu je řízen světlem. Jestliže semeno klíčí ve tmě pak proplastid se mění v **etioplast**. Ten má zvláštní tvar vnitřní membrány, jež je ve formě semikrystalických tubulárních lamel. V průběhu několika minut po osvětlení se však etioplast diferencuje v chloroplast s plně vyvinutou thylakoidní strukturou.

Rostlinné buňky dále obsahují *speciální malá tělíska* zvaná **mikrobodies**, což jsou kompartmenty ohraničené jednoduchou membránou, se specializací na dílčí procesy metabolických drah. **Peroxisómy** jsou sférické organely specializované na oxidační reakce. Oxidační enzym tzv. *kataláza* tvoří až 40% proteinu peroxisómu. Vedle mitochondrií jsou peroxisómy hlavním místem spotřeby kyslíku v buňce. Kyslík je totiž často využíván v reakcích, které mění škodlivé metabolické meziprodukty na netoxické složky např. vodu. Peroxisómy se rovněž podílejí na metabolismu tuků a účastní se části fotorespiračního cyklu. Dalším typem mikrotělísek jsou **glyoxyzómy**, které obsahují enzymy glyoxylátové dráhy

konvertující mastné kyseliny na cukry. Např. isocytrátlyasa a malátsynthasa umožňují rašicím semenům převádět jejich triacylglyceroly přes acetyl-CoA na glukózu, čímž je poskytnuta energie nutná pro růst.

CYTOSKELET

Cytosol rostlinné buňky je organizován do *trojrozměrné sítě* zvané cytoskelet. Tato síť je odpovědná za prostorovou organizaci buněčných organel a způsobuje jejich pohyb v cytosolu. Sahrává nezastupitelnou úlohu při buněčném dělení, výstavbě buněčné stěny a buněčné diferenciaci.

Rostlinné buňky obsahují *dva typy cytoskeletálních elementů*: **mikrotubulí** a **mikrofilamenty**. Každý tento typ je vláknitou strukturou konstantního průměru a rozdílné délky. *Mikrotubulí jsou malé duté válce* o průměru do 25 nanometrů. *Mikrofilamenty jsou plné válečky* o průměru do 7 nanometrů. Obě tyto struktury se skládají z globulárních proteinů. Mikrotubule jsou tvořeny proteinem **tubulinem** a mikrofilamenty tvoří protein **aktin**. Tubulin je složen ze dvou podjednotek proteinových řetězců. Aktin tvoří jeden polypeptid. Za určitých fyziologických podmínek tubulin polymeruje a vytváří mikrotubulí. Totéž platí i pro aktin. Fyziologické podmínky ale rovněž ovlivňují rozpad polymerů na základní jednotky. Velice důležitá je funkce mikrotubulí v *mitóze a cytokinezi*.

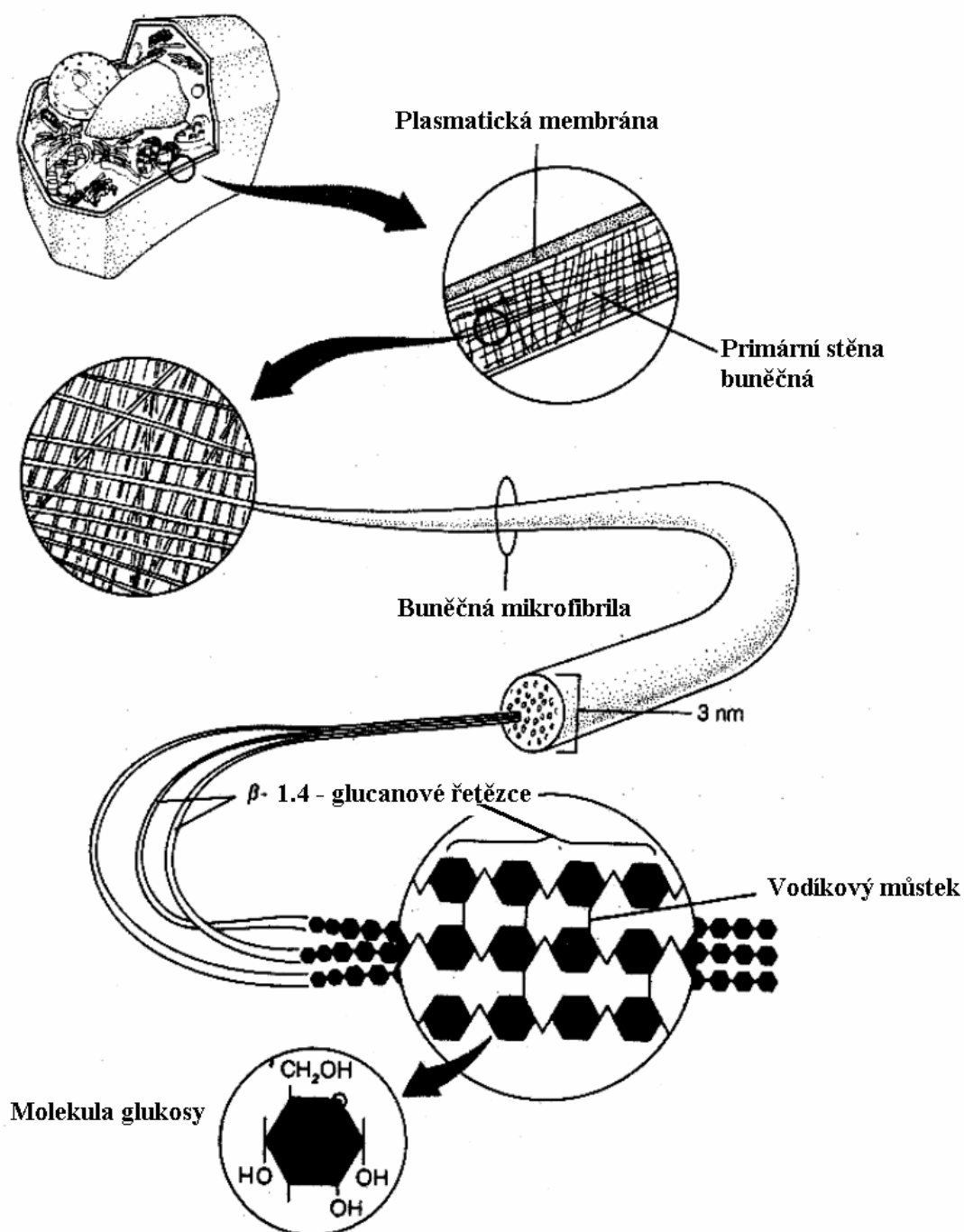
Mitóza je proces, při kterém se replikované chromozómy srpkovitě ohýbají, podélně se dělí, separují se od sebe a rozdělují se rovnoměrně do dceřinných buněk. Mikrotubulí jsou do tohoto procesu aktivně zapojeny, neboť tvoří jak pólové čepičky, tak i dělicí vřeténko. Vřeténko způsobuje aktivní pohyb chromozómů do centrální části dělicí se buňky.

Cytokineze je proces dělení buňky na dvě buňky dceřinné. To znamená, že hlavním procesem je tvorba nové dělicí membrány a buněčné stěny. Prekurzorem tvorby nové membrány je tzv. *buněčná destička*, která se tvoří v centrální části mezi dceřinými chromozómy. Tvorba této destičky je dvojstupňový proces. V prvním kroku se vezikuly Golgiho aprátu shromažďují v centrální části buňky. Tento proces je organizován **fragmoplastem**, což je komplex mikrotubulí. Ve druhém kroku membrány vezikulí fúzí dohromady.

Mikrofilamenty jsou velice aktivně zapojeny do vnitrobuněčného proudění cytoplazmy. Zdrojem pro kontrakce mikrofilament je právě bílkovina aktin.

Typická buněčná stěna dvouděložné rostliny je v průměru tvořena z 30% *celulózou*, 25% *hemicelulózou*, 35% *pektinem* a z 5% *proteiny*. Buněčná stěna je tvořena makromolekulami glykanů, hlavně celulózy. Glykany jsou uspořádány do mikrofibril, které tvoří nosnou strukturu buněčné stěny. V síti mikrofibril je uložena amorfní komponenta zvaná matrix. Materiál matrix lze rozdělit na dvě hlavní složky: pektiny a hemicelulózy. Hemicelulózy jsou heterogenní směsí neutrálních a kyselých polysacharidů. Jestliže jsou všechny polysacharidy buněčné stěny včetně celulózy vyextrahovány, zůstává glykoproteinová složka zvaná **extenzin**. Ta činí 5-10% suché hmotnosti primární buněčné stěny. Extenzin vytváří základní stavební síť, která zesiluje buněčnou stěnu. Buněčná stěna je tvořena **střední lamelou**, **primární** a eventuálně i **sekundární vrstvou**. *Střední lamela* je první přepážkou mezi dceřinými buňkami, která se tvoří během buněčného dělení. Je tvořena látkami pektinové povahy. **Primární stěna** se přikládá z obou stran ke střední lamele směrem do středu buňky. Je tvořena celulózou. **Sekundární buněčná stěna** obsahuje mnohem více celulózy, má obvykle méně pektinů, proto má i menší schopnost vázat vodu a má vyšší hustotu než stěna primární. Hlavní a významnou složkou sekundární stěny je *lignin*, který tvoří až 35% suché

hmotnosti sekundární stěny. Lignin je umístěn v matrix a přispívá ke zvýšení mechanické odolnosti stěny. Sekundární stěna se ukládá na stěnu primární opět směrem do středu buňky.

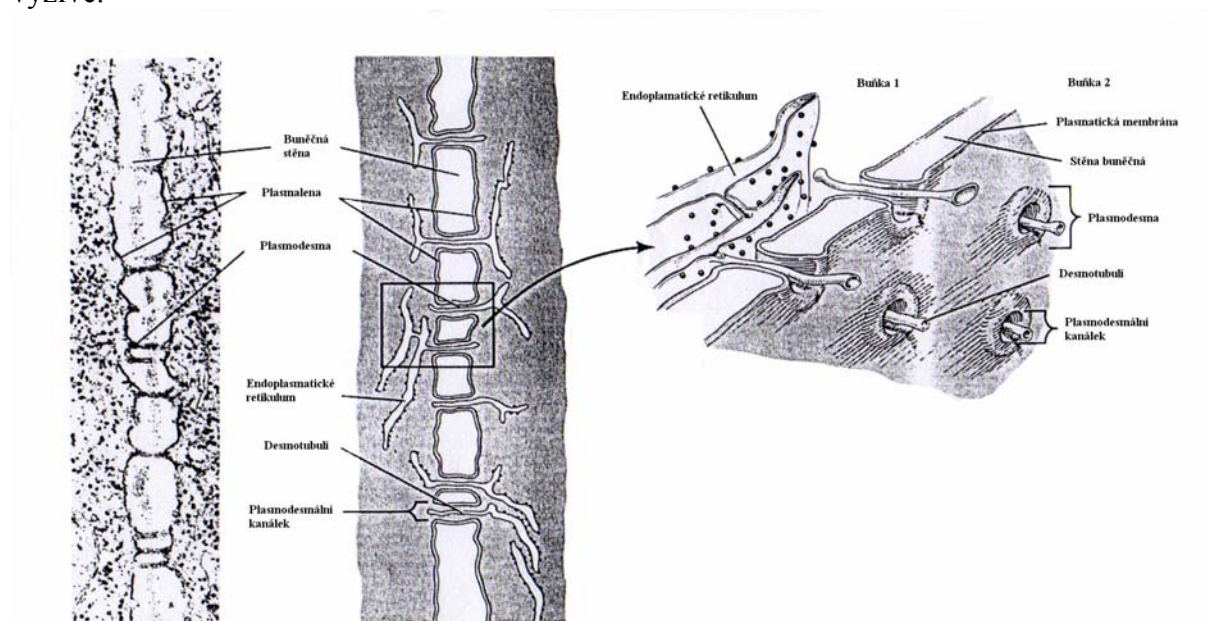


OBR. 2.6: CELULÓZOVÁ MIKROVLÁKNA BUNĚČNÉ STĚNY A JEJICH STRUKTURA

Komponenty matrix buněčné stěny jsou odvozeny od vezikulí Golgiho aparátu. Polysacharidy jsou syntetizovány ve vezikulích, zatímco *extenzin* je tvořen na endoplazmatickém retikulu. Naproti tomu syntéza celulózy a utváření jejích mikrofibril se uskutečňuje na tzv. **rosetě**, což je komplex šesti molekul enzymu celuloza-syntetáza na plazmalemě.

Ukládáním sekundárních vrstev buněčná stěna tloustne. K tomuto ukládání nemusí docházet celoplošně a často se tvoří velice charakteristické ztenčiny. Sekundární stěny tvoří celulóza bez základní hmoty, která naopak tvoří u primární stěny dosti podstatnou část. Celulózové mikrofibrily vytváří v sekundární stěně hustou nepravidelnou síť, zatímco v primární stěně jsou neuspořádaně roztroušeny v základní hmotě a tvoří síť.

V pletivech rostlin jsou jednotlivé protoplasty od sebe odděleny již zmíněnou buněčnou stěnou. V této stěně se však nacházejí kanálky zvané **plazmodesmy**. Plazmodesmy tak zajišťují cytoplazmatické spojení sousedních buněk. Plazmodesmy obsahují svou vlastní strukturu, která udržuje jejich otvor tzv. *desmotubulí*. Tímto membránovým systémem jsou jednotlivé buňky spojeny v systém zvaný *symplast*. Tento systém je rozsáhlý. Každá buňka vyšších rostlin má řádově tisíce až desetitisíce kanálků. Buněčná stěna má především ochrannou funkci. Má důležitou úlohu při transportu vody a ve vodě rozpuštěných látek. Tvoří tak zvaný volný vodní prostor. O tomto prostoru budeme hovořit v kapitole o minerální výživě.



OBR. 2.7: PLASMODESMY - PROPOJENÍ MEZI BUŇKAMI.

POHYBY CHLOROPLASTŮ

Pohyby chloroplastů v mezofylových buňkách jsou velmi dobře známe. Změny lokalizace chloroplastů souvisejí jak s věkem buňky, tak i s cyklem světlo-stín-tma. Pohyb chloroplastů je výrazem určité strategie rostliny předejít plné fotoinhibici asimilačního aparátu v důsledku nadměrného ozáření světlem, či upravit poměr mezi tvorbou asimilátů v chloroplastech a jejich transportem z chloroplastů. Chloroplasty se uvnitř buňky nejen pohybují, ale mění i

svou velikost. Změny ve velikosti jsou často doprovázeny tvorbou zřetelných škrobových zrn uvnitř plastidu. Změny, jako je například vydutí membrán či zkracování a oddalování se thylakoidů, jsou příznakem poškození. To je známo ze stresové fyziologie, hlavně při působení vzdušných škodlivin.

Pohyb plastidů způsobený světlem je jistou ochranou proti poškození. K pohybu dochází dvojím způsobem:

a/ plastidy mění svou pozici pohybem do zastíněných částí buňky,

b/ změnou pozice tak, že jen malá část chloroplastového obsahu je vystavena směru paprsků.

Některé rostliny se brání poškození přílišným ozářením tím, že natáčí listy nebo chloroplasty v buňkách hranou k dopadajícímu záření, tzv. *fototaxe*. Naopak při nízké intenzitě světla dochází k naprosto opačným pohybům plastidů.

Pro vysvětlení těchto pohybů existuje několik modelových hypotéz:

- 1/ *hypotéza existence peristromia*. Tato hypotéza je dosti stará a předpokládá existenci peristromia, tedy jisté vrstvy bez chlorofylu. Tato vrstva se má nacházet přímo pod zdvojenou membránou chloroplastu a je zodpovědná za jeho pohyb. Vrstva se amebovitě vlní a tím dochází k pohybu plastidu. Vlnění je zapříčiněno tím, že různé části plastidu jsou různě intenzivně ozářeny. Plastidy se tak pohybují ve směru světelného gradientu buňky.
- 2/ *hypotéza povrchové tenze* předpokládá, že pohyb způsobují změny v tenzi chloroplastového povrchu na různých částech chloroplastu. Tyto tenzní difference jsou způsobeny opět světelným gradientem. Hypotéza předpokládá tvorbu jistých komponent indukovaných světlem. Tyto složky mění viskozitu plastidové membrány, a tím se tvoří tenzní gradient.
- 3/ *hypotéza elektrokinetická* předpokládá tvorbu rozdílných pozitivních a negativních elektrických potenciálů jako důsledek světelného gradientu v plastidu
- 4/ *hypotéza pasivního posunu plastidů* po buněčném skeletu předpokládá, že k indikaci světelného gradientu slouží jiné než plastidové receptory. Tyto receptory dávají do pohybu buněčný tubulární skelet, který pohybuje plastidy. Jinou variantou pasivního pohybu plastidů je prodělení cytoplazmy, což má za následek posun plastidů.

POLARITA - ZÁKLADNÍ VLASTNOST BUŇKY

V teorii životních forem organismů má polarita významné místo. U vyšších rostlin se polarita, daná základním uspořádáním kořen-stonek, objevuje již při dělení zygoty. Zygota je polarizována asymetrickými stimuly vnějšího prostředí. Je možné jmenovat řadu těchto vlivů: *teplota, intenzita světla, pH, koncentrace iontů atd.* Prvním příznakem polarizace buňky je indukce **transcelulárního proudění** iontů zygotou, zvláště Ca^{2+} iontů. Příčina vzniku těchto toků není zcela jasná. Předpokládá se, že dochází k otevírání, uzavírání a redistribuci iontových kanálů či pump v plazmatické membráně. Tento proces je řízen zvláště světelnou intenzitou. V zygotě tak dochází k toku Ca^{2+} iontů ve směru rostoucího světelného gradientu. Lze tedy říci, že zastíněná část zygoty vykazuje kladný elektrický potenciál v porovnání s osvětlenou částí. V první fázi tak dochází k *labilní polarizaci* zygoty.

K *fixaci polarizace* zygoty dochází nahromaděním aktinových mikrofilament (na základě elektrostatických sil) v neosvětlené části zygoty, což vede k diferenciaci kořenových buněk. Tímto způsobem tedy dochází k vytváření nerovnocenných dceřinných buněk, které

jsou následně základem polarity celého organismu. Buněčné základy polarity jsou pak příčinou polarity orgánové.

Orgánová polarita je velice stabilní. Klasickým příkladem polární orgánové stability je pokus s vrbovým řízkem. Řízek lehce regeneruje, ale podržuje si polaritu. To znamená, že z místa, které bylo blíže kořeni, regeneruje kořen a z místa bližšímu apexu se regenerují listy. Toto zůstává zachováno i v případě, když řízkovanec pověsíme opačně, tedy bazální částí nahoru.

Indukce polarity je dána různými faktory, jako je již uvedené světlo. Při klíčení spór je základní poloha polarity určena světlem. Aktivní je však pouze světlo o vlnové délce 520 nm. V místě, kde je absorbováno nejméně tohoto světla, je dán základ kořene. Na tomto příkladě vnější indukce buněčné polarity se jeví jako opodstatněná představa, že je v buňce *latentní polarita*. Jakmile je ale jednou tato latentní polarita indukována (tzn. vytvořil se základní gradient v polaritě), je tato již dána a je prakticky neměnná. V determinaci polarity se může rovněž uplatnit i bioelektrické pole. Vnější pole indukuje jisté změny elektrického potenciálu na plazmalemě, což je pak základem tvorby gradientu a následně i polarity buňky. Jako další vnější impuls polarity je možné uvažovat působení vnějších substancí. Například působení proudění vody na doposud neindukovanou zygotu způsobuje jisté rozvrstvení protoplastu a dává tak základ pro vznik polarity.

3. ROSTLINNÁ ANATOMIE

Stavba rostlinného těla

Rostliny jsou velice variabilní organismy, které mají relativně dlouhou a viditelnou vegetativní fázi života. Jejich tělo je složeno z *listu, stonku a kořene*.

Základní funkcí listu je fotosyntéza a transpirace, funkcí stonku je mechanická podpora listů a ochrana vodivých pletiv. Hlavní funkcí kořene je stabilizace v půdním substrátu a příjem vody a v ní rozpuštěných živin. Zmíněné tři složky rostlinného těla, tedy list, stonek a kořen mají v jistém slova smyslu stejnou stavbu. Shodná stavba je dána tím, že všechny tyto tři složky jsou tvořeny stejným typem pletiv.

U rostlin rozeznáváme *čtyři základní typy pletiv*. Jsou to: **pletiva dělivá, krycí, vodivá a pletiva základní**. V rostlinné fyziologii a rostlinné botanice je pletivo synonymem slova tkáň, ale v češtině se slovo tkáň v rostlinné fyziologii a botanice nepoužívá, užívá se pouze termínu pletivo.

Dělivá pletiva neboli tzv. *meristémy* jsou jedinými pletivy, které jsou schopny dělení buněk. *Embryo*, zárodek rostliny, je tvořeno pouze meristémy. Mimoto nacházíme meristémy ještě i v jednotlivých částech těla rostlin. Nacházíme je vždy tam, kde je lokalizován růst rostlin. V periferních částech rostliny především ve vzrostlých vrcholech stonku a kořene jsou místa, ve kterých jsou meristémy lokalizovány. Speciální meristémy vzrostlých vrcholů označujeme termínem **apikální meristémy**.

Za základní charakteristiku typické meristematické buňky považujeme velké buněčné jádro a cytoplazmu s malým obsahem vakuol. Další charakteristickou vlastností je tenká celulózní buněčná stěna a kulatý tvar buňky. Meristematická pletiva, s ohledem na jejich aktivitu a schopnost dělit se, nemusí být *pletivy trvalými*. To znamená, že tato dělivá schopnost nemusí být patrná po celý život pletiva. Existují buňky, které si udržují dělivou schopnost od počátku dělení embrya a opakovaně se dělí dále ve vrcholovém meristému. Při každém dělení se jedna z těchto buněk stává novou tělní buňkou a druhá zůstává buňkou meristematickou. *To znamená, že tyto buňky jednak zachovávají samy sebe a jednak vytvářejí nové tělní buňky*. Buňky, které takto udržují meristémy a je v nich lokalizována trvalá dělivá aktivita se nazývají **iniciály**. Iniciály proto, že je v nich iniciováno dělení buněk. Buňky, které jsou výsledkem dělení iniciál se nazývají **deriváty**. Iniciály tvoří ve vegetačních vrcholech určitá a pro různé skupiny rostlin charakteristická seskupení. Vzhledem k tomu, že *iniciály jsou určitým pokračováním původního meristému*, považují se za původní meristém tzv. **protomeristém**. *Deriváty si od iniciál po jistou dobu udržují dělivou schopnost tzn., že se dále dělí*. Tímto způsobem *se nově vznikající buňky dostávají dále od nosného vrcholu*, tedy dále od protomeristému - původního místa meristematické aktivity. Při tomto oddalování postupně nastávají změny, které spočívají ve zvětšování buněk, změnách jejich chemismu, tvaru a tloušťky jejich stěn a ve změnách kvality protoplastu. Především u těchto buněk, které se vzdalují od apikálního meristému - původního místa dělivé aktivity, *dochází k silné vakuolizaci*.

Rozlišujeme **tři základní typy protomeristémů**:

protoderm,
prokambium,
základní meristém.

Protoderm je část pletiva, která je blízká pokožce, **prokambium** je ta část, která je blízká vodivému systému a **základní meristém** je meristematická složka základních pletiv. Dělivá aktivita buněk těchto meristémů klesá až ustává docela a zároveň se zvyšuje diferenciace pletiv a jejich přizpůsobení se různým funkcím, které později v rostlinném těle vykonávají. Pletiva, která v tomto smyslu dospívají, se nazývají **primární pletiva trvalá**. Vedle protomeristémů a primárních meristémů existují v rostlinném těle ještě meristémy sekundární. **Sekundární meristém** vzniká z pletiv trvalých, a to tak, že se u těchto pletiv znovu obnovuje jejich dělivá aktivita. *Typickým příkladem sekundárních meristémů je kambium u dřevin.* Sekundární meristémy vznikají z méně specializovaných pletiv, u nichž se dá předpokládat, že svou dělivou aktivitu zastavila, ale neztratila svou dělivou potenci. Jestliže budeme brát v úvahu polohu meristému, pak se zmíněného termínu *apikální* či *vzrostný meristém* užívá pro meristémy tvořící vrchol stonku nebo kořenu, které svým dělením produkují základy primárních pletiv. Činností meristému jsou následně vytvářena pletiva trvalá a jejich systémy. Tato pletiva se nacházejí v různých orgánech rostlin.

Při klasifikaci rostlinných pletiv musíme brát v úvahu jejich charakteristické vlastnosti. Nejvýznamnější z nich jsou *tloušťka buněčné stěny, tvar a obsah buněk*. Pro charakter pletiva však bývá důležitý i jiný znak, který se buněk přímo netýká a to je *existence či absence a velikost mezibuněčných prostor* tzv. **intercelulár**. Někdy však interceluláry nejsou znakem pletiva a vyskytují se zcela ojediněle, nebo tvoří velké dutiny či kanály.

Interceluláry řadíme do tří skupin. **Schizogenní interceluláry**, které vznikají rozštěpením střední lamely tak, že primární stěny se od sebe rozestupují. Dalším typem jsou **lexigenní interceluláry**, které vznikají roztrháním buněk a jejich stěn a nacházejí se v centrálních partiích dutých lodyh. Třetím typem jsou **lyzigenní interceluláry**, které vznikají rozpouštěním buněčných stěn nebo celých buněk a splynutím takto vzniklých prostor.

Při klasifikaci rostlinných pletiv je dalším hlavním kritériem tloušťka buněčné stěny a tvar buněk. Nejběžnějšími pletivy jsou: **parenchym, kolenchym a sklerenchym**.

Parenchym je trvalé pletivo, které se skládá z buněk s tenkou buněčnou stěnou. Význačným znakem parenchymatických pletiv jsou výrazné mezibuněčné prostory. *Parenchym je pletivo, které je hlavním reprezentantem trvalých základních pletiv.* Nachází se ve všech orgánech jako kontinuální pletivo, ovšem parenchymatické buňky jsou součástí i jiných systémů pletiv, například pletiv vodivých. Metabolická aktivita rostlin je soustředěna především do protoplastů parenchymatických buněk, a proto je parenchym důležitý i z hlediska fyziologického. Parenchymatické pletivo lze charakterizovat jako málo specializované a tedy vlastně jako potenciálně meristematické pletivo. Hojení ran, regenerace, tvorba adventivních kořenů, větví, či stonků je dána právě onou dělivou potenci parenchymatických buněk. Parenchymatické buňky plní řadu funkcí, což se projevuje i v jejich stavbě. Některé typické parenchymy se pak označují speciálními termíny.

Termín **palisádový parenchym** se používá pro *parenchym tvořený podlouhlými palisádovými buňkami s tenkými stěnami*. Buňky palisádového parenchymu se vyznačují vysokým obsahem chloroplastů, což jim umožňuje plnit především v listech funkci *fotosyntetického pletiva*. Naproti tomu **houbovitý parenchym** je složen z buněk, jejichž tvar je nepravidelný až laločnatý, přičemž je mezi nimi vytvořen systém intercelulár. Mezibuněčné prostory jsou častým znakem parenchymu, ale někdy jsou zvlášť typické pro určité specializované typy parenchymu. Je-li objem intercelulár velký, větší než objem buněk,

označujeme celé toto pletivo **aerenchym**. Tento typ parenchymu se velice často vyskytuje u vodních a bažinatých rostlin. V buňkách parenchymu jsou ukládány zásobní látky. Pokud je pletivo speciálně přizpůsobeno k této funkci, nazývá se *pletivem zásobním*. Jsou-li buňky silně zvětšené a jejich vakuoly slouží jako zásobárna vody, označuje se takový parenchym jako *vodní*. Parenchymatické pletivo v listech a pod povrchem stonku obsahuje chloroplasty a často se označuje termínem **chlorenchym**. Hlavní funkcí takového pletiva je *funkce asimilační*.

Kolenchym je tvořen buňkami, *jejichž stěny jsou nerovnoměrně ztloustlé a interceluláry zde zpravidla nejsou*. Rozlišujeme několik typů tohoto pletiva: **deskový kolenchym** má ztloustlé pouze delší strany, ale kratší strany buněk zůstávají neztloustlé. **Rohový kolenchym** je složen z buněk zhruba stejně velkých a rovnoměrně uspořádaných, stýkajících se spolu ve ztloustlých rozích. *Kolenchym je pletivem mechanickým, které dodává rostlině pevnost, ale nezabraňuje ohebnosti*. Vyskytuje se proto v řapících a na perifériích stonku, v květních stopkách a podobně.

Sklerenchym je pletivo složené z buněk, *jejichž stěny jsou rovnoměrně ztloustlé*. Charakteristickým znakem sklerenchymu je tvorba *tečkovitých ztenčenin*, které vytváří mezi sklerenchymatickými buňkami *sít kanálků*. Většinou jsou buňky tvořící toto pletivo silně protáhlé a zašpičatělé a nazývají se sklerenchymatickými vlákny. V příčném řezu mají mnohoúhelníkový tvar, takže k sobě těsně přiléhají a nevytvářejí interceluláry. Jejich uspořádání je základem tvorby pevných provazců nebo vrstev, které dodávají rostlině pevnost a chrání vodivá pletiva před mechanickým poškozením. Sklerenchymatická vlákna vytvářejí často pochvy kolem vodivých pletiv. Stěny sklerenchymatických buněk jsou nejprve celulózní, později jsou impregnovány ligninem. Při jejich ontogenezi odumírají protoplasty, takže buňky jsou ve svém funkčním stavu mrtvé, reprezentované pouze buněčnou stěnou. Termínem **sklereida** často rozumíme sklerenchymatické buňky, které se vyskytují více méně izolované v jiném například parenchymatickém pletivu. Jsou-li sklereidy laločnaté, nazývají se **astrosklereidy**.

Dalším velice významným *kritériem pro dělení pletiv, je tvar buněk*. Podle tvaru buněk dělíme pletiva na **vláknitá**, v nichž v podstatě jeden rozměr buněk převládá nad ostatními. Dále jsou to **pletiva dlaždicovitá a deskovitá**, v nichž je jeden rozměr výrazně menší než všechny ostatní. Naopak buňky nebo pletiva, která jsou složena z buněk, jejichž všechny rozměry jsou zhruba stejné, tvoří **pletiva izodiametrická**. Někdy se tento tvar uvádí jako znak parenchymu. V tom případě jde o parenchym v užším slova smyslu, protože názvu parenchym se obecně užívá pro všechna tenkostěnná pletiva, bez ohledu na tvar buněk.

SYSTÉMY PLETIV

Z funkčního hlediska rozeznáváme v rostlinném těle tři soubory, tři systémy pletiv. *Je to systém pletiv krycích, vodivých a základních*.

Nelze říci, že systémy pletiv jsou jen soubory již dříve jmenovaných souvislých typů pletiv, třebaže v nich tato pletiva mohou být zastoupena v menší nebo převažující míře. Jde o soubor buněk, které jsou často značně rozdílné. Jsou to buňky ještě mnohem více specializované.

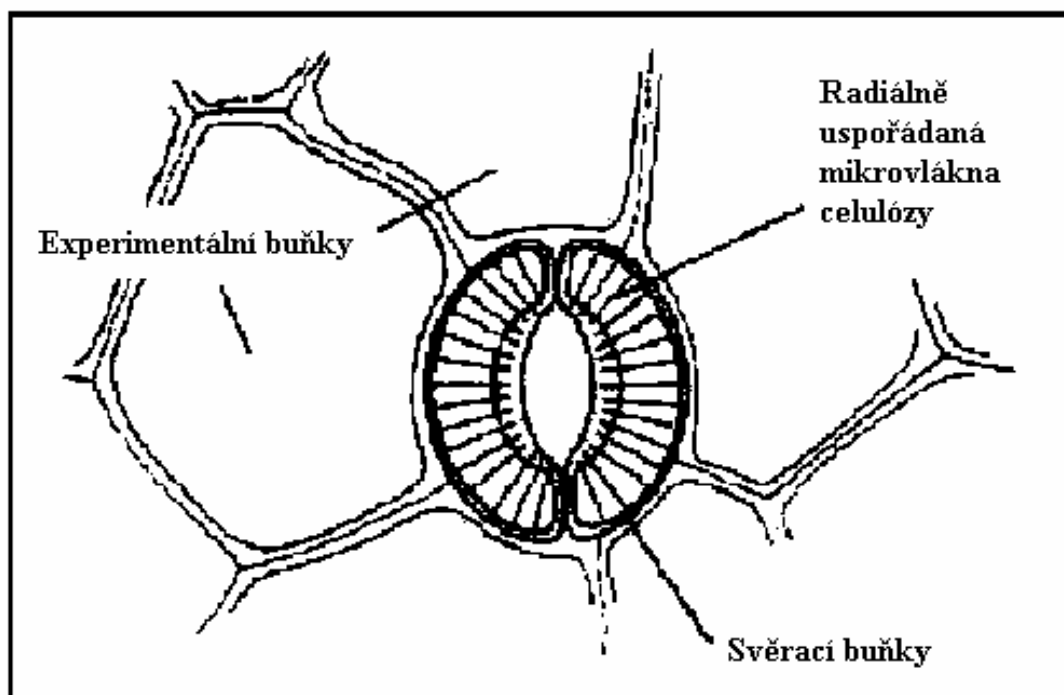
SYSTÉM PLETIV KRYCÍCH

Povrch nadzemní části rostliny je kryt pokožkou zvanou **epidermis**, což je zpravidla jedna vrstva buněk lišících se od buněk pletiv ležících pod nimi. *Epidermis slouží především k*

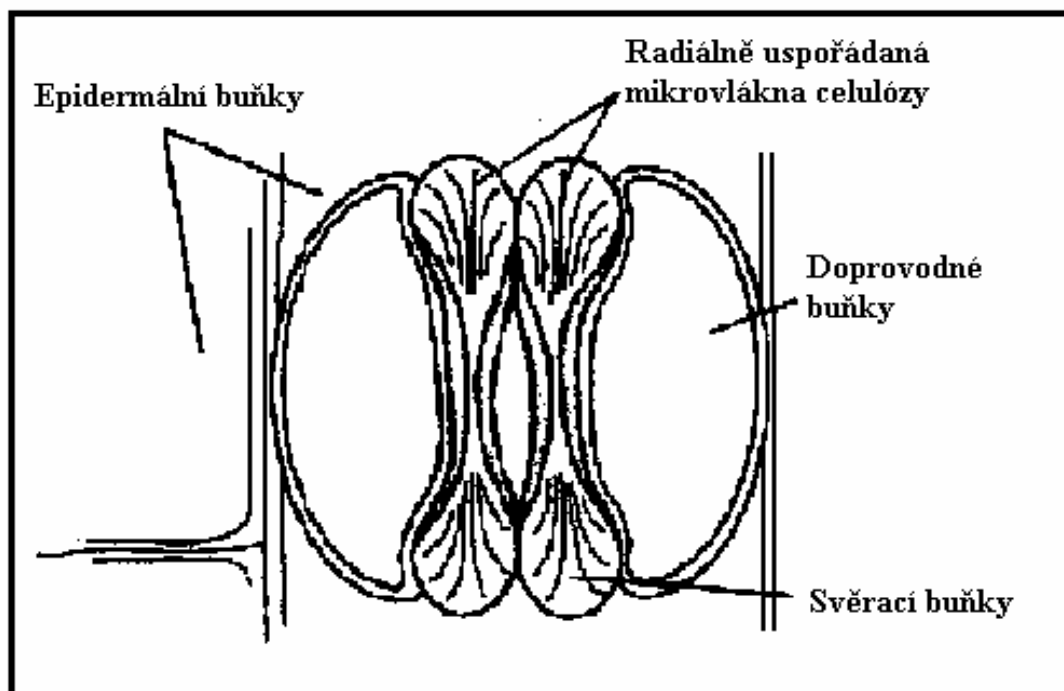
ochraně rostlinného těla před vnějšími vlivy. Z hlediska stavby lze pokožku neboli epidermis označit jako pletivo smíšené. Základem jsou zpravidla buňky dlaždicového tvaru, mezi nimiž nejsou interceluláry. Tyto buňky k sobě velice pevně přiléhají. Vnější stěny pokožkových buněk jsou tlustší než stěny ostatní. To souvisí s podmínkami ve kterých rostlina žije. Povrch celé rostliny je kryt kutikulou, což je souvislá vrstva látky tukovité povahy. Vnější stěny pokožkových buněk jsou impregnovány kutinem, čímž se vytváří nerozpustná lipid-polyesterová vrstva. Tloušťka kutikuly a stupeň impregnace buněčných stěn má význam pro omezování transpirace neboli výdeje vody a opět souvisí s ekologickými podmínkami ve kterých rostlina žije. Vnější stěny epidermálních buněk mohou být rovněž inkrustovány anorganickými sloučeninami nebo impregnovány ligninem. Epidermální buňky neobsahují chloroplasty, ale mohou se v nich vyskytovat i leukoplasty. Vyjímky lze nalézt u vodních a stínobytných rostlin, kde se chloroplasty v epidermis vyskytují. Vzhledem k tomu, že epidermální buňky obsahují velkou vakuolu, mohou sloužit i jako zásobárna vody. U některých rostlin jsou tyto epidermální buňky značně zvětšené a specializované právě pro tento účel. V buněčné štávě těchto pokožkových buněk mohou být rozpuštěná barviva, které mají výraznou ekologickou funkci. Ve vakuolách buněk epidermální vrstvy může docházet k hromadění absorpčních pigmentů jako reakci na vnější podmínky. Tyto pigmenty mohou mít např. vysoký absorpční koeficient pro oblast UV záření (antokyany, flavonoidy) a chránit tak fotosynteticky aktivní buňky před tímto fotoinhibičním zářením. Epidermální buňky jsou živé a obsahují dobře rozlišitelné buněčné jádro. Vícevrstevnatá epidermis je poměrně vzácná. Vzniká dělením protodermy. Někdy se buňky pod epidermis přizpůsobují svým tvarem i funkcí epidermálním buňkám a spolu s epidermis bývají nepřesně označovány jako vícevrstevnatá pokožka. Vlastní epidermální buňky nemohou zajistit výměnu plynů mezi vnitřním prostředím rostliny a vnější atmosférou. Výměnou plynů rozumíme především přenos vodní páry a oxidu uhličitého. Vhodně regulovanou výměnu plynů umožňují speciální struktury v epidermis nazývané průduchy neboli stomata.

Průduchy jsou struktury rozmanitých tvarů, ale jejich základní stavba odpovídá základnímu schématu. Průduchy jsou tvořeny dvěma buňkami, které se nazývají **buňky svěrací**, protože svírají mezi sebou **průduchovou štěrbinu**, která může být pohybem těchto svěracích buněk otevírána a zavírána. Svěrací buňky jsou stavěny nesymetricky nejen tvarově, ale i z hlediska tloušťky jejich stěn. Nejrozšířenější typem průduchů je typ zvaný **amarilis**. Svěrací buňky u tohoto typu mají ledvinovitý tvar a jsou svými vyduťtými stěnami, které se označují jako *břišní*, obráceny k sobě, takže mezi nimi vzniká štěrbinu. *Vnější vypuklá stěna se nazývá hřbetní a je tenká.* Břišní stěna je v místech, kde se buňky při zavření stýkají, tenká, ale v sousedství je velice silně ztloustlá a to vně i dovnitř. Nad těmito ztloustlými místy se vytváří **lištiny**, z větší části kutikulární, a to *lišta zevní* a *vnitřní*. Otvor mezi ztenčenými částmi břišní stěny se nazývá *centrální štěrbinu*. Pod průduchem je mezibuněčný prostor, zvaný *vnitřní dýchací dutina*. Buňky sousedící s průduchem jsou buď stejné jako ostatní pokožkové buňky a nazývají se buňky sousední, nebo jsou odlišné od pokožkových buněk a nazývají se buňky vedlejší. Vedlejší buňky jsou většinou nejen morfologicky, ale i funkčně odlišné od epidermálních buněk a v různé míře spolupracují s buňkami svěracími.

a) amaryllis



b) gramineae



OBR. 3.1: STAVBA ZÁKLADNÍCH TYPŮ PRŮDUCHŮ ROSTLIN

Mechanismus otevírání a zavírání štěrbin závisí na *turgoru svěřacích buněk*. Při zvýšení turgoru se tenká hřbetní stěna svěřacích buněk více poddává tlaku, který na ni působí zevnitř buňky, než stěna břišní. Hřbetní stěna se vydouvá a tím se prohýbá celá buňka. V důsledku toho dostává břišní stěna konkávnější tvar, a protože se tato změna děje stejně u obou svěřacích buněk, štěrbina průduchu se otevírá. Naopak při snížení turgoru se vydutí hřbetní stěny zmenšuje a na břišní stěně se štěrbina uzavírá. Druhým typem průduchů je typ **graminae**, který je charakteristický především pro trávy. Svěřací buňky mají ve své střední části stěnu ztloustlou a vytváří plochý úzký lumen. Na koncích se však svěřací buňky rozšiřují a stěna je zde velice tenká. Celá buňka má pak piškotovitý tvar, který se vychlipuje při zvýšení turgoru. Tenkostěnná stěna konce svěřacích buněk se zvětšuje a nadouvá a tím se od sebe oddalují střední ztloustlé části.

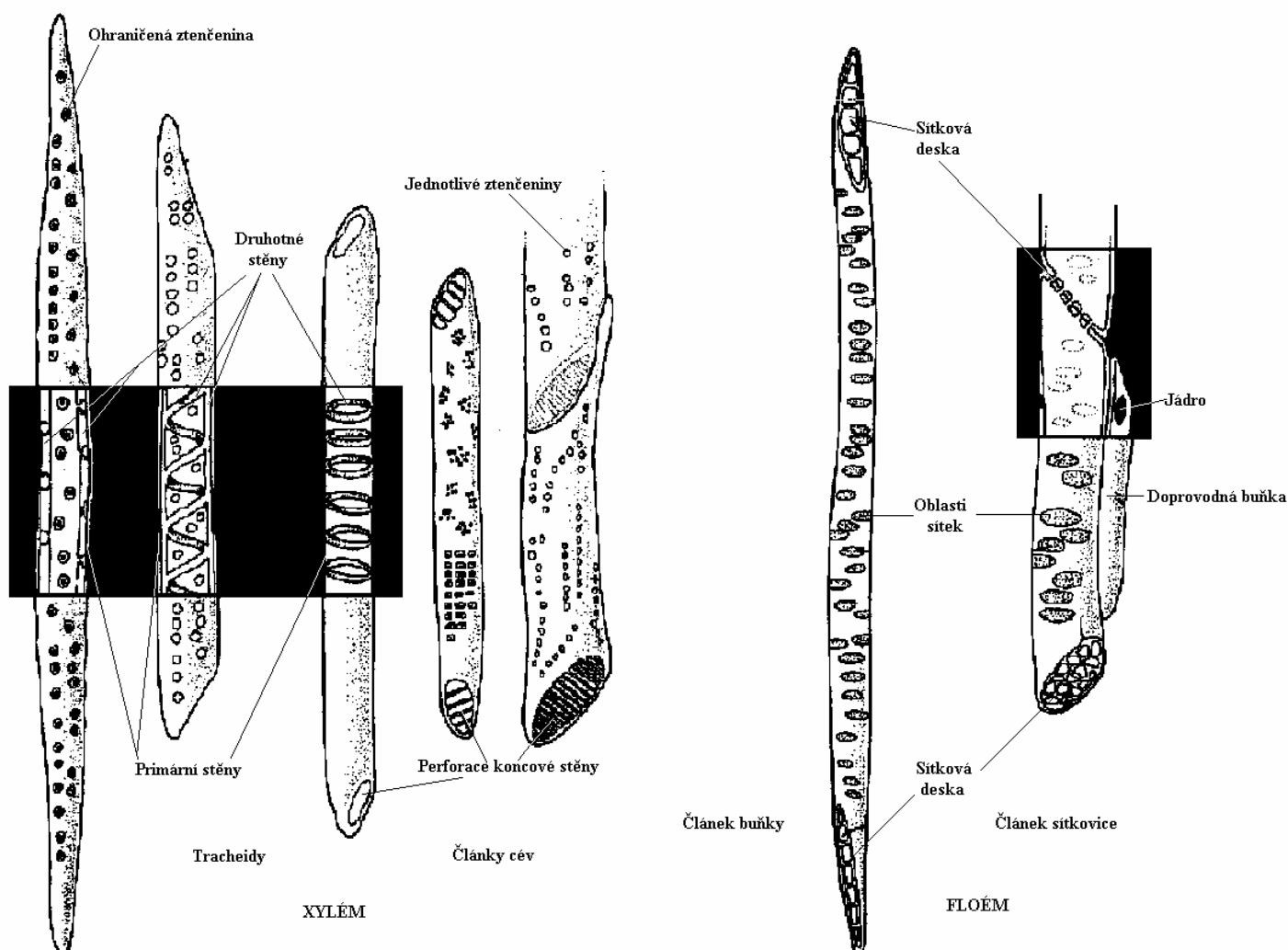
Ke svěřacím buňkám průduchů obou typů jsou připojeny charakteristické vedlejší buňky tvořící se svěřacími buňkami jeden celek a podílející se na pohybu průduchů. Průduchy nejsou vždy postaveny v jedné rovině s pokožkou. Obecně platí, že v sušším prostředí jsou umístěny pod úrovní povrchu pokožky, čímž se snižuje i pohyb vzduchu a odstraňování vodních par vycházejících při transpiraci z listu. Tím může i za méně příznivých podmínek probíhat fotosyntetická asimilace oxidu uhličitého a transpirační proud je omezen. Někdy jsou průduchy ponořeny tak hluboko, že nad nimi vzniká dutina, která se nazývá *vnější dutina dýchací*.

U rostlin rostoucích ve vlhkém prostředí jsou průduchy postaveny nad úroveň pokožky, takže vodní páry jsou odstraňovány i při mírném pohybu vzduchu.

Od pokožky nadzemních orgánů se liší *kořenová pokožka rhizodermis*. Rozdíl je především v tom, že **nemá kutikulu a průduchy**. Rhizodermis je *nejčastěji jednovrstevnatá*, výjimečně vícevrstevnatá. Speciální stavbu má rhizodermis u tzv. vzdušných kořenů. U tohoto typu kořenů je přeměněna v tzv. **velamen**, tvořený odumřelými zašpičatělými buňkami se stěnami vyztuženými šroubovitými lištami.

K systému krycích pletiv se počítají i tzv. **rostlinné chlupy** čili **rostlinné trichomy**. Počítají se k systému krycích pletiv proto, že se vytvářejí z buněk vyvíjejícího se protodermu. V protodermu se pak diferencují buňky zvané *trichoblasty*, které jsou základem trichomů. Z trichoblastů se trichomy utvoří buď přímo a pak jsou jednobuněčné, nebo naopak trichomy vznikají až po dělení trichoblastů, čímž vznikají vícebuněčné trichomy. Bez ohledu na to, zda jsou trichomy jednobuněčné, či vícebuněčné mohou být trichomy buď *jednoduché* nebo *větvené*. Přejídem mezi epidermálními buňkami a trichomy jsou tzv. **papily**, což jsou pokožkové buňky, jejichž vnější stěna se vysunuje nad úroveň pokožky.

Podle funkce se trichomy dělí na **krycí, žláznaté, žahavé a absorbční**. *Krycí trichomy* jsou zakončeny špičkami a jsou často tvořeny *odumřelými buňkami*. Chrání rostlinu před nadměrným zářením a snižují transpiraci. Pokud jsou tvrdé a husté mohou být ochranou proti býložravcům. Mohou být i inkrustovány kyselinou křemičitou nebo sloučeninami vápníku. *Žláznaté trichomy* jsou většinou zakončeny paličkou, někdy mívají i miskovitý tvar. Buňky paličky vylučují pod kutikulu sekret, který se po prasknutí kutikuly uvolní. *Žahavé trichomy* mají výlučně obranný charakter, jsou jednobuněčné a jejich konec je tupý a mírně ohnutý. V místě ohnutí je buněčná stěna silně inkrustována oxidem křemičitým. Při dotyku se tento konec snadno ulomí, ostré hrany poraní kůži a do ranky vnikne dráždivá látka. *Absorbční trichomy* získávají látky z vnějšího prostředí v tekutém stavu vstřebáním. Tyto vstřebávací trichomy jsou známé jako *vstřebávací vlásky* nebo *kořenové vlásenky*. Jsou to většinou jednobuněčné tenkostěnné trichomy, jimiž je v převážné míře získávána voda a živiny.



OBR. 3.2: VODIVÁ PLETIVA XYLÉMU A FLOÉMU

SYSTÉM PLETIV VODIVÝCH

Vodivá pletiva mají v rostlinách dvojí úkol. Za prvé rozvádět roztoky minerálních látek od kořene vzhůru do ostatních částí těla a dále vést energeticky bohaté asimiláty z fotosynteticky aktivních částí, případně z míst jejich nahromadění, do míst jejich spotřeby. První úkol, to jest vedení roztoků minerálních látek a vody z kořenů, zajišťuje *část dřevní* tzv. **xylem**. Druhou část, transport asimilátů mezi různými částmi rostlinného těla plní *část lýková*, **floem**. Xylem a floem tvoří souvislý vodivý systém procházející všemi částmi rostliny, to

znamená kořenem stonkem a listem. Obě části vodivého pletiva, xylem i floem, *obsahují základní vodivé dráhy*, kterými jsou vedeny roztoky v hlavním směru a dále buňky, které se *buď podílejí na vodivé funkci nebo mají funkci zpevňovací*. Z hlediska původu se rozlišují *primární a sekundární vodivá pletiva*.

Primární vodivá pletiva vznikají z *primárního meristému*. **Sekundární** vznikají z *buněk produkovaných kambiem*. Tedy z meristému vznikajícího jednak z buněk prokambia, jednak z dospělých parenchymatických buněk. Základní vodivé dráhy jsou **cévní elementy**. Jsou to primitivní **cévce** neboli **tracheidy** a dokonaleji specializované **články cévní** neboli **články tracheidní**. Obojí typ vodivých elementů je tvořen odumřelými buňkami, tedy fungují zde jen stěny těchto mrtvých buněk.

Tracheidy jsou dlouhé a úzké buňky dlátovitě zakončené s nerovnými konci. Jednotlivé tracheidy jsou vzájemně rovnoběžné. **Články cév** se vyznačují *perforacemi*, to je otvory, kterými jsou lumina sousedních článků spojena. *Perforovaná část stěny se nazývá perforovaná destička*. Tato destička může být složená, to znamená, že se může skládat z více perforací, nebo je naopak jednoduchá a obsahuje jen jednu jedinou perforaci. Se zvyšující se specializací jsou články cév kratší, jejich průměr je větší a šikmost koncové stěny s perforovanou destičkou se zmenšuje. Články cév jsou spojeny v řadách do trubicovitých útvarů zvaných **tracheje**.

Při diferenciaci buněk na cévní elementy degeneruje nejprve jádro buněk a poté odumírá celý protoplast. U článků cév se v omezené míře rozpouští i buněčná stěna a vzniká tak perforace. Stěna v určitých místech nerovnoměrně tloustne. Jestliže jsou neztloustlá místa na člancích cév nepravidelně uspořádána, pak mluvíme o *síťovitém uspořádání*. Jsou-li naopak uspořádána pravidelně, mluvíme o tzv. *schodovitém ztloustnutí*. Jestliže neztloustlé plochy převažují a ztloustlá místa jsou úzká tvoří se lištinovité ztlouštění, které vyztužují stěnu na vnitřní straně jako kroužky šroubovice a pak jde o tzv. *šroubovitě ztloustlé buněčné stěny*. Xylém rovněž obsahuje parenchymatické buňky tvořící tzv. **dřevní parenchym**. *Do tohoto dřevního parenchymu se ukládají především zásobní látky nebo třísloviny*. Dležitou součástí xylemu jsou rovněž **sklerenchymatická vlákna**, což jsou opět dlouhé buňky se sekundárními lignifikovanými stěnami. Jsou různě tlusté a obvykle tlustší než stěny tracheid.

Ve *floemu* jsou hlavními vodivými drahami **sítkové elementy**. Během jejich vývinu v nich degeneruje jádro, ale *protoplast zůstává zachován*, i když v pozměněné formě. Ve stěnách sítkovitých elementů jsou plošky proděravělé množstvím drobných otvorů, jimiž procházejí protoplazmatická vlákna. Tyto plošky se nazývají *sítková políčka* a mohou se sdružovat v *sítkové desky*. Podobně jako u cévních elementů existuje i u sítkových elementů různý stupeň specializace. Na nejnižším stupni jsou *sítkovité buňky*, což jsou jednotlivé sítkové elementy poměrně úzké a značně dlouhé. Specializovanějším typem jsou *články sítkovic*. Zde je možné pozorovat vývojový trend a to zkracující se délku a rostoucí průměr. Články sítkovic jsou uspořádány v řadách a nelze rozlišit části stěn jimiž jsou propojeny. U článků na vyšším stupni vývoje je v koncové části stěny jedna specializovaná sítková deska, kdežto v laterálních stěnách jsou sítková políčka řídká a primitivnější. Články sítkovic, které jsou uspořádány v řadě tvoří útvar, který se nazývá *sítkovice*. Otvory v sítkových políčkách jsou velice často lemovány *kaloza*, která nejprve povléká jejich stěnu, pak tloustne, přičemž provazce cytoplazmy se ztenčují až jsou zcela přerušeny a vnitřek otvorů je vyplněn kalózou. Současně se kaloza ukládá i na plochu sítkového políčka, až se vytvoří zátka. U některých dřevin se na jaře tato zátka rozpouští a sítkovice opět může fungovat další vegetační sezónu. Články sítkovic vznikají z mateřské buňky, která se podélně dělí. Z jedné dceřiné buňky vzniká článek sítkovice a z druhé tzv. *přívodní buňka*. Tato druhá dceřiná buňka se může ještě znova dělit a to buď podélně, či příčně, a proto jeden článek sítkovice může mít více

průvodních buněk. *Průvodní buňka* má vyvinuté buněčné jádro a hustou cytoplazmu. Její *protoplast je připojen ke článku sítkovice četnými plastodesmy*, což jsou propojující vlákna. Vzájemný vztah mezi článkem sítkovice a průvodní buňkou je zřetelný z toho, že při ukončení činnosti sítkového elementu odumírají i průvodní buňky, které k němu přiléhají. Kromě těchto buněk parenchymatického charakteru jsou ve floému další tenkostěnné buňky tzv. **lýkový parenchym**. Tento lýkový parenchym chybí u jednoděložných rostlin. Parenchymatické buňky často obsahují škrob. U částí floému jsou také sklerenchymatická vlákna, která jsou důležitou ochranou měkkých částí floému sítkových elementů. Ve floému lze často nalézt sklereidy, které se diferencují ve starších částech floému a mohou se také měnit tvarově.

Tvorba systému vodivých pletiv

*Primární vodivá pletiva základního meristému se diferencují postupně z prokambia. Nejprve se diferencují vodivé elementy, které jsou pod přímým vlivem okolních rostoucích pletiv. Vodivé elementy jsou vystaveny jak tlaku tak tahu vznikajícímu při růstu buněk a pletiv. Sítkové elementy jsou v důsledku toho rozmačkány, přičemž floemové primány úplně zaniknou či bývají stlačeny. Dochází k prodlužování cévních elementů, čímž se tyto zužují a bývají často zpřetrhány. Zpravidla jsou nejprve vytvářeny elementy s vystuženinami, které jsou natahovány tzn. se ztlouštěninami šroubovitými a kruhovitými. Tento nejdříve vytvořený xylém se označuje názvem **protoxylem** a nejdříve vytvořený floem se označuje jako **protofloem**.*

Později diferencované části xylemu a floemu se nazývají **metaxylem** a **metafloem**. Jejich vodivé elementy již nejsou vystaveny mechanickému tlaku okolního pletiva natolik, aby byly podstatně tvarově deformovány. *Během postupné diferenciaci primárního xylému a floému probíhá v ostatním prokambiu buněčné dělení ve všech směrech.* Posléze se však může dělení mezi oběma částmi usměrnit tak, že zbytek prokambia se mění v kambium, které produkuje sekundární xylém a sekundární floém neboli **deuteroxylem** a **deuterofloem**. V návaznosti na ty části kambia, které vznikly z prokambia, se diferencuje kambium i z buněk parenchymatických, které obnovily svou dělivou aktivitu.

Kambium se vytváří v podobě souvislého prstence. Vezmeme-li v úvahu původ těchto částí kambia, pak lze říci, že toto *dělivé pletivo vzniká částečně primárně a částečně sekundárně*. Část mezi xylemem a floemem je označována jako **kambium fascikulární** a vzniká primárně, kdežto část mezi pruhy vodivých pletiv se označuje jako **kambium interfascikulární** a vzniká sekundárně. Pletiva produkovaná kambiem se však označují jako pletiva sekundární, bez ohledu na to, z které části kambia vznikly. Sledujeme-li pouze vodivá pletiva tvořící se z prokambia, lze diferenciaci vyjádřit následujícím schématem:

Z prokambia vzniká kambium mateřské buňky floemu a dále mateřské buňky xylemu. Z těchto mateřských buněk se utváří metafloem a metaxylem a následně protofloem, protoxylem. Z protofloemu vzniká primární floem, z metafloemu a mateřských buněk vzniká sekundární floem, z metaxylemu a mateřských buněk vzniká sekundární xylem a z protoxylemu vzniká primární xylem.

Obě části vodivých pletiv, xylem a floem, probíhají paralelně a v různé vzájemné poloze. Jestliže vodivá pletiva probíhají v provazcích a netvoří souvislý dutý válec, rozlišujeme čtyři typy uspořádání vodivých pletiv:

1. Uspořádání **kolaterální**, kdy floem vybíhá na jedné straně xylému.

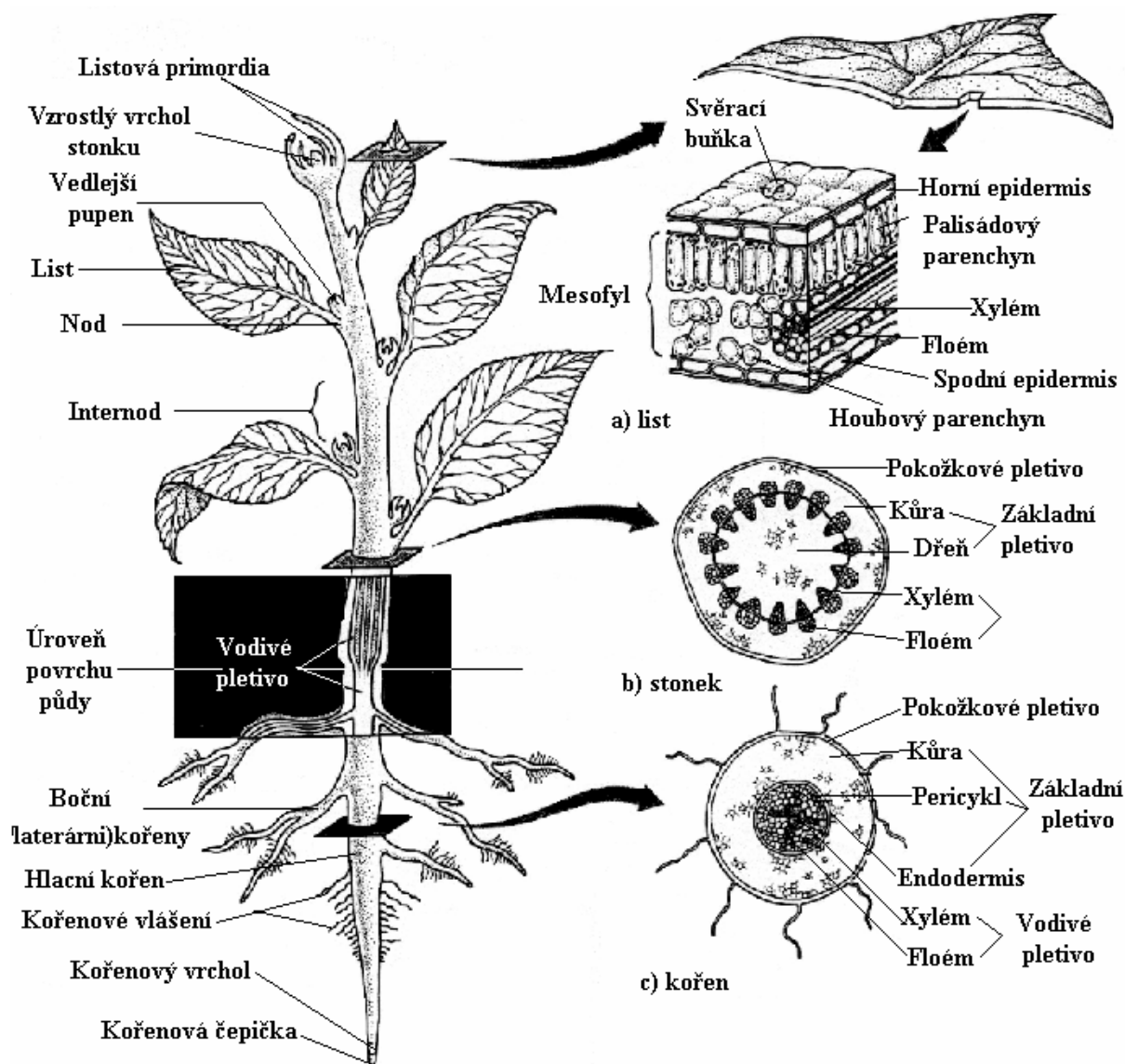
2. Uspořádání **bikolaterální**, kdy floem probíhá na dvou stranách xylému. Toto uspořádání bývá časté jen ve stonku a mluvíme o floému vnějším, který je umístěn jako při uspořádání kolaterální, a floému vnitřním, který je na vnitřní straně xylému.
3. Uspořádání **koncentrické**, kdy jedna část obklopuje druhou. Jde o izolované provazce, tedy o svazky cévní. Jestliže je floem obklopen xylémem, nazývá se svazek cévní *leptocentrický*, je-li naopak xylem obklopen floémem, nazývá se takový svazek *handrocentrický*.
4. Uspořádání v **radiální svazek**. Toto uspořádání se vyskytuje pouze v kořenech. Pruhy xylému a floému se střídají radiálně vzhledem k ose orgánu a jsou odděleny nevodivým pletivem.

SYSTÉM PLETIV ZÁKLADNÍCH

Systém základních pletiv zahrnuje pletiva, která vyplňují prostory mezi pletivy vodivými a krycími. Převážně je systém základních pletiv reprezentován parenchymem, ale tvoří ho i sklerenchym a kolenchym. Tato pletiva jsou různě rozložena, případně i modifikována, podle toho, ve kterém orgánu jsou uložena a jakou mají funkci. Jiná je stavba fotosyntetizujícího parenchymu, jiná je stavba parenchymu zásobního nebo parenchymu, který slouží jako vodní pletivo. Distribuce a druh mechanických pletiv *sklerenchymu a kolenchymu* je dán tím, zda slouží ke zpevnění části rostliny, které se pružně ohýbají, nebo zda chrání před mechanickým poškozením. V souvislosti se základními pletivy je třeba upozornit na struktury, které se vyskytují i v pletivech vodivých, a které se označují termínem **mléčnice**. Jsou to parenchymetické buňky, nebo soubory těchto buněk obsahující viskózní tekutinu zvanou *latex*. Jedná se o suspenzi látek, jejíž chemické složení je různé podle druhu rostliny. Latex jako buněčná šťáva obsahuje organické kyseliny i cukry. *Funkce latexu není jednoznačně známa*. Předpokládá se, že latex shromažďuje zásobní látky. Mléčnice se dělí na *článkované* a *nečlánkované* a oboje mohou být *větvené* či *jednoduché*.

ANATOMICKÁ STAVBA ROSTLINNÝCH ORGÁNŮ

Rostlinné tělo se obecně skládá ze tří základních částí: **kořene, stonku a listu**. Konkrétní stavba pletiv a jejich systémů, stejně tak jako jejich distribuce v těchto částech rostlinného těla, je různá a lze ji poznat jedině studiem stavby jednotlivých orgánů. Rostlinné orgány přitom mají řadu společných vlastností, nebo alespoň vlastností podobných. Jestliže se u embrya používá termínu morfologická osa pro jednotnou anatomickou stavbu embryonálního stonku a kořene, dá se říci, že i u dospělé rostliny lze stavbu těchto dvou orgánů srovnávat. U stonku a listu je stavba odlišná, ale vodivá pletiva se v nich vyvíjejí ve vzájemné souvislosti.



OBR. 3.3: STAVBA ROSTLINNÉHO TĚLA

STONEK

Základní schéma primární stavby stonku je více méně obecné. U rostlin dvouděložných a u podzemních orgánů je poněkud modifikované. Povrch stonku je kryt pokožkou, pod níž je vícevrstevná primární kůra *protoderm*, jejíž poslední vnitřní vrstva tvoří *pochvu*. Vnitřní část stonku obklopenou pochvou nazýváme *střední válec*, čili **centrální cylindr**. V něm probíhají vodivá pletiva ve tvaru dutého válce. *Provazce vodivých pletiv* se nazývají *cévní svazky*. Pletiva mezi vodivými pletivy a primární kůrou tvoří tzv. **pericykl**. Uvnitř středního válce je vodivými pletivy obklopena **dřeň**.

Primární stavba stonku

Pokožka stonku je *jednovrstevná* a v zásadě odpovídá tomu, co bylo řečeno dříve o systému krycích pletiv. Obsahuje méně průduchů než pokožka listu. Na pokožce stonku jsou velice často trichomy různého tvaru a funkce. *Pokožka stonku je kryta kutikulou* a vnější stěny jsou kutilizované. Buňky epidermis jsou živé a schopné dělení. To je důležité pro tloustnutí stonku. *Primární kůra stonku je tvořena parenchymem*, jehož buňky alespoň v periferních částech obsahují *leukoplasty*. Někdy je kůra v těchto povrchových částech tvořena kolenchymem, který probíhá v kruzích a tvoří více či méně souvislou vrstvu. U stonku s redukovanými listy může stonek přejímat funkci listů. Primární kůra je pak této činnosti přizpůsobena svojí stavbou. Pod pokožkou má pletivo primární kůry charakter *palisádového parenchymu* a v *hlubších vrstvách parenchymu houbovitého*. U vodních rostlin bývají v primární kůře velké mezibuněčné prostory. Primární kůra je od středního válce oddělena *pochvou*. Ta je tvořena *jednou vrstvou buněk, která je považována za poslední vrstvu kůry*. Ve stoncích vyšších dvouděložných rostlin, nebo alespoň v jejich mladším stádiu, je tato pochva tvořena tenkostěnnými buňkami, které jsou *naplněny škrobovými zrny*. Proto se označuje jako **škrobová pochva**. U některých typicky bylinných typů stonku pochva netvoří souvislou vrstvu, ale je přerušována a buňky obsahující škrob jsou lokalizovány jen vně svazků cévních. Ve stoncích nižších cévnatých rostlin i některých semenných rostlin se pochva tvořící posloupnost kůry nazývá **endodermis**. Běžně se nachází ve struktuře kořenu. Je to kompaktní vrstva buněk se speciální stavbou na radiálních stěnách. Jedná se o ztlustěliny ve tvaru pásky, které vedle celulózy obsahují lignin a suberin. Nazývají se podle svého objevitele **Caspariho kroužky**. U některých rostlin se vyskytují Caspariho kroužky častěji ve stonku, u některých hlavně v kořenu. Během dospívání mohou buňky endodermis prodělávat různé změny, jejichž podstatou je přikládání suberových lamel na vnitřní stranu buněčných stěn. Následuje přikládání dalších sekundárních vrstev celulózy, které mohou obsahovat **lignin**. Takto tloustnou radiální stěny, kdežto vnější stěny zůstávají tenké. **Pericykl** je pletivo mezi vodivými pletivy a kůrou. U mladých stonků je zpravidla tvořen parenchymem, ale u starších stonků může být víc prostoupen *sklerenchymatickými pruhy*, nebo může tvořit *souvislý sklerenchymatický plášť*. Vodivá pletiva tvoří ve stonku mezi primární kůrou a dřením *dutý válec*. Vodivá pletiva jsou v tomto válci přerušena *radiálně uspořádanými nevodivými pletivy*. Tyto interfascikulární partie se nazývají *dřeňové paprsky*. Někdy jsou velice úzké, tvořené třeba jen jednou vrstvou buněk, jindy jsou naopak značně široké, takže vodivá pletiva jsou soustředěna do izolovaných provazců cévních svazků.

Vodivá pletiva se diferencují z *prokambia*. Z buněk prokambia se začínají postupně diferencovat elementy systému vodivých pletiv. Posuzujeme-li diferenciaci v *horizontálním směru*, pak první součásti floemu se začnou diferencovat na vnější a xylemu na vnitřní straně prokambialiálního provazce. Postup další diferenciaci floemu je *centripetální*, což znamená, že se postupně objevují další elementy, stále blíže k centru stonku. Xylem se diferencuje v opačném směru, *centrifugálně*. Tzn., že na vnějším okraji prokambia a budoucích cévních svazků se tvoří protofloem, na vnitřním protoxylem. Zatímco u dvouděložných rostlin probíhají vodivá pletiva přibližně ve stejné vzdálenosti od povrchu stonku, u jednoděložných rostlin je situace jiná. Zde procházejí svazky celým objemem stonku, což je způsobeno například tím, že *svazky směřují od periferie do centrální části stonku a pak se stáčí do listu*. Každý svazek je tedy v podstatě listovou stopou. Na příčném řezu jsou svazky u dvouděložných rostlin uspořádány v kruhu, u jednoděložných jsou na ploše řezu roztroušené. Střední část stonku dvouděložných rostlin zaujímá zřetelně diferencovaná dřeň. Dřeň je obvykle *parenchymatická*, její buňky jsou živé a ukládají se v nich zásobní nebo jiné látky. Některé buňky dřeň odumírají a obsahují vzduch. Dřeň bývá u některých pletiv roztrhána a uvnitř stonku tak vznikají **rexigenní dutiny**.

KOŘEN

Základní schéma stavby kořene je podobné jako u stonku. *Rhizodermis*, kořenová pokožka, plní funkci *absorbčního pletiva*, čímž se liší od pokožky stonku. Obsahuje **kořenové vlásky**, které se vyvíjejí z epidermálních buněk. Kořenový vlasek vzniká tak, že se vychlípne vnější stěna epidermální buňky a vyrůstá v trubicovitý útvar. Kořenové vlásky se vyvíjejí za vrcholem kořene v úrovni kam dospívá xylem. Kořenové vlásky podstatně zvětšují *absorpční povrch* kořene. Plní významnou úlohu při čerpání vody a minerálních látek z půdy. Absorbční funkce však není omezena pouze na kořenové vlásky. Kořenové vlásky po určité době své funkce odumírají a jejich úlohu přebírají stále se tvořící nové kořenové vlásky. Kořenová pokožka ve starších částech kořene často odumírá, ale jsou případy, kdy přetrvává delší dobu. V souvislosti s délkou přežívání může být kořenová pokožka pokryta kutikulou, případně může její vnější stěny tloustnou. Kůra kořene je u dvouděložných rostlin a nahosemenných rostlin složena z parenchymatických buněk. U některých dvouděložných rostlin, u nichž je primární kůra stálá, obsahuje sklerenchym, případně kolenchym. *Kůra kořene* je obvykle mohutnější než kůra stonku, a proto má také významnější úlohu než pouze zásobního pletiva. U některých rostlin je pod epidermis speciální vrstva zvaná **exodermis**. Exodermis je nejzadnější část primární kůry tvořená jednou nebo více vrstvami specializovaných buněk, jejichž struktura připomíná epidermis. Je tvořena těsně k sobě přiléhajícími buňkami, které mají Caspariho kroužky, ale většinou jsou jeho původně celulózní stěny impregnovány ligninem a na ně se z vnitřní strany přikládají suberinové vrstvy, které jsou nakonec opět překryty celulózou. V exodermis bývají mezi buňkami, které jsou vzhledem k suberizaci méně propustné pro vodu, umístěny buňky tenkostěnné se stěnou celulózní tzv. *buňky propustné*. Buňky exodermis mnohdy obsahují živé protoplasty a to i v době dospělosti. Po odumření a oddělení se rhizodermis, se exodermis stává povrchovou ochranou kořene. Vlastní primární kůra kořene je tvořena převážně parenchymem. Někdy se ale mohou na jejich periferiích vyskytovat sklerenchym nebo kolenchym. Charakteristický pro primární kůru je výskyt intercelulár. Parenchymatické buňky primární kůry nikdy, neobsahují chloroplasty. Častá však je přítomnost škrobu.

Poslední vrstvou primární kůry kořene je **endodermis**. Až na několik výjimek je vyvinuta v kořenech všech cévnatých rostlin. Endodermis je nejčastěji jednovrstevná. Střední válec kořene tvoření vodivá pletiva. Obvod středního válce je tvořen nevodivým pletivem, pericyklem. Ten někdy bývá řazen k vodivým pletivům, neboť vzniká ze stejné části apikálního meristému. Xylem má často tvar souvislého plného válce s žebrovitými výběžky radiálně směřujícími k pericyklu. Mezi jsou pruhy floemu. Jestliže ze střední části kořene nediferencuje xylem, je dřev složena z parenchymu nebo ze sklerenchymu. Ta v xylemu tvoří žebra, nebo izolované pruhy, což se na příčném řezu jeví jako *síto*. Vodivá pletiva kořene se považují za jediný radiální cévní svazek. Podle počtu žebor se označuje jako **diarchní**, **triarchní** nebo i **polyarchní**. Počet xylemových částí je u některých druhů rostlin konstantní.

Speciální strukturou *charakteristickou jen pro kořen* je **kořenová čepička**, tzv. **kalyptra**. *Kalyptra chrání meristém a umožňuje bezpečnější pronikání kořenové špičky do půdy během růstu*. Její buňky jsou živé a *obsahují škrob*, který vlivem zemské tíže klesá do spodní části buňky. Škrob kalyptry byl označen názvem *gravitační škrob*, protože je příčinou geotropické taxy kořenu. Periferní buňky čepičky slizovají a oddělují se, ale objem čepičky se nemění, protože ztracené buňky jsou ihned doplňovány novými.

Postranní nebo-li laterální kořeny se zakládají endogenně v pericyklu. Primordium buněk kořene roste, proráží primární kůru kořene a proniká nad jeho povrch. Laterální kořeny se záhy diferencují na elementy xylemu a floemu a napojují se na ekvivalentní elementy kořene.

LIST

Třebaže list svým vývinem úzce souvisí se stonkem, jeho základní stavební organizace v dospělém stavu se od stonku liší. *Povrch listu je kryt pokožkou, uvnitř probíhají vodivá pletiva a ostatní prostor je kryt základním pletivem, které se nazývá mezofyl.* Epidermis je většinou jednovrstevná a platí o ní to, co bylo řečeno dříve. Epidermální buňky jsou zpravidla stejné po celé ploše listu, kromě míst nad cévními svazky, kde jsou buňky protáhlé do směru cévních svazků. V určité míře se mohou rovněž lišit epidermální buňky svrchní epidermis od buněk spodní strany listu. Specializované buňky epidermis vytvářejí *trichomové útvary* různé velikosti, tvaru a funkce. Mezi epidermálními buňkami jsou *průduchy*. Obvykle je jejich hustota na svrchní a spodní straně odlišná. U dřevin na svrchní pokožce průduchy většinou nejsou. U dlouhých listů se souběžnou žilnatinou jsou průduchy uspořádány v řadách a jsou rovnoběžné s žilnatinou. Vedle průduchů mohou být v pokožce některých rostlin tzv. **hydatody**. Jsou podobné průduchům, ale nemají schopnost uzavírat štěrbinu. Vylučují vodu v kapalném stavu. Pod pokožkou se může, tak jako u stonků a kořenů, vytvářet **hypodermis**, která podporuje epidermis v její funkci. Někdy jsou její buňky tak podobné epidermálním, že u dospělých listů nelze tyto dvě struktury od sebe rozeznat. U některých rostlin zase hypodermis funguje jako vodní pletivo. U tvrdých listů je hypodermis tvořena sklerenchymatickým pletivem. *Hypodermis*, pokud je vyvinutá, je součástí mezofylu, který je nejčastěji rozdělen do vrstev. Parenchym se dělí na *palisádový* a *houbovitý*.

Palisádový parenchym je složen z protáhlých buněk, jejichž délka je větší než jejich šířka. Délkou jsou postaveny přímo k povrchu listu. Ačkoli se mezofylové pletivo zdá být kompaktní, vytváří se v něm řada mezibuněčných prostorů. V listech různých druhů rostlin může být jedna i více vrstev palisád. Kromě toho nemusí být jejich počet stálý. Často bývá ovlivněn vnějšími činiteli, především světlem. Je-li palisádových vrstev více, je objem intercelulár v zevní vrstvě menší. Naopak ve vnitřních vrstvách se zvětšuje. To je způsobeno i tím, že ve vnější vrstvě jsou buňky uspořádány pravidelně, kdežto ve vnitřních vrstvách listu již jejich postavení tak pravidelné není. V některých listech jsou palisádové buňky krátké a rovněž celkový charakter tohoto pletiva se příliš neliší od ostatního mezofylu. Tak tomu bývá zvláště u stínobytných rostlin a jehličnanů. U rostlin rostoucích v mírných podmínkách s dostatečnou zásobou vody je palisádový parenchym obvykle lokalizován u svrchní strany listové čepele. Takový list se nazývá **bifaciální**. Rostliny s palisádovým parenchymem na obou stranách listu se nazývají **izolaterální**. Často to bývají rostliny suchých stanovišť. Někdy se jako zvláštní typ uvádí list **monofaciální**, u něhož ani mikroskopicky nelze určit svrchní a spodní stranu.

Houbovitý parenchym je tvořen buňkami různého tvaru, od oválného až po laločnatý. Tyto buňky se svými povrchy vzájemně dotýkají, ovšem styčná plocha je vzhledem k celkovému povrchu buňky nepatrná. Houbovitý parenchym má tedy charakter trojrozměrné sítě s velkými mezibuněčnými prostory.

Někdy mají buňky, které sousedí s palisádami nalévkovitý tvar a nazývají se *sběrné buňky*. Volná struktura mezofylu způsobuje, že převážná část jeho buněk se stýká s mezibuněčnými prostory. To je zvláště důležité pro fotosyntézu, protože jen tak je možno zajistit příjem oxidu uhličitého vlhkými buněčnými stěnami a tím dostatečné zásobování chloroplastů. Tento vnitřní povrch listu je mnohonásobně vyšší než jeho povrch, kterým se list stýká s vnější atmosférou. Palisádový parenchym má při fotosyntéze prvořadou úlohu

vzhledem k tomu, že je dostatečně osvětlen a má vnitřní volný povrch větší než parenchym houbovité.

Vodivý systém listu je tvořen **cévními svazky**, které vstupují do listu, probíhají řapíkem a větví se v čepeli. Cévní svazky v listu se nazývají **žilky** a jejich systém **žilnatiny**. Již pouhým okem lze rozeznat **žilnatinu síťnatou** a **souběžnou**. Síťnatá žilnatina může být charakterizována jako větvcí systém. Síťnatá žilnatina je nejběžnější u dvouděložných rostlin a naopak paralelní žilnatina je častější u jednoděložných rostlin. Cévní svazky listů si zachovávají svou orientaci xylemu a floemu takovou, jakou ji měli ve stonku. Tzn., že u rostlin s kolaterálním uspořádáním jednotlivých pletiv je xylem orientován do vnitřní části stonku a floem na jeho periférie. Stejná orientace je zachována i v listových stopách, při přechodu do řapíku a dále v listové čepeli, takže xylem je na straně svrchní a floem na straně spodní. Cévní svazky v mezofylu jsou zastoupeny jednou nebo více vrstvami, které tvoří pochvu cévních svazků. Pochvy provázejí cévní svazky do jednotlivých konců, takže žádná část cévního svazku není vystavena vzduchu, který je v intercelulárách. Pochvy cévních svazků mohou být tvořeny různým typem buněk a mohou být jednovrstevné nebo vícevrstevné. Největší zájem vyvolaly parenchymatické pochvy. Ukázalo se totiž, že u některých rostlin existují parenchymatické buňky pochev cévních svazků s chloroplasty, v nichž je lokalizován škrob, kdežto ve vlastním mezofylu se chloroplasty nachází jen v omezené míře. U těchto rostlin byl také objeven odlišný průběh fotosyntézy, který je označován jako **C4 cyklus**. Tento typ pochvy, označovaný někdy jako *chlorofylová pochva*, souvisí často se *zvláštním uspořádáním mezofylu*. Kolem cévních svazků jsou poševní buňky s chlorofyly podlouhlé a uspořádány tak, že svou délkou směřují k cévnímu svazku. Proto byl tento typ označen jako **věncovitý typ pochvy cévních svazků**. U mnohých rostlin jsou cévní svazky spojeny s epidermis, takže připomínají buňky poševní. Tato spojení se nazývají *extenze pochev cévních svazků*.

DRUHOTNÁ STAVBA ROSTLINNÉHO TĚLA

Ve stonku a kořenu i v jiných částech rostlinného těla nestačí často jen růst do délky. *Pletiva* produkovaná vrcholovými meristémy mohou zaručit pouze prodlužování některých částí rostlin. Rostliny však rostou i do šířky, takže tlousnou a to dvojím způsobem. Buď *zvětšováním objemu buněk*, nebo *vytvářením nových sekundárních pletiv*, které se přikládají k pletivům primárním. Jde především o produkci nových vodivých pletiv, která by měla sloužit zvětšujícímu se stonku. Tyto vodivé dráhy pak přivádějí větší množství minerálních roztoků vody, což je důležité, pomyslíme-li na množství listů, jejichž celková plocha se zvětšuje s postupným růstem a dospíváním rostliny. Zvětšuje-li se průměr stonku, který pak může zajišťovat pevné postavení prýtu, znamená to, že roste tak, že se jednak prodlužuje a jednak nabývá větších rozměrů i do šířky. Se zvětšováním objemu stonku se napínají jeho povrchové části až praskají a krycí pletiva na povrchu pak nemohou dále sloužit své funkci. *Současně se zvětšováním objemu pletiv se vytvářejí nová sekundární krycí pletiva*.

U dřevin našich klimatických podmínek se *činnost kambia řídí ročním obdobím*. Kambium zastavuje svou aktivitu v létě nebo na podzim. Po období klidu, které trvá celou zimu, se produkce opět obnoví v následujícím jaře.

Pro zopakování, kambium vzniká jednak z prokambia mezi floemem a xylemem, anebo je zdrojem kambia parenchym dřeňových paprsků. Celkově se však udržuje celkový stálý poměr mezi kambiem fascikulárním a kambiem tvořeným interfascikulárními zdroji. Je tedy zřejmé, že se vzrůstajícím obvodem kambia musí přibývat i dřeňových paprsků.

Kambium produkuje buňky diploericky, to znamená, že kromě deuterxylemu produkuje i deuterfloem. Periodicita formy floemu není tak výrazná jako u xylemu, protože rozdíly v jarních a pozdních elementech nejsou rozlišitelné. Obecně je floem produkován déle než xylem a to až do opadu listu. Někdy se střídá produkce vodivých částí floemu tvořených ze sítkovic, průvodních buněk parenchymu a sklerenchymatických druhů. To však s letokruhy nemá nic společného.

Jednoděložné rostliny druhotně netloustnou, existují ale výjimky, kdy se založí mezi kůrou sklerenchym vodivého pletiva podobné kambiu, které však funguje *monopleuricky* tzn., že produkuje buňky pouze dovnitř stonku. Z oddělených buněk produkovanými týmiž iniciály se diferencují jak buňky xylemu, tak buňky floemu, základní pletiva a vznikají nové izolované, uzavřené cévní svazky.

Druhotně vytvořený xylem je u různých dřevin anatomicky tak rozdílný, že podle anatomické stavby deuterxylemu lze dotyčný druh identifikovat. Především lze dotyčné druhy rozeznat podle zastoupení *dřeňových paprsků*. Ty můžeme posuzovat podle toho, z kolika řad buněk jsou složeny, zda-li jsou tyto řady nad sebou, nebo vedle sebe a zdali je ve dřevě jeden nebo více dřeňových paprsků. *Důležitým znakem jsou cévy*. Mají velký průměr a liší se jasně od ostatních xylemových buněk. *Podle uspořádání trachejí rozlišujeme dřevo kruhovitě pórovité*, jako je tomu u jasanu. Jestliže jsou tracheje *roztroušeny stejnoměrně* tzn., že se diferencují během celé periody aktivity kambia, mluvíme o *dřevě roztroušeně porovitém*, jako je to u olše, břízy a lípy. *Jsou-li tracheje uspořádány na příčném řezu do radiálních zprohýbaných řad, nazýváme takové dřevo plamenité*. Tracheje také mohou chybět. Cévy nefungují během celého života rostliny, ale po různě dlouhé době průměrně 3, 7 nebo 10 let mohou zarůst tlakovými výrůstky okolních buněk, které pronikají do cév v neztloustlých místech, kde se rozpouští buněčná stěna. Cévy se pak jeví jako ucpané parenchymem.

Důležitou složkou deuterxylemu je parenchym. Je tvořen tenkostěnnými tečkovanými buňkami se živými protoplasty. Na zimu se do těchto buněk ukládají zásobní látky. Odumřelá část deuterxylemu bývá obvykle tmavěji zbarvena než část fungující. Odumřelá část se nazývá *jádro*, kdežto živá dřeň se nazývá *běl*. V deuterfloemu jsou vedle již dříve zmíněných elementů důležitá i *sklerenchymatická vlákna*, označovaná též jako *tvrdé lýko*. Mohou se nacházet ve floemu ve vrstvičkách, čímž se měkké lýko míchá s tvrdým. *Sítkovice lýka fungují poměrně krátce - jeden nebo dva roky*. Vrstva druhotného lýka je oproti vrstvě druhotného dřeva velmi tenká. Je to dáno tím, že jednak kambium produkuje více buněk xylemových a floemových, a jednak sítkovice lýka, které přestanou fungovat, jsou rozmačkány a mizí.

Druhotné tloustnutí probíhá nejen ve stonku, ale i v kořenech. Kambium se zde zakládá v celém svém průběhu jako sekundární *meristém*. Nacházíme jej u bylinných forem. Kambium v radiálním cévním svazku kořenů probíhá na vnější straně xylemu a na vnitřní straně floemu, takže na příčném řezu se jeví průběh kambia jakoby vlnitý, hvězdovitý.

Kambium začíná produkovat buňky xylemu na vnitřní straně floemu. Na vnější straně xylemu je jeho činnost na začátku slabá a produkuje jen parenchymatické buňky, takže v tomto místě vzniká *dřeňový paprsek*. Silná produkce deuterxylemu mezi pruhy primárního xylemu na vnitřní straně floemu způsobuje, že kambium postupně nabývá tvar dutého válce, tak jako u stonku, jeho produkce se vyrovnává a probíhá jako v nadzemní části rostliny. V důsledku druhotného tloustnutí praská a odlupuje se pokožka kořene a její funkci přejímají sekundární krycí pletiva. Tvorba těchto pletiv však nemusí být vázána na deuterxylem jako je tomu u bylin, ale může začínat později. *Komplex druhotných pletiv se nazývá periderm, čili druhotná kůra*. Vzniká činností *sekundárního vodivého pletiva* tzv. **felogenu**. Ten se zakládá často pod pokožkovou vrstvou buněk primární kůry. Vedle felogenu, který se vytváří

na obvodu stonku je důležitý také *felogen*, který se tvoří jen při hojení ran. Po poranění se v činnosti kambia obnoví dělivé aktivity. Z parenchymatických buněk se v okolí rány začne vytvářet parenchym, který tvoří polštářkovitý útvar zvaný **kalus**. Kalus je tvořen parenchymatickými buňkami, které jsou nediferencované. Na povrchu kalusu může dojít k suberinizaci buněk, nebo se diferencuje felogen a vzniká druhotná kůra. U velkých ran se vzrůstajícím parenchymem diferencuje kambium, které produkuje vodivá pletiva.

4. FYZIKÁLNĚ-CHEMICKÉ ZÁKLADY ROSTLINNÉ FYZIOLOGIE

Všechny životní procesy, tedy i fyziologické děje, jsou spojeny s energetickým stavem. Proto jsou právě ve fyziologii energetické úvahy extrémně důležité.

Energie, tedy schopnost konat práci, má v anorganickém světě velice rozmanité formy např.: *mechanická energie, světelná energie, elektrická a tepelná energie*. S rozmanitými formami energie se ale můžeme setkat i ve světě organickém. Je tedy možné i pro tento svět aplikovat některé principy původně odvozené ve světě anorganickém, zvláště pak mechanice. *Tato podobnost umožňuje aplikaci základních zákonů formulovaných termodynamikou.*

TERMODYNAMIKA

Termodynamika se zabývá fyzikálně chemickým zpracováním chemických reakcí a fyzikálních přeměn. Původně se tato disciplína zabývala pouze přeměnou tepla na práci a z toho také pochází její název (řec.: *therme*, teplo; *dynamus*, síla). Obecně lze termodynamiku definovat jako obor pojednávající o změnách a přeměnách jednoho druhu energie na druhý, o směru průběhu fyzikálních a chemických procesů a o rovnováhách, ke kterým při nich dochází.

Termodynamika má nepostradatelnou funkci pro biologické vědy, neboť organismy jsou funkční živé systémy využívající energii uloženou v molekulách živin, či zachycenou sluneční energii, pro výstavbu a údržbu svých komponent a pro zajištění svých fyziologických funkcí. Pohled na biologické děje z hlediska energetiky je nedílnou součástí studia fyziologických jevů na všech úrovních. Termodynamika je základem *biotermodynamiky* - hraničního oboru studujícího směr a energetické požadavky biologických reakcí. Formální aparát termodynamiky se zdá být abstraktní a vzdálený realitě, ale termodynamika přímo vychází ze skutečnosti a ze zákonů, které byly získány pozorováním a nelze je matematicky doložit. Termodynamika pracuje s veličinami, které mají více či méně přímý fyzikální význam.

Charakter současné termodynamiky:

- 1/ je založena na dvou základních větách, které mají axiomatický charakter, nelze je tedy ani vyvrátit, ani dokázat.
- 2/ v zásadě postupuje tak, že jednotlivé veličiny, s kterými pracuje, definuje pro idealizované děje, jichž se účastní idealizované látky. Proto může používat pouze omezený počet velice jednoduchých a přehledných vztahů.
- 3/ je vědou popisnou, t.j. popisuje řadu vlastností, vyjadřuje vztahy mezi nimi, ale nevykládá příčiny těchto výsledků. Čas se v klasické termodynamice neuvažuje.
- 4/ termodynamické vztahy jsou použitelné jen pro systémy obsahující dostatečně velký počet částic.

ZÁKLADNÍ POJMY

Základem všech úvah termodynamiky je systém a jeho okolí. Interakce systému s okolím jsou různé a podle toho definujeme tyto systémy:

systémy izolované - bez interakce s okolím,

systémy uzavřené - s okolím si vyměňují pouze energii,
systémy otevřené - vyměňují si s okolím hmotu a energii.

Další dělení systémů je na *systémy homogenní* a *heterogenní*.

Stav systému je dán uspořádáním systému v daném okamžiku. Stav systému je charakterizován veličinami, které se nazývají **základní stavové veličiny**. Jsou to *tlak* (p), *teplota* (T), *objem* (V), *hustota* (ρ) a *látkové množství* (n). Tyto veličiny jsou mezi sebou vázány. Tato vzájemná vazba je graficky vzjádřena tzv. *stavovým diagramem* nebo matematickou formulací, tzv. *soustavu stavových rovnic*.

Buňka je živý otevřený systém, ve kterém stále probíhá výměna energie a látek s okolím. Za jistých okolností je tento příjem a výdej stejně velký. Tento stav se nazývá **stav dynamické rovnováhy**.

PRVNÍ VĚTA TERMODYNAMICKÁ

První věta termodynamická je vyjádřením principu zachování energie u dějů, které jsou provázeny uvolněním, pohlcením nebo přeměnou tepla. První věta termodynamická má celou řadu slovních vyjádření, jako např.:

Součet všech druhů energie v uzavřeném systému se nemění, ať uvnitř systému probíhají jakékoliv procesy.

Energii nelze z ničeho vyrobit, ani ji nelze zničit je možné pouze převádět jednu formu energie v jinou.

Dojde-li ke ztrátě určitého množství nějaké energie, musí se objevit ekvivalentní množství energie jinde.

Změnu vnitřní energie systému při přechodu z výchozího stavu A do koncového stavu B

$$\Delta U = U_B - U_A,$$

můžeme vyjádřit jako součet množství tepla Q a práce W přijatých systémem z okolí při tomto přechodu.

Tedy:

$$\Delta U = Q + W.$$

Ke změně vnitřní energie může docházet pouze interakcí s okolím (v dokonale izolovaných systémech zůstává vnitřní energie konstantní), a to buď v důsledku do systému dodaného tepla ($+Q$) či systémem vydaného tepla ($-Q$), nebo v důsledku nějaké formy práce systémem vykonané na okolí ($-W$), či okolím vykonané na systém ($+W$).

Kladná změna vnitřní energie udává, co soustava přechodem ze stavu A do stavu B získala, ať již ve formě tepla nebo mechanické práce.

Podstata první věty termodynamické tedy je:

A/ *definuje nový pojem vnitřní energie pomocí dvou přímo měřitelných veličin - tepla a práce,*

B/ *udává, že takto definovaná vnitřní energie je stavová veličina, tj. závisí pouze na stavu systému a ne na jeho předchozí historii.*

ENTALPIE

U chemických soustav bude zpravidla jedinou silou působící na systém vnější tlak. Přemáháním této síly koná soustava **objemovou práci**. Ta je dána součinem tlaku **P** a změny objemu **V**, ke které dojde při přechodu systému ze stavu **A** do koncového stavu **B** ($\Delta V = V_A - V_B$).

Objemová práce je pak definována:

$$-w = P \cdot \Delta V,$$

kde znaménko minus udává, že jde o práci konanou systémem.

Je-li zamezeno objemové změně, tzn. $\Delta V = 0$, tedy i $w = 0$, pak změna vnitřní energie systému je dána pouze množstvím tepla **q**, které si vyměňuje systém s okolím:

$$(\Delta U)_v = q_v.$$

Obecně ale naše systémy, tedy rostliny a buňky, mohou s okolím vyměňovat nejen teplo, ale i objemovou práci, při poměrně konstantním vnějším tlaku, takže:

$$(\Delta U)_P = q_P + (-P \Delta V).$$

Index **P** značí, že se jedná o změny za konstantního tlaku. Pro popis těchto dějů je výhodné zavést místo vnitřní energie veličinu novou, charakterizující též stav soustavy. Touto novou veličinou je **entalpie**, značená obecně symbolem **H**. *Entalpie je definována tak, aby její změna udávala množství tepla, které vyměňuje systém s okolím při konstantním tlaku:*

$$H = U + PV.$$

DRUHÁ VĚTA TERMODYNAMICKÁ

Všechny děje probíhající v přírodě se řídí první větou termodynamickou, ačkoliv ne každý děj, který neodporuje první větě je realizovatelný. První věta definuje pouze přeměnu jedné formy energie ve formu jinou a naopak, ale neuvažuje, za jakých podmínek k tomu dochází. Praví, že energie nemůže sama vzniknout ani se ztratit, nýbrž že za ztracenou práci vznikne vždy ekvivalentní teplo a naopak. Zanikne-li jisté množství tepla, vykoná se odpovídající množství práce. Zdá se, že tato přeměna energie může probíhat v obou směrech zcela neomezeně, ale ve skutečnosti to tak nejde. Víme, že práci lze přeměnit v teplo velmi snadno a beze zbytku, ale naopak to nejde.

Např. roztočíme-li kolo, to se za čas na hřídeli zastaví a jediným výsledkem je zahřátí ložiska a osy kola. Není ale známo zařízení, kterým by bylo možné ochladit ložisko a hřídel a vzniklé teplo přeměnit v pohybovou energii roztočeného kola. Teplo přechází z tělesa teplejšího na těleso studenější. Opačný postup není možný.

Děje, které samy bez vnějšího popudu probíhají jedním směrem, avšak nikoliv směrem opačným, nazýváme *děje nevratné*. Tyto děje probíhají v přírodě samovolně a směřují k dosažení klidu. Tyto děje lze změnit pouze vnějším zásahem.

Pouze takové děje, které vedou systém k rovnovážnému stavu tedy klidu, jsou samovolné. Každý děj vzdalující se od této rovnováhy vyžaduje přívod energie od jiné soustavy.

Nevratný děj se tedy vyznačuje tím, že jej nedovedeme vrátit do původního stavu bez vynaložení energie. Podle druhé věty termodynamické lze všechny myslitelné děje neodporující první větě rozdělit na děje, které za daných podmínek mohou probíhat

samovolně a na děje, které samovolně probíhat nemohou. Druhá věta tak omezuje obecnou platnost první věty.

Ze slovních vyjádření druhé věty budeme v našem případě považovat za nejdůležitější, že všechny systémy se samovolně snaží dospět do stavu rovnováhy.

Např. voda teče z kopce, plyn po snížení tlaku expanduje, látka se v roztoku rozpouští, dospělý organismus podléhá samovolně stárnutí. Všechny přírodní samovolné děje jsou tedy nevratné a nelze je převést z původního stavu bez dodání vnější energie.

Z druhé věty rovněž vyplývá, že teplo nelze úplně přeměnit v práci, protože při této přeměně jeho část přechází z teploty vyšší na teplotu nižší. Část tepla předaného okolí o nižší teplotě je předána nevratně a nedá se tedy už v daném systému využít. Proto se hovoří o *degradaci energie*. Energie se sice v souladu s první větou neztrácí, ale degraduje na formu méněcennou - teplo.

MÍRA DEGRADACE SOUSTAVY - ENTROPIE

Primární zájem o termodynamiku spočívá v tom, že se v ní hledá odpověď na otázku, zda je daná chemická či fyzikální přeměna uskutečnitelná.

Tuto otázku může zodpovědět druhá věta. Proto potřebujeme mít k dispozici nějakou stavovou funkci, která by se charakteristicky měnila při samovolných dějích, která by byla kvantitativní mírou stupně samovolnosti reakce. Čili hledáme nějakou stavovou funkci schopnou kvantitativního vyjádření podstaty druhé věty.

Stupeň nevratnosti, tedy samovolnosti, je přímo úměrný teplu a nepřímo úměrný teplotě. Nevratnost děje můžeme proto vyjadřovat poměrem těchto veličin: Q/T . Tento poměr se nazývá **entropie** označený symbolem S . *Entropie je abstraktním termodynamickým pojmem. Slovně vyjádřeno je změna entropie podíl přírůstku tepla při vratném průběhu děje a konstatní teploty, při které děj probíhá.*

Hodnotu entropie daného systému stanovíme poměrně snadno a to s využitím tepelné kapacity tohoto systému, tedy změříme teplo, které je nutno systému dodat, aby se jeho teplota zvýšila o jeden stupeň Celsia.

Z rozboru cyklicky vedeného děje lze dokázat, že probíhají-li vratné děje v izolované soustavě (soustava, která není ve styku s okolím, nevyměňuje teplo a ani energii), je změna entropie nulová ($DS=0$). Probíhají-li děje nevratné, pak změna S je kladná ($DS>0$). Kritériem neuskutečnitelnosti děje je záporná změna entropie S ($DS<0$).

Pro reálné systémy je vhodné do úvah o změnách entropie zahrnout i její změny v okolí systému.

<i>Systém je v rovnáze, když</i>	$DS_i + DS_e = 0,$
<i>reakce probíhá samovolně, když</i>	$DS_i + DS_e > 0,$
<i>reakce není samovolná, když</i>	$DS_i + DS_e < 0,$

kde DS_i je změna entropie uvnitř systému a DS_e je její změna vyvolaná okolím.

Entropie je tedy hledané kritérium samovolnosti dějů, ale je to kritérium dosti nepohodlné, protože je jednoduše použitelné jen pro systémy, které jsou tepelně izolované. U ostatních systémů musíme do úvahy vždy zahrnout i okolí soustavy s nímž náš systém reaguje. Kritérium entropie je tedy příliš obecné. Proto je vhodné užít jiné funkce, které jsou nezávislé na okolních systémech.

Jednou z nich je hodnota **Gibbsovy termodynamické funkce G**. V biologických systémech všechny reakce probíhají v roztocích, ve kterých je objemová změna nepatrná. Proto je možné Gibbsovu funkci definovat:

$$G = H - TS.$$

Absolutní hodnota funkce G se nedá měřit ani počítat, měří se pouze změny, ke kterým dochází při přechodu systému z jednoho stavu do stavu druhého ($\Delta G = \Delta H - T\Delta S$). Obecně se pro funkci G užívá termínu *Gibbsova volná energie*.

Při *samovolných reakcích* hodnota **G klesá**. Reakce, které *samovolně neprobíhají* jsou charakteristické **kladným rozdílem G** reakčních zplodin a výchozích látek. *Hodnota změny G umožňuje předvídat, zda je reakce možná a zda může proběhnout samovolně.*

Negativní změna volné energie G odpovídá reakci poskytující energii pocházející z přechodu z nestabilního stavu s vyšším obsahem energie do stavu o nižším obsahu energie. Taková reakce se nazývá **exergonická**. Při kladné hodnotě G reakce neprobíhá samovolně a vyžaduje dodání energetického impulsu. Jedná se o reakci **endergonickou**.

Velice často je energie uvolněná z reakce exergonické použita jako onen energetický impuls v reakci endergonické. Hovoříme o *spřažení*, které je základem toku energie a jejího využívání v živém organismu.

KLASICKÁ TERMODYNAMIKA A ŽIVÉ SYSTÉMY

Každý živý objekt potřebuje k realizaci životních dějů neustálý příjem energie. *Z energetického pohledu se vždy jedná o přeměnu jednoho typu energie v energii jinou.* O těchto procesech se obecně hovoří jako o práci. Živá buňka má celou škálu mechanismů pro takové přeměny energie:

1/ **Chemická práce:** živé systémy provádějí chemickou práci když využívají energii k syntéze nových sloučenin, které obsahují více volné energie než jejich výchozí stavební suroviny. Chemická energie potřebná na obnovování, růst a množení buněk představuje největší spotřebu energie, kterou organismus získává z okolí.

2/ **Mechanická práce:** veškerý život je spojen s pohybem nějakého druhu, ať je to kontrakce svalových buněk či vnitrobuněčný pohyb cytoplazmy. Potřebná energie se proto získává pomocí systémů schopných transponovat chemickou energii na mechanickou práci.

3/ **Osmotická práce:** živé systémy se od svého okolí odlišují relativním zastoupením a koncentrací látek, které obsahují. Musí mít tedy k dispozici mechanismy umožňující jednak akumulaci sloučenin, které jsou v okolí systému v nízké koncentraci, jednak musí umět snižovat koncentraci látek, které se jinak v okolí nacházejí v koncentraci vyšší. Tyto akumulace a eliminace vyžadují práci. Tomu napomáhají biomembrány.

4/ **Elektrická práce:** v důsledku nerovnoměrného rozdělení látek, z nichž jsou mnohé ionty, biomembránami, dochází ke vzniku potenciálního rozdílu. Vnitřek buňky je mírně negativní oproti vnějšímu prostředí.

5/ **Regulační práce:** buňka musí investovat energii nejen do biosyntézy složitých organizovaných makromolekul, ale i do regulace jejich vzájemných interakcí.

Energii, přesněji Gibbsovu volnou energii, jejíž neustálý přísun je nezbytný pro udržení se při životě, získává organismus ze svého okolí. *V zásadě existují dva způsoby zisku energie: je to buď zachyt energie fotonů slunečního záření, nebo je energie získávána z*

chemické energie živin, která vyplývá z vysokého stupně strukturního uspořádání jejich molekul.

Charakter biologických systémů z termodynamického hlediska

- 1) každý živý systém je systém otevřený a nelze jej realizovat jako uzavřený, aniž by mu bylo bráněno v projevu životních funkcí.
- 2) biologické systémy se během svého života nenacházejí ve stavu rovnováhy, ale ve stacionárním rovnovážném stavu.
- 3) biochemické děje neprobíhají v živých systémech odděleně, ale ve složitých vzájemně spřažených reakčních řetězcích.
- 4) změny veličin jako jsou tlak, teplota a objem jsou v procesech u živých organismů tak malé, že vesměs nejsou respektovány. Většina reakcí probíhajících in vivo se uskutečňuje ve vodných roztocích.

První věta termodynamická platí v rámci všech životních procesů organismů. Živý objekt není schopen energii z ničeho vyrobit a ani v něm nedochází k jejímu zničení. Přijímá energii světelnou nebo chemickou energii potravy a přeměňuje ji na ekvivalentní množství jiných forem energie.

V duchu druhé věty termodynamické lze konstatovat, že fyziologické procesy jsou nevratné, takže se v nich vždy určitá část energie mění na teplo. Obsah energie substrátů nelze zcela využít na práci bez tepelné ztráty.

CHEMICKÝ POTENCIÁL

Pro popis energetického stavu jakéhokoliv chemického systému je zaveden pojem chemický potenciál. Tato veličina v podstatě opět popisuje volnou entalpii vztaženou na mol jistého komponentu ve směsi s jinými prvky.

Chemický potenciál je dán vztahem:

$$\mu_j = \mu_o + R.T.\ln a_j + p.V_j + F.E.z_j + g.h.m_j,$$

μ_o - standardní potenciál,

$R.T.\ln a_j$ - koncentrační člen, kde R je plynová konst. $8.134 \text{ J.mol}^{-1}\text{K}^{-1}$,

$p.V_j$ - tlakový člen,

$F.E.z_j$ - elektrický člen, kde F je Faradayova konst. $9.648\,104 \text{ C.mol}^{-1}$,

$g.h.m_j$ - gravitační člen.

Tento vztah vyjadřuje, že každá změna chemického potenciálu j-tého prvku se uskutečňuje pouze jako důsledek rozdílů v koncentračním, tlakovém, elektrickém a gravitačním potenciálu.

Jednotkou chemického potenciálu je energie na mol, tedy J.mol^{-1} či W.s^{-1} .

Vodní potenciál

Speciální situace nastává u vody, která je složena z elektricky neutrálních molekul. To znamená, že ve výrazu pro potenciál *chybí elektrický člen*.

Ve vodě rozpuštěné částičky se nazývají *osmotikem* a jejich efektivní koncentrace se nazývá *osmolalitou*. Koncentrační člen osmotika je: $f = f_o R.T.ln.a_j$.

Veličina f znamená potenciální osmotický tlak roztoku a tento roztok lze její pomocí i charakterizovat. Vodní potenciál tedy popisuje volnou entalpii na jednotku objemu vody v nějakém roztoku.

Pohyb vody s ohledem na vodní potenciál

- 1) *Voda teče spontánně jen z místa s vyšším (pozitivnějším) vodním potenciálem do místa s nižším (negativnějším) vodním potenciálem.*
- 2) *Opačným směrem může voda téci jen při dodání energie.*
- 3) *Nulovým bodem škály vodního potenciálu je hodnota standardního stavu (čistá voda, normální tlak, teplota, poloha).*

Vzhledem k tomu, že u rostlin nejsou známy jakékoli aktivní vodní pumpy, musí existovat mechanismus, který je příčinou toku vody do rostliny a pohybu vody v rostlině. Důležitou úlohu zde mají polopropusté biomembrány, které jsou příčinou toho, že všechny složky vodního potenciálu se mohou podílet na pohybu vody.

*Vodní potenciál je dán tlakovou složkou neboli **turgorem**, osmotickou složkou a matričním potenciálem. Matriční potenciál je dán tím, že se v buňce, ve stěně a membránách, nacházejí koloidní struktury, které jsou osmoticky aktivní. Základem pro pohyb vody jsou pouze a jen rozdíly v hodnotě vodního potenciálu.*

Vzhledem k tomu, že částice rozpuštěné v protoplazmě, či obsažené v organelách nesou svůj náboj, je možné změnu chemického potenciálu těchto částic určit na základě jejich elektrického náboje, tedy elektrické složky chemického potenciálu. Protože hlavní složkou těchto změn je právě nábojová složka, hovoříme o **elektrochemickém potenciálu**.

Platí zde:

- 1/ ionty spontánně putují ve směru klesajícího elektrochemického potenciálu je to exergonický děj,
- 2/ proti elektrochemickému potenciálu fungují v buňkách speciální iontové pumpy. Tyto pumpy ovšem potřebují dodávat energii,
- 3/ je-li diference elektrochemického potenciálu mezi dvěma místy nulová, pak se jedná o stav termodynamické rovnováhy, i když například koncentrace v rovnováze nejsou.

Uvnitř buňky existují různé útvary membránově ohraničené. Vzhledem k tomu, že biomembrány jsou elektricky špatně vodivé a mají více či méně omezenou permeabilitu pro ionty, vzniká zřetelný rozdíl elektrického potenciálu na obou stranách membrán. Tento potenciál se nazývá **membránový potenciál**, který vzniká když:

- 1/ anionty a kationty elektrolytů mohou pronikat membránou s rozdílnou rychlostí. Jedná se o tzv. *difúzní potenciál*.
- 2/ ionty tvořící jisté strukturní útvary nemohou penetrovat membránou, vážou k sobě ionty opačně nabitě a to vede k nábojové nerovnováze na membráně. Tento stav se nazývá *Donanův potenciál* OBR.66
- 3/ *aktivní transport iontů* (za spotřeby) energie vede k diferenciaci iontů na obou stranách membrány.

BUŇKA JAKO METABOLICKÝ SYSTÉM

Živé systémy jsou ve stavu neustálé metabolické aktivity. Jednotlivé buněčné složky mají svou jistou dobu existence, která je mnohem kratší než existence buňky. Proto v buňce probíhá jejich neustálá výstavba a rozklad.

Metabolická aktivita je úzce spojena s **enzymatickou katalýzou**, protože většina těchto dějů neprobíhá spontánně. Enzymy lze považovat za základní agens života. Proteiny, které tvoří hlavní část enzymů tvoří až 30% celkové suché hmotnosti typické rostlinné buňky. Kdyby se odečetly inertní materiály, jako je buněčná stěna a škrob, může obsah proteinů v buňce dosáhnout až 90%. Hlavní funkcí rostlinných proteinů je funkce regulační, která je spojena s enzymovou katalýzou. *Katalýza vede k překonání reakčních bariér a zmírnění potřeby aktivací energie.*

Enzymy se vyznačují velice *úzkou reakční a substrátovou specifitou*. Obecně enzymy mají pouze jeden typ katalytické aktivity spojené s jedním typem proteinů. **Izoenzymy** jsou enzymy, které sice mají stejnou katalytickou funkci, ale mají rozdílnou strukturu. Katalytické parametry jsou kódovány různými rozdílnými geny. *Např. množství rozdílných izoenzymů může být nalezeno u peroxidázy. To je enzym stěny rostlinné buňky, který je zahrnut v syntéze ligninu. Jeho izoenzym může být lokalizován ve vakuole. Dá se tedy hovořit i o tkáňové specifitě enzymu.*

Enzymy často obsahují *nebílkovinnou složku*, nazývanou **prostetická skupina**, neboli **kofaktor**, která je nezbytná pro biologickou aktivitu enzymu. Spojení kofaktoru s enzymem závisí na třídimenzionální stavbě enzymového proteinu, a tak se opět zvyšuje specifita reakce enzymu. Příkladem kofaktoru jsou kovové ionty, zinek, železo, hemové nebo železo-síraté skupiny a dále koenzymy typu nikotinamidadeninu.

Aktivita enzymu je ovlivňována vnitřními regulačními mechanismy v buňce a to na několika úrovních. Buňka může kontrolovat tok svých metabolismů regulací koncentrace enzymů a jejich katalytické aktivity. *Kontrola enzymové koncentrace je řízena především procesy jejich syntézy a degradace.* Rychlost syntézy je regulována na genetické úrovni. Dalším typem regulace enzymové aktivity je již zmíněná *kompartmentace buňky* a konečně posledním typem je *kovalentní modifikace*. Tento typ kontroly zahrnuje fosforylaci enzymů, kdy jejich fosforylovaná forma je aktivní a nefosforylovaná forma aktivní není. Velice významnou regulací enzymové aktivity na úrovni buňky je regulace pomocí *inhibice zpětnou vazbou*. Uvážíme-li metabolickou dráhu o více krocích, tak na začátku této cesty stojí klíčová počáteční reakce, která je katalyzovaná enzymem a na konci této metabolické cesty jsou substráty. Kontrola celého metabolického systému se může uskutečňovat ve dvou či více krocích. První krok metabolické cesty, která je většinou hlavním zdrojem regulace, je pod přímou kontrolou konečného produktu.

Např. organická sloučenina fruktóza- 2,6- bisfosfát má důležitou úlohu v metabolismu a v regulaci uhlíkového metabolismu rostliny. Fruktóza- 2,6- bisfosfát funguje jako aktivátor glykolýzy, tedy rozpadu cukru, nebo naopak jako inhibitor glukoneogeneze, tedy formování cukru. Fruktóza-2,6- bisfosfát je syntetizována z fruktóza- 6- fosfát v reakci, která požaduje ATP, a je katalyzována enzymem fruktóza- 6- fosfát- 2- kináza. Její degradace se uskutečňuje reverzní reakcí a tato reverzní reakce je katalyzována enzymem fruktóza- 2,6- bifosfát, která uvolňuje anorganický fosfor. Oba tyto enzymy jsou pod přísnou metabolickou kontrolou pomocí množství konečného produktu, kterým je fruktóza-bisfosfát, tj. regulací přes koncentraci konečného produktu, ATP a volného fosforu. Právě volný fosfor se velice často uplatňuje v těchto zpětnovazebných inhibičních reakcích.

Ovšem za nejefektivnější kroky regulace enzymové aktivity lze považovat regulaci jejich obratu, který je určován mírou produkce enzymu a mírou jejich degradace. Je zřejmé, že

exprese genů se podílí především na procesech tvorby enzymů a to na všech úrovních procesu exprese genů.

Vývojové studie *regulace enzymové aktivity na úrovni transkripce, tedy přepisu do RNA*, ukazují, že každý rostlinný orgán obsahuje různé velké množství orgánově specifických RNA- mesenžrů. Tzn., že na úrovni transkripce je množství enzymů značně diferencováno podle jednotlivých orgánů. Světlo a rostlinné hormony umožňují syntézu orgánově specifických mesenžrů-RNA opět na úrovni genové transkripce.

Velice důležitá forma regulace enzymů je rovněž *na úrovni translace genu*, tedy překladač zápisu na mesenžru do konečné sestavy proteinového řetězce. Rovněž rychlost enzymové degradace je pod genovou kontrolou.

U *eukaryotních buněk* je genová exprese pod složitou kontrolou. Eukaryotní geny jsou rozděleny do dvou oblastí a to do **oblasti kódovaných genů**, které se nazývají **exony**, a **nekódovaných genů**, které se nazývají **introny**. *Počáteční mesenžer-RNA*, která je transkribována v buněčném jádře obsahuje jak exony, tak introny a nazývá se *pre- mesenžer-RNA*. Tento počáteční produkt musí projít systémem *posttranskripčních úprav*. Tyto posttranskripční úpravy spočívají v tom, že jsou *z prekursoru odstraněny introny* a celý řetězec konečné RNA je tímto způsobem upraven. Každý z těchto kroků, který je zahrnut do exprese eukaryotního genu, může být regulován.

Stabilita překladatelné m-RNA může být regulována a může se také u jednotlivých pletiv měnit v závislosti na fyziologických podmínkách. Rovněž překladatelnost m-RNA je regulována podmínkami v jednotlivých pletivech.

Transkripce eukaryotních buněk je dále regulována proteiny, které jsou přímo vázány v genu. Jsou to tzv. **histony**. Regulace může být pozitivní nebo negativní.

Jak bylo řečeno, celkový obrat proteinů je důležitým faktorem ovlivňujícím množství enzymů v buňce. Každá enzymová molekula je aktivní po určitou dobu svého života, v rozmezí několika minut až několik hodin. Hladina buněčných enzymů je udržována jako výsledek rovnováhy mezi enzymovou syntézou a enzymovou degradací, tzv. *turnover*.

V rostlinných buňkách je *hlavním místem enzymové degradace vakuola*, která obsahuje **proteázy**. Existují důkazy o tom, že právě centrální vakuola je v diferenciaci stárnutí buňky hlavním místem degradace buňky. Mimo to existuje ještě *jiný typ degradace enzymů*. Tento typ degradace je rovněž vázán na vakuolu. Je to *tvorba komplexu mezi enzymem a polypeptidem* zvaným **ubiquitin**. *Ubiquitinizace* enzymové molekuly iniciuje destrukci enzymové molekuly pomocí proteolytických enzymů. Tyto dva vakuolární systémy jsou tedy odpovědné za množství enzymů uvnitř buňky.

Katalytická funkce enzymů je výrazně ovlivněna vnějšími vlivy. Obecně enzymy pracují v úzkém intervalu hodnot pH kolem sedmi a okolní teplotě asi 15-20°C. Rovněž atmosferický tlak ovlivňuje jejich činnost. Ovšem existují výjimky, *např. enzym pepsin, což je protein ve slinách, který má optimální hodnotu pH dva. Hydrogenáza archabaktérie Pirochozuz furiosus, což je enzym katalyzující oxidaci vodíku, má teplotní optimum kolem 95°C. Tzn., že tyto bakterie se mohou vyskytovat i v horkých pramenech.*

ENZYMATICKÁ KATALÝZA MÁ NĚKOLIK SPECIFICKÝCH VÝHOD:

- 1/ *enzymy jsou mimořádně efektivní katalyzátory, které zvyšují rychlost reakcí řádově 10⁷-10¹¹ krát,*
- 2/ *enzymatická katalýza je mimořádně specifická vzhledem k substrátu. Enzymy dovedou rozeznat nepatrné sterické rozdíly substrátu. Specifita enzymu je dána především jeho aktivním centrem, které je tvořeno specifickou sekvencí aminokyselin. To je pod genetickou kontrolou.*

Enzymová kinetika

Katalytická reakce enzymu probíhá podle obecného schématu:



Disociace komplexu ES je nejdéle trvající a tedy i pro celou reakci nejdůležitější složkou (limitní článek).

Faktory ovlivňující rychlost enzymových reakcí jsou:

*množství enzymu,
množství substrátu,
vlastnosti prostředí (teplota, pH, iontová síla),
přítomnost efektorů, tj. látek ovlivňujících rychlost enzymových reakcí.*

Významný vliv na rychlost enzymových reakcí má **teplota**. Zvýšením teploty se zvyšuje rychlost enzymové reakce, i když tento nárůst je obecně nižší v porovnání s neenzymově katalyzovanými reakcemi. To je způsobeno odlišnými hodnotami aktivačních energií. Další zvyšování enzymové reakce s teplotou je omezené, neboť *s růstem teploty roste inaktivace enzymu* (tepelná denaturace bílkoviny enzymu).

Enzymová kinetika je též závislá na hodnotě **pH**. Závislost na pH podmiňují ionizovatelné skupiny, které jsou součástí aktivních center enzymů a také molekul mnohých substrátů. Reakce enzym-substrát pak závisí na stupni jejich protonizace. Většina enzymů působí katalyticky jen v jistém rozmezí hodnot pH. Mimo tento interval enzymatická účinnost klesá.

Aktivita enzymu může být účinně měněna působením různých látek, které nazýváme **efektory**. Zvyšují-li enzymovou aktivitu, jsou to *efektory pozitivní*, snižují-li aktivitu enzymu jsou to *efektory negativní*. Efektory působí tak, že se buď reverzibilně váží přímo v aktivním místě nebo mimo ně. To je případ allosterických efektorů. Mnohé enzymy potřebují ke své činnosti aktivátory, kterými jsou většinou ionty kovů.

Reakce enzym-substrát má hyperbolický charakter. Pokud vyjádříme závislost rychlosti enzymem katalyzované reakce v , v závislosti na koncentraci substrátu $[S]$, má tato závislost *hyperbolický charakter* OBR. 59. Tento vztah je znám jako **kinetika Michaelis-Mentenové**:

$$v = V_{\max} \frac{[S]}{K_m + [S]},$$

kde K_m je tak zvaná konstanta Michaelis-Mentenové a je to vlastně jistá koncentrace substrátu, při které za stacionárních podmínek probíhá reakce polovinou maximální rychlosti $V_{\max}$. $[S]$ je koncentrace substrátu. Konstanta Michaelis-Mentenové je mírou afinity enzymu k substrátu. Pokud je tedy K_m velké znamená to *menší afinitu enzymu k substrátu*. Hodnota K_m je nezávislá na koncentraci enzymu, ale může být ovlivněna kofaktory jako je kompetitivní inhibice.

Podle typu inhibitoru na základní kinetické parametry enzymu, tj. $V_{\max}$ a na K_m , rozlišujeme čtyři typy plné inhibice:

- 1/ *kompetitivní inhibitor* se váže na aktivní místo enzymu jako substrát, ale neovlivňuje hodnotu $V_{\max}$,
- 2/ *nekompetitivní inhibitor* neovlivňuje K_m a má na enzymu své jiné aktivní centrum,
- 3/ *akompetitivní inhibitor* nemění poměr $K_m/V_{\max}$,
- 4/ *smíšený inhibitor* mění K_m , $V_{\max}$ a $K_m/V_{\max}$.

Celá řada enzymatických reakcí ale plně nesleduje M.M. kinetiku. Průběh reakcí má sigmoidní průběh. To je dáno tím, že nízkomolekulární efektory ovlivňují enzym na jiném jeho místě, které je odlišné od aktivního centra. Jedná se o *allosterické centrum*. Tato vazba efektoru musí předejít vlastní reakci substrát-enzym. Enzym se stává aktivní. Tento typ enzymové reakce se nazývá *allosterická reakce*.

TRANSPORTNÍ MECHANISMY NA MEMBRÁNÁCH

Difúze je spontánní typ transportu, který se uskutečňuje v důsledku koncentračního gradientu. Transport se uskutečňuje při platnosti **prvního Fickova zákona daného vztahem:**

$$J = -D \frac{dc}{dx},$$

tedy intenzita difúze je rovna proporcionální změně koncentrace transportované látky (c) na transportní vzdálenost (x). D je difúzní koeficient dané látky a má rozměr plochy, přes kterou se transport uskutečňuje za jednotku času. Znaménko minus vyjadřuje, že tok látky probíhá z míst s vyšší koncentrací do míst s koncentrací nižší.

Druhý Fickův zákon vyjadřuje změnu koncentrace difundované látky jako funkci času a vzdálenosti:

$$\frac{dc}{dt} = D \left(\frac{d^2c}{dx^2} \right).$$

Vzhledem k tomu, že se jedná o diferenciální rovnici druhého řádu, tak v rostlinné buňce, která má dimenze 10-100 μm , je transport difúzí velice rychlý.

Difuzní koeficienty vybraných látek:

Látka	$D [\text{m}^2\text{s}^{-1}]$
Glukóza	$0,67 \times 10^{-9}$
Sacharóza	$0,52 \times 10^{-9}$
Ca^{2+}	$1,20 \times 10^{-9}$
K^+	$1,90 \times 10^{-9}$
CO_2	$1,51 \times 10^{-5}$
H_2O	$2,42 \times 10^{-5}$
O_2	$1,92 \times 10^{-5}$

Dalším typem transportu je **permeace**. Je to vlastně difúze částic přes membránu, která se uskutečňuje za existence značného odporu k difúzi. V tomto případě je tok dán vztahem:

$$J = -P (c_1 - c_2),$$

kde $c_1 - c_2$ představuje rozdíl koncentrací dané látky na vnější a vnitřní straně membrány a P je *koeficient permeability* [m.s^{-1}], tj. má dimezi odporu. Neboť má koeficient permeability mnoho aplikací ve fyziologii, je explicitně definován:

$$P = D.K/Dx,$$

kde K je *koeficient rozdělení* [bezrozm.], definovaný jako poměr koncentrace látky v membráně k její rovnovážné koncentraci vně membrány. Díky tomuto typu transportu je dána membráně možnost tvořit jistou segregaci částic.

Hlavní **specifita biomembrán**, jak již bylo zmíněno, *tkví v selektivitě v transportu částic*. Tato selektivita má vektorový charakter, tj. uskutečňuje se v jednom směru a je stereospecifická, což umožňuje selektivitu transportu i v rámci jednotlivých izomerů transportovaných látek.

V naprosté většině se transport částic do rostliny a buňky děje *nespontánně*. Jak plyne z druhé věty termodynamické, musí při takovémto typu transportu docházet k energetické spotřebě. Tento transport umožňují specifické přenašeče často označované jako **iontové pumpy**. Vzhledem k tomu, že se jedná o *transport vyžadující metabolickou aktivitu*, je tento typ transportu rovněž označován jako **transport aktivní** ve srovnání s **transportem pasivním**, který se děje *spontánně*.

Přenos částic přes membránu pomocí iontových pump je spojen se specifickými enzymy, které se nazývají **přenašeče**. Jsou to tedy zcela zřejmé enzymatické katalyzátory se vším, co k enzymové katalýze patří. Jsou tedy nejen substrátově specifické, ale sledují i kinetiku reakce, kterou jsme již zmínili. V každém případě transportní katalýza zvyšuje pasivní permeabilitu biomembrán pro specifické částice. *Nespontánnost* těchto specifických přenosů spočívá především v tom, že probíhají *proti směru chemického potenciálu*. *Tato možnost je základem existence jednotlivých metabolických drah v živých systémech obecně.*

Obecný model transportní katalýzy lze představit následovně:

1. v principu je shodný s katalýzou enzymovou, tzn. musí existovat enzym, tedy katalyzátor, v tomto případě přenašeč a substrát - transportovaná částice. Dále existuje biomembrána, která tvoří transportní prostředí.
2. musí dojít k vazbě přenašeč + transportovaná částice. K této vazbě dochází na jedné straně biomembrány. Záleží na vektoru transportu, zda směřuje do buňky či z buňky. Vytvořený komplex prochází membránou. Průchod je zajištěn tím, že komplex má vlastnosti umožňující přechod.
3. Na opačné straně membrány dojde k uvolnění komplexu nosič + transportovaná částice. Nosič je poté opět volný.

Transportní katalýzu lze rovněž rozdělit na *pasivní* a *aktivní transport*. Pasivní transportní katalýza přenáší částice přes membránu až do dosažení koncentrační rovnováhy. Její předností je výrazná substrátová specifita. Při aktivní transportní katalýze je nezbytné dodání energie ve formě ATP. Tato energie je užita pro aktivaci přenašeče. Tento typ transportu má dvě přednosti:

a/ výrazná substrátová specifita,

b/ dosahuje koncentračního rozdílu mezi prostory oddělenými membránou.

Oba typy, tedy pasivní i aktivní transport (máme na mysli katalytický transport), se spolu vyskytují velice často. Jedná se o **sekundární transporty** zvané **kotransport** neboli **symport** a **protitransport** zvaný též **antiport**.

V případě *symportu* se jedná o transport aktivní. Tedy jedná se o transport vyžadující energii, kdy přenos jednoho druhu iontu je spojen s pasivním vektorově stejnosměrným transportem iontu druhého. U *antiportu* se jedná o vektorově protikladný transport aktivní a pasivní. Výsledkem toho je pak pasivní akumulace jistých látek.

Forma tohoto nepřímého metabolického transportu, nepřímého proto, že metabolická energie je spotřebována na transport jiné látky, a tak v důsledku těchto spojených transportů je látka dopravena na místo spotřeby, je častá u jednotlivých vnitrobuněčných kompartmentů. Například u mitochondrie je vnější membrána prakticky nepropustná pro NAD a NADPH₂. Na straně druhé je zřejmé, že se tyto látky uvnitř mitochondrie nacházejí, neboť jsou potřebné pro oxidativní fosforylaci. Zde vstupuje do popředí nepřímý pyridinnukleotidový transport. To se děje tzv. *shuttle mechanismem*. Na vnější straně cytoplazmy dochází k redukci oxalacetátu pomocí NADPH₂ na transportní molekulu malátu. Malát je v matrix mitochondrie reoxidován a uvolňuje tak opět NADPH₂ do vnitřního prostoru mitochondrie. Pro zpětný transport ven z mitochondrie musí být vnitromitochondriální oxalacetát, vzniklý uvolněním NADPH₂ z malátu, aminován (vazba skupiny NH₃) na aspartát. Aspartát je transportován ven z mitochondrie, kde se opět deaminuje na oxalacetát. Aminoskupina je prostřednictvím spojeného transportního systému glutamát-oxoglutarát opět transportována do mitochondrie. Všechny tyto tři transportní mechanismy jsou uskutečněny prostřednictvím nosiče.

PŘÍJEM LÁTEK BUŇKOU

Příjem iontů

Do příjmu iontů rostlinnou buňkou jsou zahrnuty *tři základní kompartmenty*, které jsou odděleny plazmalemou a tonoplastem: **volný difúzní prostor buněčné stěny**, **cytoplazma** a **vakuola**.

Systémy transportu pracují jak *v sérii*, tak *paralelně*. Výsledkem těchto obecně pojmenovaných transportních mechanismů jsou rozdílné koncentrace iontů, například dochází k utváření rozdílu v koncentraci iontů ve vakuole a ve vnějším prostředí.

Např. obsah buněčné šťávy tabáku činí:

draslík	49 mmol.l ⁻¹
sodík	50
vápník	26
hořčík	22
sírany	26
fosforeč.	1,7

Draslík může být obecně přijímán pasivně, ale jeho vysoká akumulace tomu neodpovídá. Pro draslík je rozhodující hnací silou příjmu negativní membránový potenciál plazmalemy. Přes tonoplast je draslík transportován převážně pasivně. Sodík je přes obě membrány přenášen aktivně. Existují důkazy o tom, že jak v rostlinných buňkách tak v buňkách živočišných, probíhá jeho transport aktivně.

Mnohé buňky mohou aktivně akumulovat protony vodíku H⁺. Tyto vodíkové pumpy jsou velice důležité při příjmu iontů v kořenových vláscích. To je základní mechanismus kationtové výměny s půdními koloidy.

K⁺, Cs⁺ a Rb⁺ si konkurují o stejný přenašeč. Na⁺ a Li⁺ si konkurují o jiný přenašeč. Další konkurenční páry iontů jsou např.: Ca²⁺/Sr²⁺ a Cl⁻/Br⁻. Rovněž chloridové, nitrátové, fosforečné a síranové ionty jsou aktivně akumulovány buňkou.

Příjem neelektrolytů

Obecně mohou rostlinné buňky přijímat a akumulovat organické molekuly. Kritéria transportu a specifické selekce opět podporují existenci systému přenašečů. *U řasy Chlorella byl popsán systém příjmu pro hexózy, tedy systém transportu pro neelektrolyty. Indukce příjmu může být blokována účinnými inhibitory proteosyntéz, což dokazuje to, že se jedná o specifický, přenašečový transport. Transport vyžaduje energii, která je získávána z respirace či fotosyntézy. Efektivnost tohoto příjmu je dostatečná, a je možné jím dosáhnout až 1000x vyšší akumulace hexózy.*

5. VODNÍ PROVOZ

Voda je hlavní součástí rostlinných buněk. Protoplasma obsahuje 80-95% vody, v organelách, které jsou bohaté na lipidy např. chloroplasty, je 50% vody. Stejný obsah vody je v čerstvém dřevě.

Fyzikální a chemické vlastnosti vody jsou skutečně ideální pro plnění mnoha funkcí:

Voda je výhodným médiem pro difúzi rozpuštěných látek (solutů). Jako rozpouštědlo se voda zúčastní mnoha biochemických reakcí. Její nestlačitelnost vede k tomu, že příjem vody způsobuje expanzi buňky a takto vzniklý hydrostatický tlak pomáhá k mechanické podpoře rostliny.

Voda je vhodné médium pro tepelnou regulaci rostlin, neboť má vysoké teplo nutné k evaporaci, má vysokou tepelnou kapacitu na jednotku hmoty a má vysokou tepelnou vodivost.

Voda je rovněž obecným rozpouštědlem. Její polární charakter jí dovoluje být vhodným rozpouštědlem pro polární částice, což je obzvláště důležité při minerální výživě.

Voda je dobře propustná pro viditelné světlo, což pak umožňuje penetraci zářivé energie k chloroplastům jinak obklopeným vodním prostředím uvnitř buňky.

Voda je zdrojem kyslíku a vodíku pro fotosyntézu. Tvorba ATP zahrnuje extrakci vody z ADP. Tvorba ATP je tedy dehydratační proces uskutečňující se ve vodním prostředí za biologických podmínek.

FYZIKÁLNÍ VLASTNOSTI VODY

Voda se výrazně liší od ostatních látek s podobnou strukturou. Relativně vysoký bod tání a varu jsou důsledky relativně silných vnitromolekulárních sil molekuly vody. Čili dodání tepla tak snadno nerozbije vazbu molekul vody.

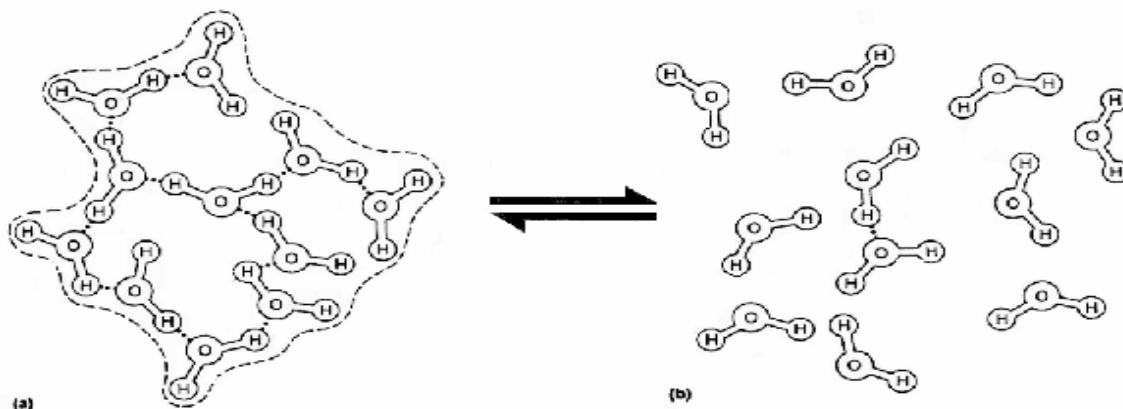
Vodíkové vazby

Silné vnitromolekulární vazby vody jsou důsledkem struktury molekuly vody. Voda je **dipól**, kyslík je elektronegativní a vodíkové atomy jsou pozitivní. V důsledku toho má molekula **zjevnou polaritu náboje**.

Kladné vodíky jsou elektrostatickými silami vázány ke kyslíkům dalších molekul, a tak vznikají vodíkové vazby s vazebnou energií kolem 20ti kJ mol⁻¹. Led je vlastně struktura vody, ve které jsou všechny molekuly k sobě vázány vodíkovými vazbami.

*Energie nutná k oddělení molekuly vody z roztoku a jejímu přechodu do plynné fáze se nazývá **výparným teplem**.* Hodnota tohoto tepla je nejvyšší pro všechna známá rozpouštědla. Při 25 °C každý mol vody vyžaduje energii 44 kJ. To znamená, že vaporace vody má důsledek ve ztrátě tepla a v efektivní disipaci tepla dodaného rostlině zářivou radiací Slunce

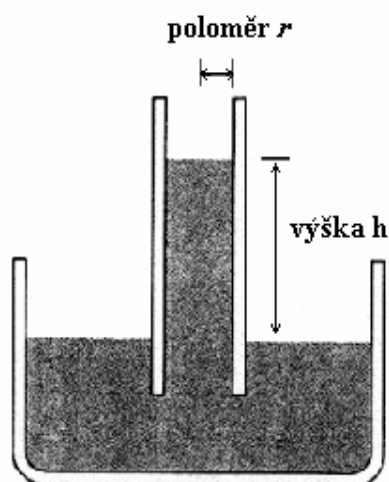
OBR. 5.1 SCHÉMA VODÍKOVÉ VAZBY



Kapilarita

Mezimolekulární síly vody jsou příčinou **koheze**. Reakce mezi roztokem a pevnou fází stěn kapilár se nazývají **adheze**. Stěny vodivých elementů rostliny jsou tvořeny hlavně celulózu, která se vyznačuje velice vhodnou smáčivostí. Je-li kapilára o malém poloměru vnořena do roztoku vody, tak v důsledku kohezních sil vniká do kapiláry vodní sloupec. Vzniká kapilární *elevace vodního sloupce*. Ten má samozřejmě v důsledku gravitace tendenci z kapiláry odtéct. Je vidět pokles hladiny konce vodního sloupce v kapiláře. V důsledku dobré smáčivosti celulózních stěn a silné adheze vody k těmto stěnám jsou kraje tohoto sloupce vyzdviženy. Vzniká typický **meniskus**.

OBR. 5.2. SCHÉMA KAPILARITY



$$\text{UNÁŠECÍ SÍLY} = \text{povrchový meniskus} \times \text{povrchová tense} \\ = 2\pi r \times 0,0728 \text{ Nm}^{-1}$$

$$\text{SÍLY PŮSOBÍCÍ SMĚREM DOLŮ} = \text{výška} \times \text{plocha} \times \text{hustota} \times \text{gravitační zrychlení} \\ = h \times 2\pi r^2 \times 998 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3} \times 9,8 \text{ ms}^{-2}$$

při rovnováze: UNÁŠECÍ SÍLY = SÍLY PŮSOBÍCÍ SMĚREM DOLŮ

$$\text{řešení pro výšku: } h = \frac{1,49 \times 10^{-5} \text{ m}^2}{r \text{ (v metrech)}}$$

příklady: poloměr kapiláry (μm)	výška elevace (m)
1	1,49
10	0,149
100	0,0149
1000	0,00149
typická céva ($75\mu\text{m}$)	0,02

Výšku vodního sloupce v kapiláře označme jako **h** a kontaktní úhel, který vznikl mezi meniskem a stěnou **α**. Velikost kontaktního úhlu závisí na poměru mezi silami adheze a koheze:

$$adheze = (1 + \cos \alpha / 2) koheze$$

Při úvaze o velikosti kapilární elevace se musí brát v úvahu balance dvou sil:

1/ tendence gravitace směrem dolů

2/ povrchové napětí menisku vedoucí k silám směrem vzhůru v kapilár

Výška vodního sloupce pak je:

$$h = 2 \eta \cos \alpha / \rho r g,$$

kde **η** je povrchové napětí, **ρ** hustota roztoku, **r** poloměr kapiláry a **g** je gravitační zrychlení.

Výška vzestupu vodního sloupce v kapiláře závisí především na poloměru kapiláry.

V praktické situaci kapilár vodivého systému rostlin, je kontaktní úhel menisku blízký nule a jeho cosinus je roven jedné. Hustota vody při 20 °C je 998 kg m⁻³. Povrchové napětí vody pro tuto teplotu činí 0.0728 N m⁻¹. Vzestup vody v kapiláře lze zjednodušeně vyjádřit jako:

$$h = 1.49 \times 10^{-5} m^2/r$$

Uvažujeme-li pro xylémové cévy 20 μm, pak vzestup vodního sloupce v cévě způsobený kapilární elevací činí 0.75m. To stačí po dosažení vhodné transportní výšky u bylin. U dřevin pro dosažení výšky např. 30ti metrů potřebujeme poloměr cévice 0.5 μm, aby bylo možné pouze na základě kapilární elevace dosáhnout této výšky. Takovéto poloměry cév však nejsou reálné. To znamená, že kapilární elevace nemůže být hlavní příčinou vzestupu vodního sloupce vodivého systému do požadovaných výšek. Mimoto vodivé elementy rostlin nejsou na konci otevřeny volnému prostoru jako je tomu u klasického pokusu s kapilárou. Buněčné stěny buněk tvořících vodivý systém jsou protkány sítí malých kanálků. Jsou to prostory vzniklé v celulózové matrix mezi jednotlivými vlákny. Tyto kanálky mají poloměr okolo 5-10nm! Mohou tedy zvednout vodní sloupec až do výšky 3 kilometrů, což přesahuje potřeby jakékoliv rostliny. Buněčná stěna tedy funguje jako velice efektivní knot, který způsobuje značný vzestup vody.

Elektrické vlastnosti vody

Extrémně vysoká hodnota dielektrické konstanty vody je další významnou fyzikální vlastností. Vysoká dielektrická konstanta roztoku totiž značně snižuje hodnoty elektrických sil mezi nabitými rozpuštěnými látkami. To umožňuje vyšší koncentraci iontů v roztoku a je to velice výhodné pro transport a akumulaci nabitých částic v buňce.

Energetické vazby mezi vodou a nepolárními molekulami jsou slabé v porovnání se silami vodíkových vazeb. To znamená, že nepolární látky se tedy ve vodě moc dobře nerozpouštějí. Ve vodném prostředí mohou látky jako jsou proteiny, fosfolipidy, tedy látky, které jsou jak nepolární, tak mají polární oblasti svých molekul, agregovat a tvořit micely. V micelách jsou nepolární oblasti v centru a nabitě části jsou vně a reagují s vodou.

CHEMICKÝ POTENCIÁL

Pro popis energetického stavu jakéhokoliv chemického systému je zaveden pojem **chemický potenciál**. Tato veličina v podstatě opět popisuje volnou entalpii vztaženou na mol jistého komponentu ve směsi s jinými prvky.

Chemický potenciál je dán vztahem:

$$\mu_j = \mu_o + R.T.\ln a_j + p.V_j + F.E.z_j + g.h.m_j,$$

μ_o - standardní potenciál,

$R.T.\ln a_j$ - koncentrační člen, kde R je plynová konstanta. $8.134 \text{ J.mol}^{-1}\text{K}^{-1}$,

$p.V_j$ - tlakový člen,

$F.E.z_j$ - elektrický člen, kde F je Faradayova konstanta. $9.648\,104 \text{ C.mol}^{-1}$,

$g.h.m_j$ - gravitační člen.

Tento vztah vyjadřuje, že každá změna chemického potenciálu j -tého prvku se uskutečňuje pouze jako důsledek rozdílů v koncentračním, tlakovém, elektrickém a gravitačním potenciálu.

Jednotkou chemického potenciálu je energie na mol, tedy J.mol^{-1} či W.s^{-1} .

Vodní potenciál

Speciální situace nastává u vody, která je složena z elektricky neutrálních molekul. To znamená, že ve výrazu pro potenciál *chybí elektrický člen*.

Ve vodě rozpuštěné částice se nazývají *osmotikem* a jejich efektivní koncentrace se nazývá *osmolalitou*. Koncentrační člen osmotika je: $f = f_o R.T.\ln a_j$.

Veličina f znamená potenciální osmotický tlak roztoku a tento roztok lze její pomocí i charakterizovat. Vodní potenciál tedy popisuje volnou entalpii na jednotku objemu vody v nějakém roztoku.

Vzhledem k tomu, že u rostlin nejsou známy jakékoli aktivní vodní pumpy, musí existovat mechanismus, který je příčinou toku vody do rostliny a pohybu vody v rostlině. Důležitou úlohu zde mají polopropustné biomembrány, které jsou příčinou toho, že všechny složky vodního potenciálu se mohou podílet na pohybu vody.

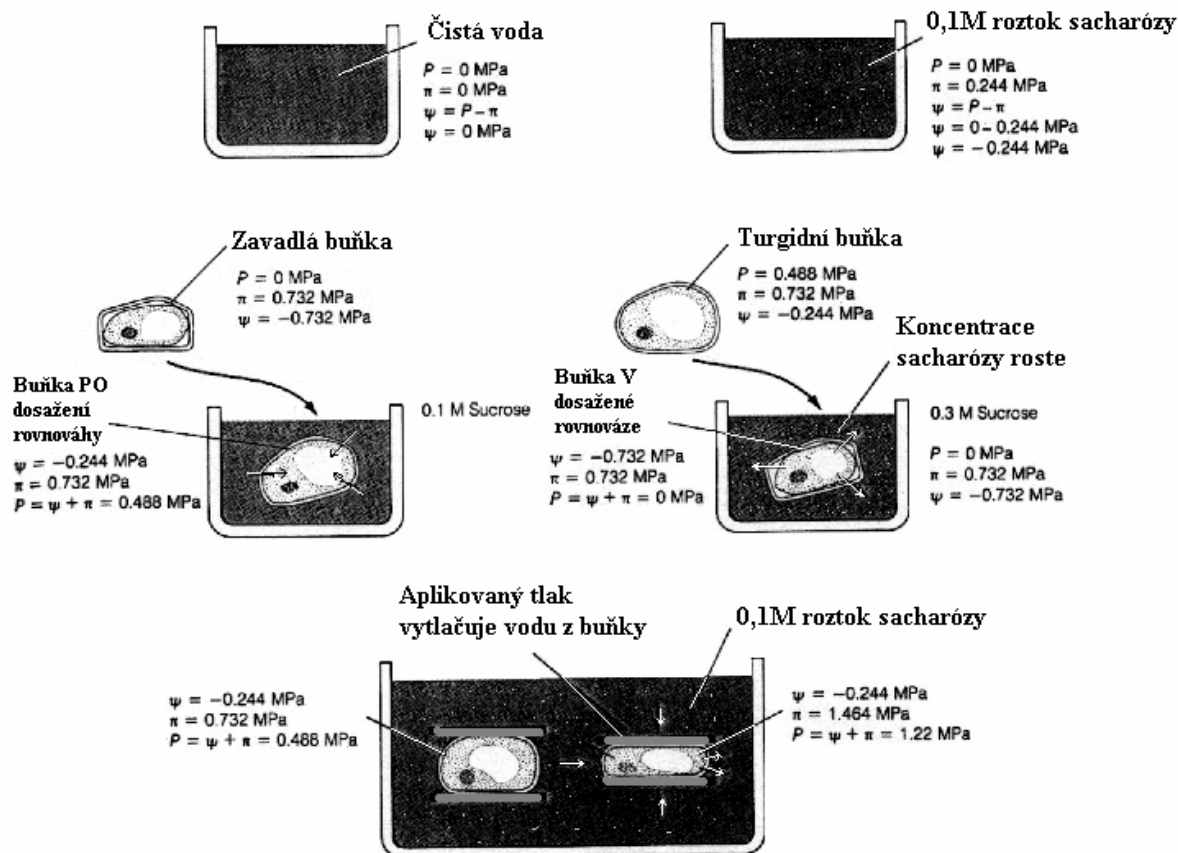
Vodní potenciál je dán tlakovou složkou neboli turgorem, osmotickou složkou a matričním potenciálem. Matriční potenciál je dán tím, že se v buňce, ve stěně a membránách, nacházejí koloidní struktury, které jsou osmoticky aktivní. Základem pro pohyb vody jsou pouze a jen rozdíly v hodnotě vodního potenciálu.

Vzhledem k tomu, že částice rozpuštěné v protoplazmě, či obsažené v organelách nesou svůj náboj, je možné změnu chemického potenciálu těchto částic určit na základě jejich elektrického náboje, tedy elektrické složky chemického potenciálu. Protože hlavní složkou těchto změn je právě nábojová složka, hovoříme o **elektrochemickém potenciálu**.

Platí zde:

- 1/ ionty spontánně putují ve směru klesajícího elektrochemického potenciálu je to exergonický děj,
- 2/ proti elektrochemickému potenciálu fungují v buňkách speciální iontové pumpy. Tyto pumpy ovšem potřebují dodávat energii,
- 3/ je-li diference elektrochemického potenciálu mezi dvěma místy nulová, pak se jedná o stav termodynamické rovnováhy, i když například koncentrace v rovnováze nejsou.

Uvnitř buňky existují různé útvary membránově ohraničené. Vzhledem k tomu, že biomembrány jsou elektricky špatně vodivé a mají více či méně omezenou permeabilitu pro ionty, vzniká zřetelný rozdíl elektrického potenciálu na obou stranách membrán. Tento potenciál se nazývá **membránový potenciál**, který vzniká když:



OBR.5.3. PŘÍKLADY VZTAHŮ SLOŽEK VODNÍHO POTENCIÁLU

Poznámky k obrázku:

- 1) Voda teče spontánně jen z místa s vyšším (pozitivnějším) vodním potenciálem do místa s nižším (negativnějším) vodním potenciálem.
- 2) Opačným směrem může voda téci jen při dodání energie.
- 3) Nulovým bodem škály vodního potenciálu je hodnota standardního stavu (čistá voda, normální tlak, teplota, poloha).

- 1/ anionty a kationty elektrolytů mohou pronikat membránou s rozdílnou rychlostí. Jedná se o tzv. *difúzní potenciál*.
- 2/ ionty tvořící jisté strukturní útvary nemohou penetrovat membránou, vážou k sobě ionty opačně nabitě a to vede k nábojové nerovnováze na membráně. Tento stav se nazývá *Donanův potenciál*
- 3/ *aktivní transport iontů* (za spotřeby) energie vede k diferenciaci iontů na obou stranách membrány.

VODNÍ PROVOZ BUŇKY

Voda se v rostlinné buňce vyskytuje ve *více formách*. Je *chemicky vázána* v různých složkách protoplazmy, jako *voda hydratační* je spojena s ionty a je rozpouštědlem pro mnohé organické molekuly a makromolekuly. Vyplňuje prostory v buněčné stěně. Je ukládána do zásoby ve vakuolách. V neposlední řadě voda slouží jako transportní médium mezi buňkami.

Hydratační voda tvoří asi 5-10% obsahu vody v buňkách, ale je nezbytně důležitá pro život buňky. Jakkoliv malé změny v obsahu hydratační vody jsou spojeny s dalekosáhlými změnami protoplazmatické struktury. Značná část této vody je vázána v buněčné stěně, kde je vázána kapilárními silami. V buněčných stěnách je voda držena silou 15-150 barů v závislosti na hustotě, s kterou jsou celulózové fibrily stěny k sobě shromážděny. Povrchové síly zadržující vodu ke strukturálním elementům buněčné stěny, plazmatických koloidů jsou vyjadřovány **termínem matriční potenciál**.

Nejsnadněji transportovatelná voda je v těch buněčných kompartmentech, které jsou specializovány na funkci zásobníků vody a roztoků. Mezi místy buňky s rozdílnou **hodnotou vodního potenciálu**, který je tvořen **složkou tlakovou, osmotickou a matriční**, jsou splněny podmínky pro pohyb vody. Vodní bilance buňky je spojena především s dostupností vody v buněčném okolí. Pohyb se uskutečňuje až do okamžiku dosažení rovnováhy mezi vodními potenciály.

TRANSPORTNÍ PROCESY

Když se voda pohybuje z půdy přes rostlinu do atmosféry, prochází odlišným prostředím. Mechanismy jejího transportu se rovněž mění v závislosti na prostředí, kterým voda prochází (buněčná stěna, cytoplazma, membránová dvojvrstva). To vyžaduje kombinaci různých typů transportu.

Difúze

Pohyb molekul vody není statickým jevem. Molekuly jsou v neustálém pohybu, narážejí do sebe a vyměňují si kinetickou energii. Difúze je proces, který vzniká důsledkem náhodného termálního pohybu molekul z oblastí o jejich vyšší koncentraci do oblastí s jejich nižší koncentrací. *Difúze je popsána Fickovým zákonem:*

$$J_s = -D \frac{\Delta C}{x}$$

kde rychlost toku substance J_s je množství látky protékající plošnou jednotkou za jednotku času. Fyzikální rozměr je $\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Difúzní koeficient D je konstanta, která udává jak snadno se daná substance pohybuje daným prostředím. Koncentrační gradient ΔC představuje rozdíl v koncentraci dané substance mezi dvěma body na vzdálenost x .

Z Fickova zákona je možné, byť poněkud složitě, odvodit čas, který potřebuje sledovaná substance k difúzi přes určitou vzdálenost. Pro příklad transportu molekuly přes typickou buňku o rozměru $50 \mu\text{m}$ a při hodnotě difúzního koeficientu $10^{-9} \text{ m}^2\text{s}^{-1}$. Je tento čas malý,

asi 2.5s. Transport na vzdálenost 1 m ale již činí 24 roků! Je tedy zřejmé, že difúze je vhodný transportní proces pouze na krátké vzdálenosti!

Objemový tok

Druhý typ transportu - *objemový tok* je přenosem skupin molekul v závislosti na gradientu tlaku. Tento transport vyjadřuje Poiseuillova rovnice:

$$J_m = \frac{\pi r^4}{8 \eta} \frac{\Delta P}{\Delta x},$$

kde η je viskozita roztoku. Objemový tok, je hlavním typem transportu na dlouhé vzdálenosti.

PŘÍJEM VODY

Transpirace, tedy výdej vody rostlinami, příjem vody a její vedení v rostlině z kořenů k listům jsou spojené procesy tvořící vodní bilanci rostliny. Vodní deficit vzduchu (saturační obsah vody pro danou teplotu minus aktuální obsah vody) je hlavní silou pro *evaporaci*.

Rostliny umí absorbovat vodu svým povrchem, ale hlavní část vody přichází z půdy. Voda infiltruje půdu po srážkách směrem ke hladině podzemní vody. Ve vysoce propustných půdách tato penetrace činí několik metrů za rok, ve velice hutných jílovitých půdách je to několik centimetrů. Část této infiltrující se vody zůstává zachycena v půdních pórech a tvoří kapilární vodu. Póry o průměru 10 mikrometrů slouží jako kapiláry, póry o průměru nad 60 μm propouští vodu jako vodu gravitační.

Obsah vody v půdě, která je vodou saturována po průchodu vody gravitační se nazývá **polní kapacita**.

Hlavní část vody, která v půdě zůstává po translokaci gravitační vody je *voda kapilární*. Část vody je *vázána na půdní koloidy* a může být vázána i osmotickými silami. Když půda není vodou plně saturována, vodní potenciál půdy se stává více negativní. Hlavní složkou vodního potenciálu v půdě je potenciál matriční.

Rostlina získává vodu z půdy jedině tehdy, když *vodní potenciál jemných kořenů je více negativní než je potenciál v půdě a v půdním roztoku*. Rychlost absorpce vody je rychlejší čím větší je absorpční povrch.

Koncentrace buněčného roztoku uvnitř kořenových buněk je dostatečně silná na to, aby vodní potenciál byl dost negativní vzheledem k situaci v půdě, takže voda teče do kořenů. Polní plodiny dosahují potenciálu hodnot kolem -10-20 barů, lesní dřeviny asi -30 barů.

Teplota půdy ovlivňuje příjem vody rostlinami a rovněž ovlivňuje kapacitu kořenů pro příjem vody a působí i na hodnoty odporů k transportu vody. Rostliny lépe získávají vodu z teplejších půd než z půd studených. Při nízkých teplotách klesá permeabilita protoplazmy pro vodu a zpomaluje se růst kořenů.

CESTA VODY K ROSTLINĚ

Uvnitř rostliny se voda pohybuje podél gradientu vodního potenciálu prostřednictvím difúze (transport na krátké vzdálenosti) a prostřednictvím kondukce a objemového toku v xylému (transport na dlouhé vzdálenosti).

Difúze mezi buňkami je především způsobena osmotickými silami a silami kapilárními, kde buněčné stěny fungují jako knot. Tímto způsobem postupuje voda parenchymem kořenového kortex až dosáhne endodermis. Kořenový kortex slouží jako rezervoár vody, který je schopen krátkodobé kompenzace jistých výkyvů. V centrálním válci kořene dochází k přechodu na transport na dlouhé vzdálenosti. Voda se pohybuje hlavně konduktivními silami danými vlastnostmi vody a kapilárními silami danými vlastnostmi vodivých elementů. Rostlina v podstatě přemostňuje gradient vodního potenciálu mezi půdou a vzduchem. Protože listy a stonky jsou vystaveny vodními deficitem vzduchu t.j. o nízkém vodním potenciálu, je tento transport z termodynamického hlediska možný. Tok vody je dán:

$$J = \Delta\Psi / \Sigma r,$$

Kde $\Delta\Psi$ je rozdíl potenciálů v systému půda-rostlina-vzduch a Σr , je součet všech transportních odporů.

Příklad gradientu vodního potenciálu:

kořen xylemový paprsek - 2.1

kmen xylem - 4.2

list xylemová žilnatina - 8.1

palisádový parenchym -11.9

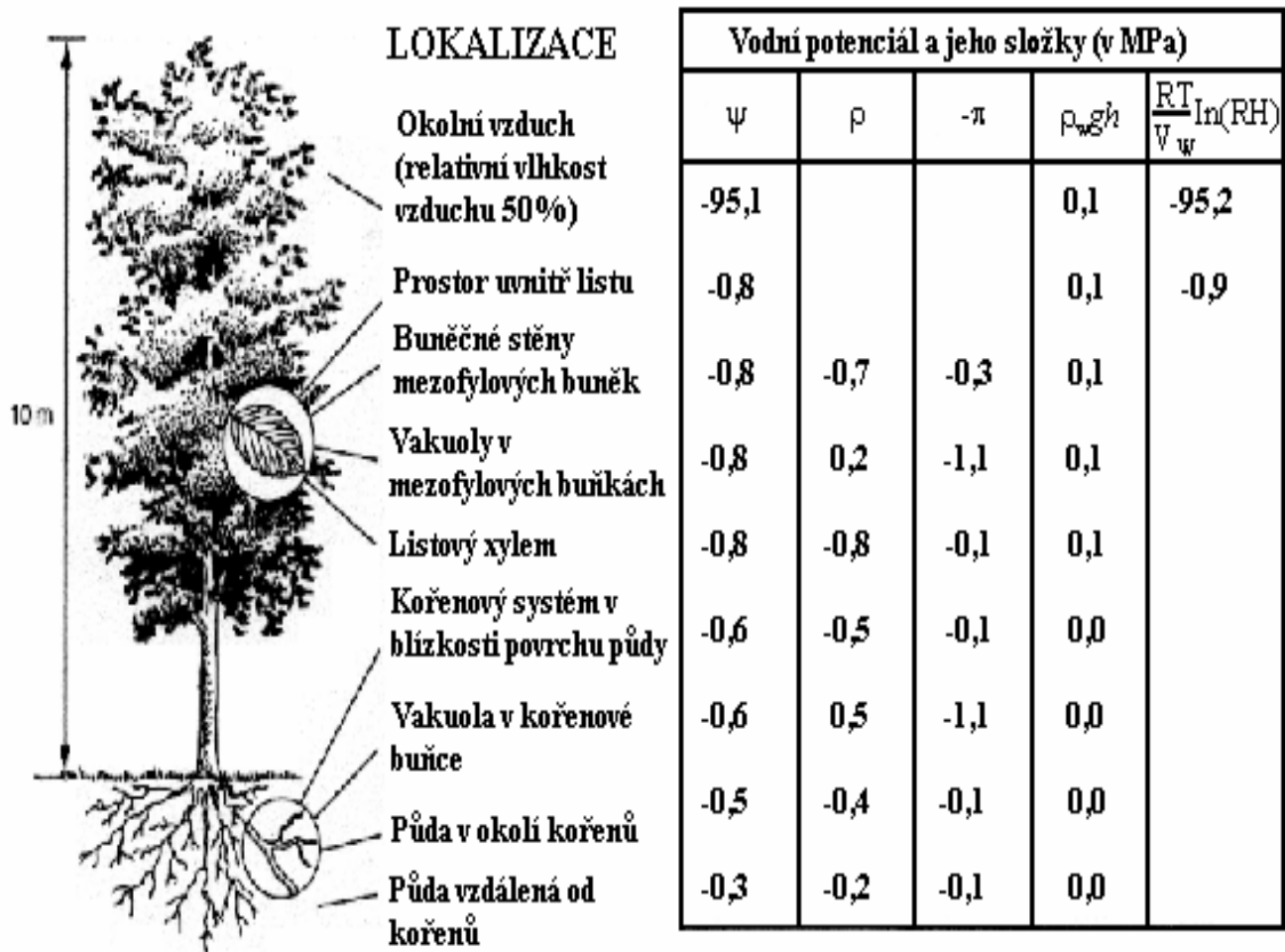
Transport vody z půdy, kořeny, kmenem až do listů se děje v kapalně fázi a od listů do atmosféry je to transport ve fázi plynné.

Příjem vody kořeny

Bezprostřední kontakt kořenů s půdním povrchem je důležitou podmínkou pro efektivní absorpci vody. Tento kontakt je maximalizován kořenovým vlášením, které mnohonásobně zvyšuje sorpční povrch kořenů

V půdě se voda pohybuje především objemovým tokem. Z kořenové epidermis ke kořenové endodermis existuje více cest, kudy voda teče. Je to především **apoplasmatická** cesta transportu. Voda teče *přes vrstvy buněčných stěn*, aniž by překročila jakoukoliv membránu. Termín apoplast je vyhrazen pro systém buněčných stěn a mezibuněčných prostorů. Voda tedy teče v tomto prostoru *objemovým tokem a prostou difúzí*. K zásadní změně v toku vody dochází v endodermis, kde je pohyb vody blokován **Gaspariho kroužky**, tedy překradou tvořenou impregnovanými buněčnými stěnami. Hlavní složkou těchto kroužků je suberin, který je nepropustný pro vodu. Na tomto místě dochází *ke změně transportu vody z apoplasmatického na symplastický*. Symplastický transport znamená, že voda se pohybuje přes membrány t.j. přes plazmalemu, tonoplast i membrány organel. Není znám speciální systém membránových přenašečů vody. Pohyb vody buňkou se děje pouze difúzí. Komunikace a tedy i transport mezi buňkami se děje prostřednictvím již známých plazmodesmat Pohyb vody v kořenech je charakterizován hydraulickou vodivostí. Ta je v přímé souvislosti s respirací kořenů.

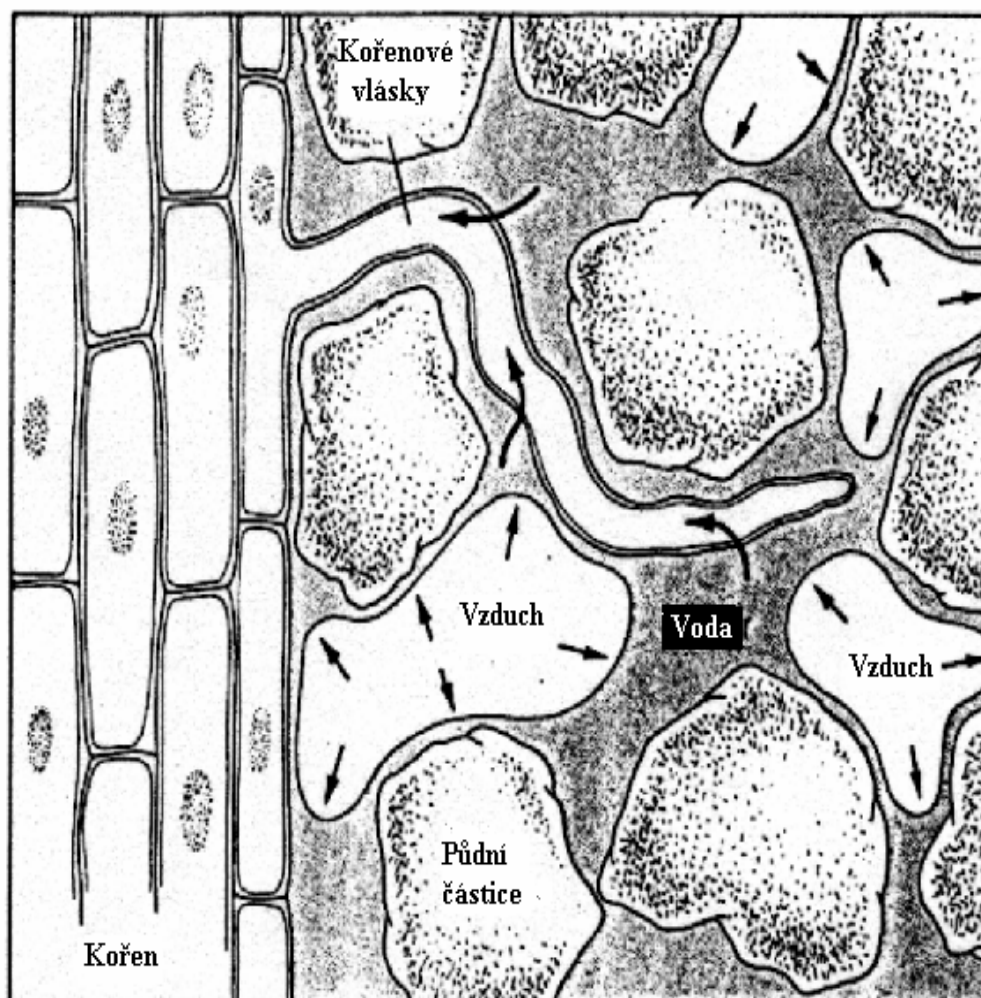
OBR. 5.4. GRADIENT VODNÍHO POTENCIÁLU VE STROMU



Kořenový vztlak

Příčinou kořenové vztlaku jsou vztahy mezi vodním potenciálem kořenů a stonku. Kořeny absorbují spolu s vodou i v ní rozpuštěné ionty. Tento roztok je pak transportován do xylému. To způsobuje, že narůstá xylemový osmotický potenciál. Tento potenciál je samozřejmě příčinou toho, že do xylému teče více vody, a tak narůstá i hydrostatický tlak v xylému. Tento tlak působí na kořenový systém, který je možné chápat jako soustavu buněk se svým turgorovým tlakem. Právě reakce turgorového tlaku kořenů na hydrostatický tlak xylému je příčinou kořenového vztlaku, který známe jako tvorbu kapky vody na uříznutém stonku či na pařezu uříznutého stromu.

Kořenový vztlak je příčinou vylučování vody v kapalně fázi známého pod pojmem gutace. To je výdej vody přes hydatomy. Kapky takto vyloučené vody často pozorujeme na rostlinách ráno. Gutace se objevuje vždy, když transpirace je omezena vysokou relativní vlhkostí vzduchu v okolí listů.



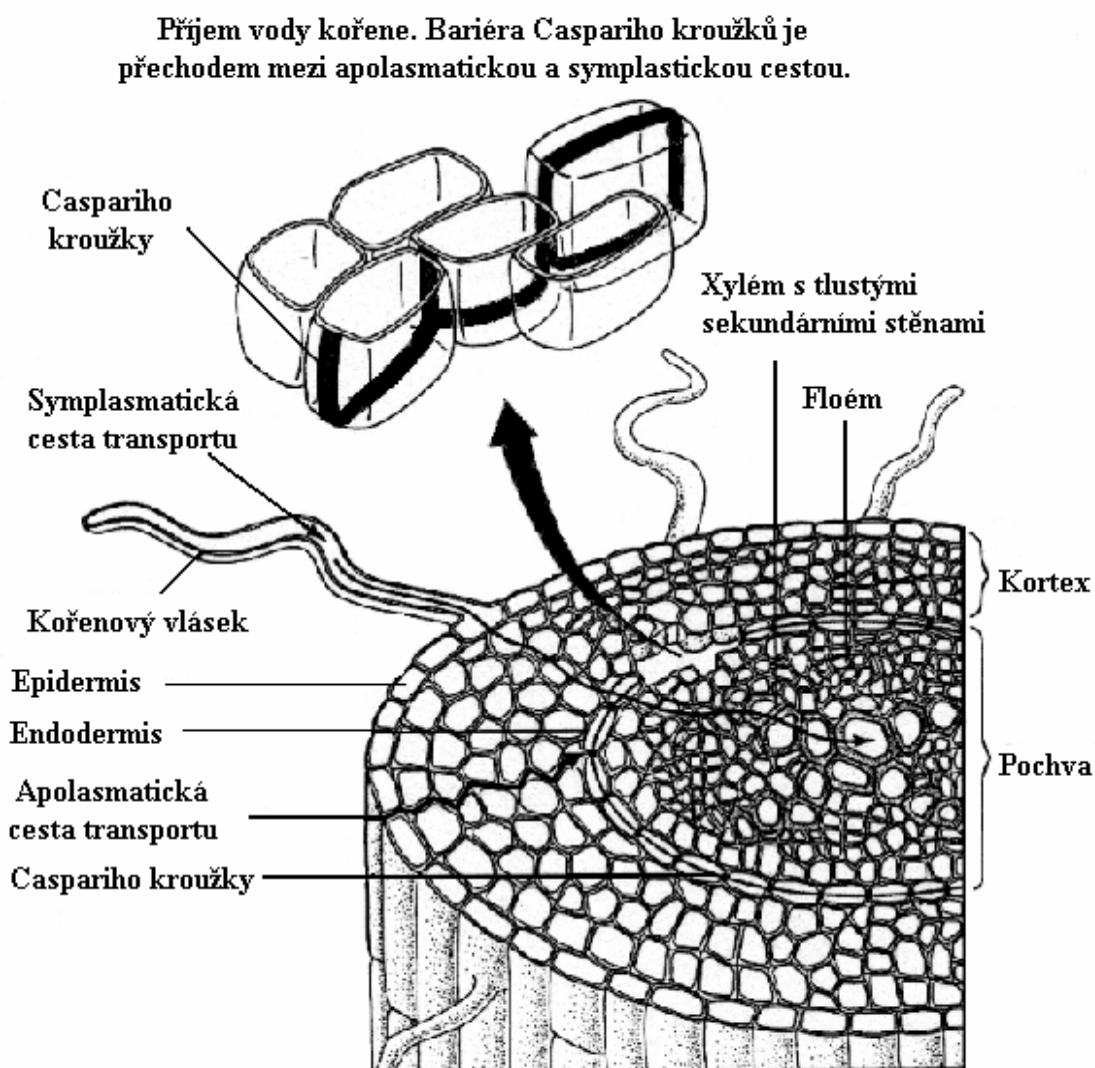
OBR. 5.5. LOKALIZACE VODY V PŮDĚ

Rychlost toku vody

Množství vody tekoucí daným systémem za jednotku času je tím větší čím větší je plocha průřezu vodivých elementů- konduktivní plocha. Tato konduktivní plocha je často vyjadřována ve vztahu k množství biomasy rostliny, kterou zásobuje. Relativní konduktivní

plocha je měřítko snadnosti s jakou je daný orgán či část rostlinného těla nasycena vodou. Její hodnota je velká u rostlin, které transpirují velice intenzivně.

Maximální rychlost toku vody je rovněž různá. Například u jehličnanů činí 2 m za hod. U bylin 10-60 m hod. Rychlost toku je (za předpokladu, že nejsou překážky v kořenech apod.) přímo určována rychlostí transpirace.

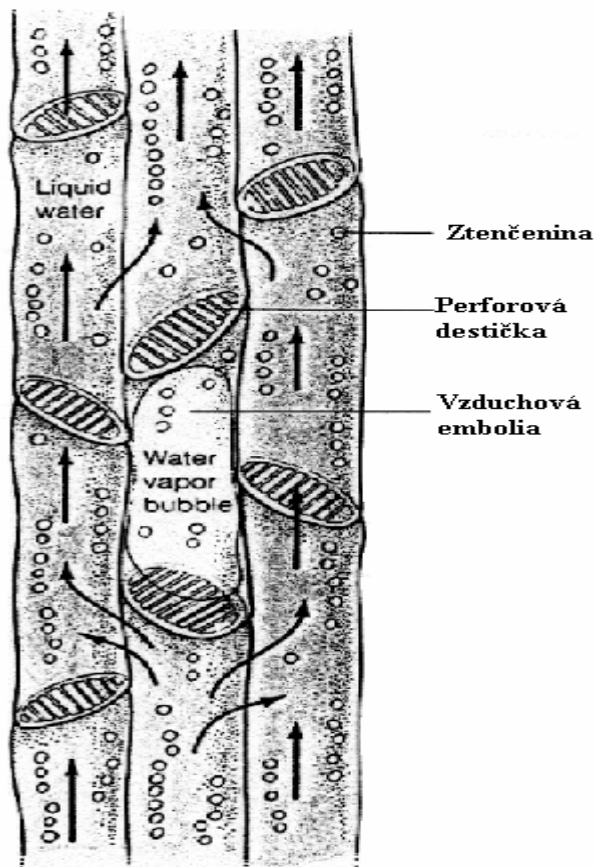


OBR. 5.6 TRANSPORT VODY V KOŘENECH

TRANSPORT VODY V ROSTLINĚ

Dálkový transport vody v rostlině se uskutečňuje xylémem, respektive vodivými elementy, které mají všechny znaky kapilár. Vodní sloupec je tvořen hlavně kohezními silami molekul

vody, které dosahují hodnot 30-50 barů. Víme, že pro kapilární elevaci vodního sloupce jsou rozhodující hlavně rozměry kapiláry, tedy jejich poloměr. Ten se v průběhu evoluce rostlin ustálil v intervalu 20-200 μm.



Transport vody ve vodivém systému

Xylemový transport vody se děje na základě rozdílu vodního potenciálu. Návaznost mezi jednotlivými xylemovými elementy je uskutečněna prostřednictvím párů ztenčenin dvou sousedních tracheid. Tyto páry mají nízký hydraulický odpor, a proto transport jde snadno. Vodivé buňky xylému transportují vodu pod jistou tenzí. To je principiálně i příčinou jevu zvaného kavitace, tedy tvorby vzduchových bublin uvnitř cév. Kavitace blokuje transport a její eliminace se děje spoluprací sousedních vodivých elementů.

Kontinuální pohyb vody z půdy přes rostlinu až do atmosféry se uskutečňuje z části v kapalně a z části v plynné formě.

OBR.5.7 TRANSPORT VODY V XYLEMOVÝCH DRAHÁCH

Rychlost transpirace je:

$$E = F/\Delta r \cdot (w_i - w_a),$$

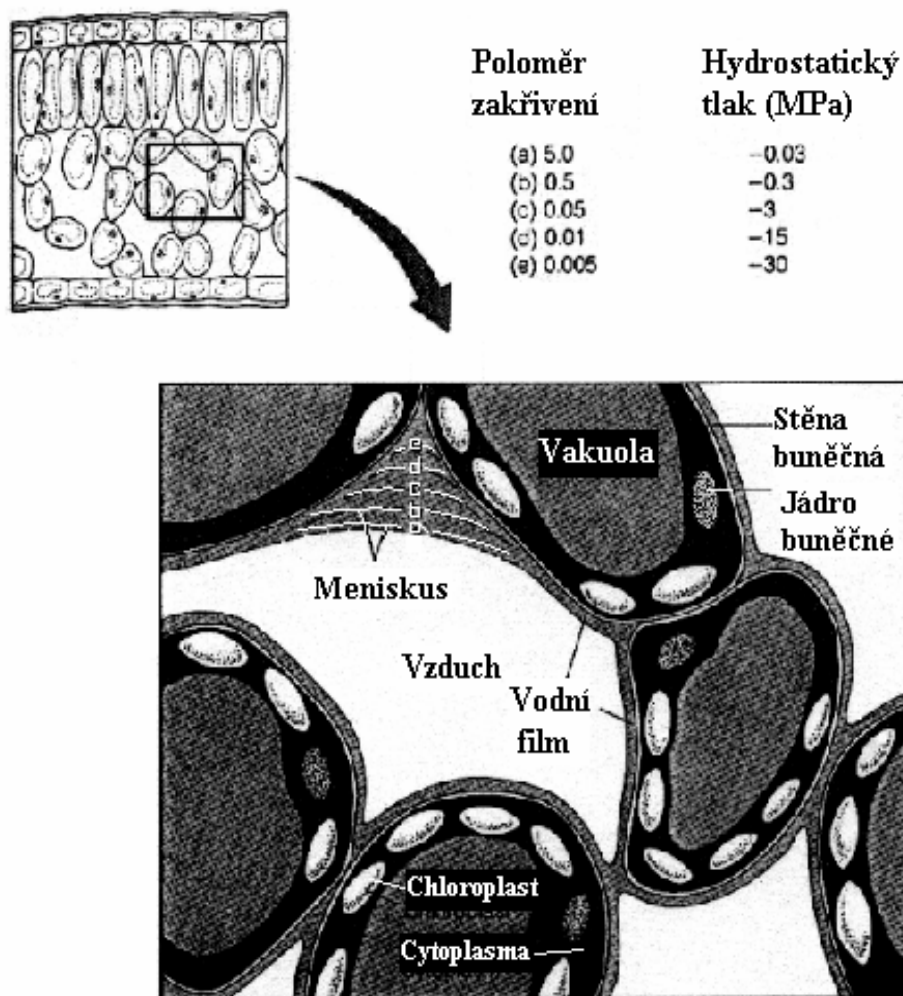
kde F množství listové plochy Δr je suma všech transportních odporů na cestě z listu ven w_i , w_a je množství vodní páry uvnitř a vně listu.

Transport vody, lépe řečeno roztoku vody a v ní rozpuštěných látek, od kořenů k místům výparu v průduchových dutinách v listech je značně ovlivňován sérií filtračních odporů při překonávání jednotlivých buněčných stěn, odporů souvisejících s interakcemi uvnitř vodivých elementů. To jsou síly typu adheze. Rovněž sama viskozita sapu přispívá k těmto odporům. Suma těchto odporů tvoří **celkový hydraulický odpor** nebo univerzálně **hydraulickou vodivost**.

Existence těchto odporů a systému vedení je vhodně modelována aplikací Ohmova analogového odporového modelu, který je užíván pro kvantifikaci vazeb mezi steady-state tokem a vodními potenciály v jednotlivých částech rostliny. Pomocí tohoto modelu je rostlina představována jako jednoduchá soustava hydraulických odporů.

Použití této analogie předpokládá, že za steady-state podmínek je tok vody stejný ve všech částech rostlinného těla. Zmíněný tok se vyjadřuje jako objemový tok, tedy objem vody tekoucí za jednotku času na jednotku plochy.

Vzhledem k tomu, že oxid uhličitý, který je nezbytným substrátem fotosyntézy, vstupuje do rostliny průduchy, nastává jistý antagonismus mezi tím, kolik vody může rostlina vypařit, tedy i vydat prostřednictvím průduchů, a nezbytností přijímat oxid uhličitý. Vzhledem k tomu, že pletiva uvnitř listů jsou trvale saturována vodou, je zřejmé, že transport vody musí být nejen kontinuální, ale i dostatečný.



OBR. 5.8 VÝPAR VODY V LISTECH

Tok vody v rostlině a ve stromě zvláště je transportem značného množství hmoty. Tento transport je podmíněn již zmíněným gradientem vodního potenciálu a energetickým vstupem daným sluneční radiací, která poskytuje teplo pro výpar.

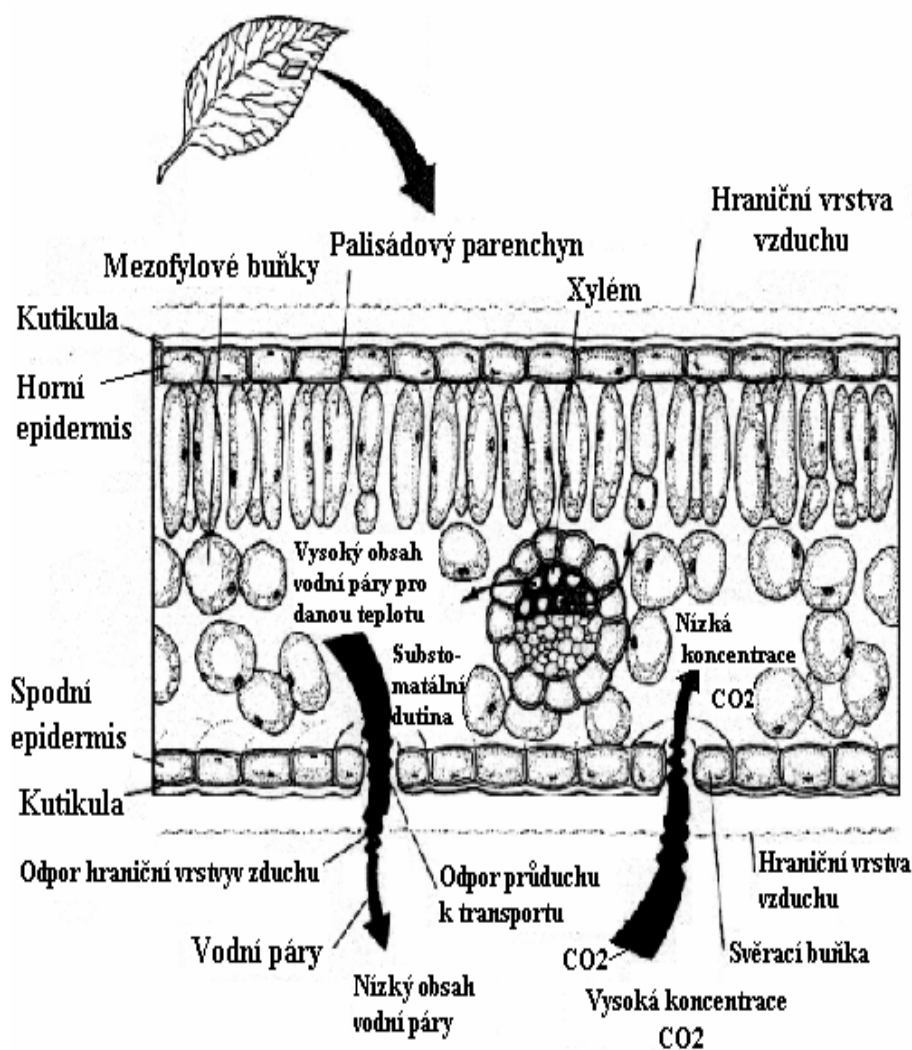
Výparný povrch, to jsou povrchy mezofylových buněk uvnitř listu, je mnohonásobně vyšší než je plocha vodivého xylému, která je k dispozici pro zásobování těchto povrchů. Důsledkem toho je, že voda se musí v rostlině pohybovat značnou rychlostí. Dále se nabízí předpoklad, že listová plocha, tedy výparný povrch, musí být nějak v relaci k ploše průřezů

vodivých elementů. Skutečně byla prokázána lineární závislost mezi těmito veličinami pro řadu specií. Analýzou těchto výsledků pro dřeviny bylo prokázáno, že sklon závislosti mezi listovou plochou a plochou příčného průřezu sapwoodu, tedy té části dřeva, která obsahuje fungující xylemové elementy, je proporcionální hydraulické vodivosti, tedy reciproký k hodnotám hydraulických odporů.

Tato analogie vedla k formulování tzv. *“pipe model teorie“*, která říká, že rostlina či strom je soustava jednotlivých dlouhých trubic, z nichž každá sama o sobě je spojena s jednotkami listů.

V zásadě se celý hydraulický systém rostliny, stromu, vyrovnává přes noc, kdy jsou průduchy zavřené. Na konci noční periody pak předpokládáme, že vodní potenciál listů je roven potenciálu kmene a půdy. Celý systém transportu na dlouhé vzdálenosti, xylemový systém, je značně náchylný k poruchám. Tyto dysfunkce se objevují tehdy, když část systému není schopna vést vodu. K tomu dochází při mechanickém ucpání tracheid. Závažným poškozením je tvorba embolií uvnitř kapilár. Embolie přeruší vodní sloupec. Rovněž jiné stresy jako zimní promrznutí, působení patogenů, může vést k poškození tohoto systému.

OBR. 5.9 VÝPAR VODY Z LISTU - TRANSPIRACE



VÝPAR VODY Z LISTŮ

Výpar vody je proces spotřeby tepla. Voda se vypařuje na rozhraní vzduch-kapalina v buněčných stěnách mezofylu, epidermálních a svěracích buněk a pak difunduje z listu. Transpirace je tedy významná ztráta vody a tepla.

Tok vodní páry difundující z povrchu listu při transpiraci je:

$$J = H_{vap} D_v (c_i - c_a) / x_{total},$$

kde H latentní teplo nutné k vaporaci jednotkového množství vody, D difúzní koeficient pro vodní páru, c koncentrace vodní páry uvnitř a vně listu, x odpor k transportu

Efektivnost ztráty tepla výparem vody je značná. Např. typická hodnota J rovna $4 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ vede k výdeji tepla 180 W m^{-2} . Zbytek tepelné energie je odváděn kondukcí přes hraniční vrstvu a pak konvektivně pryč.

Základem tohoto odvodu vodní páry a tepla je rozdíl v obsahu vody uvnitř listu a ve vzduchu vně listu. Když je tento obsah větší vně listu než uvnitř, situace se obrací. Tok jde směrem k listu až obsah vodní páry dosáhne nové saturační hodnoty. Je-li dosažená hodnota vyšší než nová saturační v listu, tvoří se vodní film, nebo je-li teplota pod bodem mrazu, tvoří se na povrchu listu led.

Jak již bylo řečeno, výpar z listu je tím větší čím je větší gradient vodního potenciálu. Toho je dosaženo tím, že evaporizující povrch je nasycen vodou a je teplejší než vzduch v okolí. Silná iradiace slunečními paprsky vede k oteplování listů, a tak vzniká ostřejší gradient v obsahu vody. Toto je základem pro transpiraci v tropických pralesech, kde je obecně obsah vody ve vzduchu značně vysoký a tak jsou podmínky pro vytvoření potenciálového gradientu špatné.

Transpirace za podmínek *nelimitovaného dodávání vody* se nazývá **transpirací potenciální**. Aktuální transpirace je menší než potenciální.

Příklady hodnot rychlosti transpirace

hydrofyt	5.5 mg H ₂ O m ⁻² s ⁻¹
tundrové trávy	2.2
jehličnany	13.8
listnáče slunné	27
stinné	13.8

Základním místem výparu vody z listu je bezprostřední okolí stomatální dutiny. U cévnatých rostlin je tak hlavní složkou transpirace **stomatální transpirace**. To je značná výhoda, neboť se jedná o transpiraci jistým způsobem regulovanou. Mimo této složky se vyskytuje transpirace **kutikulární a peridermální**. Obě tyto složky *nejsou fyziologicky regulovatelné* a jsou v podstatě závislé pouze na příkonu tepelné radiace.

Transpirace je difúzní proces závislý na rozdílu koncentrace vodní páry uvnitř a vně listu.

Hodnoty- hraniční vrstva 50 s m^{-1} , stomata $200-1000 \text{ s m}^{-1}$, interceluláry 100 s m^{-1}

Základním regulačním místem transpirace jsou průduchy. Míra jejich otevřenosti se udává hodnotou odporů průduchů či inverzně hodnotami průduchové vodivosti.

Jednou z nejzávažnějších otázek, která je spojena s produkční aktivitou (konkrétně její regulací), je problematika stomatální (průduchové) vodivosti. Průduchové reakce mají dominantní úlohu v řízení transpirace a toku oxidu uhličitého vegetací. Rychlost transpirace E je přímo úměrná vodivosti průduchů g_s a závisí na zachycené sluneční radiaci I_a , vodním sytostním deficitu vzduchu D , teplotě vzduchu T a rychlosti větru u :

$$E = f/g_s, I_a, D, T, u/$$

Regulace otevřenosti průduchů je založena na **vlhkostním a CO₂ senzoru**. Průduchová vodivost korunové vrstvy g_c je součtem vodivostí jednotlivých listů a vykazuje zřetelnou vertikální distribuci své hmoty. Směrem ke spodním partiím vodivost klesá. Zřetelné rozdíly v hodnotách g_c mezi jednotlivými korunovými zónami souvisejí i s tím, že reaktivita průduchů svrchní korunové zóny je vyšší než reaktivita průduchů spodní korunové zóny tzn. že průduchy v horní části korunové vrstvy reagují rychleji na změny I_a, D, T a u . Podrobná analýza průduchových reakcí v porostním měřítku doposud chybí. Na rozhraní „porost-přízemní vrstva atmosféry“ vznikají výrazné turbulentní jevy. Toto intenzivní promíchávání vzduchu spolu s malými rozměry (délkovými či tloušťkovými) listů (jehlic) je příčinou tenké hraniční vrstvy vzduchu při povrchu listoví. Z těchto důvodů jsou listy (jehlice, letorosty) dřevin v porostech velice **silně spřaženy, ovlivňovány, svázány** („coupled“) s atmosférou, která obklopuje listy. V podstatě to znamená, že *dokonalé spřažení vede k absolutní výměně výše uvedených složek, t.j. teploty a vlhkosti vzduchu, vodního sytostního deficitu a koncentrace CO₂ mezi povrchem listu a okolní atmosférou*. To znamená, že podmínky na povrchu listu jsou naprosto shodné se stavem vzduchu v bezprostředním okolí listu. Tohoto stavu je dosaženo pouze tehdy, je-li list velmi dobře ventilován (vysoká aerodynamická drsnost porostu) a má-li velice tenkou hraniční vrstvu vzduchu na svém povrchu. Naproti tomu list, který je izolován od proudícího vzduchu, má silnou hraniční vrstvu. Protože teplo a vodní pára jsou neustále dodávány do vzduchu v okolí izolovaného listu a CO₂ je z tohoto vzduchu odebírán procesy fotosyntézy, musí teplota a vlhkost této vzduchové vrstvy stoupat. Tato situace může být modelově znázorněna průhlednou skříňkou, ve které je list uzavřen, a do níž pouze vstupuje sluneční radiace a teplo. K této situaci reálně nikdy absolutně nedochází, ale polní plodiny jsou jí, díky své malé výšce, velice blízko.

Stupeň spřažení je kvantitativně vyjadřován pomocí tzv. „**omega faktoru**“. Nejjednodušší stanovení omega faktoru je založeno na měření transpirace listu. Rychlost transpirace listu (výhonu) E_l je možno vyjádřit:

$$E_l = \frac{[g_s \cdot D_l]}{P},$$

D_l je saturační deficit na povrchu listu, P - atmosférický tlak.

Pro list absolutně spřažený s atmosférou v okolí listu je hodnota D_l vzduchu, který obklopuje list vnucena povrchu listu. Proto se rychlost transpirace za této situace nazývá transpirací **vynucenou**- $E_{limp.}$. Vynucení je dáno vlastnostmi (D_l, T, CO_2) okolního vzduchu, se kterým je list spřažen a tenkou hraniční vrstvou listu. Rychlost vynucené transpirace je dána vztahem:

$$E_{Limp.} = \frac{[g_s \cdot D_{limp}]}{P}$$

kde D_{limp} je hodnota vnuceného (vnucený vlastnostmi list obklopujícího vzduchu) saturačního deficitu. Naopak u absolutně izolovaného listu je rychlost transpirace určena pouze záchtem sluneční radiace. Jedná se tedy o **transpiraci rovnovážnou** - E_{leq} :

$$E_{leq} = \frac{[I_a \cdot \Delta]}{[e + 2] \cdot \Lambda}$$

kde Δ - změna tepla latentního v závislosti na teplotu zjevném Λ - latentní teplo.

Rychlost transpirace v reálných podmínkách lesních porostů probíhá někde mezi těmito extrémy. Vyjádření rychlosti transpirace listu E_l v termínech vnucené E_{limp} a rovnovážné transpirace E_{leq} pak je:

$$E_l = [\Omega \cdot E_{leq}] + \{ [1 - \Omega] / \cdot E_{limp} \}, \text{ kde}$$

Ω - tzv. koeficient spřaženosti neboli **Omega faktor**

Ω je bezrozměrné číslo ležící v intervalu 0-1. Hodnota Omega faktoru, která je *rovna jedné*, znamená, že list je **absolutně izolovaný**. *Transpirace listu je v rovnováze pouze s dodanou sluneční radiací a síla regulace stomatální vodivosti je slabší*. Naopak hodnota Omega faktoru *rovna nule* znamená, že list je **absolutně spřažený** s okolní atmosférou. Transpirace listu pak závisí především na D_a okolního vzduchu a vodivosti průduchů. *Omega faktor je vyjádřen:*

$$\Omega = \frac{[\Delta + 1]}{\Delta + 1 + [g_b / g_s]}$$

g_b je vodivost hraniční vrstvy vzduchu na povrchu listu.

Hodnoty Omega faktoru jsou silně závislé na rychlosti větru. Omega faktor kolísá v rozmezí od 0.97 (list dubu při rychlosti větru 0.2 m.s-1) až po hodnotu 0.01 (jehlice smrku sitky při rychlosti větru 5.0 m.s-1).

Uvedený koncept Omega faktoru vyjadřuje závažné skutečnosti, které souvisejí s regulací transpirace (nebo asimilace CO_2) a podílem stomatální vodivosti na této regulaci ve vertikálním profilu korunové vrstvy. Ve směru k bázi koruny klesá rychlost větru a listy jsou tudíž méně spřažené s okolní atmosférou, Transpirace a fotosyntéza jehlic spodních korunových zón je tedy řízena naprosto jiným mechanismem než transpirace a fotosyntéza svrchní korunové zóny.

Transpirace a fotosyntetická fixace oxidu uhličitého je velice těsně spojena. Pro vyjádření této vazby jsou užívány různé kvantifikátory. Základním je tzv. **efektivita využití vody v produkci**:

$$WUE = DW \text{ prod.} / \text{water consumption}$$

Příklady hodnot

byliny s C3 typem fotosyntézy	500 l H ₂ O na kg DW
tropické dřeviny	700
listnaté dřeviny m. pásma	280
jehličnaté dřeviny	250

Krátkodobější vztah je vyjádřen poměrem A_N/E , zvaným **fotosyntetická efektivnost využití vody**.

Vodní bilance rostliny je vyjádřena: $VB = \text{vodní obsah} - E$

Relativní obsah vody: $R = (FW - DW) / Act. - DW$

Vodní bilance porostů $P_r = W + L_E + L_s$

kde P_r vyjadřuje vstup vody srážkami do porostu, W - zásobu vody v biomase, $L_{E\ s}$ - vaporaci vody rostlinami a půdou

Faktory působící na transpiraci

Hodnoty vodních potenciálů listů:

byliny s C3 typem fotosyntézy	-20 bar
dřeviny listnaté m.pásma	-15
jehličnaté	-18

Typy vodní balance:

izohydrický typ - je to typ balance stabilní. Rostliny této kategorie dovedou udržet vhodný obsah vody během celého dne. Jejich průduchy regulují výdej vody velice efektivně Tyto rostliny mají i efektivní vodní rezervoáry.

anizohydrický typ je typem hydrolabilní balance.

.

Příklad vodní bilance dubového porostu:

	Léto	Zima
Vstup srážky	100%	100%
evapotranspirace	-81%	-23%
stok po kmeni	4%	10%
transpirace porostu	-58%	-12%
vsak do půdy	77%	90%

Metody měření vodního potenciálu

Termočlánekový psychrometr

Termočlánekový hygrometr rosného bodu

Tlaková komora

6. MINERÁLNÍ VÝŽIVA

Minerální látky neustále kolují mezi organismy a jejich prostředím. Jejich příjem a asimilace představují základní krok zabudování minerálů do biosféry. Biogenní prvky se v rostlinách účastní tvorby struktur organických látek, vážou se s organickými látkami, určují jejich funkce, modifikují prostorové parametry atp.

TRANSPORT ROZPUŠTĚNÝCH LÁTEK

*Vnitřní prostředí rostlin je závislé na kontinuálním pohybu molekul a iontů, který se uskutečňuje mezi rostlinou a jejím vnějším prostředím. Tento pohyb umožňuje rostlině akumulovat živiny a zbavovat se metabolických konečných odpadních produktů. Molekulární pohyb a pohyb iontů mezi různými částmi rostliny se nazývá **transport**. Transport se uskutečňuje jak mezi buňkami, tak uvnitř buněk. V zásadě rozeznáváme dva typy transportu: **pasivní a aktivní transport**.*

Dochází-li k transportu solí přes membránu, tak se zákonitě vytvoří i elektrický membránový potenciál, neboť spolu s látkovým množstvím dochází i k separaci neseného elektrického náboje. *Např., budou-li membránou do sebe odděleny dva roztoky KCl, tak v důsledku rozdílné schopnosti kationtů draslíků a aniontů chloru procházet membránou, dojde k jisté separaci náboje na obou stranách membrány, a vzniká tak elektrický potenciál. Vzhledem k tomu, že tento potenciál vznikl v důsledku difúze iontů, nazývá se difúzní potenciál.*

Dosáhne-li transport přes membránu rovnováhy, tak tok **J** je stejný v obou směrech transportu

přes membránu, tedy: $J_{o \rightarrow i} = J_{i \rightarrow o}$.

Je jasné, že tyto toky musí být úměrné své hnací síle, což je nám známý *chemický potenciál*. Chemický potenciál má několik složek:

$$\mu_j = \mu_j^* + RT \ln c_j + V_j P + z_j F E + m_j g h;$$

tj. složku koncentrační, elektrickou, tlakovou a gravitační. μ_j^* je chemický potenciál pro látku j za standardních podmínek. Složku tlakovou (malá hodnota ve srovnání s ostatními) a gravitační ($\Delta h = 0$) obvykle zanedbáváme, čímž se nám chemický potenciál redukuje na tvar

$$\mu_j = \mu_j^* + RT \ln c_j + z_j F E,$$

který označujeme jako **potenciál elektrochemický**. V rovnováze tedy platí: $\mu_o = \mu_i$. Víme, že potenciál se skládá ze složky tlakové, koncentrační, elektrické a gravitační. Rozdíl elektrického difusního potenciálu mezi dvěma membránou oddělenými kompartmenty je:

$$\Delta E_{Nj} = E_i - E_o = \frac{R \cdot T}{z_j \cdot F} \ln \left(\frac{c_j^o}{c_j^i} \right),$$

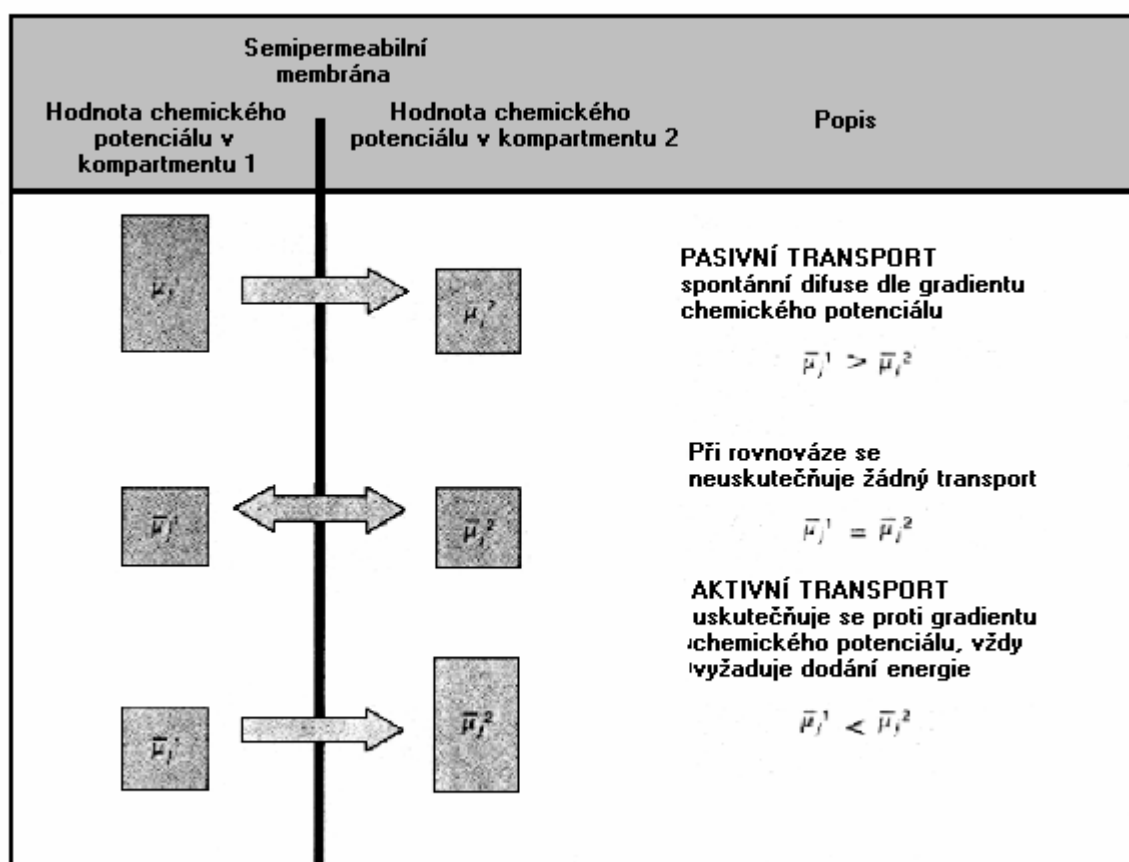
nazývaný **Nernstův potenciál**, kde R je univerzální plynová konstanta, T absolutní teplota, z velikost náboje, F Faradayova konstanta, c_j koncentrace iontů uvnitř (i) a vně (o) kompartmentu.

Hodnota Nernstova potenciálu vyjadřuje tu skutečnost, že při rovnováze je rozdíl koncentrací některých iontů oddělených membránou vyrovnáván rozdílem nábojů mezi těmito kompartmenty.

Nernstova rovnice je využívána k rozhodování o tom, zda při transportu přes membránu se jedná o pasivní či aktivní transport. Jestliže se ΔE_{Nj} pro nějaký iont rovná měřenému membránovému potenciálu, pak se jedná o pasivní distribuci iontu přes membránu. Nesouhra hodnot Nernstova potenciálu a membránového potenciálu indikuje aktivní transport iontu.

Jak již víme, obsahují biologické membrány celou řadu transportních proteinů, které umožňují *aktivní a selektivní transport*.

OBR. 6.1 VAZBY MEZI HODNOTOU CHEM. POTENCIÁLU A TYPEM TRANSPORTU

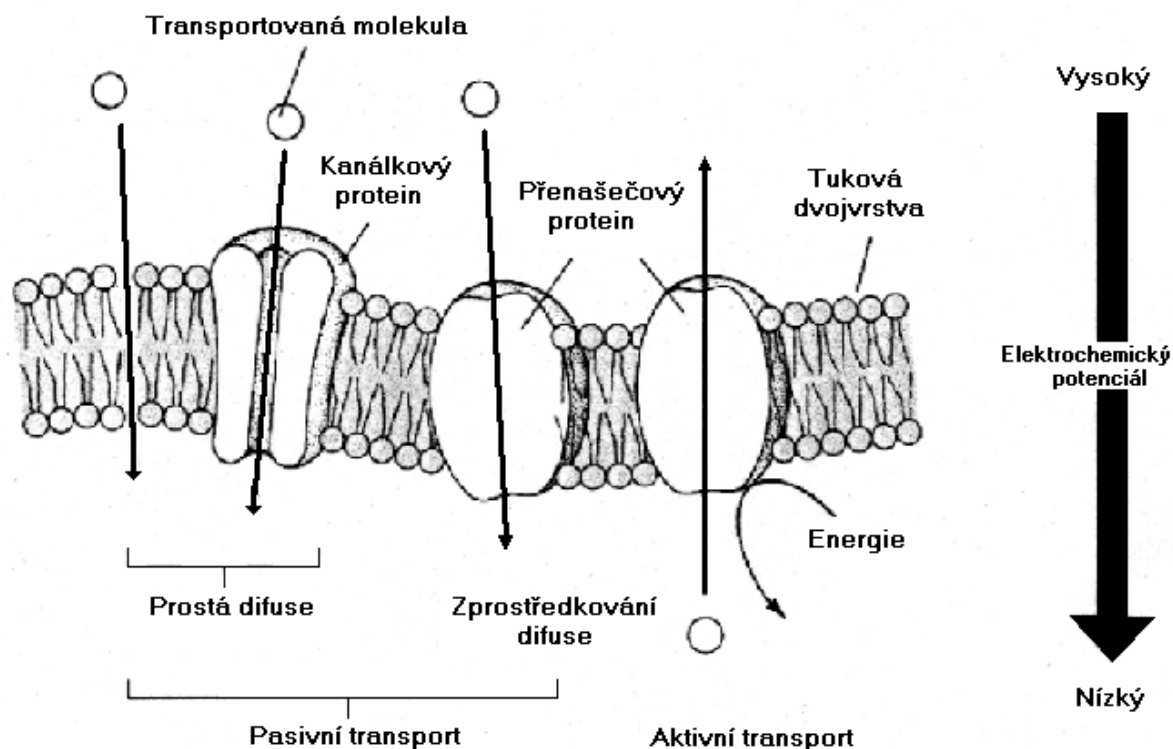


Transportní specifita je výsledkem aktivity řady transportních membránových proteinů, které jsou vysoce specifické vzhledem k substrátu.

Známe dva typy membránových přenašečů: **kanály** a **vlastní přenašeče**.

Kanály jsou transmembránové proteiny, které fungují jako selektivní póry v membráně. Četnost pórů, povrchový náboj jejich interiéru a jejich průměr pak určují jejich transportní specifitu.

OBR. 6.2 TYPY TRANSPORTNÍCH MECHANISMŮ NA MEMBRÁNĚ



Vazba a uvolnění přenášené látky z transportního proteinu sleduje stejnou kinetiku jako relace typu „enzym-substrát“ a dovoluje tedy použít nám již známých parametrů, jako je saturční rychlost a konstanta. Vzhledem k typu transportu lze říci, že prakticky všechny anionty jsou aktivně transportovány. Kationty jako je Na^+ , Ca^{2+} a Mg^{2+} vstupují do buňky hlavně ve směru elektrochemického potenciálu a jsou tedy transportovány pasivně difúzí.

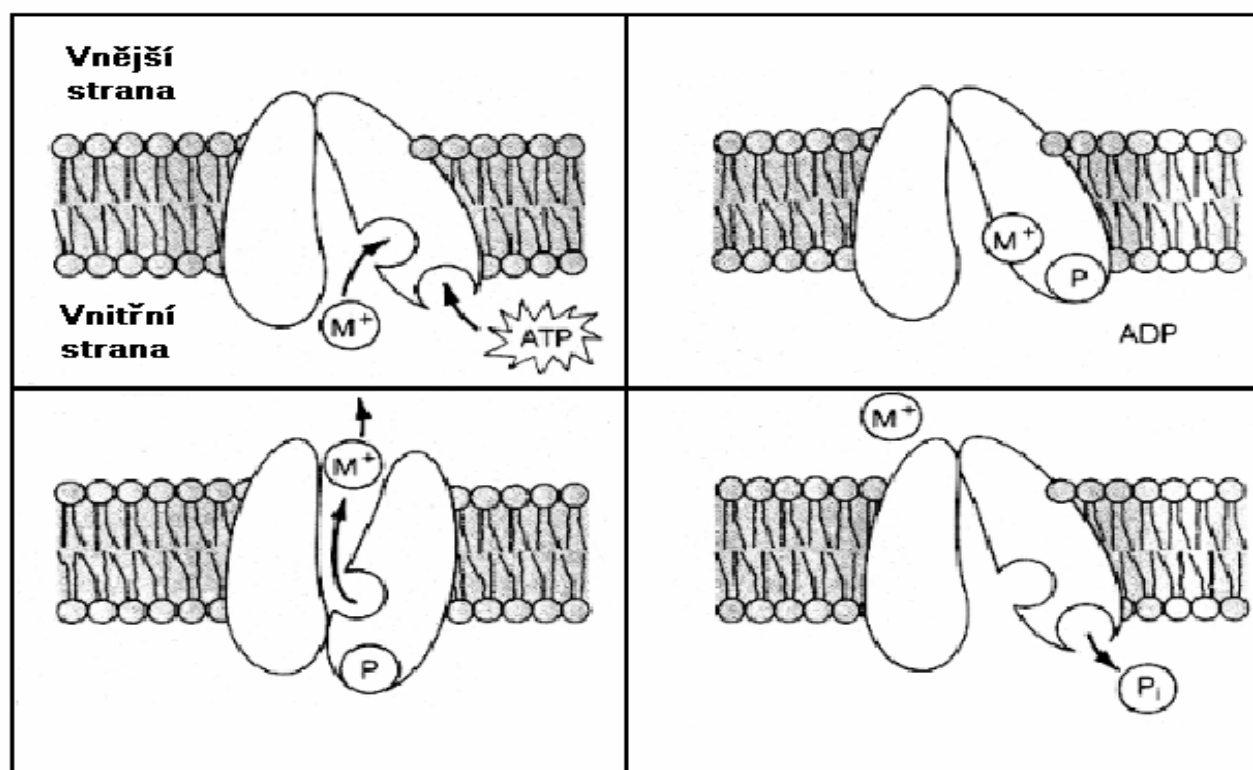
Regulace toku iontů na membráně je důležitá k zajištění dostatečné zásoby živin pro metabolické potřeby, ale i pro tvorbu řídicí síly umožňující tok jiných iontů proti difusnímu gradientu. Všechny rostlinné buňky mají značný elektrický potenciál na plazmalemě. Draslík má obecně nejvyšší vnitrobuněčnou koncentraci a je nejsnadněji transportovatelný přes membránu. To předurčuje, že vnitrobuněčný prostor je více negativní oproti vnějšku, protože K^+ snadno odtéká z buňky, kde zůstává více negativních iontů. Kdykoliv se nějaký iont pohybuje dovnitř či ven z buňky a tento pohyb není vyrovnáván pohybem opačného náboje, vzniká přes membránu napětí. Takový typ transportu nazýváme *elektrogenický transport*. Tento transport se uskutečňuje proti elektrochemickému gradientu a proto vyžaduje dodání energie, která je poskytována především *hydrolyzou ATP*. Takže, elektrogenický transport je transport aktivní a jeho přenašeče se nazývají **elektrogenní pumpy**.

Vazba a uvolnění přenášené látky z transportního proteinu sleduje stejnou kinetiku jako relace typu „enzym-substrát“ a dovoluje tedy použít nám již známých parametrů, jako je satu-

rační rychlost a konstanta. Vzhledem k typu transportu lze říci, že prakticky všechny anionty jsou aktivně transportovány. Kationty jako je Na^+ , Ca^{2+} a Mg^{2+} vstupují do buňky hlavně ve směru elektrochemického potenciálu a jsou tedy transportovány pasivně difúzí.

Regulace toku iontů na membráně je důležitá k zajištění dostatečné zásoby živin pro metabolické potřeby, ale i pro tvorbu řídicí síly umožňující tok jiných iontů proti difusnímu gradientu. Všechny rostlinné buňky mají značný elektrický potenciál na plazmalemě. Draslík má obecně nejvyšší vnitrobuněčnou koncentraci a je nejsnadněji transportovatelný přes membránu. To předurčuje, že vnitrobuněčný prostor je více negativní oproti vnějšku, protože K^+ snadno odtéká z buňky, kde zůstává více negativních iontů. Kdykoliv se nějaký iont pohybuje dovnitř či ven z buňky a tento pohyb není vyrovnáván pohybem opačného náboje, vzniká přes membránu napětí. Takový typ transportu nazýváme *elektrogenický transport*. Tento transport se uskutečňuje proti elektrochemickému gradientu a proto vyžaduje dodání energie, která je poskytována především *hydrolyzou ATP*. Takže, elektrogenický transport je transport aktivní a jeho přenašeče se nazývají **elektrogenní pumpy**.

OBR. 6.3 ELEKTROGENNÍ PUMPA



V principu může být elektrogenní *ATPásou* transportován každý iont. Specifita transportu je určena vazebným místem transportního proteinu. U rostlinných buněk byly doposud prokázány elektrogenní pumpy pouze pro vodík, známé jako **H^+ /ATPása**.

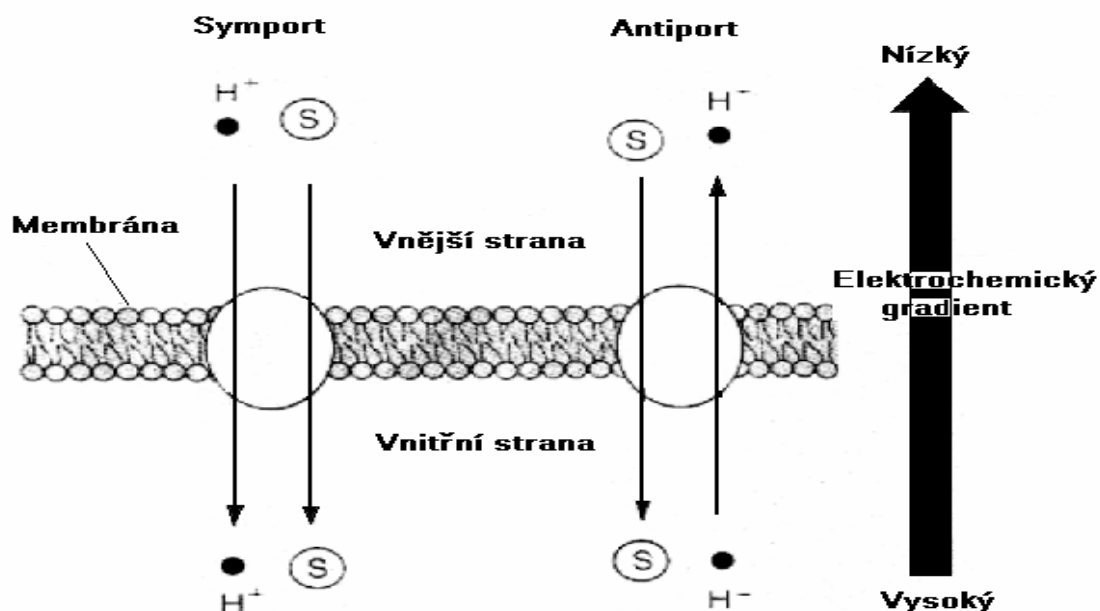
U rostlin může být závislost mebránového potenciálu na ATP prokázána například působením kyanidu. Kyanid velice rychle inhibuje činnost mitochondrií, čímž zastaví syntézu

ATP. Následně dojde k vyčerpání volné ATP a membránový potenciál se zmenší až na hodnoty typické pro samostatný pasivní transport. Membránový potenciál buněk má tedy dvě složky: *difúzní* a *elektrogenní*. Jestliže kyanid inhibuje elektrogenní transport, dochází k akumulaci H^+ iontů uvnitř buněk a vnitrobuněčné prostředí se stává kyselé. Elektrogenní transport je typický nejen pro rostlinné buňky, ale i pro bakterie, řasy a houby.

Kromě vodíku, jsou rovněž vápníkové ionty transportovány prostřednictvím elektrogenní pumpy. Buněčná stěna a apoplazmatické prostory jsou velice bohaté na vápník, ale cytosolický Ca^{2+} je udržován na nízké úrovni, i když musí existovat silný elektrochemický gradient ženoucí Ca^{2+} do buňky. Nízká koncentrace Ca^{2+} uvnitř buňky je důležitá, neboť i malé výkyvy jeho koncentrace ve vnitrobuněčném prostředí výrazně mění aktivitu celé řady enzymů. Jedinou cestou jak lze této nízké koncentrace dosáhnout je existence a aktivita Ca^{2+} /ATPázové pumpy, která pumpuje Ca^{2+} z vnitrobuněčného prostředí ven.

Položme si otázku: Proč buňky spotřebovávají ATP na elektrogenní transport, když elektricky neutrální transport by byl energeticky méně náročný? Jediná odpověď je zřejmé, že elektrogenní transportéry pomáhají udržet metabolismus udržováním cytosolické koncentrace H^+ , Na^+ , K^+ , Ca^{2+} ve vhodném rozsahu jejich koncentrací. Mimoto, má elektrogenní transport ještě další výhodu. Tou je tvorba protonové hnací síly prostřednictvím gradientu protonů. Vně buňky je vodík vyvážen pumpou a vzniká tak gradient, který potenciálně tvoří volnou energii. Membrány rostlinných buněk mají speciální proteiny, které umožňují zpětný tok protonů do buňky. Zpětný tok je ale umožněn pouze tehdy, když je spojen s tokem jiného iontu. Gradient koncentrace H^+ tedy umožňuje i transport jiných substancí. Tento typ transportu nazýváme kotransport.

OBR. 6.4 KOTRANSPORT



Energie potřebná pro tento druh transportu je získávána z rozdílné koncentrace vodíkových protonů na vnější a vnitřní straně membrán. Existuje speciální transportní systém pro přenos protonu. Vazbou protonu na tento přenašeč dojde ke konformační změně přenašeče, což umožní vazbu jiného iontu. Teprve pak je přenašeč schopen přenést proton proti gradientu. Společně s ním je přenesen i kotransportovaný iont. *Rozeznáváme dva typy kotransportu: symport* (viz uvedený příklad) a *antiport*. Při antiportu jsou přenášeny přes membránu rovněž dvě molekuly, ale na opačné strany. *Symportem* jsou do buňky dopravovány cukry a aminové kyseliny. V poslední době byly podány důkazy o tom, že iontový gradient přes buněčnou membránu u vyšších rostlin je generován a udržován jen elektrogenním gradientem H^+ . Tento H^+ gradient je výsledkem působení membránové $H^+/ATPázy$. Na^+ je transportován z buňky pouze antiportem Na^+/H^+ . Cl^- a sacharóza vstupují do buňky přes specifické protonové symportéry. Není zcela jasné zda NO_3^- ionty jsou přenášeny kotransportem či specifickými transportéry. Totéž platí pro fosforečnaté ionty. U draslíku se vzhledem k hodnotě ΔE_{Nj} jedná o pasivní transport.

Protože rostlinná buňka se zvětšuje prostřednictvím příjmu vody do vakuoly, musí mít i vakuolární membrána - tonoplast, efektivní mechanismy umožňující tvorbu dostatečného osmotického tlaku. To znamená, že na tonoplastu musí být rovněž lokalizovány aktivní přenašeče iontů. Skutečně byla potvrzena existence a funkce *tonoplastové $H^+/ATPázy$* . Ta se liší strukturálně i funkčně od plazmalemové $H^+/ATPázy$. Tonoplastová $H^+/ATPáza$ je inhibována nitrátem, který naopak neinhibuje plazmalemovou $ATPázu$. Je necitlivá k vanadu, což je opak proti plazmalemové $ATPáze$.

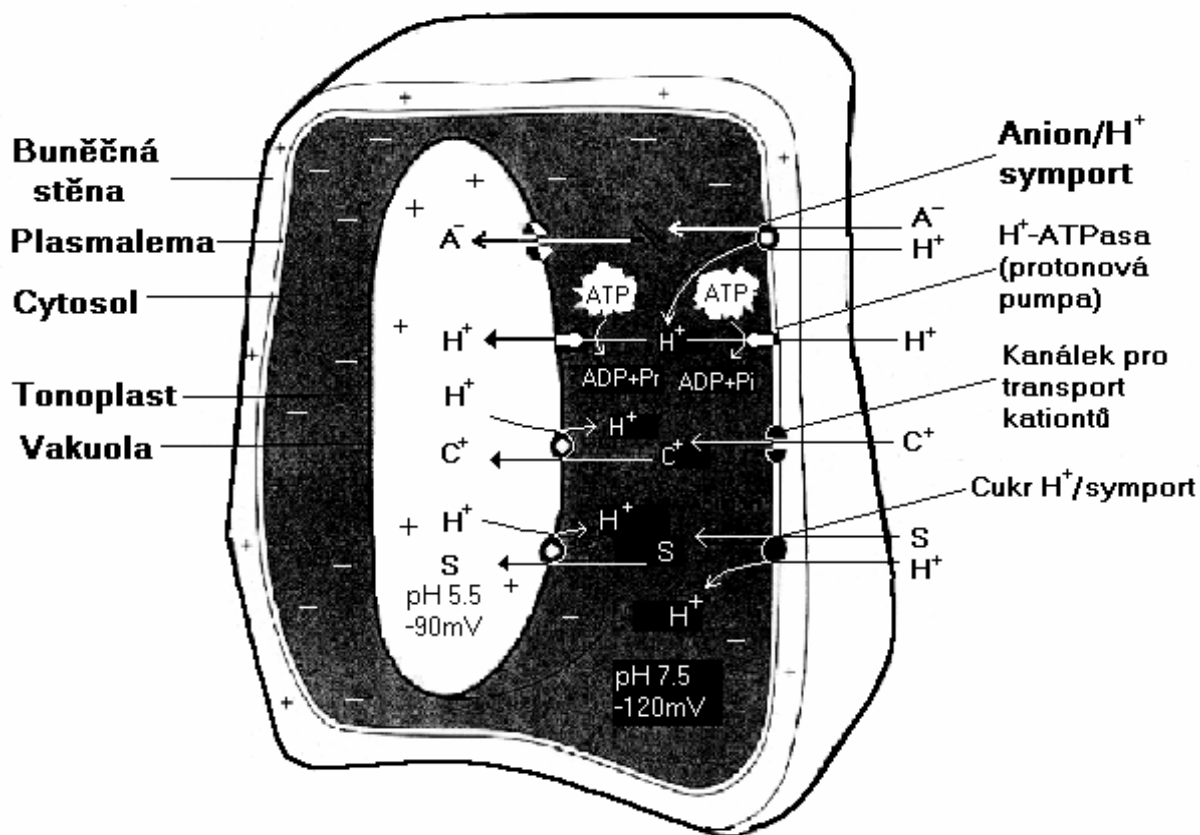
TRANSBUNĚČNÝ TRANSPORT

Minerální ionty, které byly absorbovány kořeny, jsou vedeny do kmene a listů prostřednictvím transpiračního proudu v xylemu. Transport malých iontů v prostředí buněčné stěny je velice snadný a děje se v tomto volném *apoplazmatickém prostředí* difúzí. Buněčné stěny totiž obsahují tzv. *volné prostory*, které zahrnují tzv. **vodní volný prostor** a **Donnanův volný prostor**. Donnanův volný prostor zaujímá pouze malou část a volně do něho pronikají pouze kationty, zatímco do vodního volného prostoru pronikají volně jak anionty tak kationty.

Ionty, které jsou absorbovány kořeny se pohybují až do kořenové endodermis převážně *apoplazmatickým prostředím*. Až Caspariho proužky jsou bariérou, která mění převahu apoplazmatického transportu v transport symplastický.

Když ionty vstoupí do *symplastické cesty transportu*, mohou následně vstupovat do cév a cévic xylemu pasivně difúzí. V tomto případě pohyb iontů z povrchu kořenů ke xylemu vyžaduje pouze jeden krok zprostředkovaný aktivním transportem. Místem lokalizace aktivního transportu je **plazmalema Caspariho kroužků**, což je dokázáno tím, že Nernstův potenciál iontů jako jsou K^+ , Cl^- , Na^+ a NO_3^- v endodermis je vyšší než elektrochemický potenciál v externím médiu. Avšak koncentrace těchto iontů v xylemu má shodný elektrochemický potenciál s endodermis. To znamená, že konečný vstup iontů do xylemu se děje pasivním transportem - difúzí.

OBR. 6.5 TRANSPORTY PŘES PLAZMALEMU A TONOPLAST



FLOEMOVÁ TRANSLOKACE

Přežívání rostlin v suchozemském prostředí vyžaduje především jejich schopnost udržet vodu ve svém těle. V reakci rostlin na tlak prostředí byly vyvinuty kořeny, které zajišťují mechanickou stabilitu a absorpci vody a minerálií, a listy, které jsou místem plynové komunikace a zachytu světla. Jak rostliny v průběhu evoluce zvětšovaly své tělo, došlo ke zřetelnější separaci těchto dvou základních složek. Tím vyvstal problém *transportu na dlouhé vzdálenosti*, který umožňuje kořenům a listům vzájemně si vyměňovat produkty absorpce a asimilace. *Xylem je pletivo zajišťující transport vody a v ní rozpuštěných minerálií z kořenů do listů. Floem je pletivo zajišťující transport asimilátů z listů do míst jejich spotřeby.*

Vodivými elementy floemu jsou sítkovce a články sítkovic. Jejich dospělé buňky jsou svým způsobem unikátní svou strukturou v porovnání s ostatními buňkami. Buňky sítkovic ztratily jádro a tonoplast. Dále u nich chybí mikrotubulí, Golgiho aparát, ribosomy. Mitochondrie a plastidy existují v pozměněné podobě. Buněčné stěny nejsou lignifikované.

Nejvýraznějším znakem sítkovic a elementů sítkovic je existence perforovaných destiček a oblastí. Destičky obsahují póry větších průměrů a nacházejí se na konci sítkovic v mís-

tech, kde se jednotlivé články setkávají. Tak jsou tvořeny sítkovicové dráhy. Póry jsou otevřené, takže umožňují transport mezi jednotlivými elementy.

Články sítkovic jsou obvykle velice bohaté na **floemový protein zvaný P-protein**. Tento protein má funkci při přechodné izolaci poškozených sítkových elementů prostřednictvím ucpávání pórů perforovaných destiček. Dlouhodobá eliminace jednotlivých sítkovic je pak řešena prostřednictvím **kalozy**, která vytváří trvalou zátku nad perforacemi. Kaloza (β -(1-3) glukán) je syntetizována v plazmalemě a je deponována mezi membránu a stěnu. Rozeznáváme dvojí typ kalozy: *kalozu definitivní* a *kalozu období dormance*.

Každá sítkovice je sítí plazmodesmat spojena se svojí doprovodnou buňkou. Tyto buňky poskytují sítkovicím některé produkty svého metabolismu. Mají mnoho mitochondrií produkujících ATP.

Vlastní floemový transport není jasně určen jako transport směrem dolů či nahoru a nepodléhá ani vlivu gravitace. **Hlavním určovatelem je pohyb z oblastí zásoby - zdroje do oblastí spotřeby - sinku.**

Čili poměr „*zdroj-sink*“ určuje směr floemového transportu. Pro tento poměr obecně platí:

- a/ blízkost zdroje a sinku je určující. Tedy horní dospělé listy jsou zásobovány rostoucími listy a mersitem apikálu. Spodní listy zásobují kořeny,
- b/ význam jednotlivých sinků se mění během ontogeneze,
- c/ zdrojové listy zásobují sinky, s kterými mají přímé vaskulární spojení.

Hlavní *komponentou transportovanou floemem je voda*. V ní pak převládají sacharidy, především sacharóza. Floemem jsou transportovány i jiné organické sloučeniny. Dusík se ve floemu objevuje hlavně ve formě aminokyselin a amidů, hlavně glutamátu. Rovněž všechny rostlinné hormony jsou transportovány floemem. Z anorganických látek je floemem transportován draslík, hořčík, fosfáty a chloridy.

Z rozborů floemového sapu bylo zjištěno, že co do množství nejvýznamnější floemem transportované organické sloučeniny - *cukry*, jsou transportovány v neredukované formě. To proto, že tato forma je málo reaktivní. Dusíkaté sloučeniny jsou transportovány jak xylemem (především ve formě nitrátů), tak floemem (hlavně organické sloučeniny).

Rychlost floemového transportu je rozdílná a závisí na fyziologickém stavu. V průměru se jedná o rychlost $1\text{ m}\cdot\text{h}^{-1}$.

VSTUP LÁTEK DO FLOEMU

Tento vstup si ukážeme na příkladu základních asimilátů, tedy cukrů. Několik transportních kroků je zahrnuto v pohybu fotosyntátů z mezofylových chloroplastů do sítkovic:

- 1/ základní transportovatelnou látkou jsou triózafosfáty vyrobené fotosyntézou. Ty jsou transportovány z chloroplastu do cytosolu, kde jsou přeměněny na sacharózu.
- 2/ sacharóza se pohybuje z cytosolu mezofylových buněk do blízkosti elementů sítkovic. To většinou představuje transport přes několik buněk, jedná se o transport na krátké vzdálenosti.
- 3/ posledním krokem je vlastní vstup asimilátů do floemu.

Aktivní vstup fotosyntátů do floemu je způsoben tlakovým tokem. Tento tok je důsledkem tlakového gradientu mezi zdrojem a sinkem.

Tento vstup však vyžaduje energii. Ve zdrojových listech je totiž koncentrace cukrů v sítkovicích a doprovodných buňkách mnohem větší než v buňkách mezofylu. Skutečnost, že neutrální roztok sacharózy v komplexu „sítkovice a její doprovodné buňky“ má vyšší koncentraci než okolní mezofylové buňky dokládá to, že sacharóza je transportována proti svému chemickému gradientu, neboť samozřejmě za normální situace musí být více sacharózy v mezofylu. To dokládá existenci aktivních transportních systémů.

Vstup sacharózy do apoplastu, kterým pak je transportována k sítkovicím, je kontrolován hladinou draslíku v apoplastu. Vysoká koncentrace draslíku v apoplastu zvyšuje rychlost vstupu sacharózy z mezofylových buněk do apoplastu.

Vlastní vstup sacharózy z apoplastu do sítkovic je regulován osmotickým, ale ještě více turgorovým tlakem. Vstup asimilátů do floemu je silně specifický a selektivní a ne všechny substance, které jsou floemem transportovány, do něho aktivně vstupovaly. Např. organické kyseliny a rostlinné hormony jsou ve floemovém sapu ve velice malé koncentraci. Tyto látky pravděpodobně aktivně do floemu nevstupují. Do floemu se dostávají difúzí přes plazmalemu buněk sítkovic a doprovodných buněk.

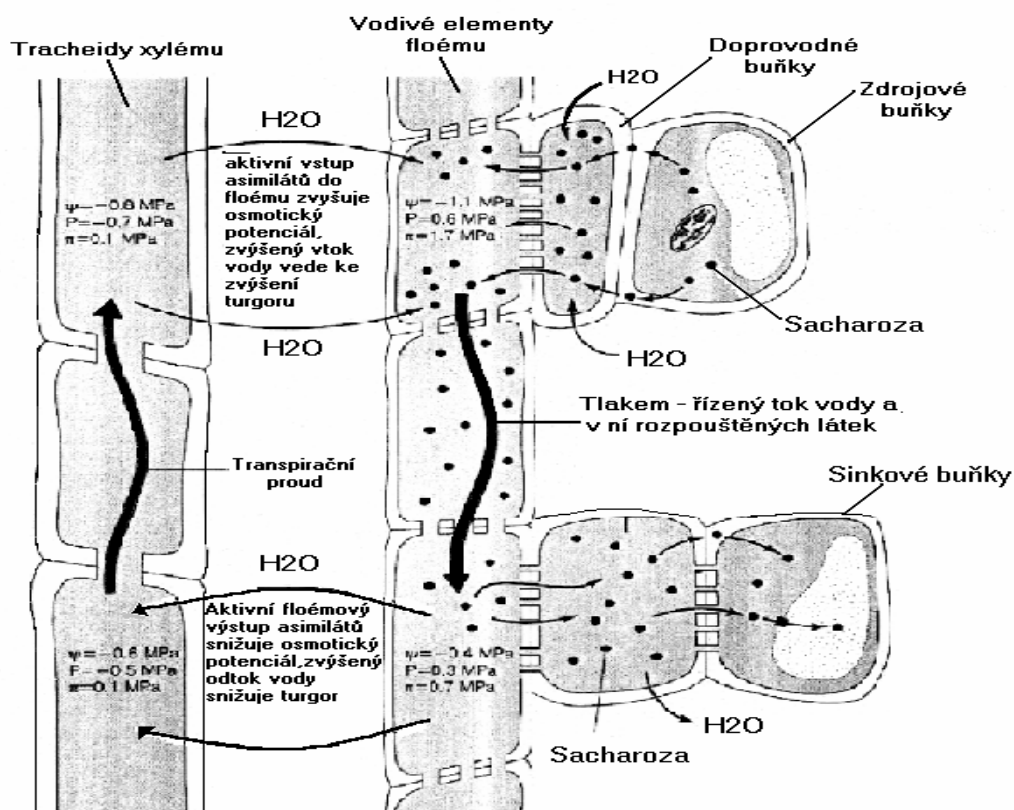
Výstup asimilátů z floemovéhorodu je řízen hlavně přechodem mezi zdrojem a sinkem. Základní cestou je pak výstup ze sítkovic a apoplastický a symplastický transport k sinkovým buňkám.

ALOKACE A ROZDĚLOVÁNÍ ASIMILÁTŮ

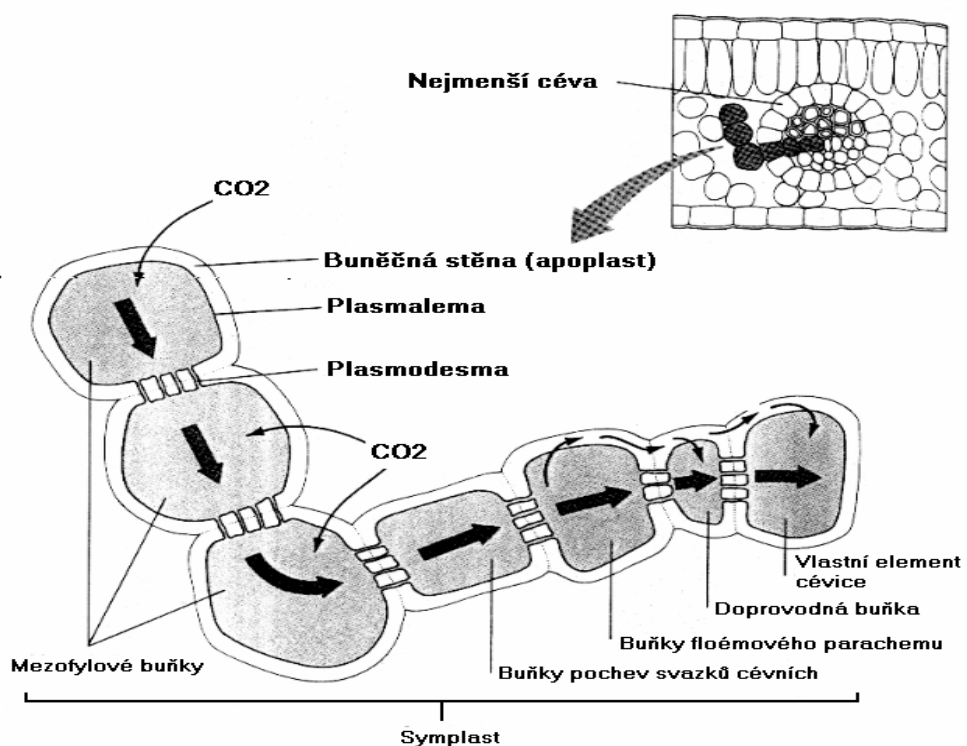
Regulace zařazení asimilovaného uhlíku do rozličných metabolických drah se nazývá **alokace**. Vlastní distribuce asimilátů v rostlině se nazývá rozdělování.

Alokace zahrnuje uložení, utilizaci a transport fixovaného uhlíku v rostlině. *Uložení* - fixovaný uhlík je uložen ve formě škrobu v chloroplastech. *Utilizace* - fixovaný uhlík je využíván (využit) v různých částech fotosyntetického procesu buňky, kde tvoří uhlíkový skelet organických látek. *Transport* - fixovaný uhlík je inkorporován do transportních cukrů a je tak připraven pro export do jednotlivých sinků v rostlině. *Hlavním prostředkem komunikace* mezi zdrojem a sinkem je *turgorový tlak v sítkovicích*. Tlak je v souladu s tlakovou teorií o přenosu a je malý v místě sinku. Je zřejmé, že jednotlivé sinky kompetují o asimiláty. V kompetici hraje významnou úlohu síla sinku. Ta je dána rozměrem sinku a jeho sinkovou aktivitou. Rozměr sinku je dán hmotností sinkového pletiva. Aktivita sinku je dána rychlostí příjmu asimilátů na jednotku hmotnosti sinkového pletiva.

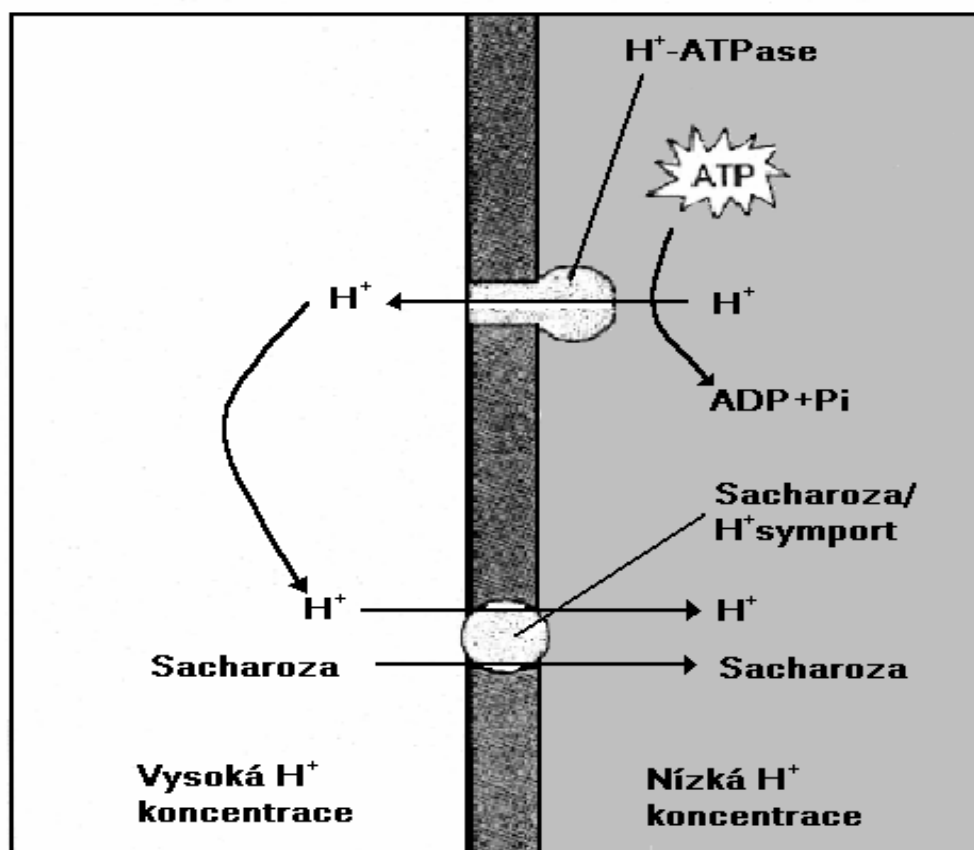
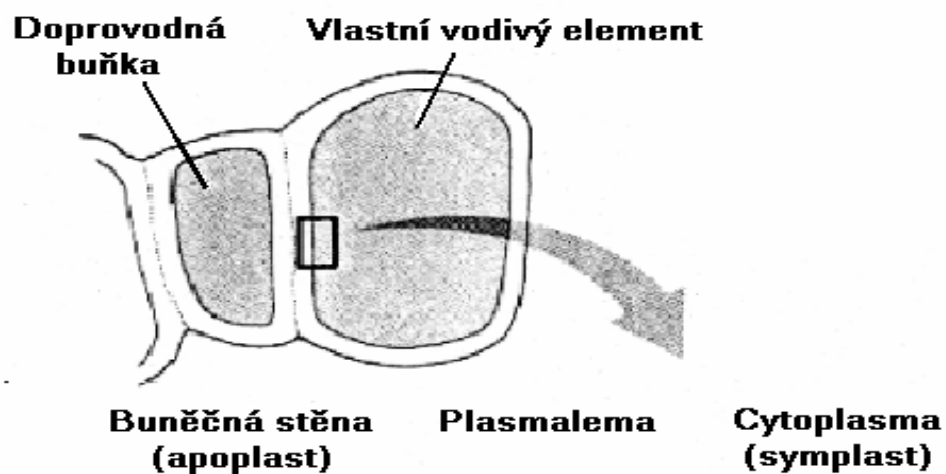
OBR. 6.6 TLAKOVÝ FLOEMOVÝ TOK



OBR. 6.7 VSTUP ASIMILÁTŮ DO FLOEMOVÝCH BUNĚK



OBR. 6.8 KOTRANSPORTNÍ MODEL VSTUPU ASIMILÁTŮ DO KOMPLEXU „ČLÁNEK SÍTKOVICE – DOPROVODNÁ BUŇKA“



ASIMILACE MINERÁLNÍCH ŽIVIN

Vyšší rostliny jsou autotrofní organismy, které se vyznačují tím, že dovedou syntetizovat všechny potřebné látky z anorganických živin dostupných v jejich lokálním prostředí. Pro mnohé živiny to znamená, že jsou rostlinou přijímány a *inkorporovány do uhlíkového skeletu*, který je důležitý pro růst a vývoj rostliny. Tato konverze minerálních živin do uhlovodíků, tuků a aminokyselin se **nazývá asimilace živin**.

Pro mnohé živiny tato *asimilace* znamená komplikovaný řetězec biochemických reakcí. Pro jiné živiny, zvláště makro- a mikroživiny ve formě kationtů, jejich asimilace zahrnuje formování komplexů s organickými látkami jako jsou například vápenné pektázy v buněčné stěně.

Metabolická aktivita, tvorba organických energeticky bohatých látek je závislá na látkové výměně uhlíku, vodíku a kyslíku. Vedle těchto dominujících prvků, které tvoří 90-96% suché hmotnosti, jsou v rostlinách přítomny ostatní látky, které jsou pro její existenci velmi důležité. Tyto látky jsou přijímány v anorganické formě a v této formě i dále účinkují. Jsou to elementy výživy. Elementy vstupují do rostliny jako ionty rozpouštějí se v jejím vodném prostředí a jsou pak dále využívány.

V zásadě jsou prvky děleny na **MAKROELEMENTY** a **MIKROELEMENTY**, označované také jako prvky **makrobiogenní** a **mikrobiogenní**.

MAKROELEMENTY

	<u>OBSAH V ROSTLINÁCH [%]</u>
H	6
C	45
O	45
N	1,5
K	1,0
Ca	0,5
Mg	0,2
P	0,2
S	0,1

MIKROELEMENTY

Cl	0.1
B	0.02
Fe	0.1
Mn	0.05
Zn	0.02
Cu	0.006
Mo	0.0001

Makroelementy mají zásadní význam jako biologické molekuly či jako molekulové komplexy. **N**, **S** a **P** jsou například součástí aminokyselin, nukleotidů a proteinů obecně. **Fe** je součástí ferredoxinu, hemů a enzymů vůbec. **Mg** je součástí chlorofylů. **K** je důležitý především jako volný kation. **Ca** je důležitým prvkem protoplazmy.

PŮDA-ZDROJ ŽIVIN PRO ROSTLINY

Živiny v půdě jsou buď *vázány* nebo jsou *rozpuštěny* v půdním roztoku. V půdním roztoku je rozpuštěn jen malý podíl živin asi 0.2% celkové půdní zásoby živin. Asi 98% živin je obsaženo v opadu, humusu a těžko rozpustných anorganických sloučeninách či minerálech. Tak je tvořena živinová zásoba, která se rozpouští velice pomalu. Zbývající 2% živin jsou v půdních *koloidech*.

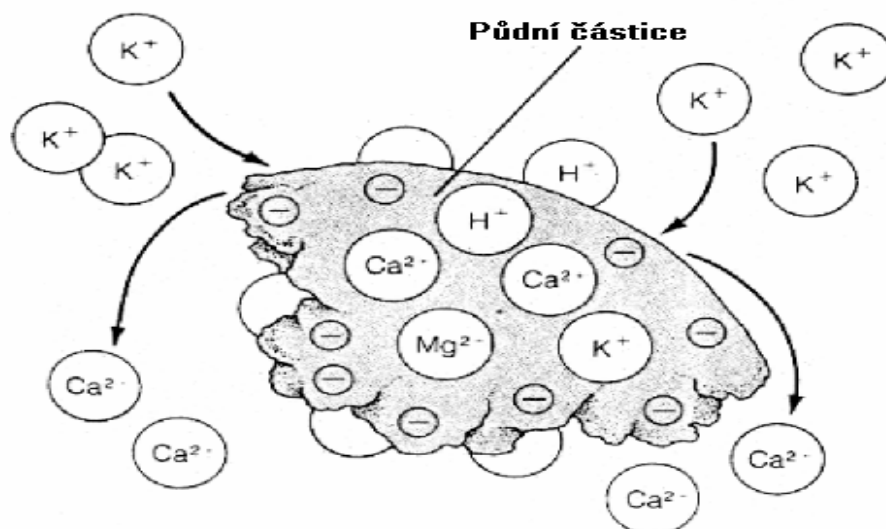
Koloidní jílovité částice a humusové látky váží minerální ionty na své aktivní povrchy svými povrchovými náboji a poutají je vratnou vazbou. Půdní koloidy tak působí jako efektivní iontoměniče. Jejich kapacita výměny je závislá na velikosti aktivního povrchu. U jílovitých minerálů tento povrch činí asi $700 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, humusových látek je $200 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$. Jílovité minerály a humusové koloidy nesou záporné náboje, takže primárně vážou kationty. Silně nabitě částice jsou tedy vázány silněji. Tento iontový plášť znamená přechodné stádium mezi pevnou půdní fází a půdním roztokem. Absorpční vazba iontů minerálních živin má mnoho výhod. Živiny uvolněné při zvětrávání iontů a rozkladu humusu jsou tak zachycovány a chráněny před vyplavením z půdy. Přitom se udržuje nízká a poměrně stálá koncentrace půdního roztoku. Mezi půdním roztokem, půdními koloidy a půdní zásobou se udržuje rovnováha, která je sice složitá, ale přizpůsobuje se měnícím se podmínkám. Tato soustava řídí výměnu iontů a zajišťuje stálou dodávku živin rostlinám. Na rovnováze výměny iontů se podílí koncentrace vodíkových iontů, tedy pH půdního roztoku. Hodnota pH je především determinována matečnou horninou, odběrem iontů rostlinami či aktivitou půdních mikrorganismů.

PŮDA A MINERÁLIE

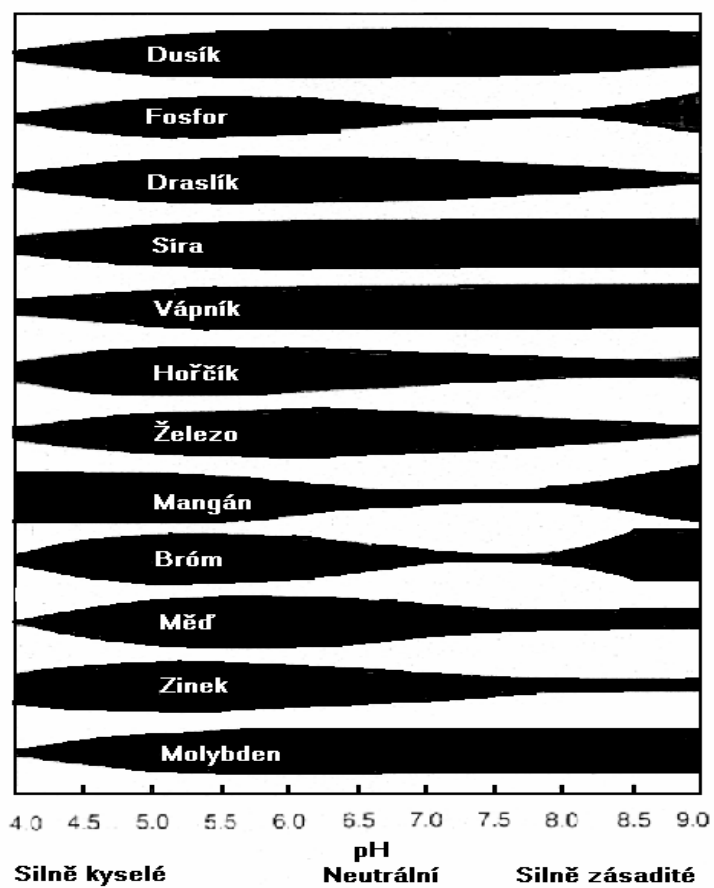
Půda obklopující kořeny rostlin je zdrojem živin. Hlavní komponentou půdy obsahující živiny je **půdní roztok**. V něm se živiny ke kořenům pohybují *masivním objemovým tokem*. Další možnost je difúzní transport živin ke kořenům. V půdě jsou živiny ve všech půdních formách, tedy ve fázi pevné, kapalné a plynné. Vedle anorganických složek jsou v půdě složky organické.

Půdní částice a to *organické i anorganické* nesou *negativní náboj* na svém povrchu. Negativní náboj je důležitý pro procesy adsorpce minerálních kationtů na půdní částice. Minerální kationty, které jsou takto přes náboj vázány na povrchy půdních částic, nejsou tak *snadno smývatelné* prostupující vodou. Mobilita aniontů je vzhledem k absenci elektrické vazby na půdní částice mnohem menší. K uvolňování kationtů z povrchu půdních částic dochází prostřednictvím iontové výměny. Především ionty draslíku vyměňují kationty z povrchu částic.

OBR. 6.9 VÝMĚNA IONTŮ NA POVRCHU PŮDNÍCH ČÁSTIC



OBR. 6.10 ZÁVISLOST DOSTUPNOSTI ELEMENTŮ NA pH



Hodnota **pH** má vliv na mobilitu iontů. Např. v překyselených půdách se uvolňují především ionty **Al**, **Fe** a **Mn**, zatímco ionty **Ca**, **Mg**, **K** a **P** jsou z půdy silně vyčerpávány nebo jsou přítomny v pro rostlinu těžko dostupných formách. V silně zásaditých půdách jsou nedostupné ionty **Fe**, **Mn** a **P**. pH vyšší než 9 a nižší než 3 vede k poškození protoplasmu kořenových buněk cévnatých rostlin. Zvýšené koncentrace hliníku v kyselých půdách a boritanů v půdách silně zásaditých vedou k otravě kořenů.

ODBĚR ŽIVIN VE FORMĚ IONTŮ Z PŮDY

Kořen přijímá živiny z půdy:

a/ **Absorpce** iontů živin z půdního roztoku. Tyto ionty jsou dostupné přímo a jejich koncentrace v půdním roztoku je nízká. Proto se jejich obsah v roztoku doplňuje jejich čerpáním z pevné a koloidní složky půdy.

b/ **Výměnnou absorpci** již absorbovaných iontů. Kořen tím, že uvolňuje H^+ a HCO_3^- jako **disociační produkty** vydýchaného CO_2 , iniciuje výměnu iontů na aktivních površích půdního koloidu.

c/ **Uvolňováním živin vázabných v půdní zásobě pomocí vylučovaných vodíkových iontů a organických kyselin**. Živiny takto nepřístupně vázané jsou uvolňovány a tvoří *chelátové komplexy*, které jsou přijímány kořeny rostlin. meito cheláty chrání kovy před zpětnou pevnou vazbou k půdě.

PŘÍJEM IONTŮ KOŘENY

Rychlost, s jakou jsou živiny rostlině dodávány, závisí na koncentraci minerálních látek v půdě a jejich schopnosti být *difundovány* ke kořenům, což je ovlivněno *iontově specifickými podmínkami* difuze a transportu.

Difuzí dopravené ionty ke kořenu *vstupují difuzně apoplasmatickou cestou* do rhizodermis k endodermis. V této části transportu živiny vstupují do cytoplasmy a postupují do buňčné šťávy. Vakuoly v této části kořene mají výhradně skladovací úlohu a neuplatňují se v transportu.

V rhizodermis je *apoplasmatickému transportu postavena zásadní peřkážka* ve formě *Gaspariho kroužků*. Od této chvíle je již hlavní část transportu *symplastická*, transport mezi buňkami *zprostředkovávají plasmodesmata* až k vodivé soustavě středního válce. Sítkovnice a doprovodné buňky přijímají ionty, které tečou *pasivně ve směru koncentračního spádu* do mrtvých cévic naplněných vodou. Vedle toho inoty jsou do cév *aktivně vylučovány* parenchymatickými doprovodnými buňkami.

Živiny se *pohybují ve xylemu pasivně* ve smysly *transpiračního proudu*. Na konci cévních svazků pak opět difundují buněčnými stěnami k povrchu protoplastů ve svazkovém parenchymu a pak jsou aktivně transportovány do parenchymatických buněk. Transport těmito buňkami se uskutečňuje symplastem a opět zde jako místa *pohotovostních rezerv fungují vakuoly*.

V celém profilu transportu živin k místům utilizace je *nejpomalejší* složkou **transport kořenovým symplastem**. Transpirační proud je rychlejší forma transportu

ASIMILACE DUSÍKU

Dusík je klíčový prvkem minerální výživy rostlin. Nachází se v nukleotid fosfátech a aminokyselinách, které tvoří stavební kameny nukleových kyselin a bílkovin.

Dusík má v rostlinách *významnou fyziologickou funkci*. Je základní složkou protoplazmy a enzymů. Vyznačuje se dobrou schopností transportu, a to především ve formě organických sloučenin. Místem jeho hromadění jsou zvláště mladé prýty, listy, pupeny, semena a zásobní orgány. Příznakem nedostatku dusíku je zakrslý nebo trpasličí vzrůst rostlin, dochází k posunutí biomasy ve prospěch kořenů, může docházet k předčasnému žloutnutí listů nebo v některých případech k celkovému červenání rostliny.

V biosféře se dusík nachází v několika formách. Atmosféra obsahuje značné množství molekulárního dusíku N_2 , asi 78 objemových procent. Tento veliký rezervoár dusíku ale není přímo využitelný rostlinami. Získání dusíku totiž vyžaduje rozrušení velmi silné kovalentní vazby mezi dvěma atomy dusíku a to rostliny neumí. Například energie štěpení trojné vazby molekuly $N \equiv N$ je $945 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$, zatímco u vazby $C-O$ je to pouze $351 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$. Jiným zdrojem dusíku jsou nitrátové a amonné ionty, které jsou pro rostliny lehce dostupné a rostliny je umí zpracovat.

*Konverze molekulárního dusíku do nitrátové či amonné formy se nazývá **fixace dusíku** a je výsledkem přirozených a antropogenních procesů. Světová průmyslová fixace dusíku činí 12% globálního dusíku odebraného atmosféře. 10% odběru dusíku v atmosféře je výsledkem bouří, přesněji elektrických výbojů při bouřkách. Blesk totiž tvoří volné hydroxylové radikály, volné vodíkové ionty a volné ionty kyslíku z vodní páry. Tyto vysoce reaktivní látky pak atakují molekulární dusík, rozbíjí jeho kovalentní vazbu a tvoří nitrátové ionty, které jsou deštěm splachovány do půdy. Zbylých 90% dusíku, který je k dispozici rostlinám v důsledku přirozených procesů, je utvořeno aktivitou mikroorganismů v *procesu biologické fixace dusíku*. Tato fixace je uskutečňována volně žijícími bakteriemi, jako jsou **cyanobakterie** a bakterie, které žijí v **symbióze s rostlinami**. Příkladem těchto bakterií mohou být bakterie rodu *Rhizobium*, žijící v symbióze s kořínky luštěnin (fazole, jetel, vojtěška). Tyto organismy obsahují enzymatické systémy, které dovedou zpracovat molekulární dusík.*

Cyklus dusíku v biosféře je dokončen odpadními ztrátami, kdy se organické látky vrací do půdy a mění se v amonné ionty v *procesech amonifikace*. Zde opět pracují půdní bakterie a houby, které transformují aminodusík do volného amoniaku. Takto uvolněný amoniak je v půdě často oxidován na nitrit a později na nitrát v **procesu nitrifikace**. Za nitrifikaci jsou opět zodpovědné bakterie Nitroso a Nitro skupiny. Dusík v nitrátové formě je znova využíván rostlinami, nebo je vrácen do atmosféry prostřednictvím transformace nitrátového dusíku na jeho molekulární formu procesem **denitrifikace**. To způsobují bakterie, které používají nitrátového iontu místo kyslíku jako konečného akceptoru elektronu v respiraci.

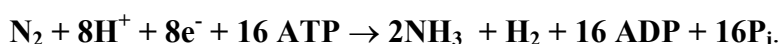
Bakterie schopné fixace dusíku se vyskytují ve formě volně žijících či v symbiotické formě. V symbiotické formě fixovaný dusík je poskytován hostitelské rostlině výměnou za jiné minerální živiny a uhlovodíky.

Nitrogenázové enzymy, které jsou podkladem pro fixaci molekulárního dusíku, jsou ireverzibilně inaktivovány kyslíkem. Fixační procesy se musí tedy odehrávat v **anaerobním prostředí**, a proto si tyto bakterie vytvářejí vlastní anaerobní prostředí. Jednou formou je **tvorba heterocyst**. *Heterocysty* jsou specializované nefotosyntetizující buňky mající silnou stěnu nedovolující penetraci kyslíku do jejich vnitřního prostředí. Druhým typem anaerobního prostředí je **výskyt v zatopených půdách**.

Volně žijící bakterie často volí jinou strategii. Udržují nízkou koncentraci kyslíku zvýšenou respirační aktivitou, která kyslík trvale odčerpává. U symbiotických bakterií je **anoxie** dosahováno vysokou respirační aktivitou kořenů hostitelské rostliny a existenci kyslík-vázajícího hemového proteinu - **leghemoglobulinu**. Tento protein se vyskytuje v cytosolu infikovaných nodálních buněk kořenů. Globinová část tohoto monomeru vázajícího kyslík je syntetizována rostlinou, zatímco hem se tvoří v rhizobiích. Jinak se globiny vyskytují poze v rostlinné říši.

Konečným produktem biologické fixace dusíku je **amoniak**. Amoniak je pak bezprostředně inkorporován do organických látek jako je **glutamin** (enzym glutaminsyntetaza) a **glutamát** (glutamátdehydrogenáza).

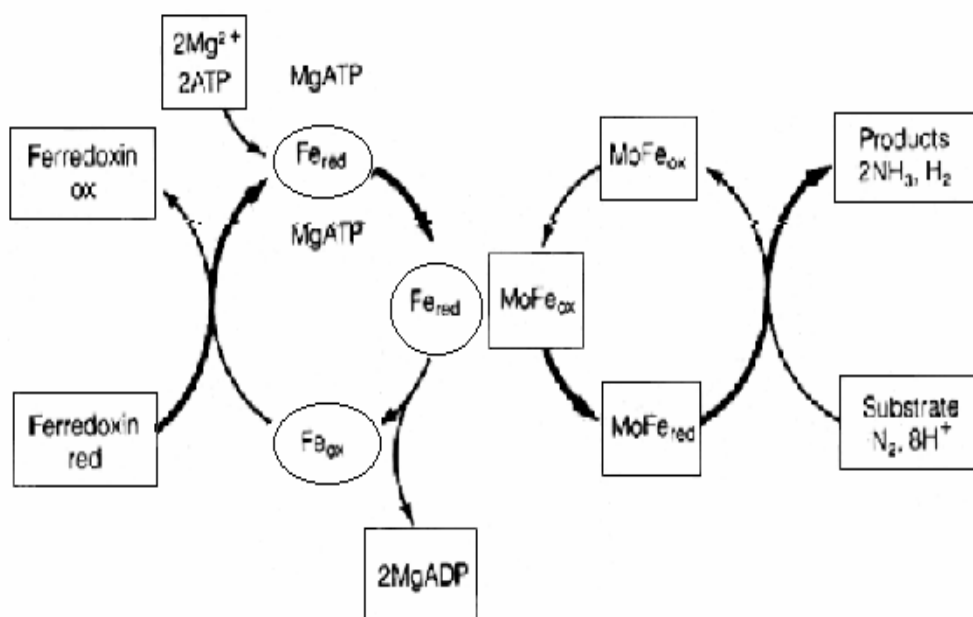
Celková rovnice biologické fixace je:



Enzymatický systém, katalyzující tuto reakci se nazývá **nitrogenáza**.

Nitrogenáza má dvě složky a to **MoFe-protein** (asi 220kDa) a **Fe-protein** (asi 64kDa). *Fe-protein* je velice citlivý na kyslík a je inhibován přítomností kyslíku již v časovém rozsahu 30 - 40s. *MoFe-protein* je rovněž in-aktivován kyslíkem, ale čas inhibice je delší, asi 10min.

OBR. 6.11 NITROGENÁZOVÁ FIXACE



Kromě dusíku a nitrogenasy je pro fixaci ještě nezbytně nutný (1) zdroj elektronů a (2) ATP. Elektrony jsou dodávány podle typu organismu buď oxidačními pochody nebo z fotosyntézy. Elektrony jsou přenášeny na ferredoxin, což je protein obsahující Fe-S centra, který přenáší elektrony na Fe-protein nitrogenasy. *Feredoxin redukuje Fe-protein*, při vazbě

ATP. *Fe-protein* pak redukuje *MoFe-protein*, který redukuje molekulární dusík na amonné ionty za účasti tří párů elektronů.

Energetika fixace molekulárního dusíku je dosti komplexní. Produkce HN_3 z N_2 a H_2 je *exergonický proces*. Ale rozbití kovaletní vazby mezi atomy dusíku vyžaduje *značný přísun energie ve formě ATP*. Výpočtem bylo stanoveno, že na fixaci jednoho gramu molekulárního dusíku je potřebná fotosyntetická fixace 12g uhlíku. Díky této mimořádné energetické náročnosti spotřebovávají bakterie fixující dusík téměř 20% ATP vytvořeného rostlinou, s níž žijí v symbioze.

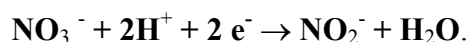
ASIMILACE NITRÁTOVÉHO DUSÍKU

Nitráty jsou základním a pro rostlinu lehce přístupným zdrojem dusíku v půdě. V půdách mírného pásma v důsledku nitrifikačních procesů dochází k hromadění nitrátu.

Před vlastní asimilací musí být nitráty rostlinou přijmuty. *Příjem nitrátů rostlinou* ukazuje na to, že musí *existovat specifický transportní systém*. Příjem nitrátů je *inhibován kyanidem*, bílkovinným jedem a je inhibován anoxií. To vše znamená, že se jedná o transport nitrátů do buňky závisící na metabolické energii. Je-li nitrát v buňce, je jeho přebytek *akumulován vakuolou*. Existují jisté specifické kanálky v tonoplastu, které umožňují *vakuolovou akumulaci nitrátových iontů*.

Po příjmu nitrátů kořeny jsou nejprve **nitráty redukovány na amonné ionty**, až poté dochází k asimilaci dusíku do organických látek.

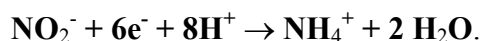
Prvním krokem je redukce nitrátů na nitrity. Tato reakce se *odehrává v cytosolu*:



Reakce je **katalyzována enzymem nitrát reduktázou**. Donorem elektronů pro nitrát reduktázu u vyšších rostlin je *NADH* či *NADPH*.

Nitrát reduktáza je složena ze dvou identických podjednotek. Nitrát reduktáza všech eukaryotních organismů má tři prostetické skupiny: FAD, hem a molybdenový komplex. Nitrát reduktáza je *hlavním proteinem obsahujícím molybden* v rostlinných pletivech. Syntéza tohoto enzymu je regulována jeho substrátem, tedy NO_3^- ionty. Čas turnoveru (rychlost degradace) je asi půl hodiny (několik hodin?). Rovněž světlo indukuje efektivitu nitrát reduktázy.

Druhým krokem je redukce nitritů na amoniak. Tato reakce se *probíhá v plastidech*, tedy v případě zelených částí rostlin v chloroplastech, nebo v proplastidech nezelených částí rostlin:



Reakce je katalyzována enzymem **nitrit- reduktázou**. Zatímco v *chloroplastech se vyskytuje ferredoxin-nitrit reduktáza*, v *proplastidech se vyskytuje NAD(P)H-nitrit reduktáza*. To znamená, že ve fotosyntetizujících pletivech je donorem elektronů ferredoxin, v nefotosyntetizujících pletivech je jejich donorem NAD(P)H.

Nitrit-reduktáza obsahuje *dvě prostetické skupiny: železo-sirný komplex a hem*. Nitrit je vázán na **FeS-Hem** pár a je přímo redukován na amoniak.

U většiny rostlinných druhů jsou jak kořeny, tak nadzemní části místem metabolismu dusíku. Je-li množství přijímaného dusíku malé, pak se redukce nitrátů uskutečňuje pouze v kořenech.

Amonný iont je rychle inkorporován do organických látek. Amonné ionty vzhledem ke své toxicitě nejsou v buňce akumulovány, ale jsou okamžitě dále využívány.

Asimilace amonného dusíku se děje dvojitou cestou:

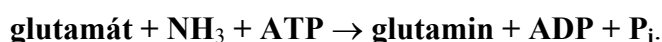
První možnost: *reduktivní aminace α -ketoglutarátu na glutamát:*



Tato reakce je **katalyzována enzymem glutamát dehydrogenáza (GDH)**. GDH je lokalizována v chloroplastech a v mitochondriích. V mitochondriích je α -ketoglutarát produkován Krebsovým cyklem.

Druhá možnost: **GS/GOGAT systém**

Jedná se o dvoustupňovou reakci, kde v prvním kroku dochází k *reakci amonného iontu s glutamátem za vzniku amidu, glutaminu:*



Tato reakce je katalyzována **enzymem glutamin syntetázou (GS)** a vyžaduje vstup energie ve formě ATP.

Ve druhém kroku může být *glutamin konvertován na glutamát:*



Reakce je katalyzována **enzymem glutamát syntetáza (GOGAT)**. GS je lokalizována v chloroplastech a v cytosolu listů a v cytosolu kořenových buněk. GOGAT se nachází v chloroplastech listů a plastidech kořenů. GOGAT se vyskytuje ve třech formách (izoenzymech), které se liší donorem elektronů. U fotosyntetické formy je jím ferredoxin, u nefotosyntetických forem pak NADH nebo NADPH.

Oba výše uvedené typy metabolismu vedou ke stejnému produktu, tj. **glutamátu**.

GDH má poměrně vysokou hodnotu K_m pro amoniak, což znamená, že se více či méně jedná o alternativní typ asimilace amoniaku. Systém **GS/GOGAT** má mnohem nižší hodnotu K_m pro amoniak, a proto je tento typ utilizace amoniaku hlavní cestou jeho inkorporace do organických molekul. Další zpracování glutamátu se děje transaminačními reakcemi v cytosolu buněk. Tyto reakce jsou obecně katalyzovány enzymy zvanými **aminotransferázy**.

ASIMILACE SÍRY

Síra, která je součástí organických složek rostlin pochází ze **síranů**, které jsou získávány kořeny z půdního roztoku. Síra se do roztoku dostává rozpadem matečné horniny. Druhým zdrojem síry je její vstup do půdy prostřednictvím vzdušných škodlivin. V rostlině se síra vyskytuje hlavně jako součást prostetických skupin enzymů a ve formě aminokyselin *cystein* a *methionin*. Hromadí se především v listech a semenech. Síra v organických sloučeninách má dobrou schopnost transportu, nikoli však v iontové formě. Příznaky jejího nedostatku jsou obdobné jako u nedostatku dusíku.

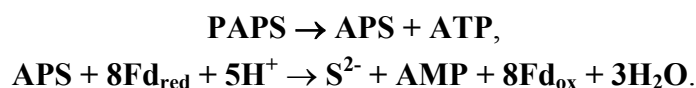
Příjem síranů kořeny je **aktivní proces** využívající specifické přenašeče. Je-li síran v cytosolu je ihned využíván nebo je uložen ve vakuole. Vstup do vakuoly umožňují speciální kanálky v tonoplastu.

Sírany před zabudováním do organických molekul musí být zredukovány. U vyšších rostlin se enzymy zapojené do asimilace síranů nacházejí v *chloroplastech listů a proplasti-dech kořenových buněk*.

Před asimilací musí být sírany aktivovány. Jsou známy dvě formy aktivovaných sulfátů, **adenosin-5-fosfosulfát (APS)** a **3-fosfoadenosin-5-fosfosulfát (PAPS)**. K aktivaci dochází za účasti ATP. Obě aktivace jsou katalyzovány **enzymy ATP sulfurylázou a APS kinázou**.

Z **PAPS** může být sulfát přímo *asimilován do organických složek jako jsou sulfolipidy*, které obsahují sírové můstky.

Vlastní asimilace síranů je však vícestupňový proces, který po této aktivaci vede k **redukci sulfátů na sulfit**. K této redukci dochází spíše využitím **PAPS než APS**. **PAPS je nejdříve konvertován na APS**, který pak slouží jako **substrát redukce**. Tato zdánlivě nelogická formace APS oklikou přes PAPS je z energetického hlediska výhodnější:



Probíhá-li tato reakce v listech, je stimulována světlem. Světelná stimulace je způsobena dodáváním nadbytečné produkce redukováného ferredoxinu z fotosystému. V heterotrofních pletivech je zdrojem elektronů NAD(P)H. Vytvořený sulfit je ihned inkorporován do aminokyselin obsahujících síru (cystein, methionin). Cystein vzniká připojením sulfitu na troj-uhlíkový akceptor *O*-Acetylserín:



kde *O*-Acetylserín je koenzymem A aktivovaná forma serínu.

ASIMILACE FOSFÁTŮ

Fosfát v půdním roztoku je přijímán kořeny a je inkorporován do mnoha organických látek, jako jsou cukernaté fosfáty, fosfolipidy a nukleotidy. Hlavním vstupem fosfátu do asimilačního metabolismu je jeho účast při tvorbě **ATP**. Při průchodu fosfátů přes membránu se uplatňují specifické přenašeče. *Příjem anorganického fosforu začíná jeho vstupem do nukleotidů (ATP, ADP) v důsledku respiračního metabolismu v kořenech.* Minerální fosfor musí projít tímto metabolickým procesem dříve, než se dostane do vodivých pletiv. Floémem jde fosfor výhradně v organické formě, v xylému mimoto i ve formě cukerných esterů. Příjem a transport fosforu je vždy závislý na energetickém metabolismu rostlin.

Fosfor je rostlinou přijímán hlavně jako ortofosfátový anion, a to buď jako H_2PO_4^- nebo jako HPO_4^{2-} . Při průchodu přes cytoplazmatickou membránu se pravděpodobně uplatňují dva různé mechanismy přenosu specifické pro $\text{H}_2\text{PO}_4^{2-}$ a HPO_4^{2-} . Obsah fosforu v rostlině se pohybuje od 0.05 do 2% sušiny.

Koncentrace fosforu v půdním roztoku je velmi nízká a dosud neexistuje jednoznačný názor na dominující mechanismus transportu fosforu k povrchům kořenů. Sorpce fosfátů rostlinou je podstatě metabolicky katalyzovaný děj s vysokou hodnotou aktivační energie. Je to děj spojený s ukládáním velkého množství energie a s fosforylačními procesy. Fosfor vstupuje do buňky úměrně potřebě jejího metabolismu. Rychlost vstupu fosfátu do buňky pozitivně reguluje Ca^{2+} .

Příjem anorganického fosforu *začíná vstupem do nukleotidů (ADP, ATP)*, tedy sloučenin, které vznikají v kořenech při oxidačních fosforylacích. Transport fosforu do nadzemních orgánů je závislý na jeho metabolismu. *Minerální fosfor musí projít celým metabolickým procesem dříve, než se dostane do vodivých pletiv.* Floémem je téměř výhradně transportován v organické formě (ATP, cukerné estery), v xylémovém vzestupném proudu z

velké části ve formě cukerných esterů. Lze předpokládat, že v rostlině existuje určitý transportní systém pro fosfát, založený na cukerných „*transportérech*“ a úzce související s fotosyntézou.

Hlavní fyziologická funkce fosforu v buňce spočívá v přenosu energie v metabolických reakcích. Ortofosfát může tvořit esterické vazby o energii několika $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ fosfátu (např. glukózo-6-fosfát 15.85 atd.), anhydrikové vazby až o 41.86 kJ (např. v ATP 37.25 kJ , v ADP 39.76 kJ). Zvláště adenosintrifosfát (ATP) je univerzálním energetickým „platidlem“, jehož prostřednictvím se uskutečňují nejrůznější metabolické reakce v buňce. Fosfor je schopen několikanásobné reutilizace. Příznaky deficiencie fosforu bývají podobné jako u dusíku: předčasný opad listů a nekrotická místa na listech, řapících a plodech. Dále pak dochází k poruchám reprodukčních procesů (zpožděné kvetení).

ASIMILACE KATIONTŮ

Asimilace kationtů rostlinnou buňkou spočívá v tvorbě kationtových komplexů s organickými složkami bez nějaké chemické transformace kationtů. Tyto komplexy zahrnují formaci koordinačních komplexů, nebo elektrostatických vazeb.

Koordinační komplexy vznikají tak, že kyslíkové či dusíkové atomy uhlíkaté sloučeniny darují své elektrony a kladný náboj kationtu je tak neutralizován. Tyto koordinační komplexy se tvoří především mezi polyvalentními kationty a organickými molekulami. Tak je tomu například při asimilaci *mědi* (komplex s kyselinou tartarikovou) či *hořčíku* (známý komplex s chlorofylem). V této formě jsou přijímány rovněž atomy *zinku* a *železa*. Kationty *vápníku* tvoří speciální koordinační komplex s polygalakturonovou kyselinou v buněčné stěně.

Elektrostatické vazby vznikají mezi pozitivně nabitým kationtem živiny a negativně nabitým zbytkem organické molekuly.

V případě asimilace železa je tento iont přijímán kořeny z půdy, kde se nachází převážně ve ferrické formě (Fe^{3+}) nebo jako oxid, např. $\text{Fe}(\text{OH})_2^+$. Obecně jsou tyto sloučeniny dosti pevně vázány k půdním součástem, a pro rostlinu je dosti obtížné je z půdy získat. Uplatňují se zde proto kyselé kořenové exudáty.

Přebytek železa je pro buňky toxický, a proto je toto železo imobilizováno formou metaloproteinu fytoferritinu.

Ačkoliv respirace přijímá hlavní množství kyslíku, malá část tohoto prvku je přímo asimilována do organických sloučenin. Tato fixace kyslíku zahrnuje dodání molekul kyslíku do organických sloučenin za katalýzy enzymů oxygenáz. Oxygenázy jsou klasifikovány jako mono-dioxygenázy podle toho, kolik atomů kyslíku je transferováno do organické sloučeniny.

ASIMILACE DRASLÍKU

Draslík se v rostlinách nachází v chloridech, uhličitanech, fosforečnanech. Jeho obsah v rostlině značně kolísá. Se stárnutím pletiva obsah draslíku obecně klesá. K rostlině se dostává hromadným tokem půdního roztoku. V apoplastu se draslík pohybuje snadno, rychle je transportován přes membrány, je jak v xylému tak i ve floému. Draslík zvyšuje hydrataci cytosolu a tak snižuje jeho viskozitu. V rostlinné buňce je rozložen nerovnoměrně. Obsah draslíku v rostlině velmi kolísá v závislosti na druhu, orgánu a stáří rostliny. Přitom obecně platí, že se stárnutím orgánu obsah draslíku v sušině klesá.

V půdě se přístupný draslík nachází buď v půdním roztoku, nebo je sorbován na půdních koloidech. Z půdního roztoku na povrch kořenů je transportován *difúzí* nebo tzv. *hromadným tokem půdního roztoku* indukovaného transpirací. Mezi draslíkem sorbovaným na půdních koloidech a kořeny rostliny může také docházet ke kontaktní výměně v tzv. *sorpční zóně*.

Ve volných prostorech buněk se draslík pohybuje velmi snadno, je poměrně snadno přenášen přes různé membrány, pohybuje se xylémem i floémem. Na membránách při transportních procesech jeví s draslíkem výraznou kompetitivitu Rb^{+} . Při pohybu symplastem musí K jako jiné ionty nejdříve proniknout semipermeabilní plazmalemou. Průnik K přes tuto membránu se realizuje prostřednictvím dvou mechanismů v závislosti na jeho koncentraci v živném prostředí. Při nízké koncentraci zprostředkovávají přenos přenašeče, při vysokých koncentracích, kdy plazmalema ztrácí funkci bariéry, nastává spontánní fyzikální pohyb K do cytoplazmy. V xylému se draslík pohybuje velmi snadno. Jakmile dosáhne listového mezofylu, proniká do vnitřních prostorů buněk opět za pomoci přenašečů (tj. aktivním transportem).

Fyziologický význam draslíku není dostatečně objasněn. Je známo, že draslík působí na syntézu bílkovin zejména tehdy, je-li v živném prostředí dostatek amoniaku. Výživa draslíkem podstatně ovlivňuje polymerizaci glycidů. Draslík také aktivuje transport asimilátů z listů k reprodukčním orgánům. Dále draslík kontroluje otvírání průduchů tzv. fotodynamický efekt. S funkcí draslíku je také spojen vznik kořenového vztlaku a permeabilita kořenového systému pro vodu. Rovněž aktivuje mnohé enzymy, zúčastňuje se reakcí vedoucích ke tvorbě acetyl-CoA a je spojen s Krebsovým cyklem.

ASIMILACE VÁPŇÍKU

Nejdůležitějším zdrojem Ca^{2+} v půdě je půdní roztok, výměnný sorbovaný vápník a některé soli, jako uhličitán vápenatý a v půdách aridních také síran vápenatý. V půdním roztoku tvoří vápník většinou převládající kationt.

Obsah vápníku v rostlinách je velmi variabilní a jeho příjem je dost komplikovaný. Vápník sice snadno proniká z půdy do volných prostorů buněk v kořenech rostliny, ale do cytoplazmy proniká pomalu a v symplastu je velmi omezeně pohyblivý. V kořenech pravděpodobně existuje bariéra volného průchodu Ca^{2+} *apoplazmatickou cestou*, kterou je zřejmě endodermis. Při transportu buněk je důležitá interakce vápníku s plazmalemou (cytoplazmatickou membránou). Vápník je vázán v plazmalemě velmi labilně. Během ATP-ázové reakce je v membráně reverzibilně svazován a uvolňován, uvolněný pak často imobilizován. Touto cestou ionty Ca^{2+} z membrány stále unikají a jejich funkce při stabilizaci membrány může být udržována jen za stálého přísunu nových Ca^{2+} normální funkci plazmalemy, podmiňuje i funkci membrán organel energetického metabolismu (mitochondrie, chloroplasty). Kromě této transportní funkce reguluje také permeabilitu membrán a stabilizuje je (plazmalema, mitochondrie). Ztratí-li membrána při nedostatečném přísunu zvýška svůj Ca^{2+} , podléhá destrukci a *ztrácí svou semipermeabilní funkci*.

Transport vápníku do nadzemních orgánů se uskutečňuje xylémem. Při pohybu xylémem vápník snadno proniká do sousedních parenchymatických pletiv, kde může být vázán iontově výměnnou vazbou specifickou pro kovový iont. Vápník se tedy pravděpodobně pohybuje xylémem hlavně výměnným mechanismem. Floémem se Ca^{2+} pohybuje velmi nesnadno, protože ve floému je mnoho vazebných příležitostí a Ca^{2+} je velmi často imobilizován.

Nedostatek vápníku se projevuje ve změně tvaru a počtu mitochondrií a snižuje stabilizaci plazmatických membrán, které se stávají propustnější. Nedostatek vápníku brzdí transport sacharidů z listů do kořenů a vyvolává také poruchy v růstu rostlin.

ASIMILACE HOŘČÍKU

Obsah hořčíku v rostlinách kolísá v závislosti na fyziologickém stavu rostliny a podmínkách výživy. Hořčík se hromadí hlavně v tkáních s intenzivním metabolismem a intenzivním dělením buněk. Otázka pohyblivosti hořčíku v rostlinách je zatím sporná. Hořčík se nachází v rostlinách ve třech složkách:

- a/ vázaný v protoplastu,
- b/ v chlorofylu,
- c/ ve formě anorganických solí v buněčné šťávě.

Úloha hořčíku v protoplastu je různá. Hořčík s některými anionty reguluje strukturu a složení protoplazmy, s jinými aktivuje enzymy a tím je spojen s látkovou výměnou. Hořčík je přirozeným aktivátorem mnoha enzymů: fosfatáz, fosfokináz, syntetáz a enzymů katalyzujících hydrolýzu anhidridů kyseliny fosforečné. Hlavní jeho úlohou je aktivace enzymů zúčastňujících se metabolismu sacharidů. V poslední době bylo zjištěno, že biosyntéza ribonukleové kyseliny (RNA) a deoxyribonukleové kyseliny (DNA) vyžaduje přítomnost hořčíku. Kromě toho působí hořčík stabilizačně na *strukturu nukleových kyselin*. Největší procento hořčíku obsahují plastidy, dále mitochondrie a buněčné stěny. Hořčík zaujímá centrální postavení v molekule chlorofylu, tvoří 2.7% jeho molekulové hmotnosti. Není pouze stavebním prvkem chlorofylu, ale zúčastňuje se i počátečních fází biosyntézy porfyrinového jádra. Současně aktivuje enzymy účastnící se biosyntézy karotenoidů. Při nedostatku hořčíku ve výživě se snižuje obsah zelených i žlutých pigmentů, mění se kvantitativní poměr chlorofylů *a* a *b* ve prospěch chlorofylu *b*. V důsledku sníženého obsahu chlorofylu klesá i rychlost fotosyntézy. Bylo prokázáno, že hořčík působí jako kofaktor nezbytný pro reakce fotosyntetických fosforylací v izolovaných chloroplastech. Snížený obsah hořčíku v rostlinách se projevuje velmi charakteristickým jevem tzv. *intervenální chlorózou*.

MIKROELEMENTY

ASIMILACE ŽELEZA

V půdě je železa dostatek, ovšem ne na všech půdách je pro rostliny stejně dostupné. V půdě i v rostlinách železo snadno přechází do těžko rozpustných sloučenin Fe^{3+} . Sorpce železa není objasněná, uvažují se různé cesty jeho vstupu do rostliny. Za jednu z možných cest se považuje přenos železa (ze systému $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ v půdě) do rostliny za účasti specifických reduktáz. V rostlině je pak železo převedeno na chelátovou formu a takto je transportováno vodivými pletivy.

V rostlině železo prakticky neexistuje ve volné iontové formě, protože se snadno oxiduje a přechází na nerozpustné sloučeniny. Jeho transport i funkce v rostlině jsou podmíněny existencí specifických transportních a akceptorových systémů chelátové povahy. Nejčastěji je železo v rostlině vázáno na organické kyseliny, z nichž se zdá být nejdůležitější kyselina citrónová. Kromě organických kyselin typu citrónové a jablečné, byla prokázána vazba železa v xylémovém exudátu na složitější látky peptidického a sacharidového charakteru. Ve sloučeninách vystupuje železo ve dvou oxidačních stupních: jako méně stálé Fe^{2+} a stálější Fe^{3+} . Rozpustnou formou je zpravidla jen Fe^{2+} . Vysoká afinita Fe^{2+} ke kyslíku je základem jeho biologické funkce. Uplatňuje se buď v přímé vazbě s bílkovinou, nebo jako porfyrinový chelát, nebo jako složka flavoproteidových systémů. V přímé vazbě s bílkovinou je např. ve ferredoxinu, který funguje jako akceptor vodíku ve fotosystému I. Jako porfyrinový chelát se uplatňuje především v komponentech cytochromového systému fungujících v mitochondriální respiraci i v přenosu elektronů mezi fotosystémem II a I. Z Fe-

flavoproteidů je to především nitritreduktáza, která je významnou složkou systému asimilace nitrátů.

Železo se ukládá hlavně v chloroplastech a zúčastňuje se tvorby fotoyntetického aparátu. V chloroplastech je obsaženo až 90% z celkového železa v listu. Jeho pohyb do chloroplastů je pravděpodobně kontrolován cytoplazmou. Příznaky nedostatku železa jsou: slámově žluté intervenální chlorózy, v extrémních případech bílé zbarvení mladých listů, potlačená tvorba apikálních pupenů.

ASIMILACE MĚDI

Měď tvoří jednomocné a dvojmocné kationty a snadno reaguje s organickými látkami. Hromadí se hlavně v listech, převážně v chloroplastech. Obsah mědi v listech se pohybuje od stotisícin do miliontin procenta sušiny. Transportní formy mědi v rostlině nejsou zatím známy. Přestože měď snadno tvoří komplexy v rostlině, pohybuje se snadno, zvláště snadno se přemísťuje ze starých do mladých listů. Má specifickou stabilizační funkci ve vztahu k chlorofylu. Stabilizuje chlorofyl především tím, že zintenzivňuje oxidační pochody a dýchání rostlin a napomáhá syntéze bílkovin, které tvoří příslušné struktury chloroplastů. Rovněž nachází uplatnění při metabolismu dusíku a druhotném metabolismu.

Ačkoliv je měď biogenní prvek, projevuje se při vyšších koncentracích její toxicita, která je zřejmě způsobena snadným vstupem jejího iontu do buňky a velkou schopností tvořit komplexy s organickými látkami.

ASIMILACE ZINKU

V rostlině existují specifické látky chelátové povahy, které jsou schopné udržovat zinek v iontové formě Zn^{2+} , jehož pohyblivost v rostlině je malá. V rostlinách se zinek hromadí hlavně v mladých listech a v meristematických pletivech. Zinek má mnoho funkcí v oxidativním metabolismu i v hydrolytických reakcích. Ovlivňuje hromadění a transport sacharidů, aktivuje biosyntézu bílkovin a je nespecifickým kofaktorem různých enzymů (enoláza, lecitináza, aldoláza, alkalická fosfatáza, cytochromreduktáza aj.). Byla zjištěna souvislost mezi zinkem a auxinem. Zinek není bezprostředně nutný k syntéze auxinu, ale je nezbytný k syntéze tryptofanu, což je výchozí sloučenina při syntéze auxinu. Zinek se rovněž podílí na tvorbě chlorofylu. Jeho nedostatek se projevuje zvláště zakrslým vzrůstem, bíloželým zbarvením starších listů či poruchami plodnosti.

VYUŽÍVÁNÍ A UKLÁDÁNÍ MINERÁLNÍCH LÁTEK

Anorganické látky se mohou včleňovat do rostlinných pletiv, stávat se složkami či aktivátory enzymů nebo upravovat stupeň hydratace protoplazmy či jejich osmabilitu.

V průběhu vegetačního období se uskutečňuje převážná část z celkového příjmu živin a jejich inkorporace do organických látek dříve než nastane významný nárůst biomasy rostliny. Je zřejmé, že důležité živiny musí být přijaty velice brzo. Např. rozvíjející se listy stromů v sobě pro pozdější užití hromadí N, P, K. Nakonec rychlost produkce biomasy převyší rychlost příjmu živin. Podíl anorganických látek se pak začne měnit ve prospěch nově utvářené organické hmoty, i když absolutní obsah minerálů v pletivech neklesá.

V listech v souvislosti s jejich stárnutím dochází k reexportu minerálů, hromadí se v nich Ca, S a další imobilní prvky. N, P a především K jsou nejvíce retransportovány do mla-

dých listů a jejich koncentrace se stářím listů klesají. Výsledkem toho je charakteristický vzrůst poměru Ca:K v listech během vegetační sezóny.

VYLUČOVÁNÍ MINERÁLNÍCH LÁTEK ROSTLINAMI

Látky, které jsou transpiračním proudem vyneseny do prýtu a listů, se v nich hromadí. Malá množství těchto látek jsou z rostliny odváděna jako součást různých látek vylučovaných rostlinami. Například dusík je u jehličnanů vylučován ve formě volatilních látek a silic.

U rostlin se vylučovací procesy dělí na tři základní systémy:

a/ **rekrece** je vylučování látek v téže formě, v jaké byly přijaty. K rekreaci dochází na povrchu rostliny smýváním deštěm. Tímto způsobem se vyluhují ionty draselné, sodné, hořečnaté a manganové.

b/ **sekrece** je vylučování asimilátů, hlavně cukrů, v nektaru a karbonových kyselin a aminokyselin z kořenů.

c/ **exkrece** je vylučování přechodných metabolických produktů a konečných produktů katabolických.

Význam sekrece a exkrece není ani tak v regulaci chemického složení rostlin, jako spíše v interferenci s jinými rostlinami a živočichy. Tyto látky např. vábí opylovače, odpuzují býložravce či pomáhají rostlině při vnitrodruhové nebo mezidruhové kompetici.

MINERÁLNÍ METABOLISMUS VE VZTAHU KE STANOVIŠTI

Některé rostliny se nacházejí pouze na stanovištích s vápenatými půdami. Jsou to rostliny *kalcikolní*, jiné pouze na půdách chudých na vápník, rostliny *kalcifugní*.

Vápnité půdy se vyznačují většinou tím, že jsou sušší, teplejší a dusíkaté látky v nich rychleji mineralizují. P, Fe a Mn jsou v nich obtížněji dostupné.

Zvláštní pozornost si zasluhují rostliny slaných stanovišť. Soli působí na rostliny tím, že jejich roztok osmoticky váže vodu a tím, že jejich ionty specificky působí na protoplazmu. Rostliny adaptované na tyto situace se nazývají *halofyty*. Jsou to rostliny, které své *hospodaření se solemi upravují*:

a/ **filtrací solí** - to dělají mangrovové stromy, které snižují salinitu vody ve svých vodivých drahách ultrafiltrací přes plazmalemu buněk kořenového parenchymu,

b/ **přerušením transportu solí** - v tomto případě rostliny, jako např. luštěniny, přijaté solné ionty zadržují v kořenech,

c/ **vylučováním solí** - to je již známá exudace a rekrece solí povrchy. U těchto rostlin existují specializované rekreační žlázy,

d/ **sukulentními znaky** - znakem působení solí je jejich koncentrace.

Buňky vyrovnávají hromadění solí tím, že přijímají vodu, čímž výrazně mění svůj objem.

ROSTLINY NA PŮDÁCH BOHATÝCH NA TĚŽKÉ KOVY

Adaptované rostliny ukládají těžké kovy ve svých buněčných stěnách. K likvidaci kovů dochází jejich vazbou na SH- skupiny v hraničních vrstvách cytoplazmy, tvorbou komplexů s organickými kyselinami, silicemi a jinými organickými sloučeninami ve vakuole

či tvorbou metaloproteinů. Toxicita těžkých kovů spočívá především v inaktivaci životně důležitých enzymů.

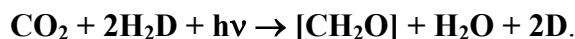
KOLOBĚH MINERÁLNÍCH LÁTEK

Hospodaření s minerálními látkami a hospodaření uhlíkem jsou ve vegetaci navzájem vyváženy. Příjem minerálních živin reguluje vzrůst hmotnosti rostlin a naopak asimilace uhlíku poskytuje látky, do nichž se minerální prvky začleňují. V přirozených podmínkách tvoří koloběh minerálních látek mezi rostlinami a půdou uzavřenou soustavu. Rostliny přijímají minerálie a navracejí je do půdy buď přímo rekrejí, nebo nepřímo, začleněné v organických látkách; živočichové a mikroorganismy tyto látky v půdě mineralizují a půdní koloidy je pak od nich přijímají. Tento návratný oběh tvoří rozhodující článek koloběhu minerálních látek v ekosystému.

7 FOTOSYNTÉZA - SVĚTELNÉ REAKCE

Život na Zemi závisí na sluneční energii. Fotosyntéza je jediným procesem, který může tuto energii uchovávat ve formě vazeb chemických sloučenin. Odhaduje se, že fotosyntézou je ročně spoutáno přibližně 100 Pg (tj. 10^{11} tun) uhlíku a více než 1 ZJ (tj. 10^{18} kJ) energie.

Obecná rovnice fotosyntézy má následující tvar:



Za přítomnosti kvanta světelné energie $h\nu$ tedy dochází k *redukci* CO_2 (tento je akceptorem H, akceptorem H může být i NO_3^- , N_2) a k *oxidaci* H_2D (což je obecně *donor* H). Pro vyšší rostliny je donorem vodíku voda (změna entalpie $\Delta H = 468.2 \text{ kJ mol}^{-1}$), pro některé bakterie tímto donorem je H_2S , S, SO_3^{2-} , H_2 , izopropylalkohol nebo kyselina jablečná.

Historie studia fotosyntézy

Lze říci, že trvalo téměř dvě století než se dospělo k poznání, že se rostliny živí tak nehmotnými věcmi jako jsou světlo a vzduch. Prvním, kdo si tohoto jevu všiml, byl roku 1648 vlámský lékař J.-B. van Helmont, když vypěstoval v květináči vrbu, aniž by se výrazně změnila hmotnost zeminy, v níž byla zasazena. Sto let před vyslovením zákona zachování hmoty vyslovil van Helmont domněnku, že se hmotnost rostliny zvětšila vodou, kterou během růstu přijala. R. 1727 Stephen Hales rozvedl tuto představu, když usoudil, že rostliny berou část své hmoty ze vzduchu. První náznaky toho, že rostliny během svého metabolismu produkují kyslík, objevil kol. roku 1771 angličan Joseph Priestley, když si povšiml „lépe hořících svíček ve vzduchu, v němž před tím po dlouhý čas byly pěstovány rostliny“. Priestley později objevil kyslík, který nazval „deflogistonovaný vzduch“.

Holandřan Jan Ingen-Housz podnícen Priestleyovými pokusy prokázal, že „očistná“ schopnost rostlin se projevuje jen tehdy, působí-li světlo na jejich zelené části. Švýcarský pastor J. Senebier v r. 1782 dokázal, že se při fotosyntéze pohlcuje CO_2 . Jeho krajan T. deSaussure zjistil z rozdílné hmotnosti organické hmoty vytvořené rostlinou, uvolněného kyslíku a přijatého CO_2 , že musí existovat další látka spotřebovávaná při fotosyntéze a sice voda. Poslední člen v rovnici fotosyntézy doplnil roku 1842 německý fyziolog Robert Mayer, jeden z tvůrců prvního termodynamického zákona, když došel k závěru, že rostliny přeměňují světelnou energii na energii chemickou.

Roku 1882 učinil T. Engelmann pozorování, které poprvé naznačilo lokalizaci průběhu fotosyntézy na chloroplastech. Zjistil, že malé bakterie pohybující se směrem ke zdroji kyslíku se shlukovaly na povrchu buněk řasy *Spirogyra* a to v místech, pod nimiž ležel chloroplast, avšak pouze tehdy, byl-li chloroplast osvětlen.

V prvních desetiletích 20. století bylo obecně předpokládáno, že světlo pohlcené fotosyntetickými barvivy bezprostředně redukuje CO_2 na meziprodukt, který se slučuje s vodou na sacharid. V tomto pojetí byl CO_2 zdrojem uvolňovaného kyslíku. Tento předpoklad vyvrátil až r. 1931 Cornelis van Niel studiem sirných bakterií a zveřejněním výše uvedené obecné rovnice fotosyntézy. Znamená to tedy, že fotosyntéza je dvoustupňový proces, přičemž při oxygenní fotosyntéze dochází k fotolýze H_2O , nikoli CO_2 . Správnost van Nielovy hypotézy dokázal r. 1937 Rober Hill.

FOTOSYNTÉZA U VYŠŠÍCH ROSTLIN

Nejaktivnějším fotosyntetickým pletivem u vyšších rostlin je **mezofyl listů**. Mezofyl obsahuje velký počet **chloroplastů**, ve kterých jsou zabudovány *fotosynteticky aktivní barviva* - **chlorofyly**.

Reakce od zachytu fotosynteticky aktivní radiace po redukci CO_2 je možné rozdělit na dvě po sobě následující fáze:

- **světelné reakce fotosyntézy,**
- **temnotní reakce fotosyntézy.**

Světelné reakce fotosyntézy probíhají ve specializovaných vnitřních membránách chloroplastů, kterým se říká **thylakoidy**. Výsledným produktem světelných reakcí jsou „vysoce energetické“ látky - **ATP** (adenosintrifosfát), **NADPH** (redukovaný nikotinamidadenindinukleotidfosfát).

Temnotní reakce fotosyntézy (jelikož ke svému průběhu již nepotřebují sluneční energii) probíhají ve stromatu chloroplastů, kde se nacházejí ve vodě rozpuštěné všechny potřebné substráty a enzymy nutné pro redukční uhlíkový cyklus.

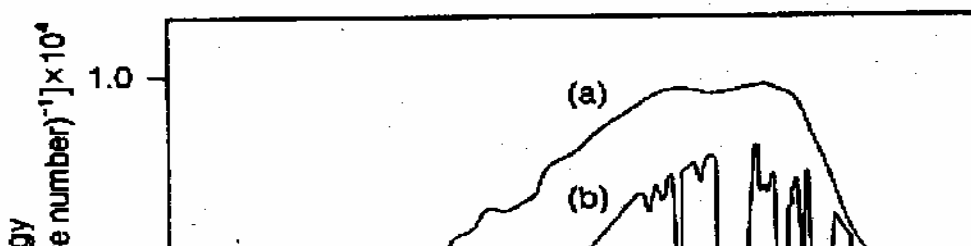
Sluneční energie, absorpce a emise elektromagnetické energie molekulami

Sluneční energie je v podstatě *elektromagnetická energie* vznikající jadernými reakcemi na Slunci. Tato energie má vlnový charakter. *Emisní spektrum* sluneční energie je charakterizováno od vlnových délek kolem **280 nm až po 2000 nm**. V důsledku ztrát a interakcí s atmosférou je spektrum tohoto záření silně modifikováno, přičemž tok energie na rozhraní „vesmírný prostor - atmosféra“, známý pod pojmem *solární konstanta* ($1,4 \text{ kW m}^{-2}$), je redukován a na hladině moře dosahuje průměrné hodnoty $0,9 \text{ kW m}^{-2}$. Přibližně polovina (asi 0,489) tohoto záření se nachází ve spektrálním pásmu **od 400 do 700 nm**, které je označováno jako **fotosynteticky aktivní záření**

Energie elektromagnetického záření je dána vztahem:

$$E = h \cdot c \cdot \lambda^{-1},$$

kde **h** je Planckova konstanta ($6,626 \cdot 10^{-34} \text{ J s}^{-1}$), **c** rychlost světla ($3 \cdot 10^8 \text{ m s}^{-1}$) a **λ** vlnová délka elektromagnetického záření. Vzhledem k tomu že **h** a **c** jsou konstanty, lze tento člen **h.c** vyjádřit hodnotou $1,986 \cdot 10^{-25} \text{ J m}$, nebo 1240 eV nm . Dosazením do rovnice zjistíme, že energie fotosynteticky aktivního záření je schopna způsobit posun jednoho molu elektronů na redoxní stupnici o 1,5 až 4 eV v negativním směru. Absorpce této energie je tedy základem dostatečné změny Gibbsovy volné energie pro průběh redoxních reakcí vedoucích k tvorbě energeticky bohatých chemických vazeb.

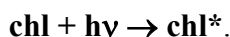


OBR.7.1 SPEKTRUM SLUNEČNÍ RADIACE.

a) energie vyzařovaná Sluncem, b) sluneční energie dopadající na povrch Země. c) absorpční spektrum chlorofylu

V atmosféře je *část energie absorbována molekulami plynů* (CO₂, O₃, CH₄), převážně však molekulami vodní páry. *Chlorofyly*, které jsou hlavními fotosyntetickými barvivy se jeví našemu zraku jako zelené, neboť *absorbují v modré a červené části spektra* a zelené světlo je jimi odráženo.

Absorpci fotosynteticky aktivního záření chlorofylem je možné vyjádřit následující rovnicí:



Chlorofyl tedy *přechází ze základního energetického stavu do excitovaného stavu* o vyšší energii. Jelikož excitovaný stav je velice nestabilní, *přechází excitovaná molekula chlorofylu zpět do základního stavu* vyzářením tepelné energie, vyzářením fotonu (proces známý jako fluorescence), *nebo přenosem energie na jiné molekuly*. Nejvýznamnějším procesem deexcitace je využití energie excitovaného stavu chlorofylu ve fotochemických reakcích, kdy dochází k uvolnění elektronu.

Informace o zániku excitovaného stavu kvantitativně podává *kvantový výtěžek*. Pro nás je nejdůležitější kvantový výtěžek fotochemických procesů. *Matematicky je fotochemický kvantový výtěžek definován jako podíl množství fotochemických produktů k počtu absorbovaných světelných kvant*:

$$\phi_{\text{fotochemie}} = \frac{\text{fotochemické produkty}}{\text{počet absorbovaných kvant}}.$$

Kvantové výtěžky ostatních procesů se definují obdobně. Hodnota jednotlivých kvantových výtěžků je od 0 do 1, přičemž suma kvantových výtěžků všech možných procesů je 1.

Ve funkčním chloroplastu bývá kvantový výtěžek fotochemických reakcí kolem 0.95, kvantový výtěžek fluorescence kolem 0.05 nebo nižší. Kvantové výtěžky ostatních procesů

jsou zanedbatelné. *Tedy téměř 95% excitovaných stavů molekul chlorofylu ztrácí svou energii právě přes fotochemické procesy.*

Kvantové výtěžky pro fotosyntetické produkty se dají celkem přesně měřit. Například kvantový výtěžek produkce kyslíku je přibližně 0.1, což znamená, že pro uvolnění jedné molekuly O₂ je zapotřebí 10ti kvant světelného záření.

Reciproční hodnota kvantového výtěžku se nazývá kvantový požadavek.

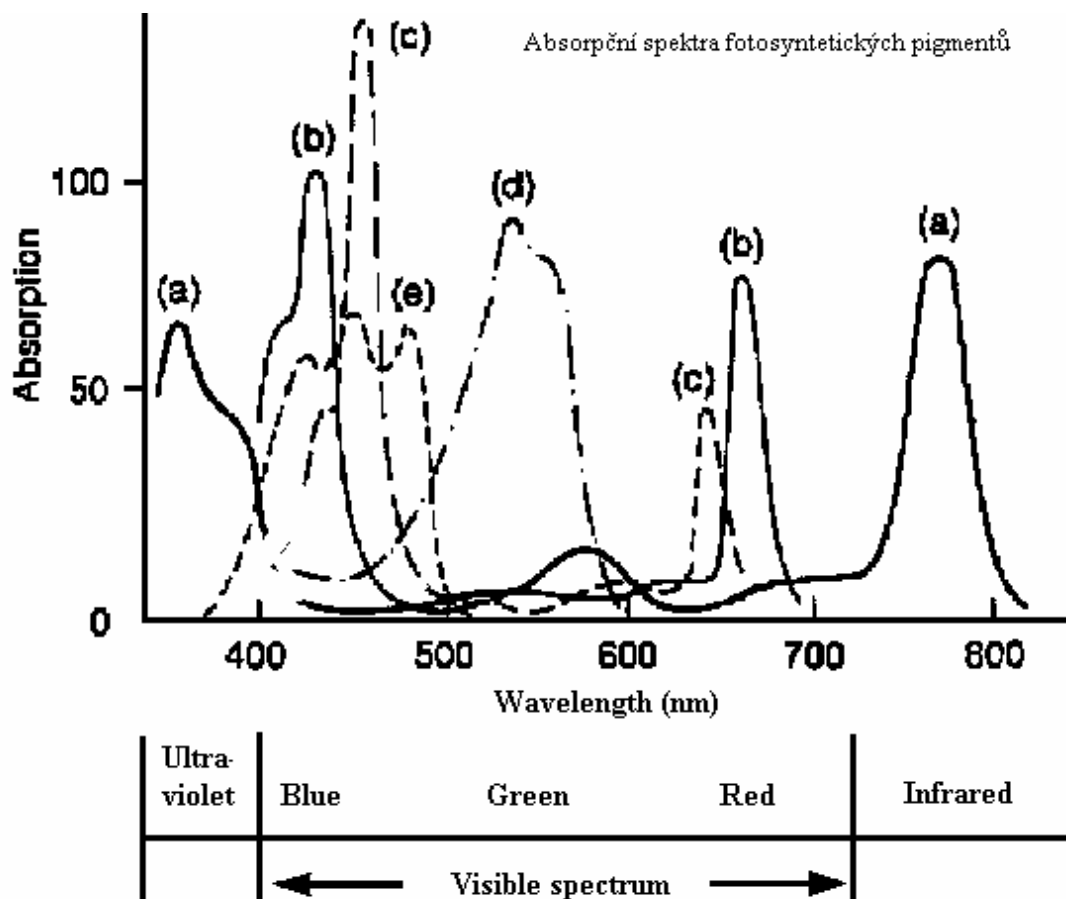
Pigmenty účastníci se fotosyntetických procesů

Fotosynteticky aktivní záření je absorbováno pigmenty v chloroplastech rostlin. Tyto pigmenty můžeme rozdělit na **fotochemicky aktivní chlorofyl a** a na **doprovodné pigmenty - chlorofyl b, feofytin a karotenoidy** (α a β - karoten, zeaxantin, antheraxantin, violaxantin). Jejich absorpční spektra pokrývají celé viditelné spektrum slunečního záření, které jsou schopny využít.

Část energie absorbovaná chlorofyly a doprovodnými pigmenty je v průběhu fotosyntézy uchovávána jako chemická energie ve formě chemických vazeb. **Přeměna z jedné formy energie (elektromagnetické) na jinou (chemickou) je komplexní proces, který závisí na spolupráci velkého počtu pigmentových molekul a skupin bílkovin přenášejících elektron (k těmto patří cytochromy, ferredoxiny a plastocyaniny, bílkoviny s nehemovým železem a Rieskeho Fe-S protein).** Převážná část pigmentů je *uložena v thylakoidních membránách chloroplastů* v formě tzv. **antén**. Hlavním úkolem antén je záchyt fotosynteticky aktivního záření a přenos této energie do **reakčního centra**, kde probíhají *primární fotochemické reakce* vedoucí k uvolnění elektronu.

- a) energetický excitovaný stav pigmentů v anténě roste se vzdáleností od reakčního centra. Nejnižší energetický stav mají pigmenty blízko reakčního centra. To umožňuje to, že přenos excitační energie je právě možný jen ve směru “vrchol antény – reakční centrum“ a ne naopak.
- b) část excitační energie je ztracena jako teplo, ale většinou excitonů předá energii reakčnímu centru.

Molekuly pigmentů spolu velice těsně spolupracují. Bylo např. zjištěno, že pro uvolnění jedné molekuly kyslíku je zapotřebí spolupráce 2500 molekul chlorofylu.



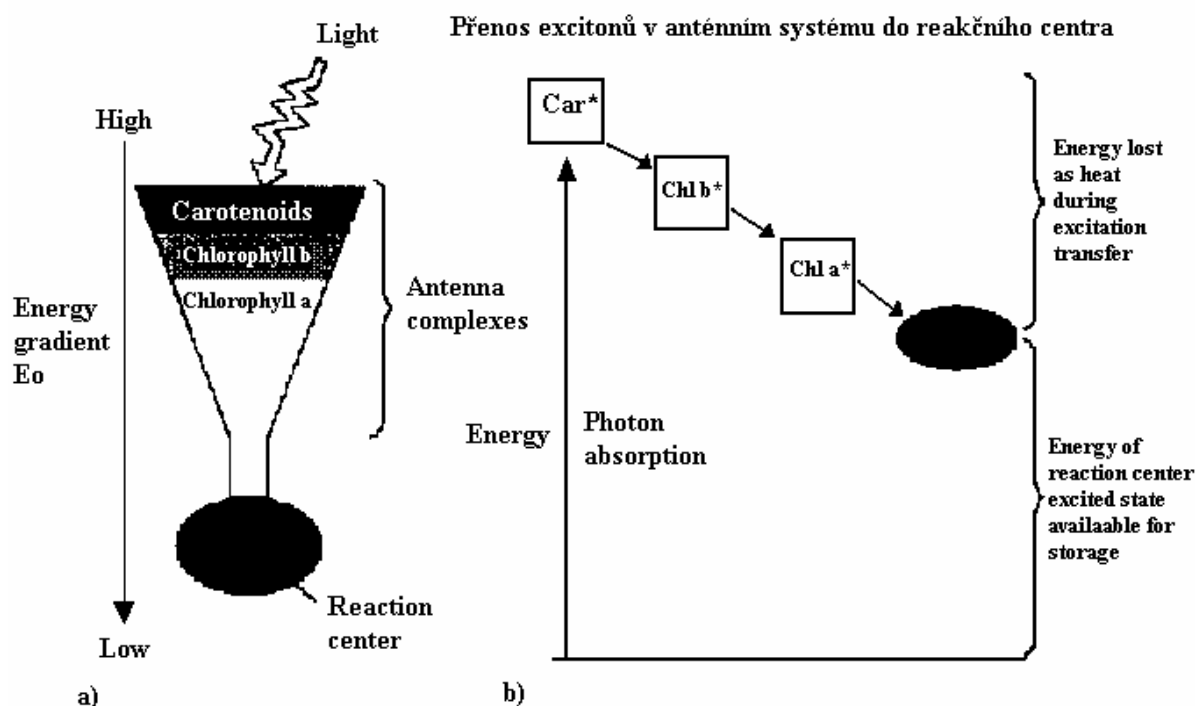
Křivka a: bakteriochlorofyl a; **b:** chlorofyl a; **c:** chlorofyl b; **d:** fycoerythrobilin;
e: β karoten

OBR. 7.2 ABSORPČNÍ SPEKTRA FOTOSYNTETICKY AKTIVNÍCH PIGMENTŮ

Struktura fotosyntetického aparátu

Fotosyntéza u eukaryotních buněk probíhá ve speciálních sub-buněčných organelách - *chloroplastech*. Vnitřní lipidová dvojmembrána se označuje jako **thylakoidní membrána**. Prostor mezi lipidovou dvojvrstvou thylakoidní membrány označujeme jako **lumen**. Všechny chlorofyly jsou obsaženy v tomto membránovém systému, kde také probíhají světelné reakce fotosyntézy. Temnotní fáze fotosyntézy, tedy všechny jemnostní reakce, které jsou katalyzovány ve vodě rozpustnými enzymy, probíhají ve **stromatu**. V některých místech je thylakoidní membrána navrstvena přes sebe. Tomuto útvaru se říká **granální thylakoid** (granum, mn. č. grana). Thylakoidní membrána, která není navrstvena bývá označována jako **stromatální thylakoid**. Kolem celého chloroplastu je dvojité membrána. Každá z nich je tvořena lipidovou dvojvrstvou. Tento systém dvojí membrány obsahuje transportní systémy pro metabolity. V chloroplastech je také obsažena DNA, RNA a ribozómy.

OBR. 7.3 ZÁCHYT A PŘENOS ENERGIE NA RC



Ve struktuře thylakoidní membrány jsou zabudovány **integrální a periferní membránové proteiny** (integrální prostupují celou membránou napříč, periferní se obvykle mohou přesouvat po vnitřní straně thylakoidní membrány). *Reakční centra, antény pigment-proteinových komplexů a nejvíce elektron-transportních enzymů jsou v podstatě integrální proteiny zabudované do lipidové dvojvrstvy membrány.* Určení třídímenzionální struktury těchto proteinů je velmi obtížné, jelikož membránové proteiny je velmi nesnadné krystalizovat a získání krystalu je základním předpokladem rentgenové strukturní analýzy. Pochopení struktury membránových proteinů je jedním z problémů současné vědy, jelikož mají jedinečnou polohu v membráně související s jejich funkcí (činností).

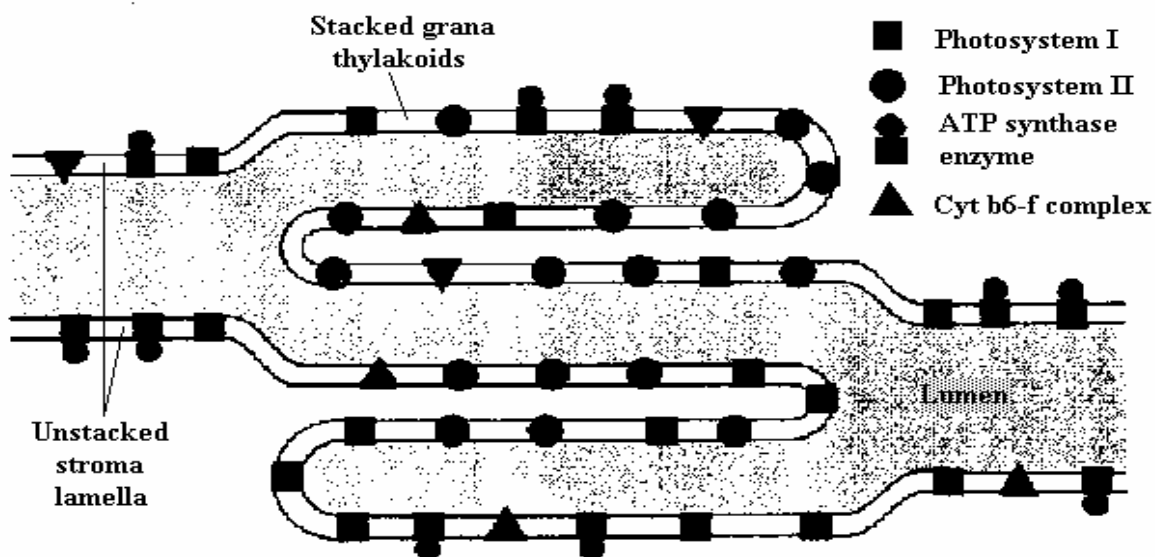
V thylakoidní membráně se nacházejí proteiny ve formě **proteinových komplexů**, ve kterých se uskutečňuje celý molekulární děj.

Organizace proteinových komplexů v thylakoidní membráně chloroplastu způsobující prostorovou determinaci transportu elektronů mezi Fotosystémy II a I.

Fotosystém II je převážně umístěn na granálních thylakoidech.

Fotosystém I a ATPáza je umístěn hlavně a – granálních thylakoidech, cytochrom b₆-f umístěn rovnoměrně mezi těmito typy thylakoidů

OBR. 7.4 ORGANIZACE PROTEINOVÝCH KOMPLEXŮ V THYLAKOIDNÍ MEMBRÁNĚ CHLOROPLASTU VYŠŠÍCH ROSTLIN



- komplex fotosystému II, označujeme jako PSII,
- komplex fotosystému I, označujeme jako PSI,
- cytochrom *b₆-f* komplex, označujeme jako cyt *b₆-f* komplex, světlosběrný komplex fotosystému II, označujeme jako LHCPII (nebo jen LHCII),
- komplex *CF₀-CF₁*, nazývaného také ATP syntáza.

Fotosystém I a II jsou v thylakoidní membráně prostorově oddělené.

V posledních letech bylo zjištěno, že reakční centrum PSII s anténními chlorofyly a doprovodnými elektron-transportními proteiny jsou umístěny převážně v thylakoidních membránách, které jsou na sebe nakupeny (stacked grana thylakoids), zatímco reakční centrum PSI a jeho anténní pigmenty a elektron-transportní proteiny i ATPsyntáza se nacházejí převážně ve stromatálních thylakoidech. Dvě skupiny fotochemických reakcí jsou tedy prostorově oddělené a dřívější stechiometrická představa 1 ku 1 pro PSII ku PSI není správná. Studie z posledních let ukazují na poměr PSII:PSI kolem 1.5:1, ale tento poměr se může měnit v závislosti na ozáření fotosynteticky aktivní radiací (vyšší FAR = vyšší PSII/PSI).

Uspořádání světlosběrných anténních systémů

Fotosyntetický systém vyšších zelených rostlin vykazuje tzv. **Emersonův efekt**, který znamená, že osvětlujeme-li fotosyntetický systém současně světlem o vlnové délce 700 a 650 nm, dojde ke zvýšení výtěžku fotosyntézy. Toto zvýšení je vyšší než pouhý součet výtěžků pro jednotlivá světla. To je důkaz pro spolupracující systém dvou různých světelných reakcí. Byla prokázána existence tzv. **fotosyntetické jednotky** (PSU - *photosynthetic unit*). Jedná se o funkční jednotku chlorofylových molekul spolupracujících na uvolnění jedné molekuly kyslíku z vody. Pro toto uvolnění je potřeba nejméně čtyř fotochemických reakcí. Kvantitativně PSU představuje asi 2400 molekul chlorofylu. Současná koncepce, s uvažováním

dvou světelných reakcí ve fotosyntéze potřebných k přenosu 4 elektronů z vody na NADP, vede k představě souboru asi 250 - 3900 molekul fotosyntetických pigmentů tvořících určitou anténu zachycující světlo, tzv. *light harvesting system, LHS*. LHS dále efektivně spolupracují na přenesení energie jednoho kvanta absorbovaného jakoukoli molekulou antény do energetické pasti reakčního centra RC.

Anténní systémy rozdílných tříd fotosyntetických organismů jsou *velmi odlišné* v porovnání s reakčními centry. Odlišnost anténních komplexů odráží vývojovou adaptaci k rozmanitým přírodním podmínkám, ve kterých se organismy vyvíjejí, i potřebu rovnovážného energetického vstupu obou fotosystémů. *Funkcí anténních systémů je účinně předávat absorbovanou energii do reakčních center*. Velikost anténních systémů je významně odlišná pro různé organismy. Pro některé fotosyntetické bakterie je to 20 až 30 molekul bakteriochlorofylu na jedno reakční centrum. Naproti tomu u vyšších rostlin je to 200 až 300 chlorofylů na jedno reakční centrum a několik tisíc molekul pigmentů na jedno reakční centrum u některých druhů řas a bakterií.

Mechanismus přenosu excitační energie z chlorofylů do reakčního centra popsal Förster jako tzv. **rezonanční přenos**. Při tomto přenosu fotony nejsou emitovány jednou molekulou a absorbovány druhou, ale spíše je excitační energie předávána neradiačními procesy. Jako použitelná analogie se nabízí rezonanční přenos energie mezi dvěma ladičkami. Rozeznáme-li jednu ladičku a přiblížíme-li ji ke druhé, druhá přijme část energie a začne vibrovat. Účinnost přenosu energie pak bude záviset na vzdálenosti mezi ladičkami, na jejich vzájemné orientaci i na výšce tónu nebo vibrační frekvenci, právě tak jako v přenosu rezonanční energie v anténních komplexech. Tento přenos je velice účinný. 95 - 99% fotonů, které jsou absorbovány anténními pigmenty je přeneseno do reakčního centra a využito pro fotochemické procesy.

Přenos energie absorbované anténními pigmenty si můžeme představit pomocí „**nálevkového**“ modelu. Spektrální formy jsou v tomto modelu prostorově uspořádány podle rostoucí vlnové délky absorpčního maxima. Tato představa vyhovuje pravidlům o přenosu energie. Rozdíl v energiích mezi dvěma následujícími spektrálními formami je vyzářen ve formě tepla.

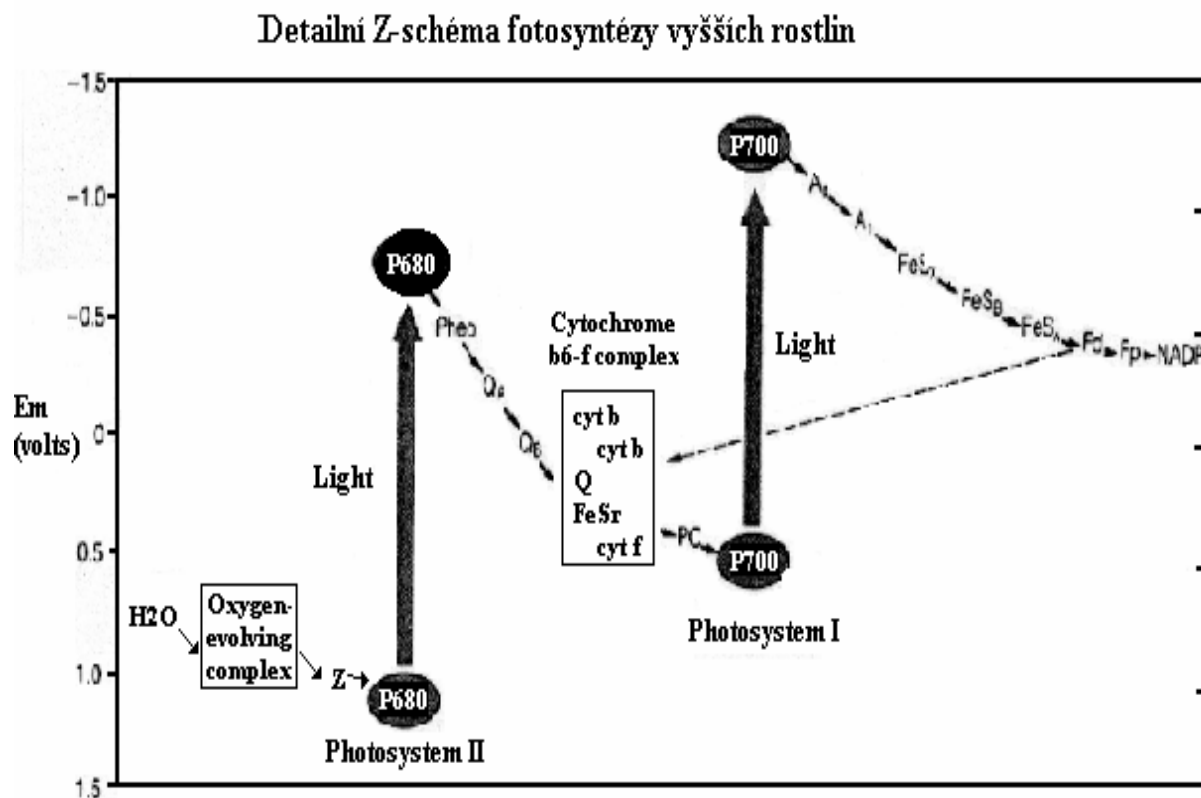
Karotenoidy byly nalezeny ve všech fotosyntetizujících organismech. Jejich absorpční maxima jsou v oblasti od 400 do 500 nm, což jim dává jejich charakteristickou oranžovou barvu. Nazýváme je také *doprovodná barviva*, protože absorbovanou energii ihned přenášejí na chlorofyl. Účinnost tohoto přenosu je však menší než přenos mezi chlorofyly. Karotenoidy hrají také významnou roli při ochraně fotosyntetické membrány před nadměrnou ozářeností. Fotosyntetická membrána může být snadno poškozena, jestliže absorbovaná energie nemůže být využita ve fotochemických procesech. Jestliže excitovaný chlorofyl není zhášen přenosem energie nebo fotochemií, zúčastní se reakce s molekulárním kyslíkem. Ten přejde do excitovaného stavu známého jako *singletní kyslík*. Ten je velmi reaktivní a poškozuje hlavně lipidy. *Karotenoidy jsou dobrými zhášeci excitovaného chlorofylu*, jelikož nereagují s kyslíkem, ale energii takto nabytou vyzáří ve formě tepla, nebo dochází k reakci mezi singletním kyslíkem a zeaxantinem, který se epoxiduje přes anteraxantin na violaxantin v tzv. *xantofylovém cyklu*.

Skutečnost, že *fotosyntéza u vyšších rostlin závisí na dvou fotochemických systémech* s rozdílnými absorpčními maximy je zvláštní problém. Jestliže energie dodaná do PSI a PSII není přesně rovna a podmínky jsou takové, že fotosyntéza je limitovaná fotosynteticky aktivní radiací (to je při nízké FAR), elektronový tok bude limitován fotosystémem, který přijal málo energie. Nejúčinnější situace nastane, když vstup energie je pro oba fotosystémy stejný.

Bohužel rozdílný obsah pigmentů nemůže zajistit tento požadavek, protože během dne se mění jednak intenzita FAR a jednak spektrální zastoupení, které je příznivé pro jeden nebo druhý fotosystém. Odpovědí na tento problém může být mechanismus přesunu energie z jednoho fotosystému na druhý v závislosti na různých podmínkách. Zjištění, že celkový kvantový výtěžek fotosyntézy je téměř nezávislý na vlnové délce, předpokládá existenci takového mechanismu.

Díky přesunu energie z jednoho fotosystému na druhý je asimilační aparát chráněn před tzv. **fotoinhibicí**. Fotoinhibicí je myšlena inaktivace reakčního centra PSII, která může nastat v případě nadměrné ozáření fotosynteticky aktivním zářením. Výrazný pokrok byl učiněn pro pochopení molekulárního mechanismu přerozdělování (redistribuce) této energie. Thylakoidní membrány obsahují *proteinkinázu*, která může fosforylovat threoninový zbytek, který se nachází na povrchu světlosběrného komplexu II (*light harvesting complex II, LHCII*). Když LHCII není fosforylován, dodává více energie do PSII. V opačném případě se přesouvá k PSI (stav 2). Kináza je aktivována při přebytku plastochinonu v redukovaném stavu. Ve stavu 2 se dodává více energie PSI a plastochinon je snáze oxidován. Jestliže je plastochinon ve více oxidovaném stavu, kináza je inhibována a hladina fosforylace LHCII klesá za účasti fosfatázy, která je zabudována do membrány. LHCII se vrací zpět k PSII - stav 1. Tímto způsobem se zajišťuje přibližně stále stejný kvantový výtěžek fotosyntézy.

OBR. 7.5 „Z“ - SCHEMA TRANSPORTU ELEKTR. MEZI PSII A PSI



Vertikální šipky znázorňují absorpci fotonů reakčními centry chlorofylů: P_{680} a P_{700} fotosystému II a I (PSII, PSI). Excitované centrum PSII předává elektrony na akceptor feofytin (Pheo). Na "oxidační" straně reakčního centra PSII (levá strana šipky) dochází k opětné redukci akceptoru Z, který je bezprostředním donorem elektronu pro reakční centrum PSII. Z je tyrosinová strana řetězce D_1 proteinu reakčního centra PSII. Na Z putují elektrony získané fotolýzou vody, tedy kyslík vyvíjejícího komplexu. Z feofytinu jdou elektrony přes plastochinové akceptory QQ na komplex cytochrom $b_6 - f$. Tento komplex předává elektron na plastocyanin (PC), který redukuje reakční centrum PSI. Cytochrom $b_6 - f$ obsahuje Rieského protein (železitoserinová bílkovina). Po excitaci reakčního centra PSI elektrony putují na akceptor A (chinon) a sérii Fe-S proteinů doputují na ferredoxin (Fd). Ten poskytuje redukční sílu pro redukci NADP. Přerušovaná linka naznačuje cyklický tok elektronů kolem PSI.

MECHANISMUS ELEKTRONOVÉHO A PROTONOVÉHO TRANSPORTU „SVĚTELNÁ FÁZE FOTOSYNTÉZY“

Jak již bylo zmíněno fotochemických reakcí se účastní dva fotosystémy. Nyní se zmíníme o reakcích účastnících se elektronového transportu během fotosyntézy. *Touto částí fotosyntetického procesu rozumíme soubor dějů počínajících absorpcí kvanta zářivé energie a končících redukcí $NADP^+$ a syntézou ATP. Světelná fáze probíhá v časovém intervalu 10^{-15} až 10^{-1} s.* Děje a reakce této fáze dělíme podle časového průběhu na:

- 1/ **reakce trvající 10^{-15} až 10^{-6} s;** tehdy probíhají fotofyzikální děje spojené s absorpcí světla chlorofylem a přenosem excitační energie do reakčního centra. Optické vlastnosti anténního pigmentového systému LHC způsobují vysokou účinnost v zachycení kvant energie.
- 2/ **reakce trvající 10^{-10} až 10^{-3} s;** v tomto intervalu probíhají fotochemické děje spojené s využitím excitační energie v reakčním centru pro separaci nábojů.
- 3/ **reakce trvající 10^{-4} až 10^{-2} s;** to je časový interval pro průběh biochemických dějů spojených s přenosem elektronu proti spádu redoxního potenciálu. Výsledkem je uvolnění kyslíku, produkce redukovaného NADPH a fosforylace ADP na ATP a fixace CO_2 .

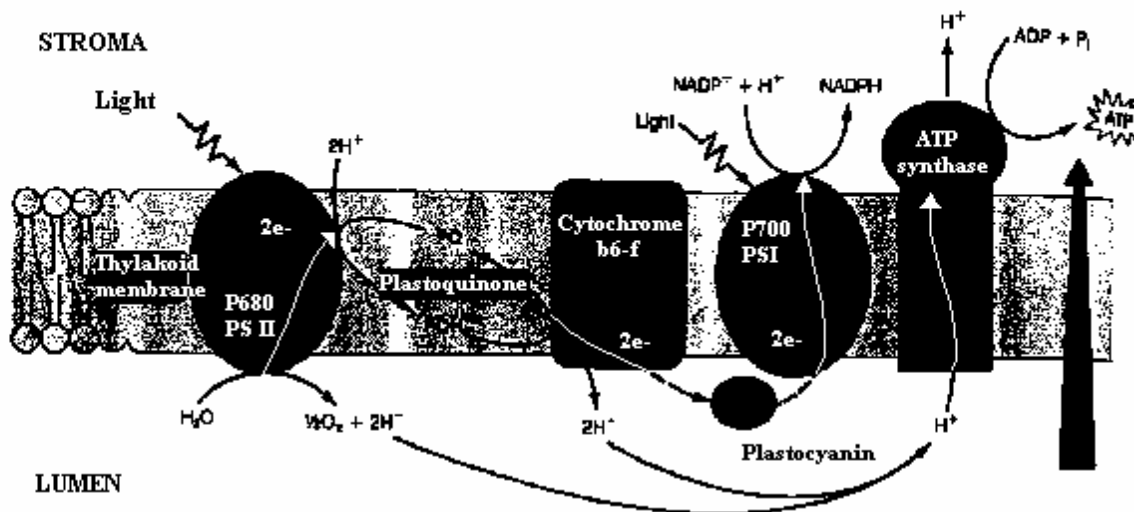
Je nutné podotknout, že fotosyntetické děje nemají pouze charakter po sobě následujících reakcí, ale řada pochodů probíhá současně.

Střední potenciál E_m je měřen jako *schopnost sloučeniny přijímat elektron od jiných sloučenin*. Vyšší kladný střední potenciál znamená, že látka je silný oxidant a tím snáze přijímá elektron. Vyšší záporný střední potenciál mají silné reduktanty, tj. látky snadno uvolňující elektron (v obou případech ke standardní vodíkové elektrodě).

Elektronového a protonového transportu se účastní čtyři proteinové komplexy:

- *komplex fotosystému II, označujeme jako PSII*
- *komplex fotosystému I, označujeme jako PSI*
- *cytochrom b_6-f komplex, označujeme jako cyt b_6-f komplex*
- *komplex CF_0-CF_1 , nazývaného také ATP syntáza.*

Transport elektronů a protonů na thylakoidní membráně chloroplastu vyšších rostlin přes základní čtyři proteinové komplexy



OBR. 7.6 PROSTOROVÉ USPOŘÁDÁNÍ TRANSPORTU ELEKTR. A PROTONŮ MEZI PSII A PSI

Oxidace vody a uvolnění protonu se děje v lumenu PSII. PSI redukuje NADP^+ na NADPH ve stroma chloroplastu. Proto jsou transportovány na lumenovou stranu rovněž prostřednictvím komplexu cytochromu $b_6 - f$. To vše přispívá k tvorbě elektrochemického protonového gradientu přes membránu thylakoidů. Takto vytvořený gradient je přirozenou podmínkou tvorby ATP, protože protony tak spontánně tečou přes membránovou ATP – ázu. Tento termodynamicky možný tok umožňuje tvorbu ATP ve stroma chloroplastu.

Tyto membránové komplexy jsou *vektorově orientovány* tak, že *voda je oxidována na O_2 ve vnitřní straně thylakoidní membrány v lumenu, NADP^+ je redukováno na NADPH na stromatální straně membrány a ATP vzniká ve stromatu za přispění H^+ procházejícího z lumenu do stromatu.*

Základem uložení fotosyntetické energie je přenos elektronu z excitovaného chlorofylu na molekulu akceptoru. Následuje separace nábojů a řada velmi rychlých chemických reakcí. Tedy k uložení energie dojde, když excitovaný chlorofyl redukuje molekulu akceptoru.

Reakční centra PSI a PSII mají maximální absorbance při 700 a 680 nm

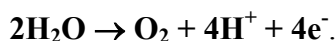
Reakční centrum je po ztrátě elektronu a před redukcí jeho elektronovým donorem přechodně v oxidovaném stavu. Použitím časově-rozlišitelné absorbance Bessel Kok objevil, že reakční centrum fotosystému I má nejvyšší absorpci při 700 nm, a to v jeho redukovaném stavu. V souladu s tímto zjištěním bylo reakční centrum PSI označeno jako P 700 (P = pigment). Obdobně pro reakční centrum PSII je zavedeno označení P 680. Předpokládá se, že P 700 existuje ve formě dimeru. Na odhalení struktury P 680 se ještě pracuje.

Reakční centrum fotosystému II oxiduje vodu a redukuje plastochinon

PSII je tvořen několika proteinovými komplexy. Jádro reakčního centra je tvořeno dvěma membránovými proteiny o hmotnostech 32 a 34 kDa, známými jako D1 a D2 protein. P 680, feofytin a plastochinon jsou zabudovány do membránových proteinů. O dalších proteinech (43 a 47 kDa) se uvažuje jako o anténních, popřípadě se účastní vývinu kyslíku (33, 23 a 18 kDa). Některé, jako je např. cytochrom b-559, nemají zatím známou funkci.

Voda je oxidována na kyslík fotosystémem II

Chemická reakce oxidace vody je dána následující rovnicí:



Méně je známo o chemickém mechanismu vývinu kyslíku. Model navržený Kokem a spol. obsahuje sérii pěti stavů S_0 až S_4 . Po čtyřech fotochemických reakcích PSII se v blíže nedefinovaném systému S nahromadí 4 kladné náboje a poté dojde k rozkladu vody podle uvedené rovnice. Uvolněné protony se využívají v ATP syntáze, elektrony redukují reakční centrum PSII.

Akceptorová strana PSII obsahuje feofytin a dva chinony jako elektronové přenašeče

Prvním akceptorem elektronu od P 680 je molekula *feofytinu* a . Feofytin je strukturně podobný chlorofylu s tím rozdílem, že atom hořčíku je nahrazen dvěma atomy vodíku. Z feofytinu přechází elektron na *přenašeč* Q_A , což je na protein vázaná chinonová molekula tvořící pravděpodobně komplex s atomy železa. Od Q_A přechází elektron na tzv. Q_B protein, který je přechodovým článkem mezi doposud uvedenými *jednoelektronovými přenašeči* a **plastochinonem (PQ)**, který přenáší současně dva elektrony a dva protony. Na jeden PSII připadá asi 10 - 20 molekul PQ. Z PQ se tedy stává hydrochinon, který přenáší elektrony na *cytochrom b_6-f komplex*.

Do této chvíle byl elektron přenášen *necyklickým přenosem*. Cytochrom b_6-f se navíc účastní na cyklickém přenosu elektronu spolu s PSI. *Cytochrom b_6-f tvoří tedy spojovací článek mezi PSII a PSI a přenáší necyklicky dva elektrony z PQ na Rieskeho Fe-S protein a navíc transportuje dva protony ze stromatu do lumenu*. Cytochrom b_6-f ještě obsahuje nízko- a vysokopotenciální *cytochrom b_{563}* , který se účastní cyklického přenosu elektronů. Z Rieskeho Fe-S proteinu jsou elektrony přenášeny *přes cytochrom f na plastocyanin*, který transportuje elektrony na PSI. Oxidačně-redukční centrum plastocyaninu obsahuje *měď*, která přechází ze stavu Cu^I do stavu Cu^{II} a zpět.

Fotosystém I je zabudován do multiproteinového komplexu. P 700 a přibližně 140 jaderných (core) chlorofylů je *zabudováno do dvou peptidů* s molekulární hmotností 66 - 70 kDa. V tomto peptidu jsou také akceptory elektronu A_0 a A_1 . V komplexu PSI je dále akceptor A_2 a dva přenašeče elektronů, jejichž centrem je nehemový komplex železa a síry *Fe-SA* a *Fe-SB*. Princip činnosti PSI je podobný jako PSII, má však jiné donory a akceptory. Donorem elektronů pro PSI je *plastocyanin*, který je *redukován z cytochromu f* . Primárním akceptorem elektronu je A_0 a dále je pak elektron přenášen přes A_1 , A_2 , Fe-SA a Fe-SB na rozpustný ferredoxin typu $[2\text{Fe}-2\text{S}]$, označovaný jako Fd. Redukovaný Fd za přítomnosti enzymu *ferredoxin-NADP⁺ reduktázy* redukuje NADP^+ na NADPH.

Kromě **necyklického přenosu** elektronu může probíhat ještě **cyklický přenos elektronu**, jehož se účastní pouze PSI, PC a cyt b_6-f . Tento proces začne probíhat především za podmínky vyšší koncentrace NADPH a slouží k transportu elektronů dovnitř thylakoidu.

Některé herbicidy zabíjejí rostliny blokováním elektronového transportu. Patří k nim DCMU (dichlorfenyldimetylurea) blokuje necyklický transport elektronu tím, že soutěží o

vazné místo s PQ a elektrony z Q_A nemohou tedy přejít na PQ a paraquat (metyl viologen), který přijímá elektrony mezi ferredoxinem a NADP a potom redukuje kyslík na superoxid (O_2^{2-}). Přítomnost superoxidu vede ke ztrátě aktivity chloroplastu, protože dochází k narušení thylakoidní membrány.

Fosforylace

Fosforylace využívá chemických a membránových potenciálů na thylakoidní membráně vzniklých při necyklickém a cyklickém transportu elektronů. Dosud nejvíce uznávanou hypotézou je **chemiosmotická hypotéza** (Mitchell 1960). Ze všech variant této hypotézy se zmiňme o dvou extrémních:

1/ **delokalizované spřažení**,

2/ **lokální spřažení**.

Podle hypotézy o delokalizovaném spřažení redoxních reakcí přenosu elektronů s tvorbou ATP, probíhá syntéza ATP ve dvou nezávislých krocích. Nejdříve je energie světelných kvant absorbovaných PSII a PSI uložena ve formě elektrochemického gradientu protonů μ_{H^+} přes thylakoidní membránu, označovaného jako protonmotivní síla. Přenos elektronů přes thylakoidní membránu má za následek, že vnitřní vodní médium má jinou aktivitu protonů (jiné pH) než vnější médium i jiný elektrostatický potenciál a tyto gradienty jsou delokalizovány po celé membráně. Membrána jako celek je tedy „energizována“. V neseskupených částech thylakoidní membrány je pak umístěna ATP syntáza, v níž se energie gradientu protonů využívá k tvorbě ATP.

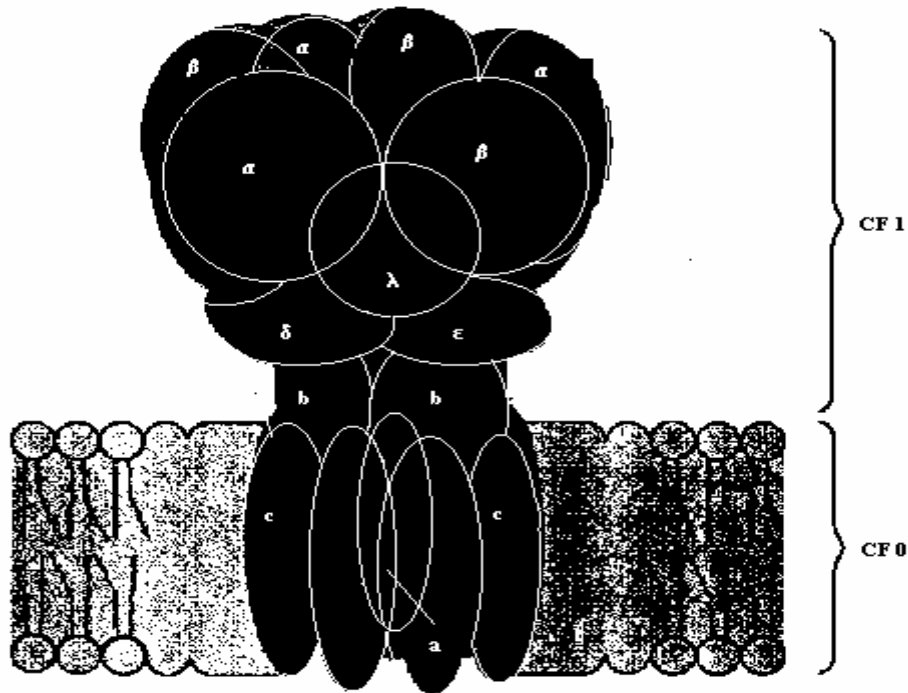
Podle hypotézy o lokalizovaném spřažení redoxních reakcí a tvorby ATP, protony nevstupují okamžitě do vodní fáze, ale vytvářejí lokální gradienty. Podélný přesun protonů na místo využití mohou zprostředkovávat specializované proteiny.

Vlastní syntéza ATP z ADP a P_i probíhá v CF_1 . Na dodání energie pro tvorbu 1 molekuly ATP je dnes uznávána potřeba nejméně $3H^+$ na 1 ATP.

ZÁVĚR

Světelná fáze fotosyntézy probíhá na thylakoidních membránách chloroplastu a využívá fotosynteticky aktivní pigmenty k absorpci FAR a k přenosu této energie do reakčních center. V reakčních centrech začíná řetězec oxidačně redukčních reakcí vedoucích k vytvoření **NADPH** a **ATP**, které se účastní biochemických reakcí v Calvinově cyklu.

Schématický model membránové ATP-ázy na membráně thylakoidu



OBR.7.7. MODEL MEMBRÁNOVÉ ATP-ÁZY

ATP – áza je tvořena proteinovými multijednotkami CF_0 a CF_1 . CF_0 má v sobě kanálek, do kterého vstupují protony a je zabořen do membrány. Zde se nachází katalycké místo tvorby ATP. CF_1 vyčnívá do stroma.

8 FOTOSYNTÉZA – SEKUNDÁRNÍ FÁZE

ENZYMATICKÉ REAKCE

Fixace a redukce oxidu uhličitého, ke které dochází při fotosyntéze, může proběhnout jen tehdy, když je dostatečný přísun **ATP** a redukčního ekvivalentu **NADPH⁺**. Tyto nezbytné reagenty jsou u fotosyntetizujících organismů vytvořeny ve světelné fázi fotosyntézy, a proto fixace a redukce CO₂ na tyto reakce navazuje. U chemosyntetických organismů, jako jsou např. vodíkové bakterie, **ATP** a **NADPH**, jsou generovány v důsledku procesů spojených s oxidací nějakého anorganického substrátu jako je např. *oxidace vodíku na vodu*. Vzhledem k tomu, že procesy fixace uhlíku nejsou bezprostředně závislé na světle, ale závisí na něm zprostředkovaně, je tato část fotosyntetického procesu často nazývána **temnotní fází** fotosyntézy. Pro přehlednost je výhodnější název **sekundární fáze fotosyntézy**.

Všechny fotosyntetizující eukaryota, počínaje primitivními řasami a konče cévnatými rostlinami redukují oxid uhličitý stejným mechanismem, **fotosyntetickým redukčním cyklem uhlíku** - **PRC**. **PRC** se po svém objeviteli, americkém biochemiku *Melvinu Calvinovi*, nazývá **Calvinův cyklus**.

Přijatý oxid uhličitý se redukuje v **PRC** na *organickou uhlikatou sloučeninu* (např. sacharidy) ve stroma chloroplastu. V **PRC** je oxid uhličitý z atmosféry či vody **enzymaticky vázán** na **molekulu pětiuhlíkatého akceptoru** a tvoří se **dvě molekuly tříuhlíkatého** meziproductu. Meziproduct je redukován na uhlohydrát za *spotřeby* již vytvořeného **ATP** a **NADPH**. Cyklus je dokončen regenerací akceptoru.

C₃ - fotosyntetický redukční cyklus uhlíku (PCR či Calvinův cyklus)

se skládá ze 3 základních fází: karboxylační, redukční a regenerační fáze.

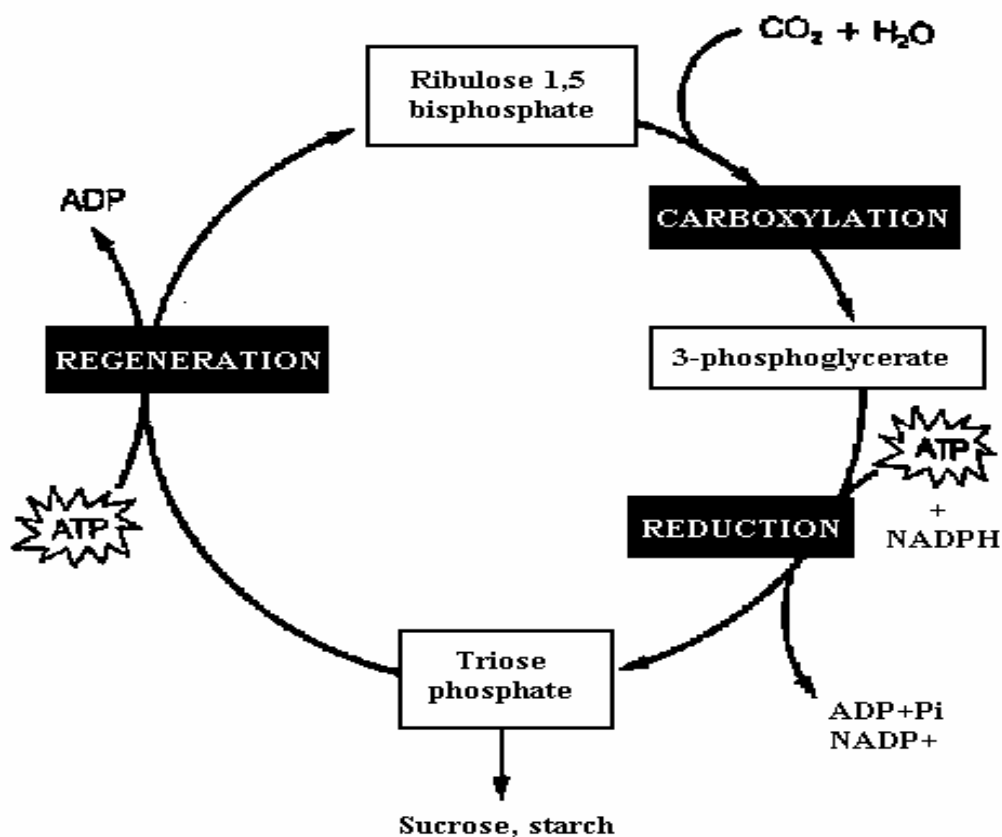
fáze karboxylační: CO₂ je kovalentně vázán na uhlikatý skelet akceptoru, tj. RuBP (ribulosa. 1,5 – bisfosfát)

fáze redukční: tvorba karbohydrátů (3-fosfoglycerát) za spotřeby fotochemicky vytvořeného **ATP** a redukčního ekvivalentu **NADPH**.

fáze regenerační: nové zformování RuBP

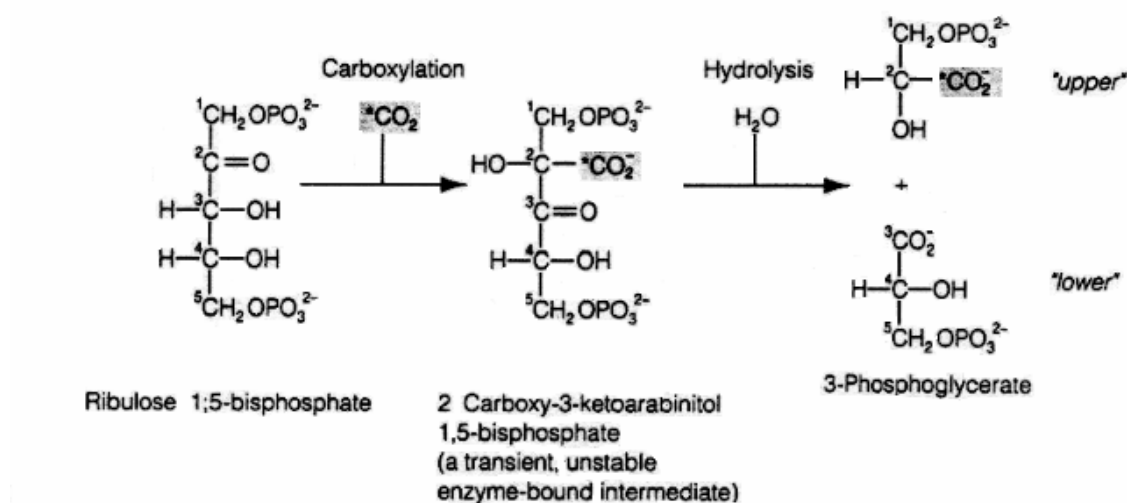
Ve **fázi karboxylační** se molekula oxidu uhličitého váže na primární akceptor, kterým je **ribulóza 1,5bisfosfát - RuBP**. Fixaci na tento akceptor katalyzuje enzym umístěný ve stroma chloroplastu - **ribulóza 1,5 - bisfosfát karboxyláza/oxygenáza - RUBPCO**, často uváděný pod pojmem **RUBISCO**. Tento enzym je klíčovým enzymem fotosyntetické fixace uhlíku. Jedná se o nejrozšířenější enzym v naší biosféře. **RUBISCO** je enzym zodpovědný za fixaci 200 bilionů tun CO₂ ročně. To odpovídá roční primární produkci naší biosféry. Vzhledem k tomuto množství je v biosféře přítomno asi 107 tun tohoto enzymu! To v přepočtu na lidskou populaci znamená, že na každého z nás připadá asi 20kg **RUBISCA**. Protein enzymu tvoří v průměru až 50% celkového listového proteinu. Koncentrace aktivních míst **RUBISCA** je asi 4mM, což je asi 500 krát více než je koncentrace jeho základního substrátu, tedy CO₂! **RUBISCO** má molekulární hmotnost 560kDa. Enzym je tvořen dvěma typy podjednotek, **malou** (14kDa) a **velkou** (56kDa). Podjednotky se liší složením aminokyselin. *Molekula enzymu je tvořena z osmi malých a osmi velkých podjednotek*. Genetická informace o velké podjednotce je kódována v kruhové DNA plastidu, za syntézu malé podjednotky zodpovídá genom buněčného jádra. Velká podjednotka je nositelem

karboxylační aktivity. Velké podjednotky jsou mezi jednotlivými rostlinnými druhy poměrně shodné. Žádná podjednotka není sama o sobě enzymově aktivní. Pro aktivitu enzymu jsou důležité *atomy hořčíku a molekuly CO_2 jako aktivátory*. Hodnota Michaelis-Mentenové konstanty tohoto enzymu pro CO_2 je $450 \mu\text{M}$. Vzhledem k tomu, že koncentrace oxidu v atmosféře představuje asi 0.034 obj.%, RUBISCO pracuje v **suboptimální koncentraci svého substrátu**.



OBR. 8.1 FOTOSYNTETICKÝ REDUKČNÍ CYKLUS UHLÍKU (PRC)

- FÁZE KARBOXYLAČNÍ,
- REDUKČNÍ
- REGENERAČNÍ



OBR. 8.2 KARBOXYLAČNÍ FÁZE PRC

Detailní popis karboxylační fáze PCR cyklu. Vazbu CO_2 na RuBP katalizuje enzym RuBISCO (ribulosa – 1,5 – viz. fosfát karboxyláza / oxygenáza).

V šedém poli je znázorněno umístění uhlíku pocházejícího z přijaté molekuly CO_2 .

Po navázání CO_2 na RUBP vzniká *nestabilní šestiuhlíkatý meziprodukt*. Prvním detekovatelným produktem karboxylace je **fosfoglycerát**. To je *tříuhlíkatá sloučenina*, a proto se rostliny s tímto typem fotosyntetické fixace se nazývají **C-3 rostliny**. Patří k nim většina nám známých rostlin včetně jehličnanů. Uhlík z přijatého oxidu uhličitého se ocitá v karboxylové skupině „horní“ molekuly fosfoglycerátu. *Dvě vlastnosti karboxylační reakce* jsou zvláště významné:

- 1/ *negativní změna volné energie*, tedy nám známá Gibsova energie, je velká, činí $-12.4 \text{ kcal mol}^{-1}$. To umožňuje její průběh, i když koncentrace substrátu je poměrně malá.
- 2/ *afinita RUBISCA k CO_2* je dostatečně velká, takže karboxylace probíhá i při suboptimální koncentraci substrátu.

Tvorbou prvních stabilních meziproduktů, tedy dvou *molekul fosfoglycerátu*, je *karboxylační fáze zakončena*.

Vlastnosti oxidu uhličitého:

Pochopení mechanismu fixace CO_2 vyžaduje základní informace o fyzikálních a chemických vlastnostech CO_2 především v interakci s vodou. Množství jakéhokoliv plynu rozpuštěného ve vodě je proporcionální jeho parciálnímu tlaku P_{gas} nad roztokem a *Bunsenovu absorpčnímu koeficientu*, který udává objem absorbovaného plynu jednotkovým objemem vody při tlaku jedné atmosféry. Tento koeficient je teplotně závislý a klesá s rostoucí teplotou. Rozpustnost plynu ve vodě pak klesá s rostoucí teplotou. Molární frakce CO_2 a kyslíku ve vzduchu je: 0.0345% a 20.95%. S rostoucí teplotou rozpustnost těchto plynů klesá. Například při teplotě 5°C činí pro CO_2 $21.93 \mu\text{M}$, ale pro 35°C již pouze $9.11 \mu\text{M}$! Pro kyslík je to 401.2 a 228.2. Vidíme, že skutečně podíl CO_2/O_2 klesá s rostoucí teplotou. To je limit karboxylačních reakcí.

Karboxylace tří molekul RuBP vede k syntéze “de novo” molekuly glyceraldehyd 3 – fosfátu a regeneraci tří molekul RuBP.

Ve fázi redukční dochází k redukci 3-fosfoglycerátu na glyceraldehydfosfát. K redukci dochází za spotřeby ATP a NADPH⁺. Glyceraldehydfosfát je jak základem pro fázi regenerace akceptoru, tak je výchozím produktem asimilace CO₂.

Regenerační fáze je založena na tom, že z pěti tříuhlíkatých (C-3) sloučenin se vytvářejí tři pětiuhlíkaté (C-5) sloučeniny.

Shrnutí Calvinova cyklu:

Do reakce vstupuje 6 molekul C-1 z CO₂. Ty se vážou na 6 C-5 sloučenin akceptoru RUBP a vzniká tak 12 C-3 sloučenin. Redukcí těchto 12ti C-3 sloučenin za spotřeby 12ti ATP a 12ti NADPH se vytvoří 12 C-3 redukovaných sloučenin glyceraldehydfosfátu. Na regeneraci vstupních 6ti molekul akceptoru RuBP je zapotřebí 10ti C-3 molekul glyceraldehydfosfátu. K regeneraci se spotřebuje 6 molekul ATP. *Čili 10/12 vytvořených triosafosfátů se musí použít k regeneraci akceptoru pro karboxylační reakce.*

V této reakci Calvinova cyklu je pak jedna C-6 sloučenina (odpovídající 2/12 triosafosfátů) výsledným výtěžkem asimilace CO₂.

Konečná bilance:

Na jednu molekulu hexosy musí být fixováno 6 molekul CO₂ za spotřeby 18ti ATP a 12ti NADPH. Jinými slovy, PRC spotřebuje na každou molekulu CO₂ 2 molekuly NADPH a 3 molekuly ATP!

Vyjádřeno rovnicí:

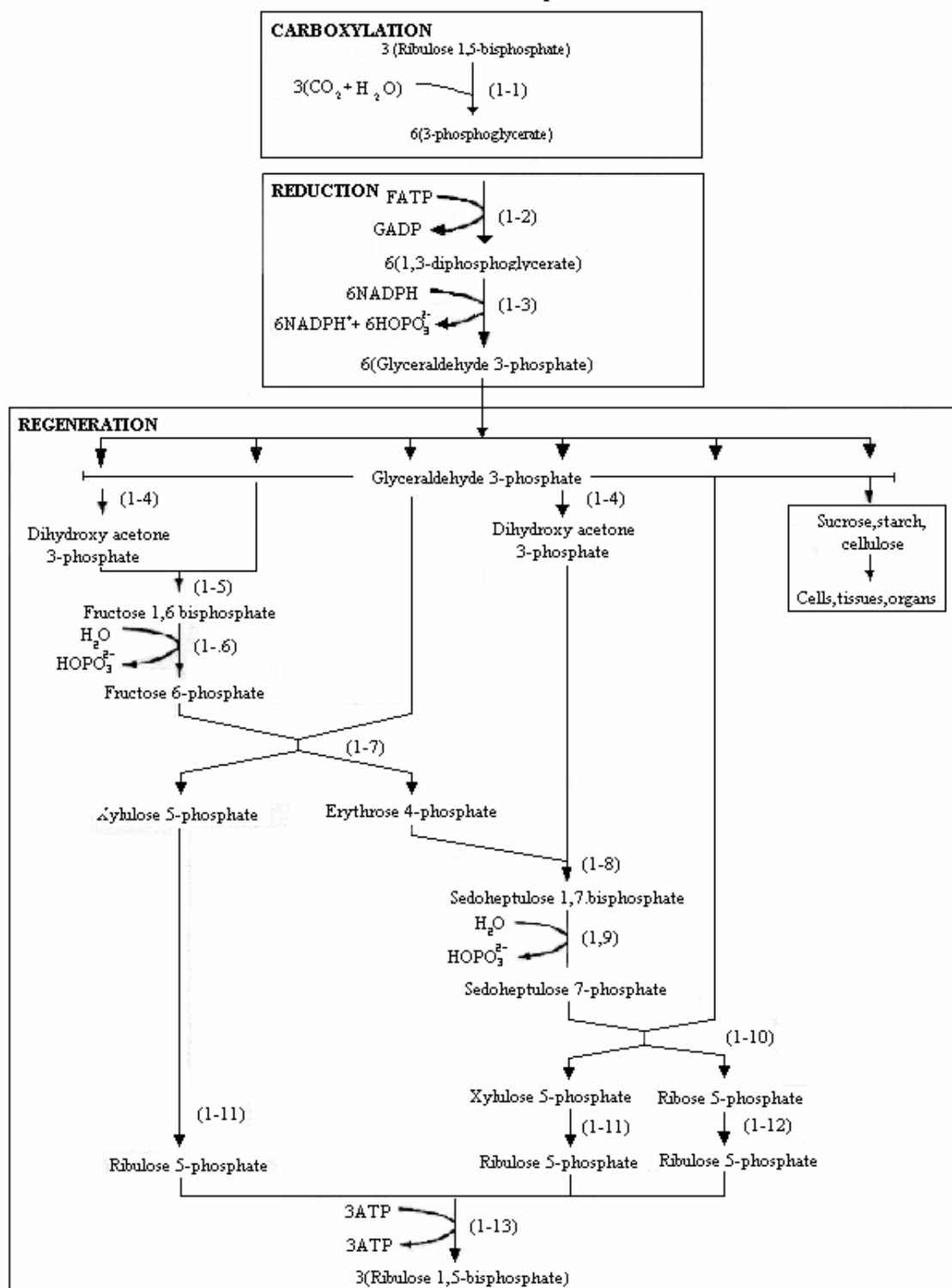


Lze spočítat i *maximální termodynamickou efektivnost fotosyntézy*. Uvažujeme-li, že světlo excitující reakční centra má vlnovou délku 680 nm, pak jeho energetický obsah je 175 kJ na mol kvanta fotonu. Minimální kvantový požadavek nutný k fixaci jedné molekuly CO₂ je 8 kvant na mol CO₂. Takže minimální zářivá energie potřebná k fixaci 6ti molekul CO₂, tedy k produkci jedné molekuly hexózy, činí: 6 x 8 x 175 = 8400 kJ.

Molekula hexózy jako je např. fruktóza má energetický obsah jen 2804 kJ, což znamená, že porovnáním obou energií získáme představu a efektivnosti fotosyntézy, která je 33%. Hlavním zdrojem energetických ztrát je tvorba ATP a NADPH v primárních reakcích fotosyntézy. Proto termodynamickou efektivnost budeme počítat raději s ohledem na změny volné energie spojené s hydrolýzou ATP a oxidací NADPH, které činí 29 a 217 kJ na molekulu. Víme, že produkce jedné molekuly hexózy spotřebuje 18 ATP a 12 NADPH. Proto PRC spotřebuje: 12 x 217 + 18 x 29 = 3126 kJ ve formě ATP a NADPH. Pak je tedy efektivnost 90%.

OBR. 8.3 VLASTNÍ PRŮBĚH PRC

Stechiometrie PCR cyklu.



REGULACE PRC

Poměrně vysoká energetická efektivnost PRC indikuje, že musí existovat určité formy jeho regulace, které budou zajišťovat, že všechny meziprodukty cyklu budou přítomny v pravý čas a ve vhodné koncentraci. Je zřejmé, že tyto regulace probíhají na více úrovních.

Především jsou množství všech zúčastněných enzymů pod regulací genetickou, tj. známá *regulace turn-overem*. Situace je komplikovanější tím, že genetická exprese vyplývá jak z genomu jádra, tak genomu chloroplastu.

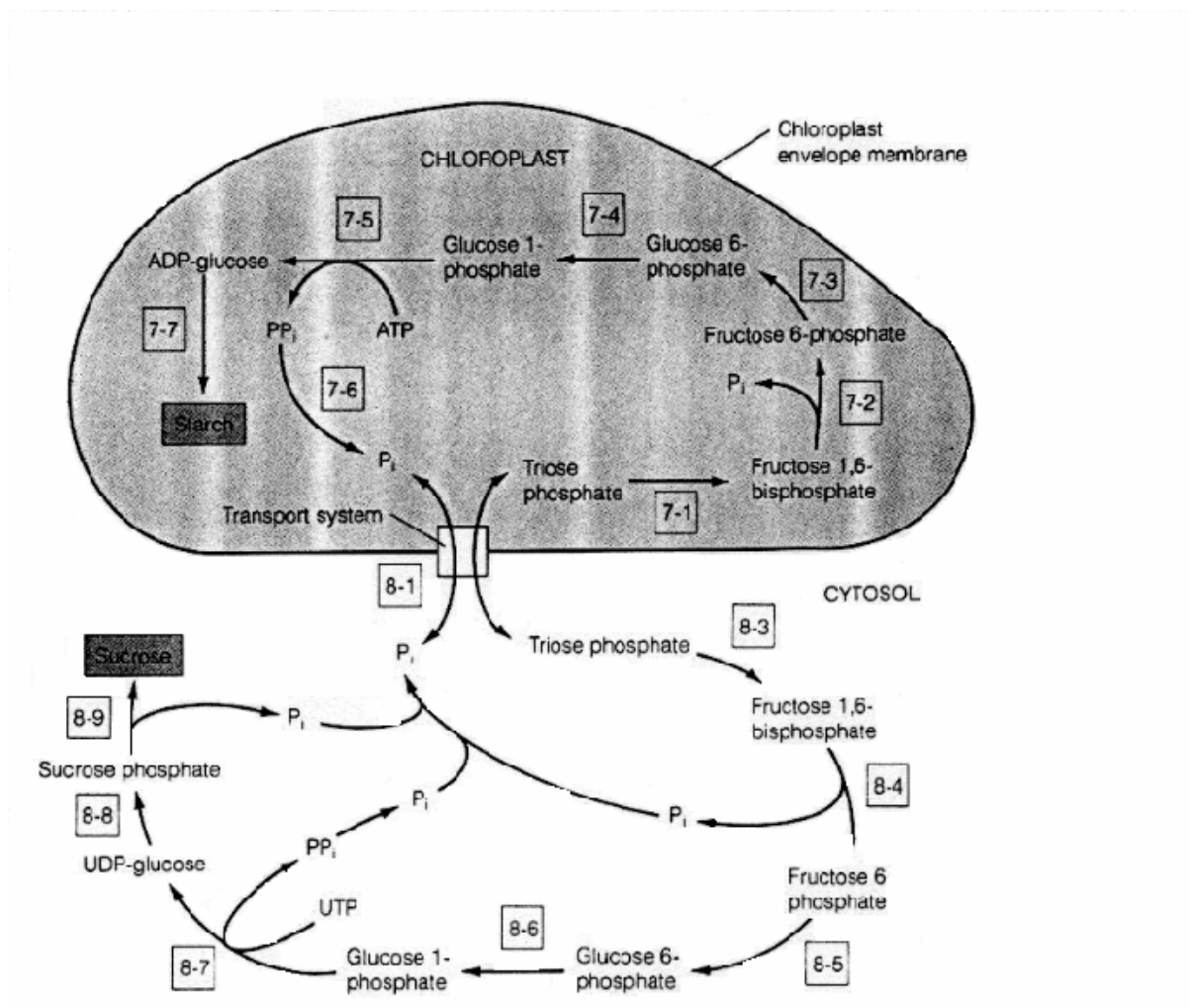
Další forma *regulace* má svůj původ ve *světlem indukovaném pohybu iontů*. Přítomnost či absence světla totiž způsobuje vratné změny stroma chloroplastu, tedy prostředí, ve kterém enzymy PRC operují. Po osvětlení nastává pohyb protonů, které jsou pumpovány ze stroma do prostředí lumenu. Tento pohyb je kompenzován protipohybem iontů hořčíku. Tak se ve stroma zvyšuje koncentrace hořčíku a prostředí stroma se stává více alkalické (změna pH ze 7 na 8). Opačné procesy se dějí během tmy. Jelikož některé enzymy PRC, jako např. RUBISCO, fruktóza-1,6-bisfosfát fosfatáza či fosforibulokináza jsou více aktivní při pH 8, vidíme, že tento pohyb iontů zvyšuje jejich aktivitu.

Na světle závislý pohyb iontů dále ovlivňuje *aktivizaci RUBISCA prostřednictvím tvorby karbamátu*. Katalyticky aktivní místa RUBISCA se *formují jen tehdy*, když molekula **CO₂ - aktivátoru**, v tomto případě je to jiná molekula než ta, která je fixována, reaguje s ne-nabitou NH₂ skupinou lysinu 201, uvnitř aktivního místa enzymu. Tak vzniká **karbamát**, který váže Mg²⁺ ionty a tvoří tak *aktivní komplex*. *Světlo dále stimuluje aktivitu některých PRC enzymů prostřednictvím kovalentního thiolového oxidačně-redukčního systému*. Tyto enzymy, jako např. fruktóza-1,6-bisfosfát fosfatáza, fosforibulokináza, obsahují dva k sobě přilehlé cysteinové zbytky. Na světle jsou tyto zbytky ve své redukované formě, která zmíněné enzymy aktivuje. Naopak ve tmě jsou tyto zbytky v oxidované formě, která inaktivuje funkci těchto enzymů.

Rovněž *kompartmentace* má svou funkci v regulaci PRC a to prostřednictvím rychlosti s jakou triózy opouštějí chloroplast výměnou za ortofosfát prostřednictvím translokátoru fosfátu v chloroplastové membráně. K zajištění kontinuální funkce PRC, musí být nejméně 5/6 vytvořených triosa-fosfátů recyklováno a 1/6 může být z chloroplastu exportována na syntézu sacharózy v cytosolu nebo využita pro syntézu škrobu uvnitř chloroplastu.

Vzhledem k tomu, že tento jev je typický pro rostliny, které jako první produkt fotosyntetické fixace CO₂ mají C-3 cukerné sloučeniny, nazýváme tyto rostliny jako **rostliny s C₃- typem fotosyntézy**. Prokazatelný výskyt fotorespirace je fyziologickým důkazem, že daný rostlinný druh patří k této skupině fotosyntézy.

Calvinův cyklus je tedy absolutně závislý na mohutném přísunu ATP a NADPH. Lze říci, že Calvinovým cyklem se uhlík z CO₂ *přesunuje do zásobní formy C-6 asimilátu*. Ve tmě, v opačně probíhajícím procesu pentózového cyklu, se tento zásobní asimilát zpětně rozpadá na triózy a ty opouštějí chloroplasty. *Triózafosfáty se jednak mohou oxidovat v cytoplazmě pochody glykolýzy, jednak mohou vstupovat do reakcí glukoneogenezy*.



OBR. 8.4 SYNTÉZA ŠKROBU A SACHARÓZY

Syntéza škrobu a sacharózy jako kompetitivní proces uskutečňující se v různých buněčných kompartmentech.

Syntéza škrobu a jeho ukládání se realizuje v chloroplastu. Sacharóza jako hlavní transportní forma asimilátu se tvoří v cytoplasmě. Důležitá pro tvorbu škrobu či sacharózy je přítomnost glykosidického zbytku. ADP – glukóza vede ke škrobu, UDP – glukóza vede k sacharóze. Determinace spotřeby trióz (primárních asimilátů) pro tvorbu škrobu v chloroplastech nebo sacharózy v cytosolu je regulováno koncentrací ortofosfátu (P_i) v těchto buněčných kompartmentech.

Vyšší cytolická koncentrace fosfátu vede k preferenci tvorby sacharózy. Nízká cytolická koncentrace P_i způsobuje to, že triózy zůstávají v chloroplastu a je preferována syntéza škrobu v této organelle.

Konečným výtěžkem asimilace šesti molekul uhlíku z oxidu uhličitého je jedna molekula hexózafosfátu. Ta je ihned zpracovávána dalšími reakcemi. *Jedním sledem reakcí se v chloroplastech tvoří škrob jako zásobní forma asimilátu. Jiným sledem reakcí se tvoří sacharóza, která je transportní formou asimilátů. Donorem glukosylové části při syntéze škrobu je výhradně ADP-glukóza a donorem této složky při syntéze sacharózy je UDP-glukóza.*

Tvorba sacharózy a škrobu je tedy názorným příkladem toho, jak jemné je dělení metabolických cest. *Zde jsou cesty odděleny pouze vazbou cukerných molekul na různé nukleosidfosfáty.*

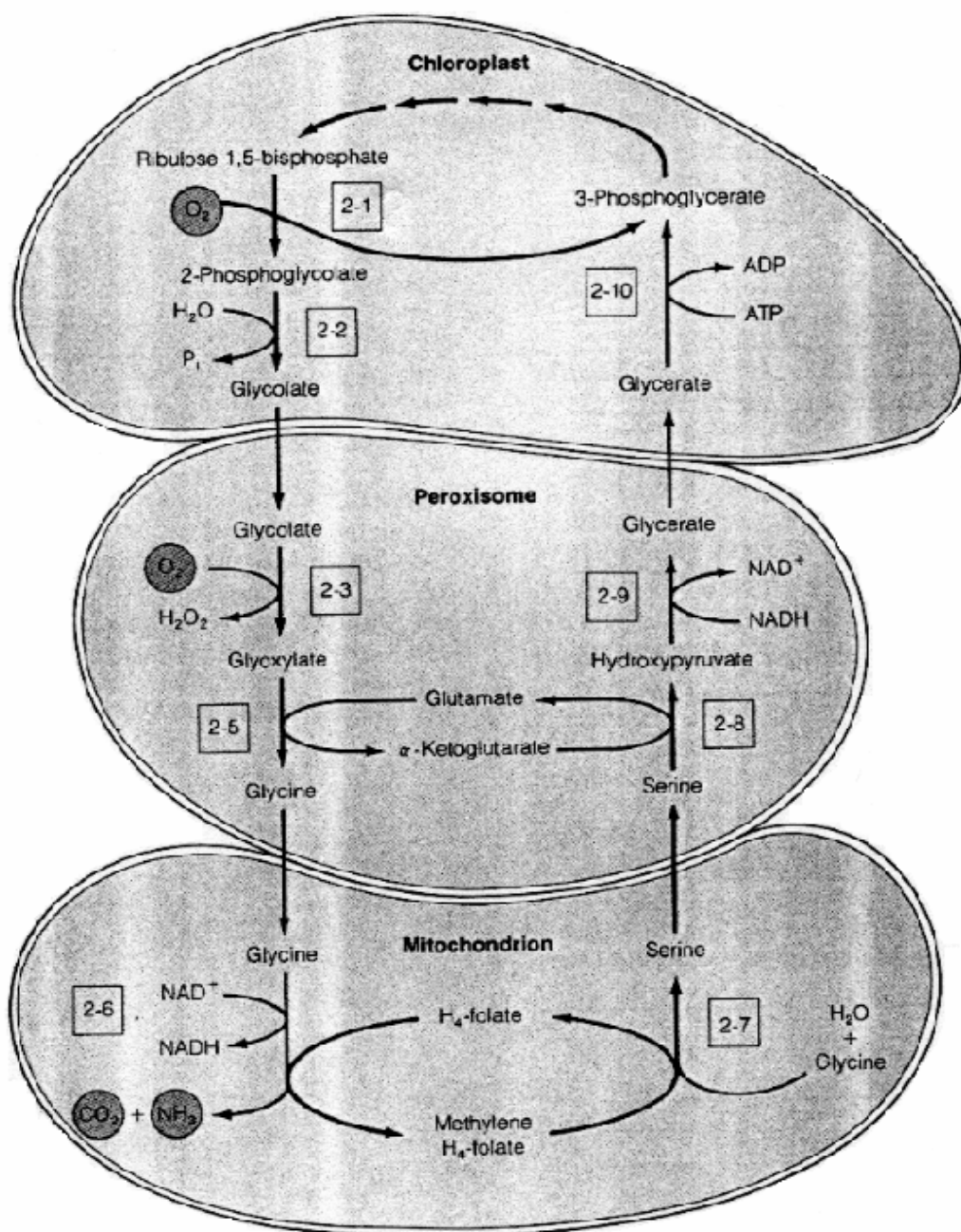
FOTOSYNTETICKÝ OXYGENAČNÍ CYKLUS UHLÍKU (PCO)

Enzym RUBISCO má mimo schopnosti **fixovat CO₂** i **schopnost vázat kyslík**. Výsledkem vazby kyslíku je pak metabolická cesta zvaná **fotorespirace**. Fotorespirace proto, že při ní dochází ke spotřebě kyslíku a produkci oxidu uhličitého a to jen za přítomnosti světla. *Vazbou kyslíku na primární akceptor RuBP při katalýze RUBISCEM vzniká přes nestabilní šestiuhlíkatý meziprodukt detekovatelný fosfoglykolát. Glykolát, který je výsledkem defosforylovaného fosfoglykolátu opouští chloroplast a dále pak metabolizuje v jiných organelách jako jsou peroxizómy a mitochondrie. V peroxizómech z glykolátu přes glyoxylát vzniká glycin. Glycin je pak v mitochondriích aminován za vzniku serinu a přitom se uvolňuje molekula CO₂. Právě uvolnění oxidu uhličitého vedlo k poněkud nešťastnému označení tohoto jevu jako fotorespirace. Fotorespirace je tedy důsledkem kompetitivních reakcí mezi O₂ a CO₂ o RUBISCO. Pak za normálních klimatických podmínek (21% kyslíku a 0.03% CO₂) je vždy jistá část enzymu RUBISCO trvale blokována glykolátovou cestou fotorespirace.*

To se samozřejmě projevuje i na úrovni termodynamické efektivity fotosyntézy, která je v důsledku konkurenčního působení karboxylačních a oxidačních procesů snižována.

Z výše uvedené analýzy PCO víme, že dvě molekuly fosfoglykolátu, což jsou v součtu čtyři molekuly uhlíku, jsou potřebné na produkci jedné molekuly 3-fosfoglycerátu, tedy tříuhlíkaté molekuly, a k uvolnění jedné molekuly CO₂. Takže frakce uhlíku, jenž vstoupil do PCO a byl uvolněn, činí 25%. Poměr karboxylace k oxygenaci RUBISCA tedy činí 2.5 až 3. To znamená, že kompetitivní vztah kyslíku a CO₂ vzhledem k RUBISCU snižuje termodynamickou efektivnost fotosyntézy z 90 na 54%.

S ohledem na vyváženost PRC a PCO je *nejvýznamnějším faktorem prostředí teplota. Ta ovlivňuje kinetické vlastnosti RUBISCA a koncentraci jeho substrátů, tedy O₂ a CO₂. S rostoucí teplotou koncentrace obou substrátů ve vodném vnitrobuněčném roztoku klesá, přičemž pokles koncentrace oxidu uhličitého je vyšší než kyslíku. Z toho plyne, že s rostoucí teplotou poměr [CO₂]/[O₂] klesá, tedy s teplotou roste fotorespirace. Přesto je biologická funkce PCO v podstatě stále neznámá. I když 75% uhlíku prvotně ztraceného v důsledku PCO se vrací ve formě fosfoglukolátu, zůstává stále otevřenou otázkou, proč je v PCO formován právě jako první fosfoglykolát.*



OBR.8.5 FOTOSYNTETICKÝ OXIDAČNÍ CYKLUS UHLÍKU (PCO)

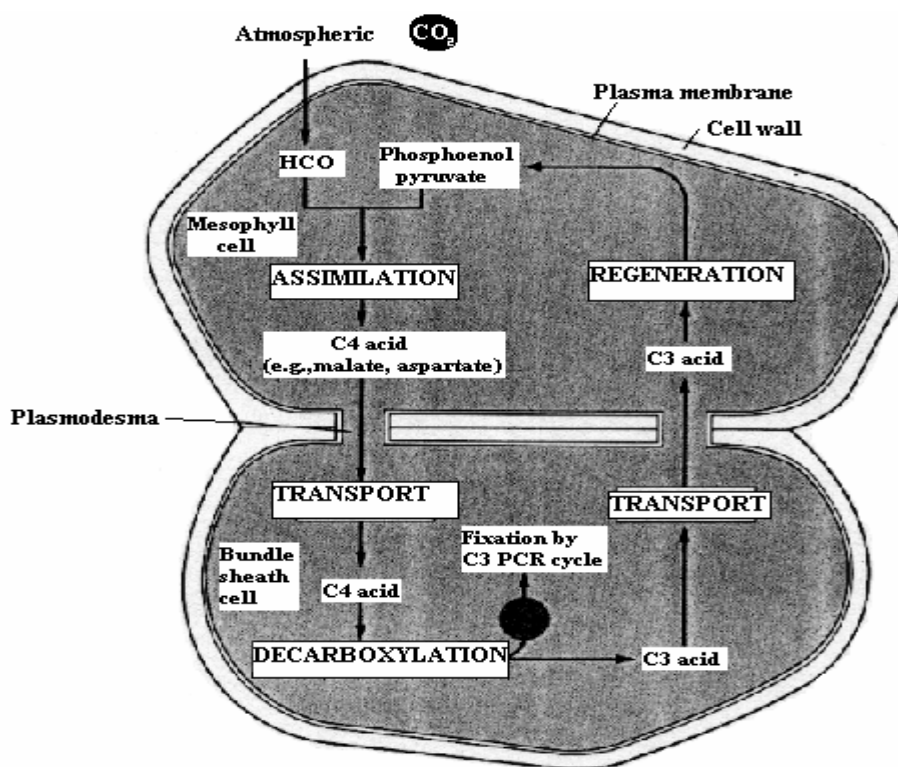
Jedno možné vysvětlení je to, že formování fosfoglykolátu je důsledkem chemismu karboxylačních reakcí, kde se formují meziprodukty schopné reagovat jak s kyslíkem tak i s CO₂. Je pravda, že tento typ reakcí měl pramalé příčiny v časných dobách evoluce fotosyntézy, kdy poměr [CO₂]/[O₂] byl podstatně vyšší než je dnes, neboť atmosféra neobsahovala tolik kyslíku. Kyslík se v ní objevil právě jako důsledek fotosyntetické aktivity. Další vysvětlení existence PCO lze hledat v jeho zapojení se do metabolismu dusíku. Mimoto

je fotorespirace nezbytná za podmínek vysoké intenzity ozáření, kdy jsou průduchy uzavřeny v důsledku vodního stresu. Tyto situace nastávají i při vyšších teplotách vzduchu. Za těchto podmínek pak fotorespirace může výrazně disipovat přebytek ATP a NADPH, čímž je fotosyntetický aparát chráněn před fotoinhibicí.

Přesto existuje mnoho rostlinných druhů, které nemají zřetelnou fotorespiraci. To není dáno tím, že by jejich RUBISCO mělo odlišné vlastnosti, ale hlavně tím, že tyto rostliny mají vyvinuty mechanismy umožňující zvyšovat koncentraci CO_2 v místě lokalizace RUBISCA. Za takovýchto podmínek je pak fotorespirace potlačena.

Existují tři mechanismy akumulace CO_2 v místě RUBISCA. Prvním je existence CO_2 - pump. Tento mechanismus je obvyklý u vodních rostlin, řas a cyanobakterií. U těchto druhů je v prostředí obvyklé atmosféry, tedy s koncentrací CO_2 kolem 0.0345 obj.% vyvinut mechanismus $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$ - pumpy na plazmatické membráně. Pumpa je řízena energií poskytovanou primárními reakcemi fotosyntézy. Není přesně známo, který typ anorganického uhlíku, zda-li CO_2 nebo HCO_3^- , je transportován, ale výrazné koncentrační rozdíly anorganického uhlíku uvnitř a vně buněk (až tisíckrát více) dokazují existenci těchto pump. Druhý a třetí typ akumulace CO_2 v místě lokalizace RUBISCA nalezený u vyšších rostlin, zahrnuje zcela odlišný typ asimilace CO_2 .

C₄ - TYP FOTOSYNTÉZY



OBR.8.6 ZÁKLADNÍ SCHÉMA C₄ - FOTOSYNTÉZY

Základní schéma C₄ – typu fotosyntézy zahrnuje prostorově odlišenou spolupráci dvou typů buněk (mesofylové buňky a buňky pochev svazků cévních – bundle sheath cells).

Fixace CO₂ je dvoustupňová:

První stupeň: vzdušný CO₂ je prostřednictvím enzymu fosfoenol – pyruvát karboxyláza (PEP) v mezofylových buňkách navázán na pyruvát za vzniku 4 – uhlikaté sloučeniny.

Druhý stupeň: CO₂ je v buňkách svazků cévních uvolněn a pak fixován prostřednictvím RuBISCO klasickým PCR cyklem.

Prozatím jsme se seznámili s jednou možnou cestou fixace oxidu uhličitého. Je to cesta, při které je prvním detekovatelným produktem asimilace tříuhlíkatá sloučenina, již známý 3-fosfoglycerát. Vedle toho existuje jiná skupina rostlin, u které je prvním prokazatelně detekovatelným produktem *čtyřuhlíkatá sloučenina*, nejčastěji **malát** nebo **aspartát**. Vzhledem k existenci těchto čtyřuhlíkatých sloučenin, se tento typ fotosyntézy nazývá jako **C₄ typ fotosyntézy**. K této skupině patří tropické trávy, kukuřice, cukrová třtina a dále některé druhy prosa, čiroku apod.

Systém C₄ rostlin má některá specifika:

a/ *prostorově oddělení vzniku C₄ a C₃ sloučenin (věčtitá anatomie),*

b/ *struktura chloroplastů* - mezofylové chloroplasty mají zřetelné granální thylakoidy a neobsahují škrob. V chloroplastech mezofylových buněk chybí RUBISCO. Pochevní chloroplasty nemají grana a škrob obsahují. Tyto chloroplasty nemají rovněž PS II.

Anatomická rozdílnost tkví v tom, že fotosyntetická fixace CO₂ probíhá ve dvou prostorově oddělených a anatomicky rozlišitelných tkáních. A to nejdříve v **listovém mezofylu** a pak v **buňkách pochev svazků cévních**. Celý tento systém fixace je v literatuře znám pod zkratkou **PCA** nebo podle svých objevitelů **Hatch-Slackův cyklus**.

PCA má tři základní fáze:

Asimilace CO₂ - zahrnující **karboxylaci fosfoenolpyruvátu - PEP**. Tato reakce je katalyzována enzymem **fosfoenolpyruvát karboxyláza - PEPC**. Afinita PEPC k CO₂ je větší než afinita RUBISCA, *konstanta Michaelis-Mentenové je 7 μM*, což značí vysokou afinitu. Působením karbonátdehydratázy se v mezofylových buňkách tvoří z CO₂ HCO₃⁻. HCO₃⁻ má obecně větší afinitu k PEPC. *PEPC je cytoplazmatický enzym*. To znamená, že v mezofylových listových chloroplastech dochází k velice účinné fixaci CO₂. Enzym dovede efektivně využít i nízkou koncentraci svého substrátu. PEPC netvoří vazbu s kyslíkem. Vazbou CO₂ na PEP prostřednictvím PEPC se tvoří oxalacetát, který je dále redukován NADPH na **C-4 sloučeniny** (nejčastěji malát či aspartát). Pak následuje *transport těchto sloučenin* do buněk pochev svazků cévních.

Dekarboxylace C-4 sloučenin a generace CO₂. Malát (asparát) přechází z mezofylových buněk do buněk pochyvy cévního svazku, kde se oxidačně dekarboxyluje za vzniku CO₂, pyruvátu a NADPH. CO₂ se pak v těchto buňkách pochev svazků cévních znovu fixuje a to již nám známým Calvinovým cyklem za přítomnosti enzymu RUBISCO. Uvolněné C₃ kyseliny (pyruvát či alanin) jsou retransportovány zpět do mezofylu.

Regenerace CO₂ akceptoru - fosfoenolpuruátu. C₃ kyseliny jsou v mezofylových buňkách fosforylovány na PEP, např. za přítomnosti enzymu *pyruvátfosfátokináza*, který aktivuje fosfátovou skupinu hydrolýzou ATP na AMP a PP_i.

I když u C₄-rostlin spotřebovává fotosyntéza pět molekul ATP na jednu molekulu vázaného CO₂, PCA je systémem velice výhodným, neboť spoluprací enzymů PEPC a RUBISCO, se tvoří účinná **CO₂-pumpa**. V místech fixace CO₂ pomocí RUBPCA je CO₂ neakumulován a RUBISCO pak pracuje velice efektivně, přičemž nedochází k fotorespiraci.

Existují tři typy PCA cyklu lišících se typem C4 sloučeniny transportované do buněk pochev svazků cévních a způsobem jejich dekarboxylace. Tyto nuance jsou odvozeny podle enzymů, které katalyzují dekarboxylační reakce v buňkách pochev svazků cévních.

1/ **NADP- malátový enzym** - NADP-ME (v chloroplastech),

2/ **NAD- malátový enzym** - NAD-ME (v mitochondriích),

3/ **fosfoenolpyruát karboxykinasa** - PEP-CK.

U všech těchto skupin se primární karboxylační reakce uskutečňuje v cytosolu chloroplastů mezofylových buněk.

Prvotní produkt karboxylace je oxaloacetát. Jeho další osud je pak odlišný dle typu PCA. Je-li reakce katalyzována *NADP-ME*, je oxaloacetát rychle redukován na malát v mezofylových chloroplastech. Redukce se uskutečňuje prostřednictvím NADPH. Při působení enzymů *NAD-ME* a *PEP-CK* prochází oxaloacetát transaminací v cytosolu

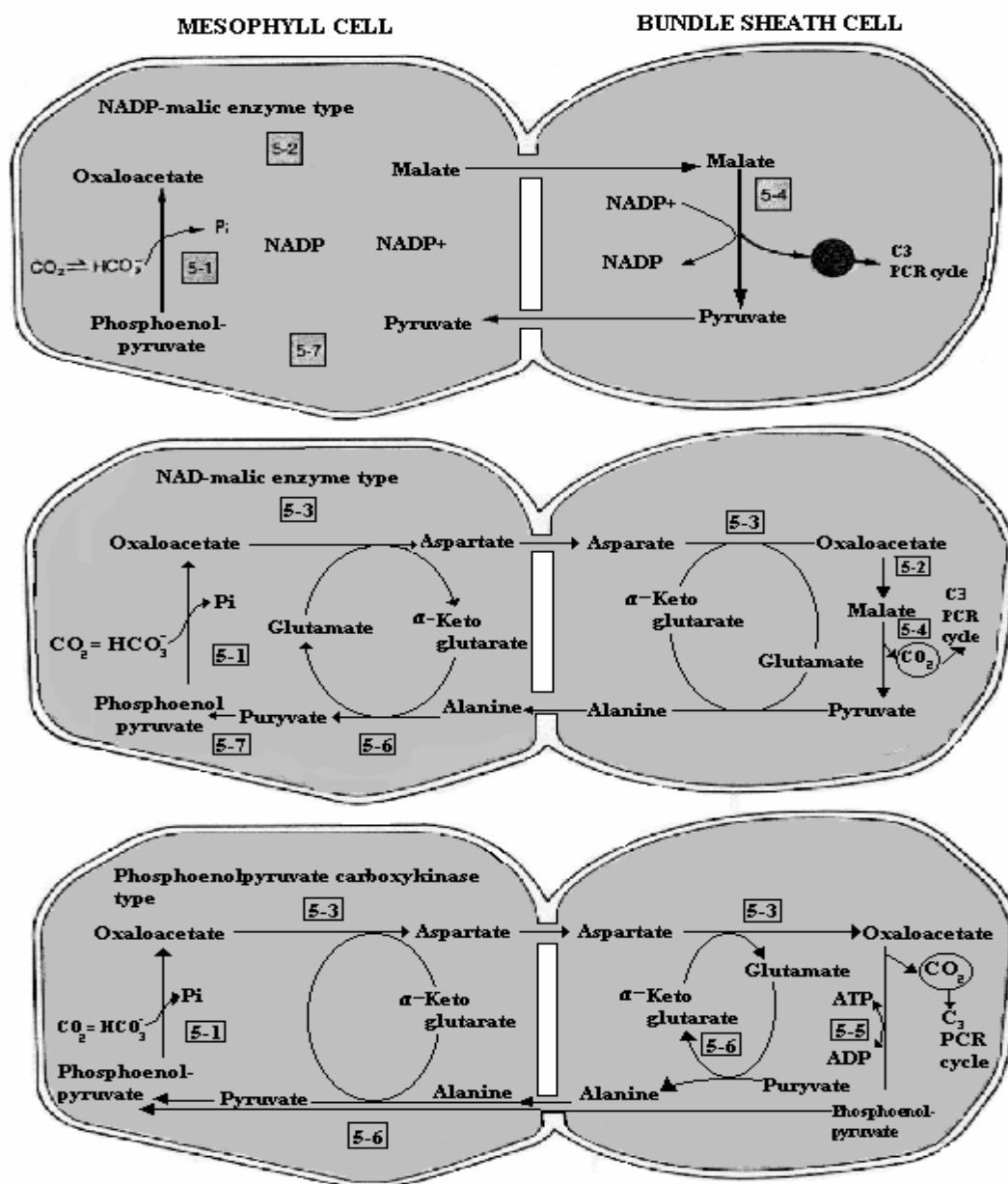
Po transportu vzniklých C-4 sloučenin do buněk pochev svazků cévních *NADP-ME malát* vstupuje do chloroplastu buněk pochev svazků cévních a prochází oxidativní dekarboxylací. *NAD-ME* a *PEP-CK aspartát* po transportu do buněk pochev svazků cévních je nejdříve zpětně konvertován na oxaloacetát transaminací v mitochondriích (*NAD-ME* typ) nebo v cytosolu (*PEP-CK* typ).

Oxaloacetát v mitochondriích (*NAD-ME* typ) je dekarboxalován a redukován prostřednictvím *NAD malátového enzymu*. Oxaloacetát v cytosolu (*PEP-CK* typ) je v cytosolu dekarboxylován *PEP karboxykinasou*.

U všech typů PCA cyklu dochází k fixaci uvolněného CO₂ prostřednictvím PRC. Která C-3 sloučenina se vrací do mezofylových buněk závisí opět na typu PCA. U *NADP-ME* typu PCA cyklu se vrací *pyruvát*. U zbývajících dvou typů je to *alanin*. Ten je v cytosolu podroben transaminaci a vzniká *pyruvát*. U všech těchto variant jsou C-4 sloučeniny transportovány do buněk pochev svazků cévních výměnou za C-3 sloučeniny. Transport těchto metabolitů je pravděpodobně řízen pohybem protonů a jiných iontů vedoucím k udržení hodnoty pH a nábojové rovnováhy. U všech typů PCA je konečným krokem *konverse pyruátu na fosfoenolpyruát* v chloroplastech buněk mezofylu.

Prostorové oddělení této dvojstupňové fixace CO₂ vede k i rozdílné distribuci klíčových enzymů: PEP-karboxyláza, pyruvát-ortofosfát kináza se nachází v buňkách mezofylu. Dekarboxylační enzymy se nacházejí v buňkách pochev svazků cévních. *Všechny tyto enzymy jsou aktivovány a inaktivovány světlem.*

Konečným důsledkem funkce PCA cyklu je výrazná akumulace CO₂ v místě funkce PCR.. Tato akumulace činí osmi až desetinásobek oproti atmosférické koncentraci CO₂



OBR. 8.7 PODROBNÉ SCHÉMA C₄- FOTOSYNTÉZY

Varianty C₄ – typu fotosyntézy jsou určeny:

- typem vytvořené 4 – uhlíkaté sloučeniny (malát či aspartát)
- původem enzymu katalyzujícím dekarboxylační reakci v buňkách svazků cévních

Tři varianty C_4 - typu fotosyntézy

Principal C_4 acid transported to the bundle sheath cells	Decarboxylating enzyme	Variant name	Principal C_3 acid returned to mesophyll cells	Examples
Malate	NADP-dependent malic enzyme (chloroplast)	NADP-ME	Pyruvate	Maize, crabgrass, sugarcane, sorghum
Aspartate	NAD-dependent malic enzyme (mitochondria)	NAD-ME	Alanine	Millet, pigweed (Panicum miliaceum)
Aspartate	Phosphoenolpyruvate carboxykinase (cytoplasm)	PEP-CK	Alanine/pyruvate	Guinea grass (Panicum maximum)

Je zřejmé, že udržování této nerovnováhy vzhledem k atmosféře je pro rostlinu energeticky náročnější. Proto je u rostlin s C_4 typem fotosyntézy vyšší spotřeba ATP na fixaci jedné molekuly CO_2 (důsledek fosforylace PEP), ale na druhé straně efekt na produkci asimilátů je markantní.

C_3 - a C_4 - fotosyntéza - spotřeba ATP a NADPH:

C_3 rostliny - $3ATP + 2NADPH$ na mol CO_2 ,

C_4 rostliny - $5ATP + 2NADPH$ na 1 mol CO_2 ,

z toho v mezofylových buňkách: $2ATP + 1NADPH$

v buňkách pochev: $3ATP + 1NADPH$

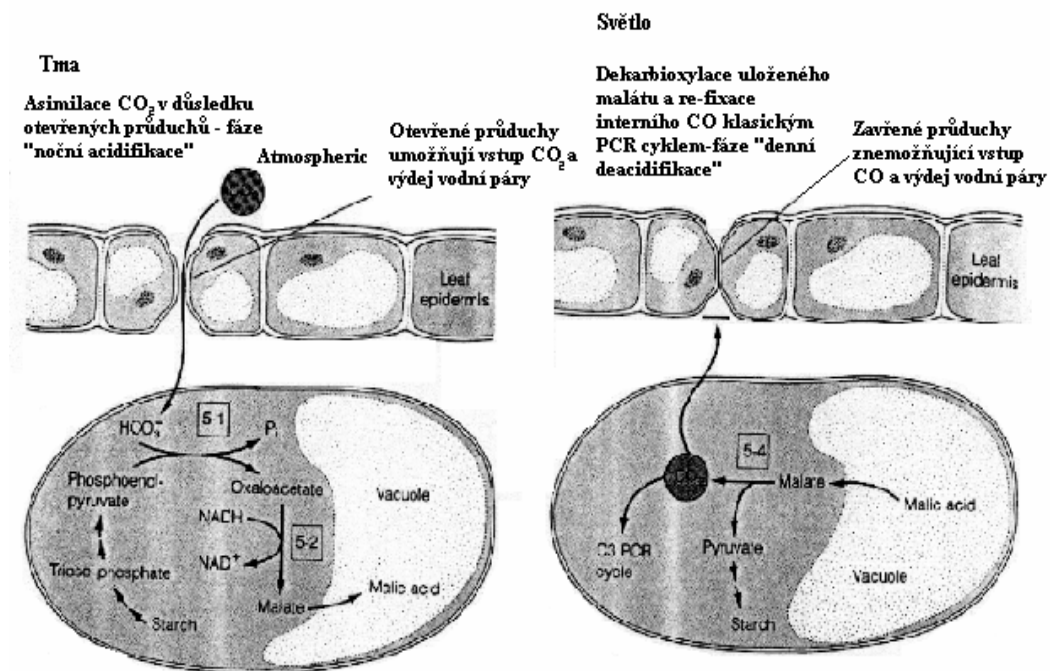
FOTOSYNTÉZA CAM ROSTLIN

CAM (crassulacean acid metabolism) metabolismus fotosyntézy zahrnuje časovou separaci fixace CO_2 . Akumulace jablečné kyseliny ve vakuolách vede k acidifikaci jejich obsahu.

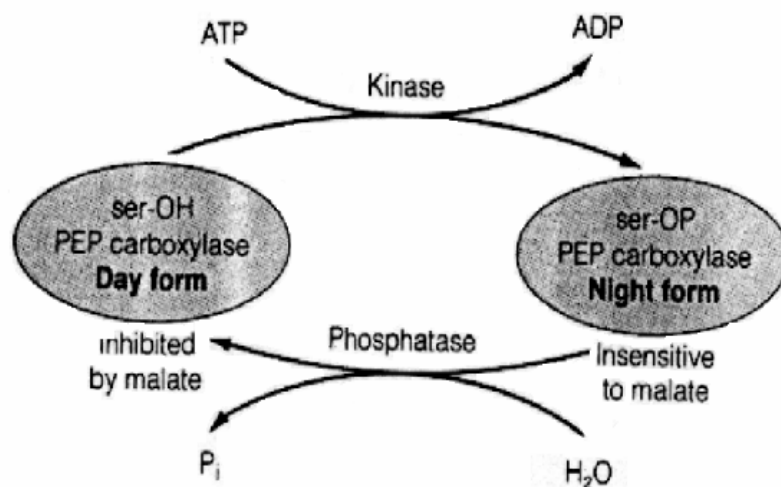
Sukulentní rostliny vykazují ve fixaci CO_2 naprosto zřejmý rytmus „den a noc“ u jinak nám známého metabolismu C_4 typu fotosyntézy. I u těchto rostlin předchází karboxylace PEP katalyzovaná PEPC fixaci CO_2 prostřednictvím RUBISCA. Zatímco fixace CO_2 u C_4 rostlin probíhá odděleně v prostoru, u **CAM rostlin** se jedná o **oddělení časové**. CAM je zkratka anglického termínu *Crassulacean acid* metabolism, kde Crassulaceae je latinský název čeledi tučnolistých rostlin, u nichž byl tento pochod poprvé sledován. Rozdíly v denní a noční teplotě v ekotopech těchto CAM rostlin způsobují, že přes den jsou průduchy prakticky plně uzavřeny a tedy nemůže docházet k transportu CO_2 do rostliny. K intenzivní fixaci dochází jen v noci. Přes noc tyto rostliny vytváří s pomocí PEPC **reservoár CO_2** . Tento *reservoár tvoří C-4 sloučenina malát*. Reservoárový malát se pak během dne dekarboxyluje a vzniklý CO_2 se fixuje přes RUBISCO. Právě proto, že tyto rostliny hromadí přes noc malát, tedy C_4 organickou kyselinu, dochází k výraznému okyselení jejich vnitřního prostředí. Odtud pak onen název „*acid*“ metabolism. Dalším rozdílem mezi CAM a C_4 rostlinami je regenerace PEP. U C_4 rostlin je regenerace PEP závislá na ATP a tedy i na světle. U CAM rostlin vzniká PEP nezávisle na světle, přičemž pochází z odbourávání škrobu. Tzn. PEP

vzniká v cytoplasmě a ne v chloroplastech jako u C-4 rostlin. Mechanismu CAM vyžaduje, aby PEPC a PEP dekarboxyláza, oba enzymy lokalizované v cytosolu, fungovaly v oddělený čas. Toho je dosaženo tím, že PEPC může být aktivní pouze v noci a dekarboxyláza pouze ve dne.

OBR. 8.8 PRŮBĚH CAM TYPU FOTOSYNTÉZY



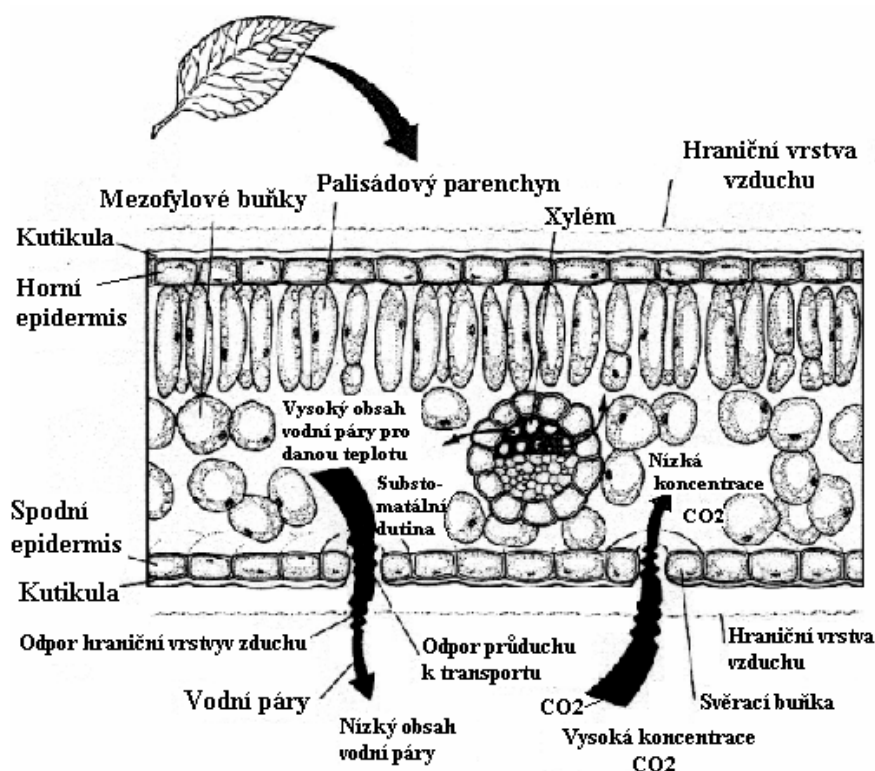
OBR. 8.9 REGENERACE PEP U CAM FOTOSYNTÉZY



FOTOSYNTÉZA JAKO DIFUZNÍ PROCES

Pro všechny uvedené typy fotosyntetické fixace je nezbytně nutné, aby se substrát, tedy CO_2 , dostal k místům fixace. Tento transport se děje pouze v důsledku prosté, a v minimální míře i aktivní, difúze. Difúze je proces transportu určený pouze gradientovým rozdílem difundující složky mezi zdrojovým místem a místem spotřeby. V případě CO_2 to je rozdíl v koncentraci CO_2 ve vnější atmosféře listu a jeho koncentraci ve stroma chloroplastů. Pro popis difusní dráhy se s úspěchem používá analogie Ohmova zákona. Tedy tok $F = \text{rozdíl konc.} / \text{odpor}$. Použitá analogie popisuje transport molekul CO_2 jako dráhu ze soustavou transportních odporů. V současné době se pojem odpor nahrazuje pojmem *vodivost*. Tyto termíny mají jediný význam: popisují vliv jednotlivých strukturálních složek listu a jejich prostředí na transport. Odpor vyjadřuje čas potřebný k transportu molekuly tou danou strukturou a má rozměr s.m^{-1} . Vodivost je reciprokou veličinou, tedy m.s^{-1} . Nověji je vodivost vyjadřována jako tok, tedy $\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Řízení otevřenosti průduchové štěrby je velice komplikované a doposud není plně objasněno. Je zřejmé, že vzhledem k poměrům mezi transpirací a příjmem oxidu uhličitého jsou v akci dva senzory a to *senzor vodního potenciálu* a *CO_2 senzor*. Vlastní akce otevírání průduchu je výrazně ovlivněna akumulací draselných iontů ve svéracích buňkách a tokem ABA (kyselina abscisová). Nové studie rovněž přisuzují významnou roli iontům vápníku při regulaci otevřenosti štěrby.

OBR. 8.10 DIFUZE CO_2 A VODNÍ PÁRY DO A Z LISTU



FOTOSYNTÉZA - JEJÍ MĚŘENÍ A INTERPRETACE

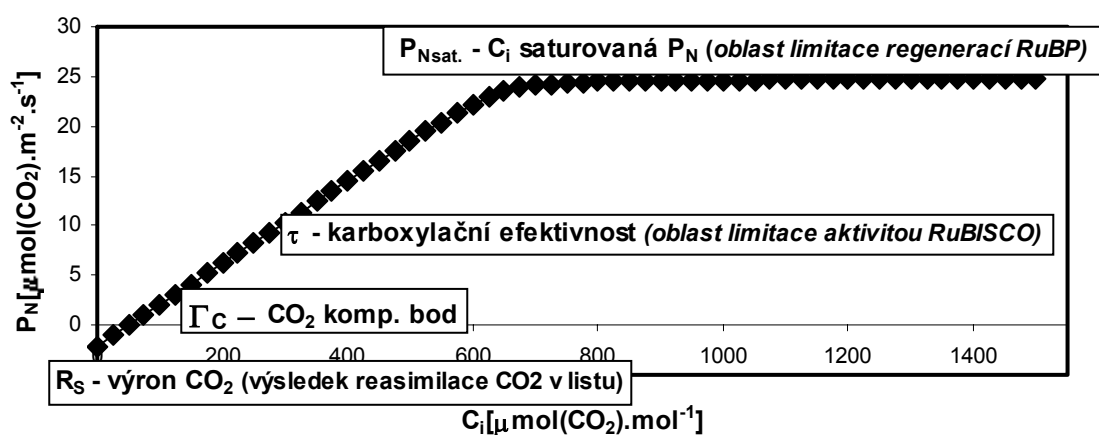
Gazometrické metody měření fotosyntézy jsou **metody nepřímé**, založené na stanovení rychlosti příjmu oxidu uhličitého plošnou jednotkou asimilačního aparátu rostlin.

V podstatě je možné stanovit dva základní typy závislosti rychlosti příjmu CO_2 :

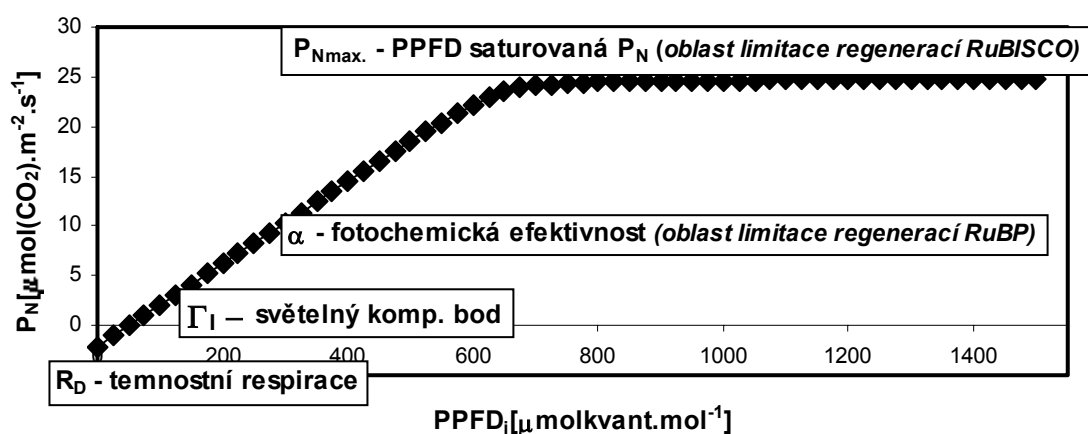
- závislost na měnící se koncentraci CO_2 , tzv. *CO_2 křivka*
- závislost na měnící se intenzitě fotosynteticky aktivní radiaci, tzv. *světelná křivka*

OBR.8.11. ZÁVISLOST RYCHLOSTI PŘÍJMU OXIDU UHLIČITÉHO NA SVĚTLE A KONCENTRACI CO_2

CO_2 závislost rychlosti příjmu oxidu uhličitého



PPFD závislost rychlosti příjmu oxidu uhličitého



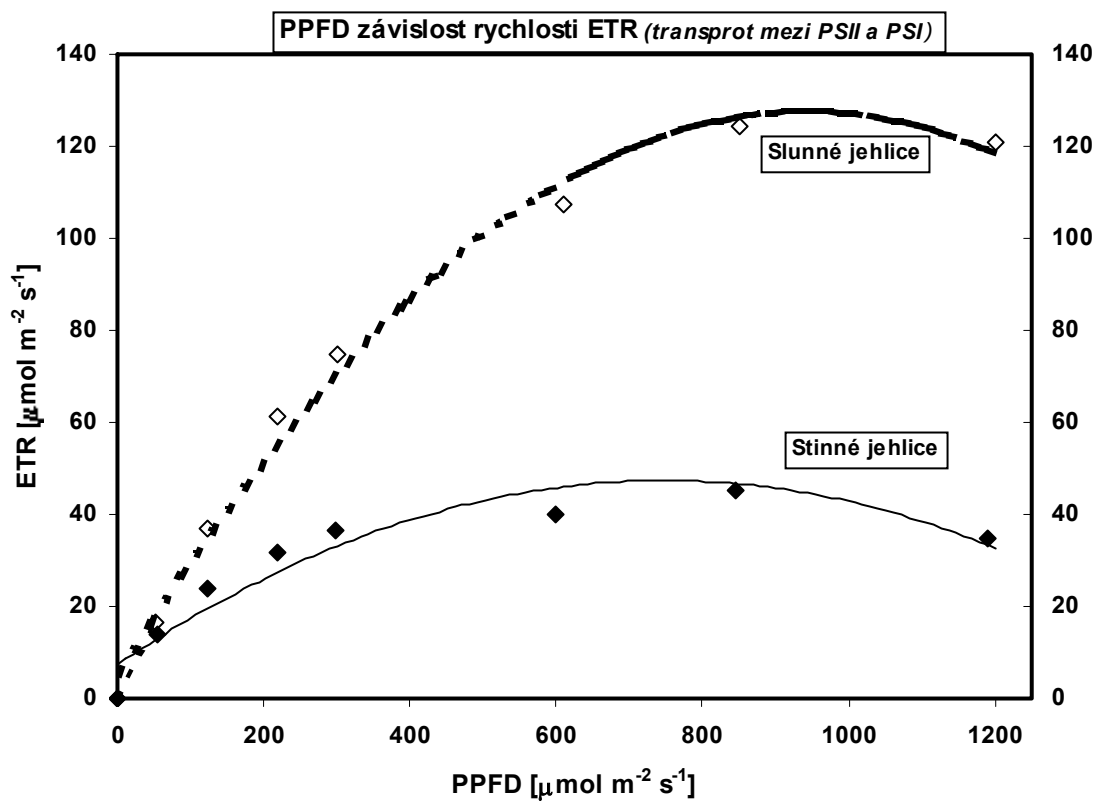
Interpretace klíčových bodů „gazometrických“ křivek:

- $P_{Nsat.}$ – CO_2 a světlem saturevaná (asymptotická) rychlost příjmu CO_2 , představující tzv. „asimilační“ potenciál vyjadřující limitaci asimilace rychlostí regenerace primárního akceptoru, tedy RuBP
- τ - počáteční náklon křivky vyjadřující karboxylační efektivnost představující limitaci asimilace aktivitou enzymu RUBISCO
- Γ_C - kompenzační koncentrace CO_2 , tj. bod, při kterém jsou procesy příjmu a výdeje CO_2 v rovnováze, tedy nulová rychlost asimilace
- R_S – rychlost výronu CO_2 do atmosféry bez CO_2 , vyjadřuje velikost reasimilace uvnitř asimilačního aparátu
- $P_{Nmax.}$ – světlem saturevaná (asymptotická) rychlost příjmu CO_2 , představující tzv. „asimilační“ potenciál vyjadřující limitaci asimilace v důsledku kinetiky enzymu RUBISCO
- α - počáteční náklon křivky vyjadřující fotochemickou efektivnost představující limitaci asimilace rychlostí regenerace primárního akceptoru, tedy RuBP
- Γ_I - kompenzační ozáření, tj. světlo, při kterém jsou procesy příjmu a výdeje CO_2 v rovnováze, tedy nulová rychlost asimilace
- R_D – rychlost výronu CO_2 ve tmě, tedy rychlost mitochondriální respirace

Metoda **stanovení parametrů fluorescence chlorofylu a** poskytuje informace o stavu a funkci asimilačního aparátu ve vztahu k procesům spojeným se zachytem kvant zářivé energie a transportem elektronů mezi PSII a PSI.

Rychlost transportu elektronů (ETR) v závislosti na ozáření (PPFD) je rozdílná pro slunné a stíné jehlice. Adaptace asimilačního aparátu, především mohutnost antén a efektivnost přenosu elektronů a kvantová výtežnost aktivity PSI vedou nejen k rozdílné velikosti ETR, ale i k tomu, že u stinných jehlic při nadměrné ozáření dochází k nastolení redukčního stavu téměř u všech akceptorů. ETR pak „padá“.

OBR.8.12. ZÁVISLOST RYCHLOSTI TRANSPORTU ELEKTRONŮ NA OZÁŘENOSTI



9. RESPIRACE

Zatímco fotosyntéza produkuje sacharidy, což jsou substráty, na kterých závisí život rostlin, respirace je **proces, ve kterém se energie uložená v sacharidech uvolňuje sekvencí řízených reakcí.**

Aerobní respirace je obvyklá u všech eukaryotních organismů. Respirační procesy u rostlin jsou velice podobné respiračním procesům živočichů. *Aerobní respirace je proces, ve kterém jsou redukováné organické látky s vysokým obsahem energie mobilizovány a následně oxidovány.*

Respirační mechanismus získávání energie spočívá hlavně v dekarboxylačních a oxidačních pochodech. Veškerá energie získaná z tohoto a jiných typů odbourávání se přenáší přes oxidoredukční činidla, jako jsou flavoproteiny nebo pyridinové nukleotidy na elektronové transportní řetězce.

Protože stacionární koncentrace pyridinových nukleotidů a jiných redoxních činidel v buňce je limitována, existuje těsné spřažení těchto redoxních faktorů s reakcemi, kterými jsou redoxní ekvivalenty produkovány.

Obecná rovnice respirace zní:



Znamená to, že při respiraci dochází ke kompletní oxidaci glukózy na oxid uhličitý. Kyslík slouží jako konečný akceptor elektronu a je redukován na vodu.

Hodnota standardní volné energie této reakce činí 2880 kJ na mol (180g) oxidované glukózy. Tato volná energie je využita k syntéze ATP.

Přestože je glukóza považována za základní substrát respirace, je tento fyziologický proces křížovatkou, ve které je zužitkován uhlík pocházející z různých zdrojů jako jsou polymery glukózy - škrob, sacharóza a fruktózy, tuky (hlavně triglyceroly), organické kyseliny a proteiny

Důležité zásobní látky heterotrofní výživy jako je škrob, jsou polymerní látky, které se při mobilizaci štěpí na monomerní složky. Všechny obligatorní heterotrofní organismy mohou kromě zužitkování vnitřních rezerv použít i glukózu z vnějšku.

Škrob a glykogen jsou nejrozšířenější zásobní sacharidy v přírodě a mají polymerní charakter. Jednotlivé jejich molekuly glukózy se vzájemně váží α -D-glykosidickou vazbou. Škrob z rostlin je směsí dvou složek: **amylosy** a **amylopektinu**.

Amylosa tvoří rovné řetězce glukózy, které se vzájemně váží 1,4- α -D-glukosidickou vazbou. Jednotku amylosy tvoří 200-2000 jednotek glukózy. Amylopektin obsahuje jak 1,4- α -D-glukosidické vazby, tak i 1,6- α -D vazby. Poměr těchto vazeb je takový, že na jednu 1,6 vazbu připadá 20 1,4 vazeb.

Ze struktury škrobu vyplývá, že jeho mobilizace se musí zúčastnit jak enzymy štěpící 1,4 vazbu, tak enzymy štěpící 1,6 vazbu. Jsou to enzymy β -amyláza štěpící 1,4 vazbu a α -amyláza štěpící 1,6 vazbu, ale uvnitř molekuly škrobu.

Pro další metabolismus je důležité, aby *odštěpené zbytky byly fosforylovány*. Tuto funkci zastávají enzymy **fosforylázy škrobu**, které přenášejí z neredukujícího konce škrobu glukosylové zbytky na anorganický fosfát.

Odbourávání škrobu je základním mechanismem zpracování asimilátů a mobilizace sacharidů do metabolismu. Při klíčení semen dochází ke stejné situaci, kdy se alfa-amyláza iniciuje příjmem vody. Po přijetí vody embryo vylučuje gibberelovou kyselinu, která stimuluje syntézu α -amylázy.

Základní mechanismus mobilizace asimilátu je:

škrob $\rightarrow$ glukosidáza $\rightarrow$ glukóza.

Glukóza může být do buňky transportována i zvenčí. K tomu slouží speciální systémy - **permeázy**, umístěné na membráně, které jsou za přísunu energie schopny přenést glukózu přes membránu proti koncentračnímu gradientu.

Respirace je vícestupňový proces, který se skládá ze třech procesů:

- 1/ glykolýza,
- 2/ cyklus trikarboxylových kyselin,
- 3/ oxidativní fosforylace.

GLYKOLÝZA

Glykolýza je sled reakcí, při nichž je glukóza oxidačně štěpena na tříuhlíkaté látky. Přitom se uvolňuje energie využitá jako *ATP*, případně jako *NADH*. Enzymatický aparát glykolýzy se nachází v cytoplazmě buňky.

Produkty glykolýzy jsou **pyruvát**, **ATP** a **NADH**. Na jednu molekulu glukózy jsou produkovány dvě molekuly *ATP* a jedna molekula *NADH*. Glykolýza je vývojově nejstarší součástí respirace.

V počáteční fázi sledu reakcí glykolýzy musí být vstupující hexóza fosforylována a pak se okamžitě štěpí na dva **glyceraldehyd fosfáty**. To vyžaduje vstup dvou molekul *ATP* na jednu molekulu hexózy. Při oxidaci aldehydu na karbonylovou kyselinu dochází ke tvorbě *NADH*⁺.

NAD a *NADH*⁺ jsou kofaktory mnoha redukčních reakcí buňky. Standardní redukční potenciál tohoto redukčního páru činí -320 mV, což znamená, že se jedná o poměrně silné redukční činidlo.

Z glyceraldehydu vytvořená karboxylová kyselina **1,3-bisfosfoglycerát** reprezentuje smíšený kyselinový anhydrid, který má velkou volnou energii pro hydrolýzu (-54.5 kJ mol⁻¹). To z této kyseliny činí *silný donor fosforu*. V dalším kroku glykolýzy je *fosfor transportován na molekulu ADP a tvoří se ATP*. Na každou molekulu glukózy vstupující do glykolýzy jsou tímto způsobem produkovány dvě *ATP*. Tento typ tvorby *ATP* se nazývá **substrátovou fosforylací** a nemá nic společného s činností membránových *ATPáz*.

Konečná fáze glykolýzy, tj. **tvorba pyruvátu** je opět spojena se substrátovou formací *ATP*. Tento poslední krok glykolýzy *produkuje rovněž dvě molekuly ATP* na každou do reakce vstupující molekulu glukózy.

Za anaerobních podmínek se glykolýza napojuje na **mechanismy mléčného či alkoholového kvašení**. Ovšem z hlediska energetické účinnosti kvašení se nejedná o příliš efektivní využití energie. Volná energie uvolněná kompletní oxidací molekuly glukózy je -2880 kJ mol⁻¹. Pro syntézu *ATP* v podmínkách buňky je potřeba -50.2 kJ mol⁻¹. Je-li glukóza konvertována na laktát či etanol v procesech kvašení, pak jsou vyprodukovány pouze dvě molekuly *ATP*, což snižuje energetickou účinnost na pouhých 4%.

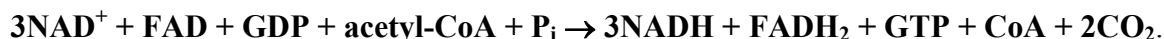
*Organismy umí využít systému glykolýzy v opačném směru, což vede k syntéze glukózy z jiných organických molekul. Tento proces je znám jako **glukoneogeneze**. Tento proces je účinný především u semen rostlin v průběhu jejich klíčení, kdy dochází k mobilizaci zásobních látek jako jsou tuky. Tuky jsou konvertovány glukoneogenezí na sacharózu, která je využita na podporu růstu a klíčení.*

*Další dvě složky respirace se uskutečňují ve specializovaných buněčných organelách - **mitochondriích**. Mitochondrie jsou semiautonomní organely. Obsahují svou kruhovou DNA a ribozomy.*

KREBSŮV CYKLUS

Cyklus trikarboxylových kyselin - TCA je rovněž znám podle svého objevitele Hanse Krebse jako **Krebsův cyklus**. TCA odpovídá za oxidaci většiny cukrů, mastných kyselin i aminokyselin a vytváří četné biosyntetické prekurzory, tzn. jedná se o cyklus amfibolický. TCA se uskutečňuje v matrix mitochondrií. Pyruvát, koncový produkt glykolýzy, vstupuje do mitochondrie prostřednictvím *specifického translokátoru*, který katalyzuje výměnu pyruvátu za OH^- ionty přes membránu.

TCA začíná aktivitou enzymu *pyruvátdehydrogenáza*, při které se *pyruvát váže s kofaktorem koenzymem A* obsahujícím síru. Výsledným produktem této reakce je *acetyl-koenzym A*, CO_2 a NADH . Acetyl-koenzym A se plně oxiduje v citrátovém cyklu sérií organických reakcí katalyzovaných 8 enzymy. Citrátový cyklus působí katalyticky jako důsledek vlastní regenerace oxalacetátu. **Acetylskupina je oxidována s touto stechiometrií:**



Reoxidace produktů TCA (NADH , FADH_2) kyslíkem, umožněná transportem elektronů a oxidativní fosforylací, uzavírá štěpení metabolických zdrojů způsobem vedoucím k syntéze ATP.

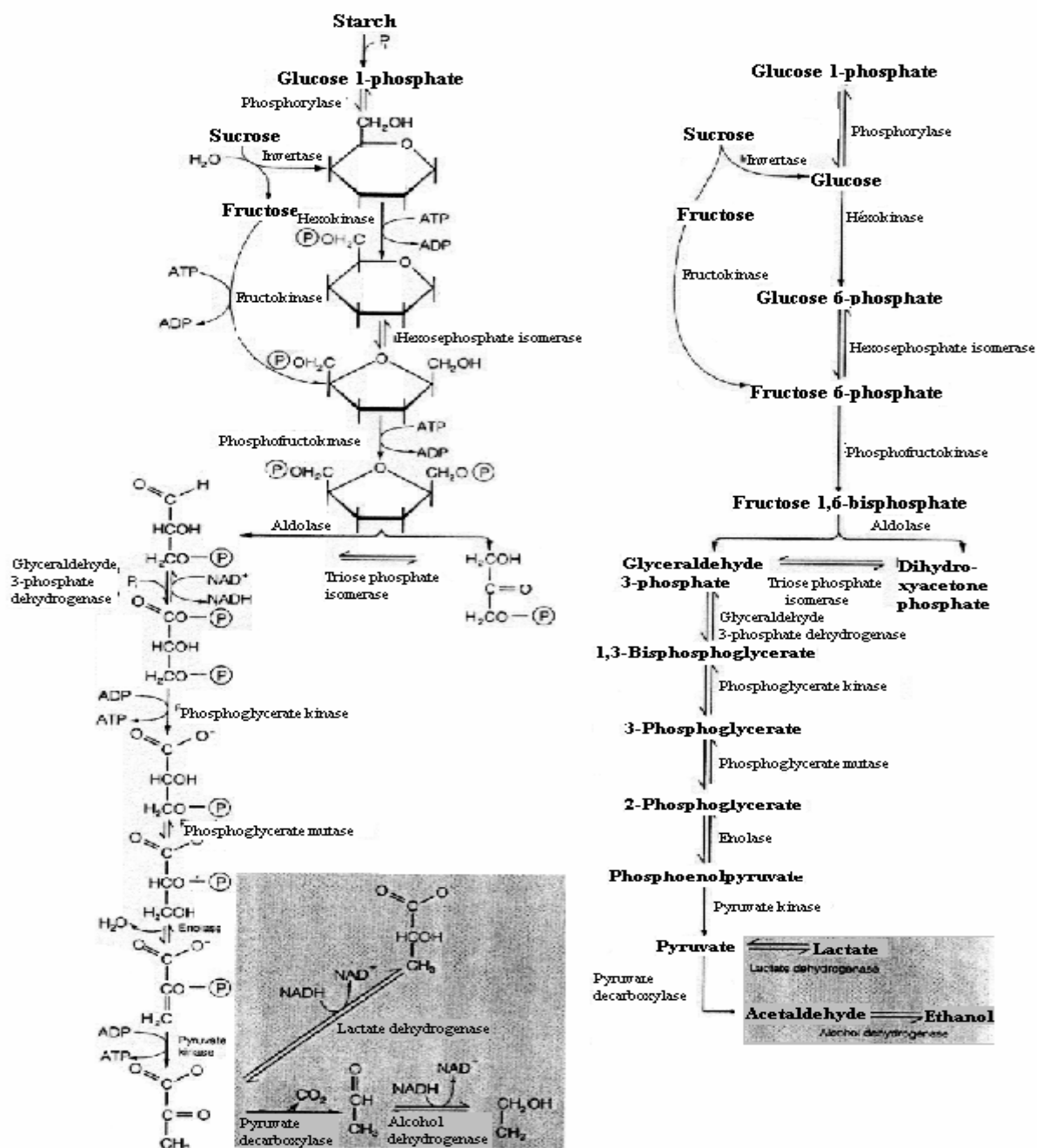
Do citrátového cyklu ústí kromě metabolismu sacharidů ještě metabolismus tuků a bílkovin. TCA u rostlin však není úplně identický s TCA živočichů. U rostlin je především velice významná aktivita NAD^+ *jablečného enzymu*. Tento enzym katalyzuje oxidativní dekarboxylaci malátu:



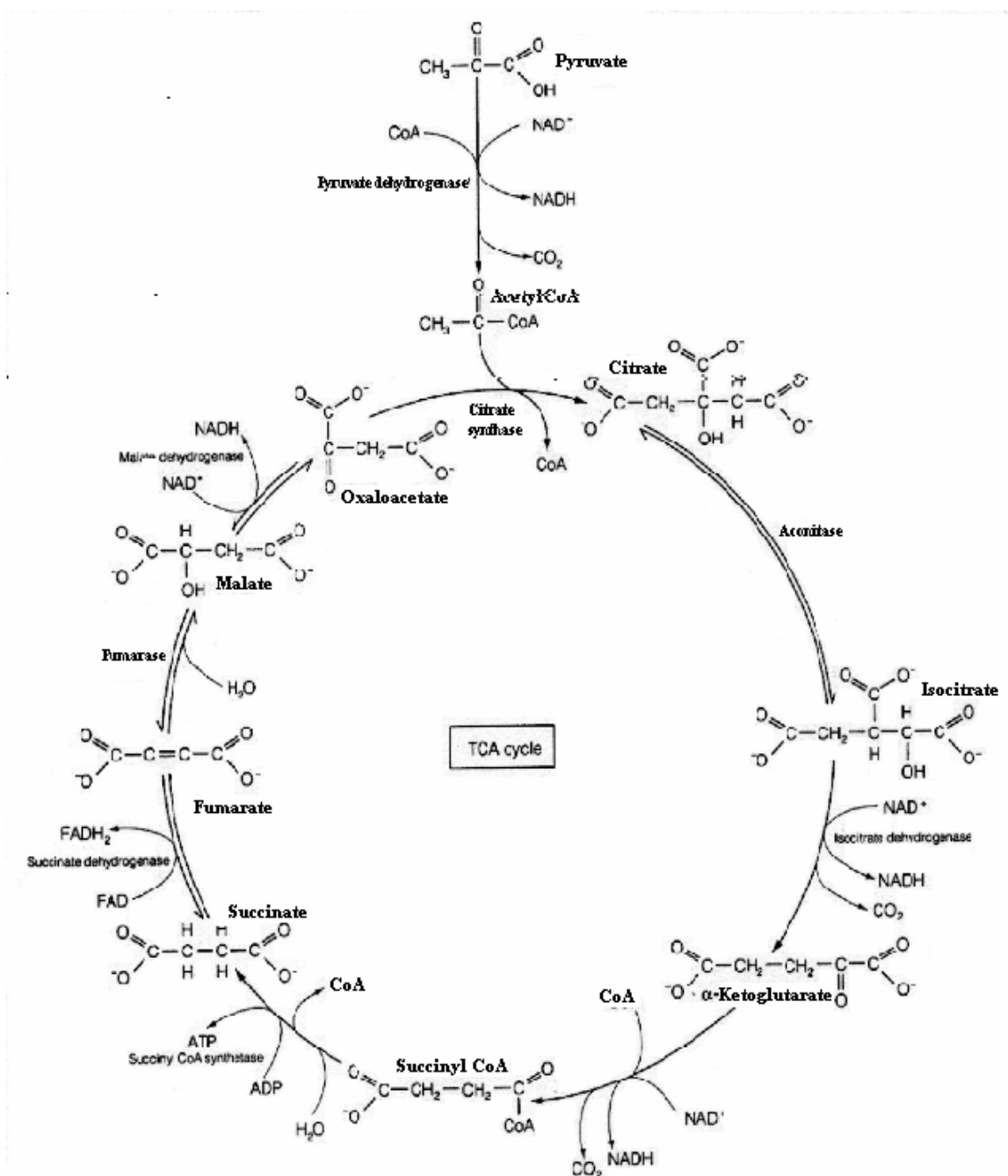
Přítomnost tohoto enzymu v mitochondriích rostlinných buněk umožňuje alternativní cestu pro pyruvát získaný z glykolýzy.

Malát může být syntetizován z pyruvátu v cytosolu. Pak je malát transportován do mitochondriální matrix speciálním dikarboxylátovým přenašečem na mitochondriální membráně. *Přenos se děje výměnou za P_i* . V matrix NAD^+ malátový enzym započne metabolismus malátu jeho oxidací na pyruvát, jenž pak vstupuje do TCA. To znamená, že přítomnost tohoto NAD^+ -malátového enzymu umožňuje plnou oxidaci čtyřuhlíkatých sloučenin jako je malát, citrát a α -ketoglutarát za absence obvyklého substrátu TCA-pyruvátu.

OBR. 9.1 PRŮBĚH GLYKOLÝZY



OBR. 9.2 CYKLUS TRIKARBONOVÝCH KYSELIN – TCA NEBOLI KREBSŮV CYKLUS



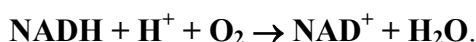
KAŽDÁ MOLEKULA GLUKÓZY, KTERÁ JE OXIDOVÁNA S VYUŽITÍM GLYKOLÝZY A TCA CYKLU PRODUKUJE:

- 2 molekuly NADH utvořené v cytosolu,
- 8 molekul NADH utvořených v mitochondriální matrix,
- 2 molekuly FADH₂ utvořené v mitochondriální matrix.

Tyto redukční ekvivalenty mohou být reoxidovány.

OXIDATIVNÍ FOSFORYLACE

Systém **oxidativní fosforylace** katalyzuje tok elektronů z NADH a FADH na kyslík. Na oxidaci NADH je nutný dvoelektronový přenos typu:



Tato reakce poskytuje standardní volnou energii 220 kJ. U oxidace FADH činí tato energie 167.5 kJ. Tato uvolněná energie je pak v procesu oxidativní fosforylace využita k produkci ATP.

Systém oxidativní fosforylace u vyšších rostlin obsahuje prakticky stejnou skladbu elektronových transportérů jako živočišné mitochondrie. Jednotlivé elektronové transportní proteiny jsou organizovány ve **čtyřech multiproteinových komplexech I-IV**. Každý tento komplex se nachází na vnitřní membráně mitochondrie.

Elektrony získané z NADH utvořené v mitochondriální matrix během TCA cyklu jsou oxidovány komplexem I přenášejícím tyto elektrony na ubiquinon, který existuje jako zásobní pool uvnitř membrány. Ubichinon není spojen s žádným membránovým proteinem. Chemicky a funkčně je ubiquinon podobný plastochinonu ve fotosyntetickém elektronovém transportu.

Komplex I - NADH-ubichinonreduktasa, (850 kDa) obsahuje 1 molekulu **flavinmononukleotidu** a šest až sedm **Fe-S-center**, přičemž nejobvyklejší jsou typy [2Fe-2S], [4Fe-4S].

Komplex II - sukcinát-ubichinonreduktasa, obsahuje dimer sukcinátdehydrogenázy (enzym TCA) a tři malé hydrofobní podjednotky. Tzn. že elektrony získané oxidací sukcinátu na fumarát při produkci FADH₂ jsou transportovány na ubiquinonový pool.

Komplex III - ubichinol-cyt c-reduktasa, přenáší elektrony z redukovaného ubiquinonu na cytochrom-c. Obsahuje dva cytochromy typu b, jeden cytochrom-c₁ a jedno centrum [2Fe-2S]. Funguje jako ubiquinol: cytochrom-c pool, který oxiduje redukovaný ubiquinol a přenáší elektrony přes železato-sírný komplex, cytochromy typu b a přes cytochrom-c₁, který je vázán na membránu, na cytochrom-c. Cytochrom-c je periferní membránový protein, který slouží jako mobilní přenašeč elektronů mezi komplexy III a IV.

Komplex IV - cytochrom-c-oxidasa, je tvořen cytochrom c oxidázou, která obsahuje dva cytochromy typu a a dále obsahují atomy mědi. Měď se přímo účastní čtyř-elektronové redukce O₂ na dvě molekuly vody. Prostorová organizace těchto komplexů na vnitřní membráně mitochondrie je velice specifická. Oxidace NADH a FADH₂ se uskutečňuje na matrixové straně membrány. Cytochrom-c je umístěn v mezimembránovém prostoru na cytoplazmatické straně. To způsobuje, že komplex III a cytochrom-c₁ jsou orientovány v cytoplazmatickém směru a dva cytochromy-b komplexu III a cytochromy-a jsou orientovány v matrixovém směru. Tato organizace na membráně pak vede k pohybu elektronů.

Jednotlivé elektron-přenášející komplexy nejsou soustředěny do jednoho superkomplexu. Transport elektronů se děje spíše formou náhodné kolize mezi jednotlivými komplexy, které difundují fluidní fosfolipidovou dvojvrstvou.

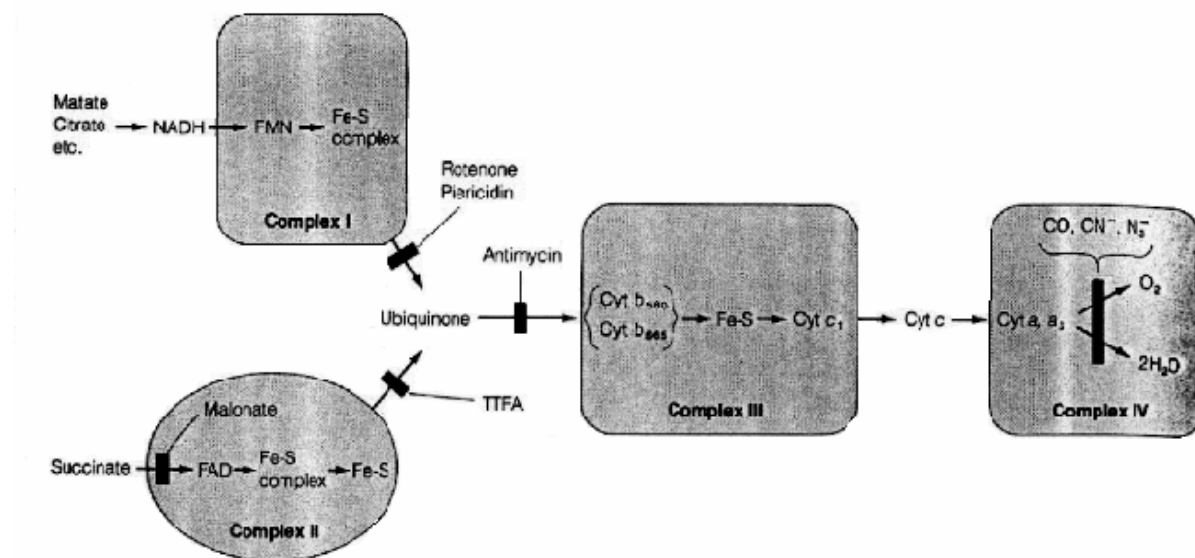
*Rostlinné mitochondrie obsahují některé zcela specifické složky oxidativní fosforylace, které nejsou v živočišných buňkách. Je to především komplex **NADH dehydrogenázy**, který je umístěn na „cytoplazmatické straně mitochondriální membrány“ a umožňuje oxidaci cytoplazmatické NADH a snad i NADPH. Elektrony z této externí NADH pak vstupují do oxidativní fosforylace v místě ubichinového poolu. Druhým specifickým rysem rostlinných mitochondrií je *přítomnost dvou cest oxidace matrixové NADH*.*

Přenos elektronů na kyslík přes komplexy I-IV je spojen s produkcí ATP rozdílným systémem ATPáz odvozených od podstaty donorů elektronů.

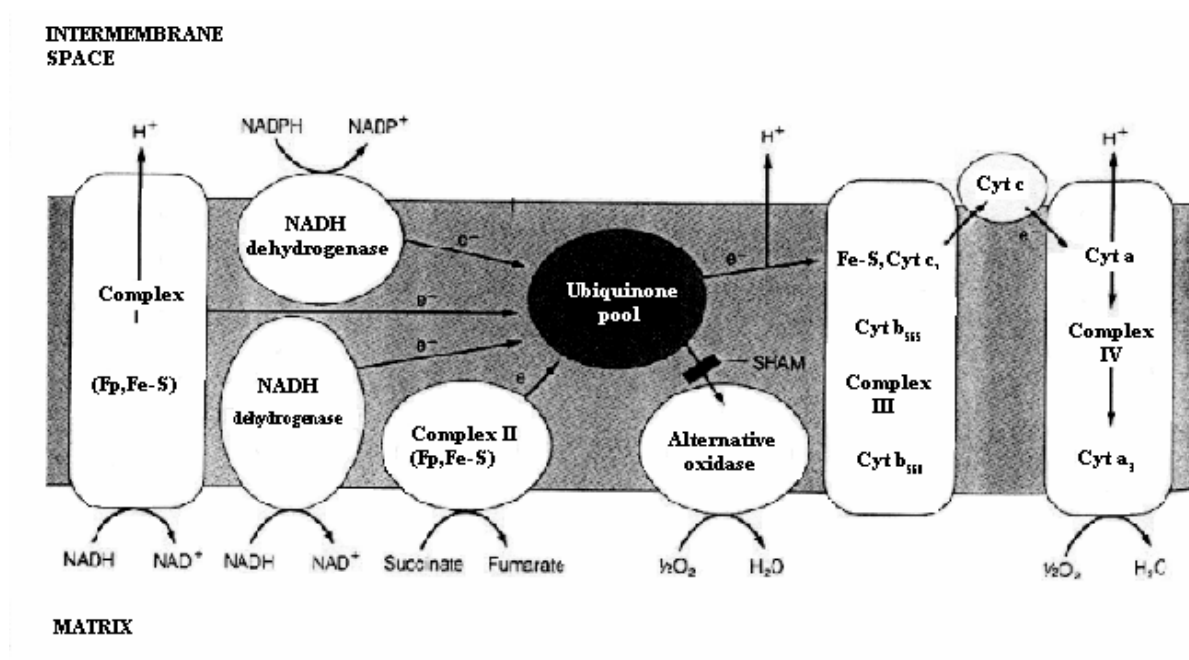
Elektrony získané tokem z NADH (matrixové) na kyslík se dá vyjádřit hodnotou poměru $ADP/O_2 = 2.4-2.7$, čili je to počet syntetizovaných ATP potřebných k transportu dvou elektronů na kyslík. FADH a externě (cytoplazmatické) dodané NADH mají hodnotu poměru **1.6 - 1.8**.

Produkce ATP v této části respirace je jiná, než u známé substrátové fosforylace. Zde se jedná o **tvorbu ATP v důsledku protonového gradientu** tak, jak je známo z fotosyntézy.

OBR. 9.3 KOMPLEXY OXIDATIVNÍ FOSFORYLACE



OBR. 9.4 LOKALIZACE KOMPLEXŮ OXIDATIVNÍ FOSFORYLACE V MEMBRÁNĚ MITOCHONDRIE



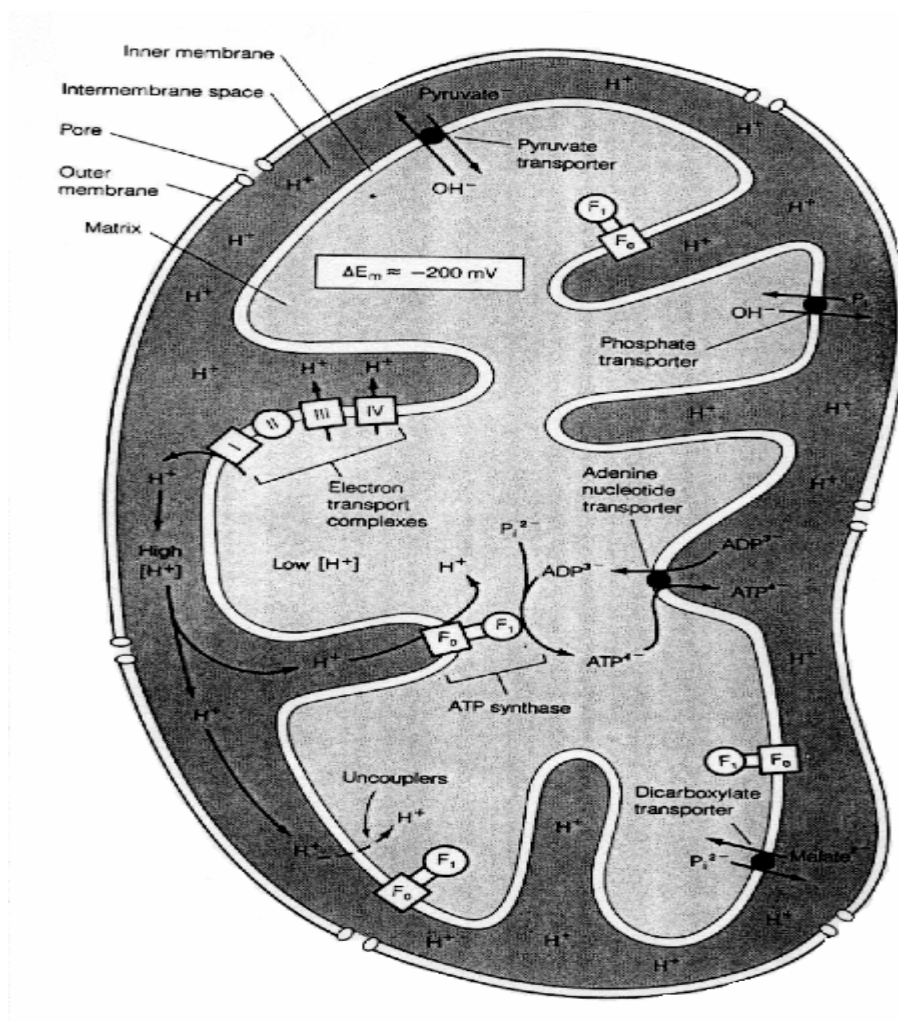
Mitochondriální transport elektronů je spojen s transportem protonů a tak se vytváří elektrochemický gradient.

Ten se skládá ze dvou složek:

- 1/ *elektrická potenciálová složka*. Ta vzniká v důsledku asymetrické distribuce nabitých H^+ protonů přes membránu.
- 2/ *složka chemická*, která vzniká asymetrií tvorby hodnoty pH přes membránu

Vytvořený gradient je poměrně stálý, protože vnitřní membrána mitochondrie je velice málo propustná pro protony. *Takto potenciálně nakumulovaná energie je využita k chemické práci, syntéze ATP.* Opět zde pracuje speciální membránová ATPáza, která je tvořena dvojím typem proteinů. **Protein F_1** je periferní komplex, který je *složen z pěti podjednotek*. Obsahuje *katalytické místo syntézy ATP*. **Protein F_0** je membránový protein tvořící kanálek, kterým prostupují protony do F_1 .

Elektrochemický protonový gradient je účinný i v pohybu substrátů a produktů TCA cyklu a oxidativní fosforylace do a z mitochondrie



OBR. 9.5 ELEKTROCHEMICKÝ GRADIENT PROTONŮ V MITOCHONDRIÍCH

Zatímco mitochondrie produkují ATP, hlavním místem jeho spotřeby je prostor vně této organely. Proto musí existovat efektivní mechanismus transportu ATP ven a ADP dovnitř mitochondrie. Tento mechanismus zahrnuje membránový protein **ADP/ATP transportér**.

Elektrický gradient vytvořený během transportu elektronů způsobuje *pohyb ATP ven z mitochondrie a ADP dovnitř organely*. Rovněž příjem anorganického fosfátu vyžaduje transportní mechanismus. Tento **P-transportér** využívá gradientu pH a katalyzuje výměnu P_i dovnitř a OH^- ven.

Kompletní oxidace molekuly glukózy vede k produkci čtyř molekul ATP v důsledku substrátové fosforylace, dvou molekul NADH v cytosolu, osmi molekul NADH a dvou molekul $FADH_2$ v TCA.

Celkově je oxidativní fosforylaci produkováno 28 molekul ATP na molekulu glukózy. Celkově je tedy při respiraci produkováno 32 ATP na molekulu glukózy.

Účinným jedem blokujícím hlavně činnost cytochrom-oxidázy je kyanid. Po jeho aplikaci respirace klesá na 1% původní hodnoty. U rostlin byla ale popsána situace, kdy dodání kyanidu vede pouze k 60% inhibici. Tato kyanid-rezistentní respirace je založena na alternativní cestě transportu elektronů ke kyslíku. Tato cesta je na úrovni ubichinonového poolu. Vzhledem k tomu, že transport elektronů v alternativní cestě začíná až na ubichinonovém poolu, takže dvě místa konzervace energie (komplex III a IV) jsou vynechána, vede tento proces ke snížení produkce ATP a více energie je uvolněno ve formě tepla.

Příkladem využití alternativy založené na kyanid-rezistentní respiraci jsou některé rostliny čeledi Aracea, které před dozráním pylových semen mají v místě květního apexu vysokou rychlost této respirace. To vede k ohřátí této části rostlinného těla. Ohřátí může být až o 14 °C vzhledem k okolí. Z ohřátého pletiva se pak uvolňují volatilní látky, které lákají hmyz.

Kontrola metabolismu sacharidů v rostlině je opět víceúrovňový proces. Kontrolní mechanismy se nacházejí ve všech stupních respirace. Glykolýza je regulována např. na úrovni enzymu pyruvát kináza. PK je inhibována ve své aktivitě svým produktem - ATP. Naproti tomu vysoká hladina ADP v cytosolu aktivuje PK.

Primární kontrola mitochondriální respirační aktivity se děje na úrovni buněčné hladiny adenin nukleotidů, přesněji poměru ATP/ADP. Buněčná potřeba ATP v cytosolu vede k poklesu koncentrace ADP v cytosolu, protože ten je transportován do mitochondrie. Postupně pokles ADP v cytosolu způsobuje zastavení činnosti oxidativní fosforylace.

V rostlinné buňce existuje kromě glykolýzy druhá, alternativní, cesta oxidace glukózy v cytosolu. Jedná se o oxidativní pentózofosfátovou dráhu.

Prvními kroky reakce jsou oxidace vedoucí k tvorbě pětiuhlíkaté **ribulózy-5-bisfosfátu** za ztráty molekuly CO₂ a produkci dvou molekul NADPH.

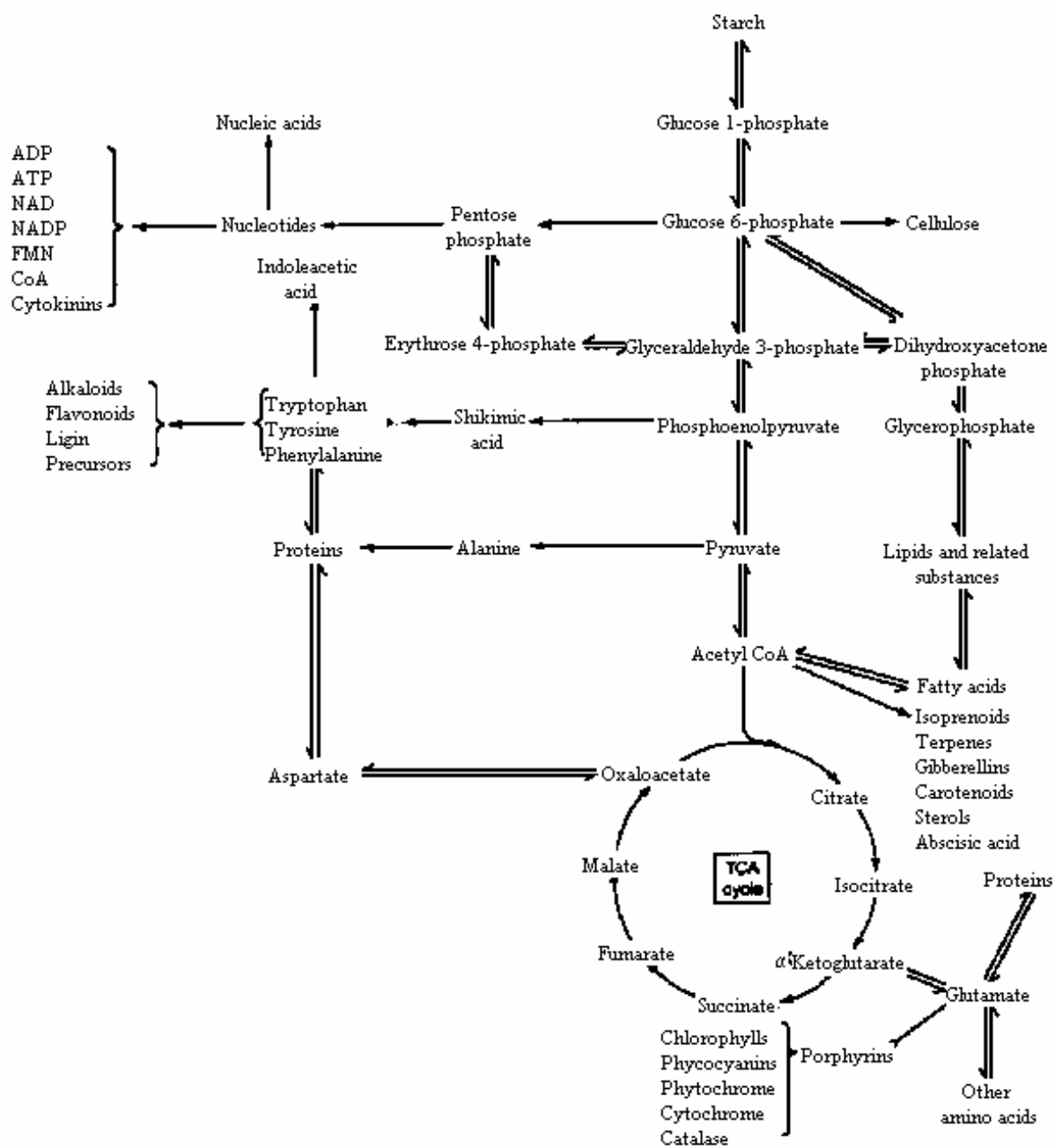
Zbývající reakce pentózového cyklu jsou *konverzí ribulózy na intermediáty glykolýzy*, tj. **glyceraldehyd-3-fosfát a fruktóza-6-fosfát**.

Tato alternativní cesta *pokrývá asi 10% celkového metabolismu uhlíku v rostlině. Ovšem pentózový metabolismus má jisté úkoly v metabolismu rostliny. Jeho produkty, tj. NADPH, jsou využity v různých metabolických procesech, které se uskutečňují v cytosolu. Dále pentózová cesta produkuje ribulózu, což je prekurzor ribózy a desoxyribózy nutné pro syntézu DNA a RNA. Jiný intermediát této dráhy, čtyřuhlíkatá erytróza-4 fosfát, je prekurzorem rostlinných fenolických látek, jako jsou aromatické aminokyseliny, lignin, flavonoidy apod.*

Pentosový cyklus, a tedy i rychlost produkce NADPH, je řízen rychlostí reakce glukosa-6-fosfátdehydrogenasy. Aktivita tohoto enzymu katalyzujícího první krok této dráhy je regulována koncentrací NADP⁺, tj. dostupností substrátu. Pokud buňka spotřebovává NADPH, koncentrace NADP⁺ roste, čímž se stimuluje glukosa-6-fosfátdehydrogenasa a regenerace NADPH.

Respirace, její jednotlivé složky - glykolýza, TCA a oxidativní fosforylace, je křížovatkou metabolických drah tuků, bílkovin a cukrů.

OBR. 9.6 RESPIRACE-KŘÍŽOVATKA METABOLICKÝCH DRAH



RESPIRACE A VNĚJŠÍ FAKTORY

Obecně lze konstatovat, že *u bylin je 60% denní fotosyntetické produkce bezprotředně spotřebováno v respiraci*. Tento poměr klesá se *stářím rostliny*. U mladých stromů tato ztráta činí asi 30% a s věkem se zdvojnásobuje, protože klesá poměr fotosyntetizujících a nefotosyntetizujících pletiv. V tropických oblastech může být 70-80% denní fotosyntetické produkce prodýcháno.

Rychlost respirace je rovněž odlišná v závislosti *na typu rostlinného orgánu*. Vyvíjející se pupeny a letorosty dýchají velice intenzivně. Tento rozdíl pak vede ke konceptu respiračních složek. **Růstová respirace** zahrnuje využití energie respirace při tvorbě nových pletiv, obecně růstu. **Udržovací respirace** je složka respirace spojená s obratem proteinu a přežitím organismu jako takového. Má svou analogii k bazálnímu metabolismu u živočichů.

S příjmem iontů spojená respirace je složka související s aktivitou kořenů v procesu aktivního příjmu iontů.

Z vnějších faktorů ovlivňujících respiraci lze především uvést *teplotu*. Se vzrůstající teplotou rychlost respirace roste. Nárůst se vyjadřuje využitím *koeficientu Q_{10}* , který vyjadřuje nárůst rychlosti respirace při vzrůstu teploty o 10°C. *Hodnota Q_{10} pro rostliny činí 2.2.*

Koncentrace kyslíku je rovněž výrazným faktorem ovlivňujícím respiraci. Pokles koncentrace kyslíku na pouhé 1% se teprve začne projevovat na rychlosti respirace. Tehdy se hovoříme o **anoxii**.

10. BUNĚČNÉ ZÁKLADY RŮSTU A MORFOGENEZE

Růst je spojen s morfogenezí a diferenciací. Morfogenezí rozumíme vývoj formy a tvaru buňky či orgánu rostliny. Její průběh závisí na dvou základních procesech: regulace směru buněčné expanze a kontrola roviny buněčného dělení. Diferenciace je proces, ve kterém buňky procházejí biochemickými a strukturálními změnami za účelem plnění specializovaných funkcí. Plně diferencované buňky zastavují své buněčné dělení a dále již neexpandují.

Růst rostliny je definován jako *neustálý nárůst rozměru rostliny*. Je-li je růst kontinuálně měřen v čase, pak jeho růstová křivka má **typický S-tvar**, pro který jsou charakteristické tři fáze:

*lag fáze,
lineární fáze,
stacionární fáze.*

Růst rostlin se obecně neprojevuje po celém rostlinném těle, ale je omezen na *specializované zóny*. U rostlin existují *dva typy růstu*: **primární** a **sekundární růst**. Primární růst se realizuje pouze u vrcholů kořenů a stonků a v jejich laterálních derivátech jako jsou listy a pupeny. Vzhledem k tomu, že růstový potenciál těchto struktur přetrvává, mají rostliny kapacitu na permanentní růst. Zatímco *primární růst je spojen především s růstem do délky, růst do šířky je projevem sekundárního růstu*. Oba tyto typy růstu jsou spojeny s existencí specializovaných *meristemových buněk*.

Například rostoucí kořen může být rozdělen do několika **růstových zón**:

- a/ *kořenová čepička* tvořena speciálním meristemem kořenové čepičky.
- b/ *klidové centrum* s meristematickými buňkami, jež se dělí a rostou velice pomalu, a slouží tak jako rezervoár buněk pro případnou náhradu buněk poškozených.
- c/ *prodlužovací zóna*, která je místem hlavního růstu kořenů.
- d/ *kořenové vlášení*.

U stonku se jeho apikální meristem skládá z tuniky a corpusu. Tunika tvoří vnější vrstvu meristematických buněk obklopujících corpus, vnitřní buňky. Buňky corpusu se většinou dělí antiklinálně a periklinálně (rovnoběžně s povrchem), což vede k tomu, že se corpus zvětšuje objemově. Buňky tuniky se dělí antklinálně (kolmo k povrchu) a tvoří základ epidermálních a subepidermálních buněčných vrstev stonku a listů. Buňky tuniky a corpusu se často nazývají jako buňky tvořící histogenní (pletiva-produkující) vrstvu.

Listy se zakládají na krajích apikálního meristemu. Jejich postavení kolem apexu předurčuje jejich budoucí prostorové postavení kolem stonku. Místa, kde listová primordia vstupují do stonku, se nazývají nody a oblasti stonku mezi nimi pak internody. List s nodem, internodem a postranním pupenem pod nodem tvoří jednotku zvanou fytoomer, která je odvozena od určité skupiny buněk v meristemu.

Expanze kořenového vlášení a pylových láček je uskutečňována tzv. špičkovým růstem.

Růst buněk uvnitř vícebuněčných orgánů zahrnuje *uniformní buněčnou expanzi* zvanou **difúzní růst**.

Protože buněčná stěna je poměrně rigidní útvar, je růst protoplastu touto stěnou značně limitován. Proto je *tvar a rozměr rostoucích buněk určen mechanickými vlastnostmi buněčných stěn*, které tyto buňky obklopují.

U špičkového růstu je syntéza buněčných stěn a expanze buněk téměř totožná. Růst se uskutečňuje prostřednictvím depozice nového materiálu na špičku. Avšak u difúzního růstu je expanze buněk spojena se ztrátou elementů buněčné stěny, či s novou syntézou stěn.

Rostliny mají *dva typy organizace své struktury*. A to **strukturu osovou a polární**. *Osová struktura* spočívá v tom, že se jedná o *symetrickou organizaci kolem osy*. U *polární struktury* se jedná o to, že *opačné póly osy jsou rozdílné*. Rostliny mají mnoho os. *Základní je osa probíhající stonkem a kořenem*. Vedlejší osy vedou listy, bočními kořeny apod. Všechny tyto struktury jsou zároveň i polární struktury s rozdílnou kompozicí. Např. kořenová špička je rozdílná vzhledem k polaritě svého počátku a konce. Totéž platí pro listy.

Polarita ovšem existuje i na úrovni jednotlivé buňky. Rostlinný genom určuje typ a dimenze rozdílných rostlinných os a je rovněž základem buněčné polarity. Rostliny získávají informace kontaktem se svým okolím. Tyto reakce na prostředí zahrnují i řízený růst, pro který buňky musí být schopné vytvořit jistou polaritu vedoucí k orientované expanzi. Rozdílné vlivy jako je světlo, teplota, pH, ionty či elektrické pole jsou zodpovědné za impuls ke tvorbě buněčné polarity.

Jednou ze základních manifestací polarity je ustavení ionického proudu uvnitř buňky tzv. *transbuněčného proudu*, který dosahuje hodnot kolem stovky pA a je převážně způsoben ionty vápníku. Buněčná polarita je indikována tak, že v místě, ve kterém pozitivní ionty vstupují do buňky, se vytváří impuls pro následný buněčný růst.

Původ a role těchto iontových proudů jsou však i nadále dosti nejasné. Může být indukován otevíráním, uzavíráním či redistribucí iontových kanálků či pump na plazmalemě. Iontový proud generuje elektrický potenciál, který zpětně může měnit distribuci, vlastnosti membránových proteinů a ionickou kompozici v membráně. Totéž se děje v cytosolu. Jelikož obvyklá koncentrace vápníkových iontů v cytosolu je malá, i malá změna jejich koncentrace má dalekosáhlé důsledky s ohledem na jejich fungování v transbuněčném proudu.

U rostoucích buněk je prvním morfologickým znakem spojeným s ustavením buněčné polarity *stratifikace buněčných organel a akumulace malých měchýřků v místě budoucího expanzního růstu buňky*.

Vzestup intracelulární koncentrace vápníku vede ke zvýšené organizaci a stabilizaci mikrovláken cytoskeletu. Cytoskelet způsobuje transport měchýřků směrem k rostoucí části buňky. Zdá se, že právě rozdílná koncentrace vápníkových iontů je zodpovědná za indukci pohybu měchýřků. Polarita je rovněž indukována pozicí buněčného jádra.

Základním objevem je, že orientace buněčných mikrotubulí, tedy složek cytoskeletu, v oblasti u membrány tzv. **cortikální oblasti**, je rozhodující pro určení směru ukládání nově se tvořících vláken buněčné stěny. Je-li buňka ošetřena látkami, které způsobují rozpad mikrotubulí (např. kolchicin), ztrácí pak kontrolu nad vkládáním nových celulóznic vláken do buněčné stěny.

Podstata významu orientace mikrotubulí spočívá v tom, že **celulóza-syntetáza**, což je enzymatický komplex tvořící nová vlákna, se pohybuje směrem k membráně v rovině, která je určena právě orientací mikrotubulí.

Regulace směru buněčného růstu je jednou formou. Druhým typem regulace je regulace na úrovni roviny buněčného dělení, *určení pozice* této roviny. Dělení jádra je vždy následováno dělením buňky na dvě buňky dceřinné. Buněčná stěna obklopující dělicí se buňku fixuje její pozici k sousedům. Vzhledem k tomu, že rostlinné buňky se v důsledku existence rigidních buněčných stěn nemohou pohybovat, musí mít nově se tvořící buněčná stěna správnou orientaci a musí fúzovat s mateřskou stěnou ve správném místě. To znamená, že musí být vložena ve správném místě. Toho je opět dosaženo činností buněčného skeletu.

V průběhu dělení rostlinné buňky rozeznáváme několik fází. V interfázi vytvořené řady mikrotubulí jsou v kortexové oblasti nahrazeny pásem mikrotubulí tzv. *preprofázovým prstencem*. Prstenec se tvoří v blízkosti membrány. V počátku **mitózy** se rozpouští blána jaderná a mikrotubulí tvoří dělicí vřeténko. Tvorba vřeténka je spojena s rozkladem preprofázového prstence. Chromozómy se v **metafázi** kondenzují ve středu vřeténka a to se následně rozkládá. V **telofázi** se tvoří nové jaderné blány kolem dceřiných jader, mezi nimiž se tvoří řady mikrotubulí, tzv. *fragmoplast*. Uvnitř fragmoplastu se začíná tvořit základ nové buněčné stěny. Poloha nově se tvořící stěny je předurčena polohou preprofázového prstence.

Následným procesem vývoje nově se utvořené meritematické buňky je její diferenciaci ve specializovanou buňku. Speciální situací u rostlinných buněk je to, že jsou schopné dediferenciaci v dělivou buňku. Toho je dosaženo tím, že DNA specializované buňky neztratila schopnost přepisu genetické informace. Rostlinné buňky jsou **totipotentní**.

PŘÍKLADY DIFERENCIACE NĚKTERÝCH SPECIALIZOVANÝCH BUNĚK

Tracheidy

V konečném stádiu diferenciaci jsou tracheidy buněčnými elementy, které ztratily protoplast a zůstaly pouze buněčné stěny, a vykonávají funkci vodivých trubek. *To je příklad programové smrti buňky za účelem jisté funkce.* Během diferenciaci tracheidy je depozice sekundárního materiálu stěny příčinou tvorby typických ztlustěnin. Akumulace nových elementů vedoucí k tvorbě ztlustěnin je iniciována v průběhu diferenciaci buňky zvýšenou akumulací mikrotubulí u plazmalemy. Vidíme tedy že kortikální mikrotubulí determinují jak místo, kde dojde ke ztlouštění stěny, tak i určují orientaci celulóznic vláken ve ztlouštění.

Průduchy

V průběhu diferenciaci páru svěracích buněk dochází k tlouštění centrální části stěny mezi buňkami. Místo tlouštění stěny je opět určeno místem akumulace kortikálních mikrotubulí. Orientace mikrotubulí určuje orientaci celulóznic vláken ve ztlouštění.

Sekvence dělení buněk vedoucích k diferenciaci průduchů je dobrým příkladem toho, jak se malá skupina epidermálních buněk konvertuje do průduchového komplexu řízeným směrem. Nejdříve se epidermální mateřská buňka dělí asymetricky v rovině transverzální k podélné ose listu. Tak se vytvoří velká a malá dceřinná buňka. Z malé buňky se tvoří mateřská svěrací buňka, jež je základem pro dvě svěrací buňky.

Epidermální buňky obklopující mateřskou svěrací buňku se dělí asymetricky a formují doprovodné buňky buněk svěracích. Mateřská buňka svěrací se dělí symetricky a vytváří se dvě svěrací buňky průduchu. U všech těchto dělení mikrotubulí vytvářejí preprofázový proužek, který determinuje přesně místo fúze nově tvořené destičky buněčné stěny se stěnami mateřských buněk.

FOTOMORFOGENEZE

Světlo je velice významným faktorem prostředí rostlin, které má tři významné účinky na život rostlin:

- **účinek fotoenergetický** – zářivá energie kvant je energetickým zdrojem pro fotosyntézy
- **účinek fotodestrukční** - fotovybělování pigmentů za situací, kdy nadměrná sluneční energie či v kombinaci s ostatními faktory prostředí (teplota, sucho apod.) způsobuje přímé poškození či vratnou blokadu fotosyntetického procesu
- **účinek fotokybernetický** – světlo podmiňuje některé procesy související s životním cyklem rostlin. Např. změny fází tj. fáze vegetační a fáze regenerační, tedy vše, co souvisí s fotomorfogenezí

Fotomorfogeneze – je soubor reakcí, jimiž rostlina podle světelných podmínek prostředí utváří svou *vnější podobu i vnitřní strukturu, reguluje svůj metabolismus, ontogenezi a pohyby*.

Obecně mají fotomorfogenetické procesy 3 fáze:

1. **fotorecepce** – záchyt a příjem světelného signálu, pohlcení fotonu recepční molekulou – *fotosenzorem*
2. **transdukce signálu** – přenos signálu. Neznámý biofyzikálně biochemický proces, při kterém dochází k *amplikaci* signálu
3. **intercepce** – vlastní reakce organismu na přijatý světelný signál. V organismu proběhnou takové změny metabolismu a struktury, které vedou k novým stavům.

Morfogenní účinky světla závisí na:

A/ světelných podmínkách (kvantita a kvalita světla)

B/ citlivosti rostliny (/genotyp rostliny a fyziologický stav rostliny)

C/ způsoblosti rostliny reagovat na signál

Termín **fotomorfogeneze** zahrnuje procesy a jevy velice různorodé, soustředěné do dvou základních skupin:

- **reakce pohybové**: *foto-tropismy, - nastie, - taxe*
- **reakce fotoperiodické**: reakce na střídání a délku působení poměry den/tma s jasným vývojovým charakterem účinku

Základním **senzorem morfogenetických** reakcí je **fytochrom**, který je citlivý na červenou oblast záření.

Chemicky je fytochrom *chromoprotein*, tedy obsahuje komplex chromoforu a proteinu. Vazba těchto složek je kovaletní.

S ohledem na proteinovou část se vyskytují dva základní typy fytochromu: typ I a typ II.

Typ I – je zastoupený fytochromem A, který se vyskytuje v etiolovaných rostlinách a v rostlinách zelených, které byly delší dobu ve tmě.

Typ II – je zastoupený v zelených rostlinách na světle

Vlastní **chromofor** fytochromu je tvořen pyrolovými jádry, která jsou lineárně spojena se třemi methionovými skupinami. Tvoří tak „otevřený kruh“

Fototransformace fytochromu

Absorpcí fotonu z červené oblasti spektra (maximum absorpce kolem 660nm) přejde stabilnější forma fytochromu zvaná jako **P_R** ve formu **P_{FR}** v procesu *fototransformace*. Jedná se o velice rychlý proces (interval 1 ps).

P_{FR} forma fytochromu je považována za fyziologicky aktivní, neboť její vznik vyvolá fyziologickou reakci na světlo. Je to nestálá forma fytochromu. Absorpční maximum této formy je při 730 nm, tedy v infračervené oblasti spektra.

Fototransformace je spojena se změnou konfigurace chromoforu, následně i proteinové složky fytochromu.

Proces fototransformace probíhá i opačně, tedy od **P_{FR}** k **P_R**.

Všechny tyto změny vedou k tomu, že dojde například ke změně v propustnosti plasmalemy a tak se výrazně třeba změní poměr C/A a nastává reakce vedoucí k nastolení impulzů pro kvetení. Nebo napřímení stonku apod.

Obecně lze říci, že fytochrom je lokalizován ve všech částech rostliny.

Sylabus přednášky předmětu
„FYZIOLOGIE ROSTLIN“
pro obor biofyzika LS 2002

Přednášející: Prof.. RNDr. Ing. Michal V. Marek, DrSc.

Kontaktní adresa: Laboratoř ekologické fyziologie lesních dřevin

Ústav ekologie krajiny Akademie věd ČR

Poříčí 3b

603 00 Brno

Tel: 05 - 43211560 nebo 0602 545221, **E-mail:** emarek@brno.cas. cz

Doporučená literatura:

Marek M.V.: Fyziologie rostlin pro biofyziky, CD forma skript

Procházka a kol. Fyziologie rostlin, Academia Praha 1998

Šebánek, J. a kol.: Fyziologie rostlin, SZN Praha 1983

Larcher, W.: Ekologická fyziologie rostlin Academia Praha 1989

Kindl. H., Wöber, B.: Biochemie rostlin Academia Praha 1981

Úvodní seznámení a představení – 4.2.2002

I. Přehled základních pojmů

18.2.

- úvodní přehled o disciplině
- rostlinná a buněčná stavba

4.3.

- rostlinná a buněčná stavba
- enzymy a exprese genů

II. Transport a translokace vody a rozpuštěných látek

11.3.

- voda a rostlinná buňka
- vodní provoz
- floemová translokace

18.3.

- transport rozpuštěných látek
- transport minerálních látek

III. Energetický metabolismus

8.4

- fotosyntéza-světelné reakce
- fotosyntéza-metabolismus uhlíku

15.4.

- fotosyntéza- fyziologické a ekologické aspekty
- respirace a metabolismus tuků
- asimilace minerálních živin

IV. Speciální přednáška

22.4.

- globální klimatické změny a jejich účinky na rostliny
- účinky UV-B radiace na produkci rostlin

V. Růst a vývoj

29.4.

- povrchová ochrana a sekundární ochranné složky
- stresová fyziologie
- buněčné základy růstu a morfogeneze

6.5.

- auxiny-růst a tropismus
- giberliny, cytokininy, ethylen a kyselina abscisová
- fytochrom a fotomorfogeneze
- kontrola kvetení

VI. Dvoudenní cvičení v terénu na EEP Bílý Kříž

15. -16.5.2002

Syllabus of lectures „PLANT ECOPHYSIOLOGY“

I. Definition of the plant ecophysiology

II. Environmental parameters

- Solar radiation
- Temperature, humidity
- Soil fertility
- Air pollution

III. Ecophysiology of photosynthesis

- photosynthesis and solar radiation
- photosynthesis and carbon dioxide
- photosynthesis and sink/source ratio
- respiration of leaves, twigs, stem and roots
- spatial distribution of foliage
- biomass allocation

IV. Transpiration

- environmental constraints of transpiration
- stomatal control of transpiration
- transpiration coupling to the atmosphere

V. Mineral nutrition

- site limitations
- nitrogen, phosphorus limitations

VI. Air pollution impacts

- possible effects of air pollutants
- combination of pollutants actions and plant environment

Syllabus of lectures „PLANT PHYSIOLOGY“

I. Cellular Basis

- cytology
- plant anatomy

II. Transport and translocation of water and diluted elements

- water and plant cell
- water relation transpiration
- phloem translocation
- transport of diluted elements
- transport of mineral nutrients

III. Energetic metabolism

- photosynthesis -primary reactions
- photosynthesis- secondary reactions
- photosynthesis - physiological and ecological aspects
- respiration
- assimilation of mineral nutrients

IV. Growth and development

- surface protections and secondary protective processes
- stress physiology
- cellular basis of the growth and morfogenesis
- auxins -growth and tropism
- giberlins, cytokinins, ethylen a abscis acid
- phytochrom and photomorphogenesis
- flowering control

