

EKOFYZIOLOGIE LESNÍCH DŘEVIN

Část IV.

Michal V. Marek



Ústav systémové biologie
a ekologie

AKADEMIE VĚD
ČESKÉ REPUBLIKY

• *minerální látky* neustále kolují mezi rostlinami a jejich prostředím

• *příjem a asimilace* jsou základním krokem pro jejich *zabudování* do biosféry

• *biogenní prvky* v rostlinách se účastní tvorby struktur org. látek, vážou se s org.látkami, určují jejich funkce a modifikují jejich prostorové uspořádání



Transport látek v rostlině

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.

V zásadě rozeznáváme dva typy transportu:

pasivní

aktivní transport.

Potenciál elektrochemický - chemický
potenciál u něhož je zanedbána tlaková
složka: $\mu_j = \mu_j^* + RT \ln c_j + z_j F E$,
Rozdíl elektrického difusního potenciálu
mezi dvěma membránou oddělenými
kompartmenty je:

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

tento potenciál se nazývá: Nernstův potenciál.

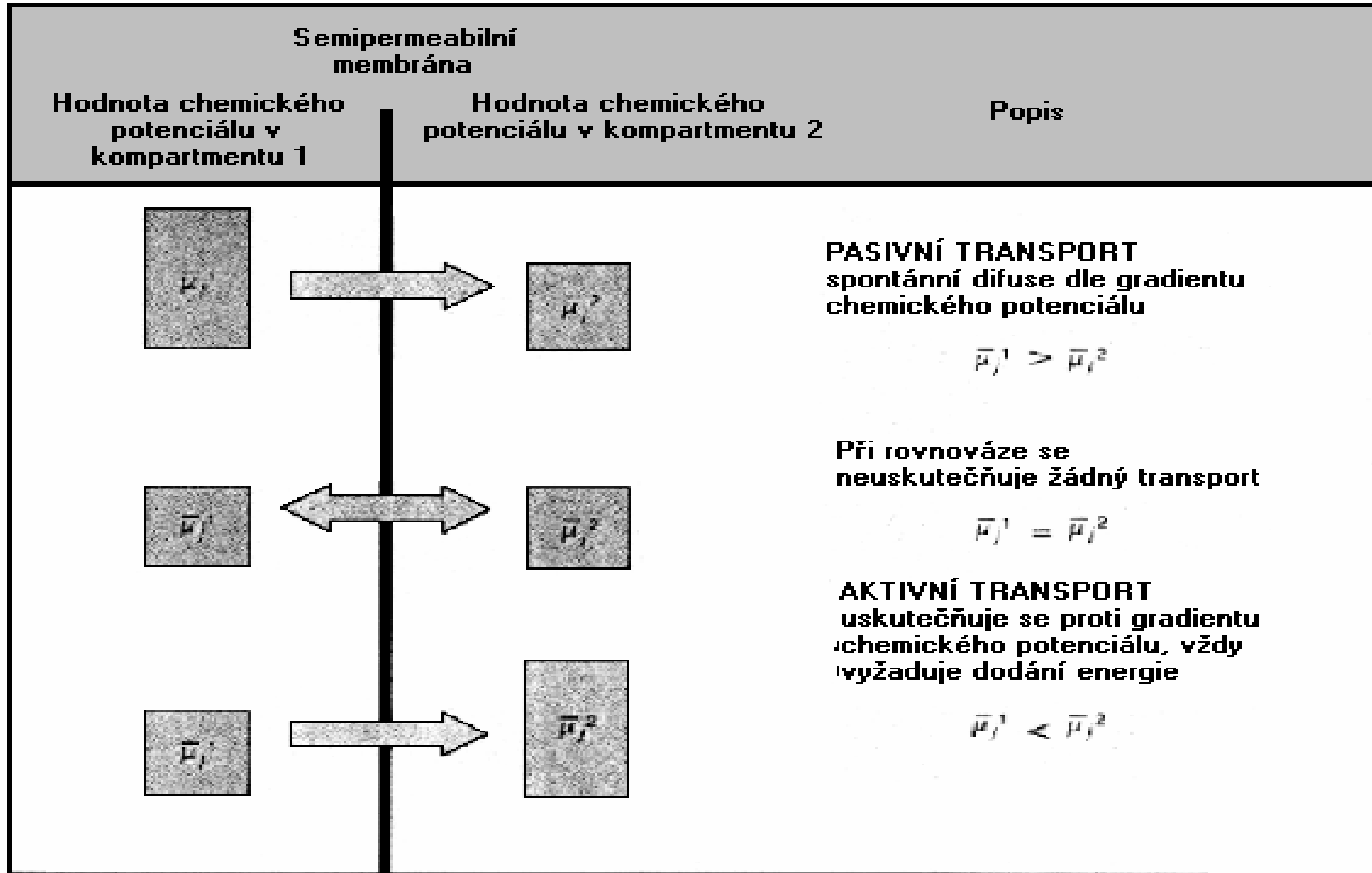
R je univerzální plynová konstanta,
T absolutní teplota, z velikost náboje,
F Faradayova konstanta,
 c_j koncentrace iontů uvnitř (i) a vně (o)
kompartmentu.

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

Hodnota Nernstova potenciálu se využívá v rozhodování o tom, o jaký typ transportu se jedná

Transportní specifita je výsledkem aktivity transportních membránových proteinů, které jsou *specifické* vzhledem k přenášené látce

Hodnota chemického potenciálu a typ transportu



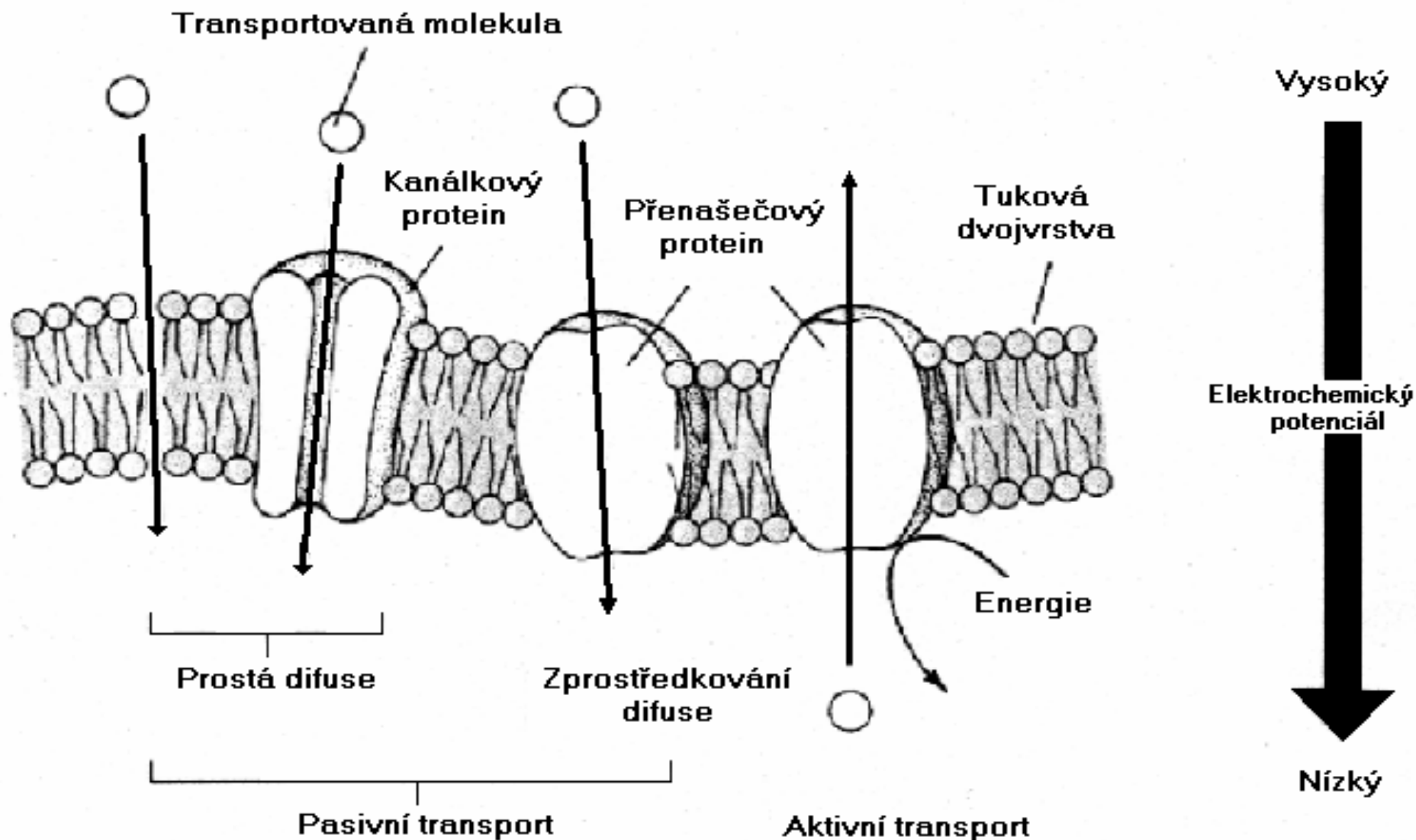
Kdykoliv se nějaký iont pohybuje dovnitř či ven z buňky a tento pohyb není vyrovnáván pohybem opačného náboje, vzniká přes membránu napětí.

Takový typ transportu nazývám elektrogenický transport.

Tento transport se uskutečňuje proti elektrochemickému gradientu a proto vyžaduje dodání energie, která je poskytována především hydrolysou ATP.

Elektrogenický transport je transport aktivní a jeho přenašeče se nazývají elektrogenní pumpy.

Typy transportních mechanismů na membráně buňky



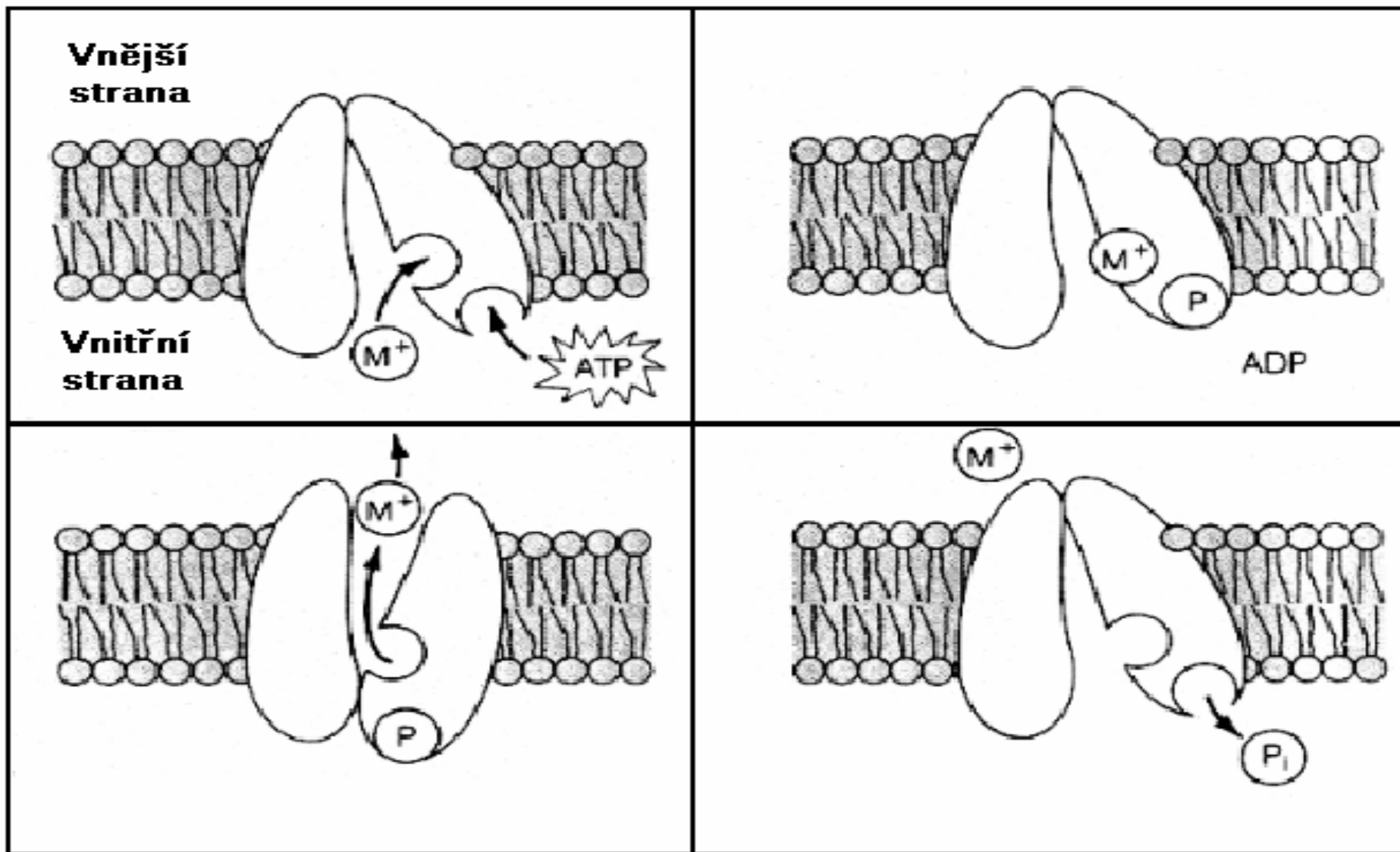
Vazba a uvolnění přenášené látky z transportního proteinu sleduje stejnou kinetiku jako relace typu „enzym-substrát“ a dovoluje tedy použít nám již známých parametrů, jako je saturační rychlost a Michaleis - Menten konstanta.

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 hydrolysou ATP.

Elektrogenický transport je transport aktivní a jeho přenašeče se nazývají **elektrogenní pumpy**.

Transport kationů oproti gradientu chemického potenciálu za působnosti elektrogenní pumpy



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 membránového 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 dvě složky: difúzní a elektrogenní.

Jestliže kyanid inhibuje elektrogenní transport, dochází k akumulaci H^+ iontů uvnitř buněk a vnitrobuněčné prostředí se stává kyselé.

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 ženočí 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 zřejmě ta, 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**.

Rozeznáváme dva typy kotransportu:

- **symport**
- **antiport.**

Při antiportu jsou přenášeny přes membránu rovněž dvě molekuly, ale na opačné strany.

Symportem jsou do buňky dopravovány cukry a aminové kyseliny.

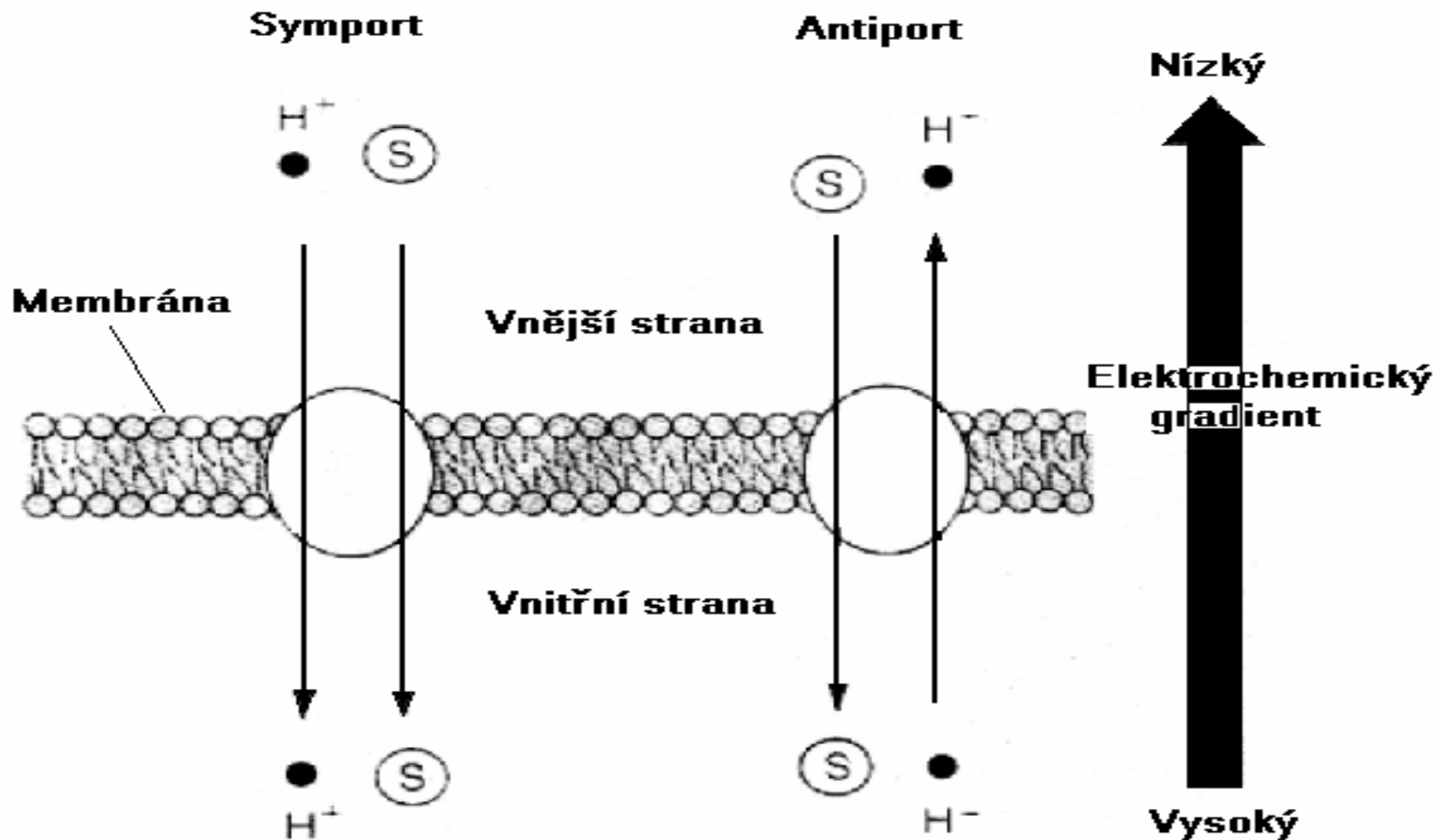
V poslední době byly podány důkazy o tom, že iontový gradient přes buněčnou membránu u vyšších rostlin je generován a udržován jen elektrogenním gradientem H^+ . Tento H^+ gradient je výsledkem působení membránové H^+ /ATPázy.

Na^+ je transportován z buňky pouze antiportem Na^+/H^+ .

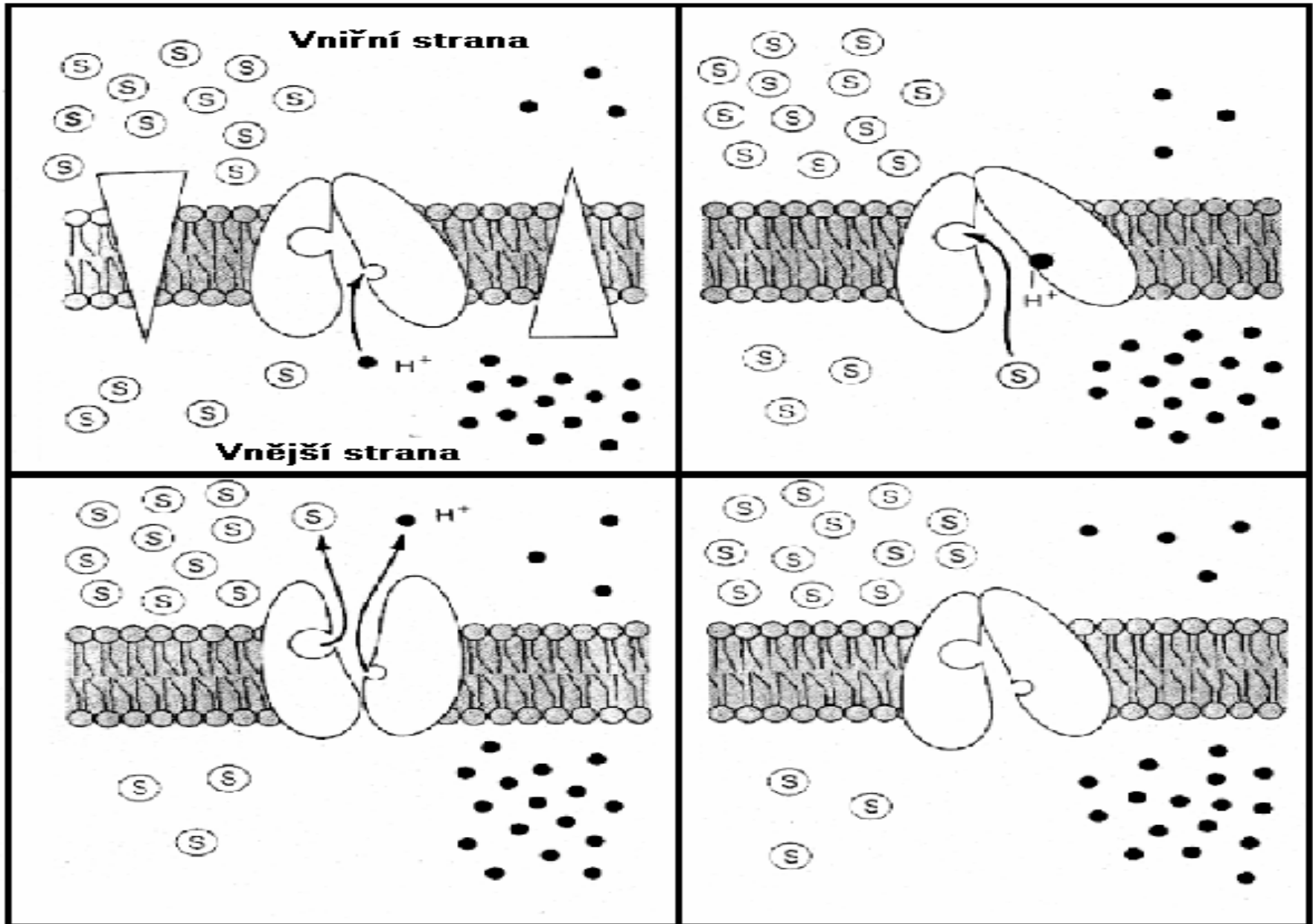
Cl^- a sacharóza vstupují do buňky přes specifické protonové symportéry.

Není zcela jasné zda NO_3^- ionty jsou přenášeny kotransportem či specifickými transportéry. Totéž platí pro fosforečnaté ionty. U K^+ se vzhledem k hodnotě ΔE_{Nj} jedná o pasivní transport.

Schéma kotransportních procesů na membráně

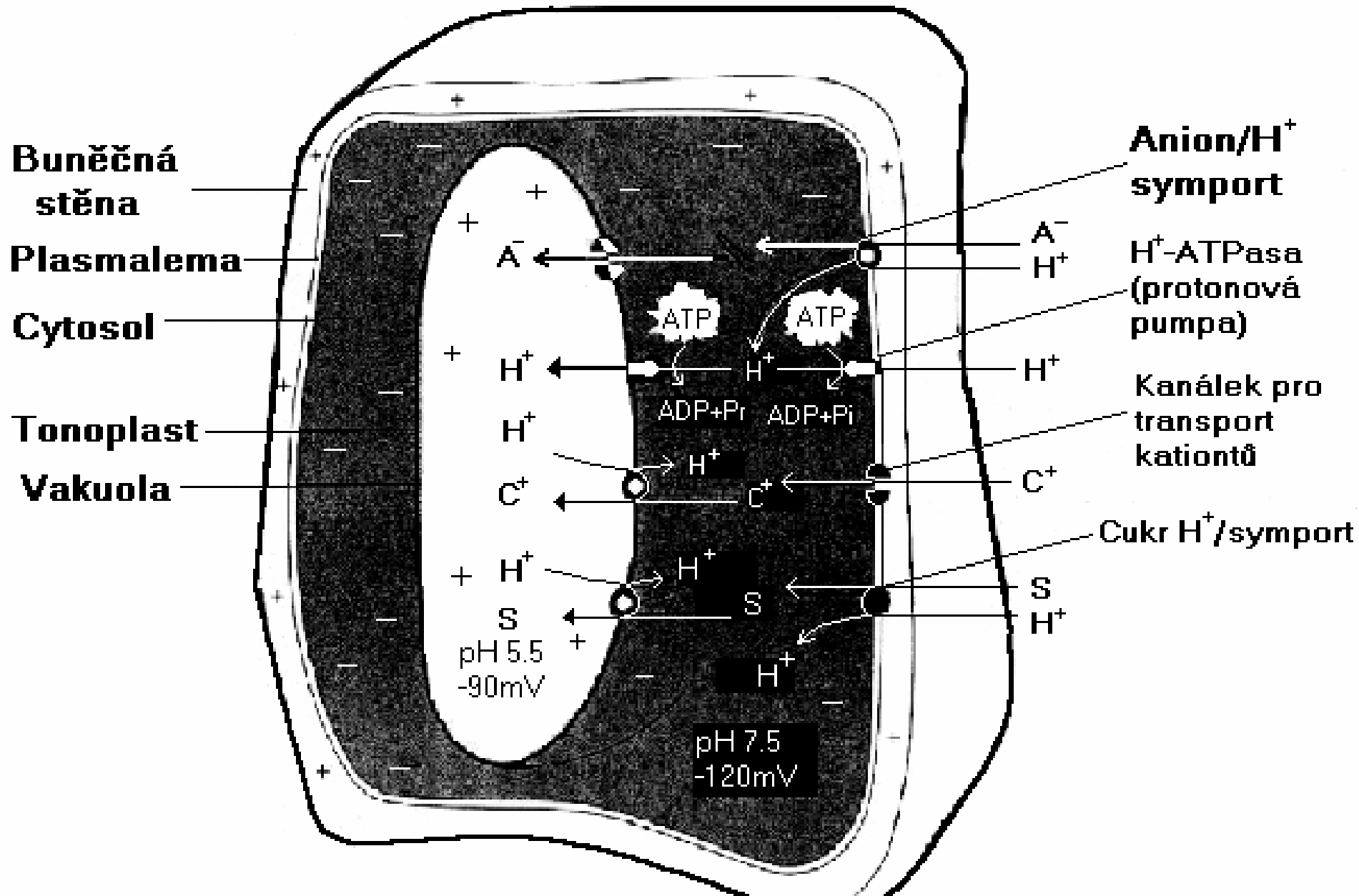


Model kotransportu za přispění elektrogenní pumpy



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

Transportní reakce na plasmalemě a tonoplastu



FLOEMOVÁ TRANSLOKACE

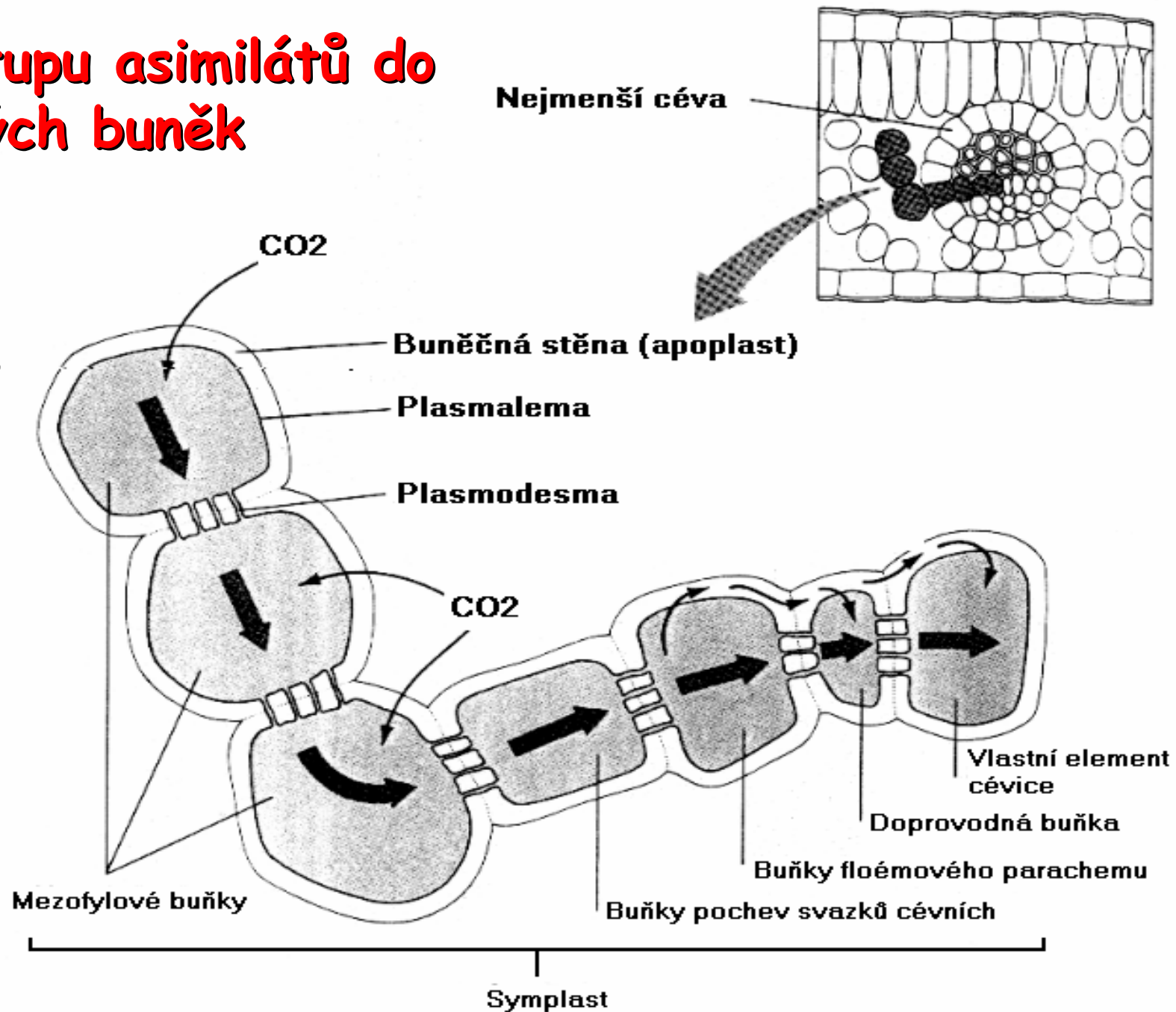
Vodivými elementy floemu jsou sítkovice a články sítkovic. Nejvýraznějším znakem sítkovic a elementů sítkovic je existence perforovaných destiček a oblastí. Každá sítkovice je sítí plazmodesmat spojena se svojí doprovodnou buňkou. Tyto buňky poskytují sítkovicím některé produkty svého metabolismu. Mají 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 ontogenze,
- c/ zdrojové listy zásobují sinky, s kterými mají přímé vaskulární spojení.

Fáze vstupu asimilátů do floémových buněk



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 floému je způsoben tlakovým tokem.**

• **Tento tok je důsledkem tlakového gradientu mezi zdrojem a sinkem.**

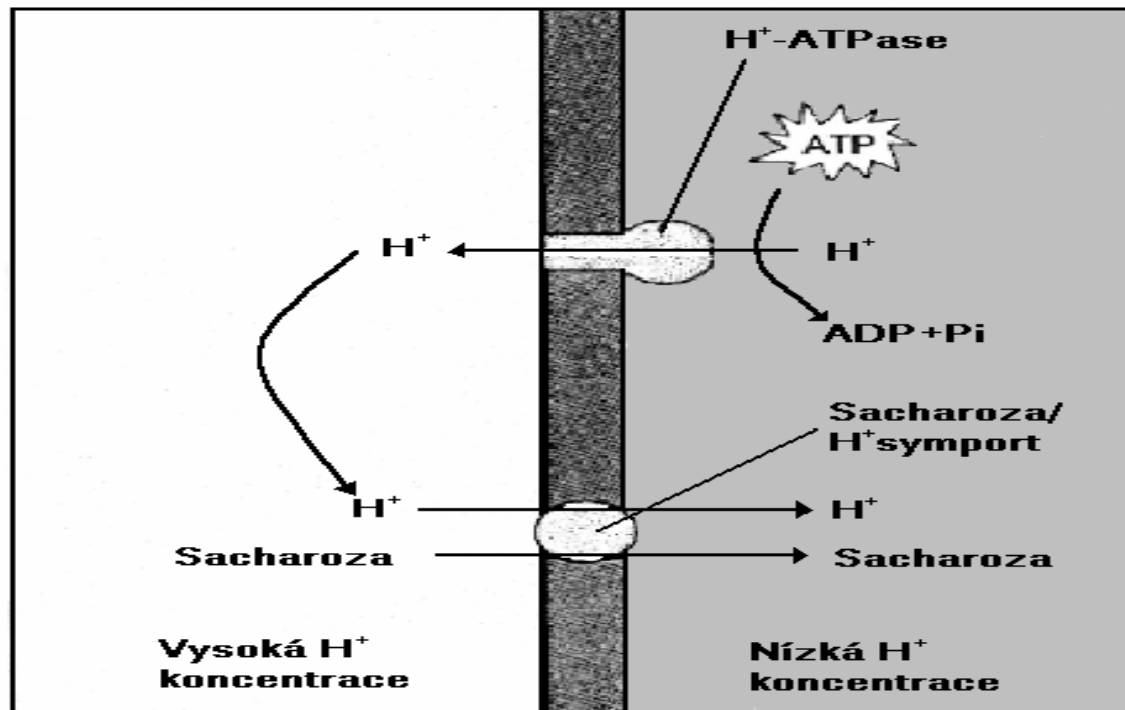
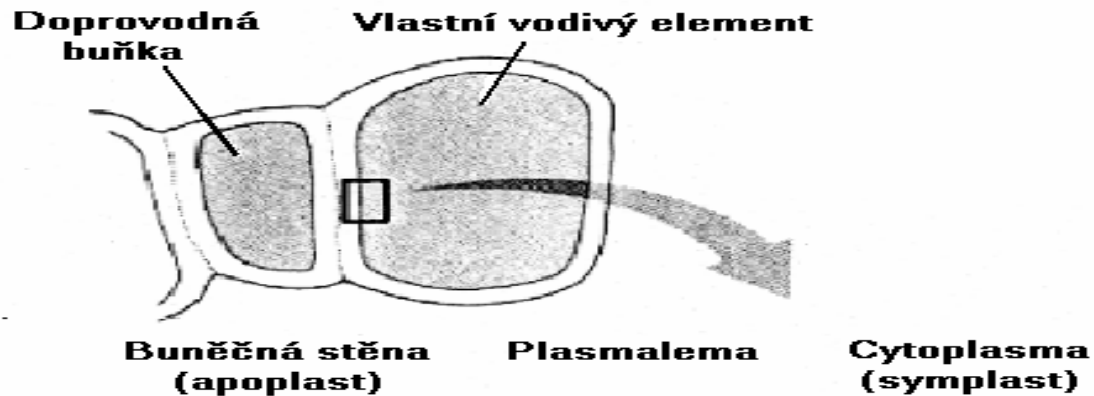
Tento vstup však vyžaduje energii. Ve zdrojových listech je totiž koncentrace cukrů v sítkovicích a doprovodných buňkách mnohem větší než v buňkách mezofylu. Skutečnost, že neutrální roztok sacharózy v komplexu „sítkovice a její doprovodné buňky“ má vyšší koncentraci než okolní mezofylové buňky dokládá 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.

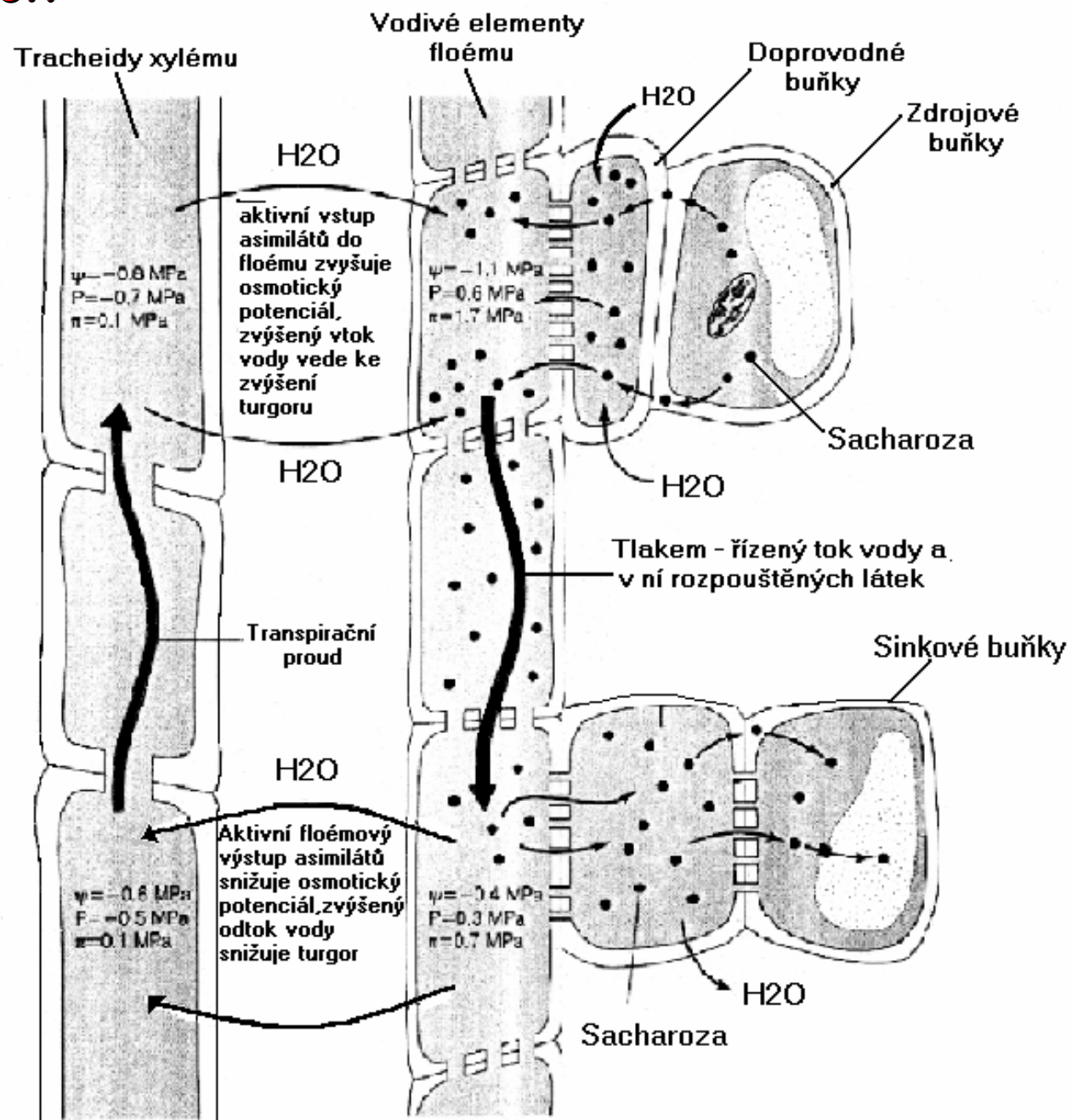
Vlastní vstup sacharózy z apoplastu do sítkovic je regulován osmotickým, ale ještě více turgorovým tlakem. Vstup asimilátů do floému je silně specifický a selektivní a ne všechny substance, které jsou floémem transportovány, do něho aktivně vstupovaly. Např. organické kyseliny a rostlinné hormony jsou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

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

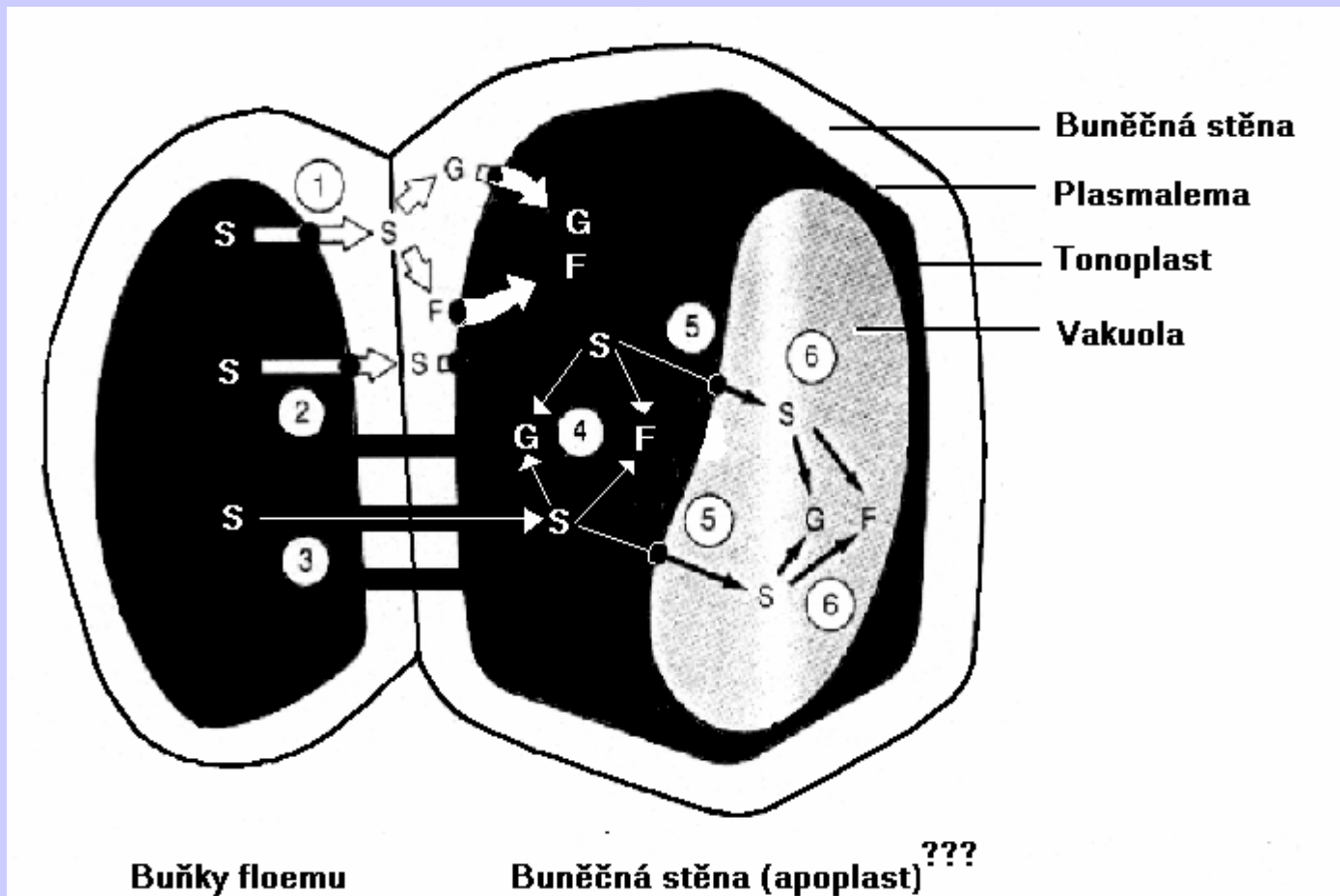
Kotransportní model vstupu asimilátů do komplexu „článek sítkovice-doprovodná buňka“



Tlakový floemový tok



Výstup asimilátů do cílové „sinkové“ buňky



Sacharoza (S) vstupuje aktivně (1), pasivně (2) či plasmadematy (3) přes plasmalemu. Sacharoza vstupující do apoplastu a_w může měnit na fruktozu (G). Totéž se může dít v cytoplasmě příjmové buňky (4). Sacharoza může také přímo vstupovat do vakuoly (5). Ve vakuole může pak docházet ke štěpení S na F či G (6).

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.

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. 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.

<u>makroelementy</u>	[prům. obsah v rostlinách [%]]
H	6
C	45
O	45
N	1,5
K	1,0
Ca	0,5
Mg	0,2
P	0,2
S	0,1
<u>mikroelementy</u>	
Cl	0.1
B	0.02
Fe	0.1
Mn	0.05
Zn	0.02
Cu	0.006
Mo	0.0001

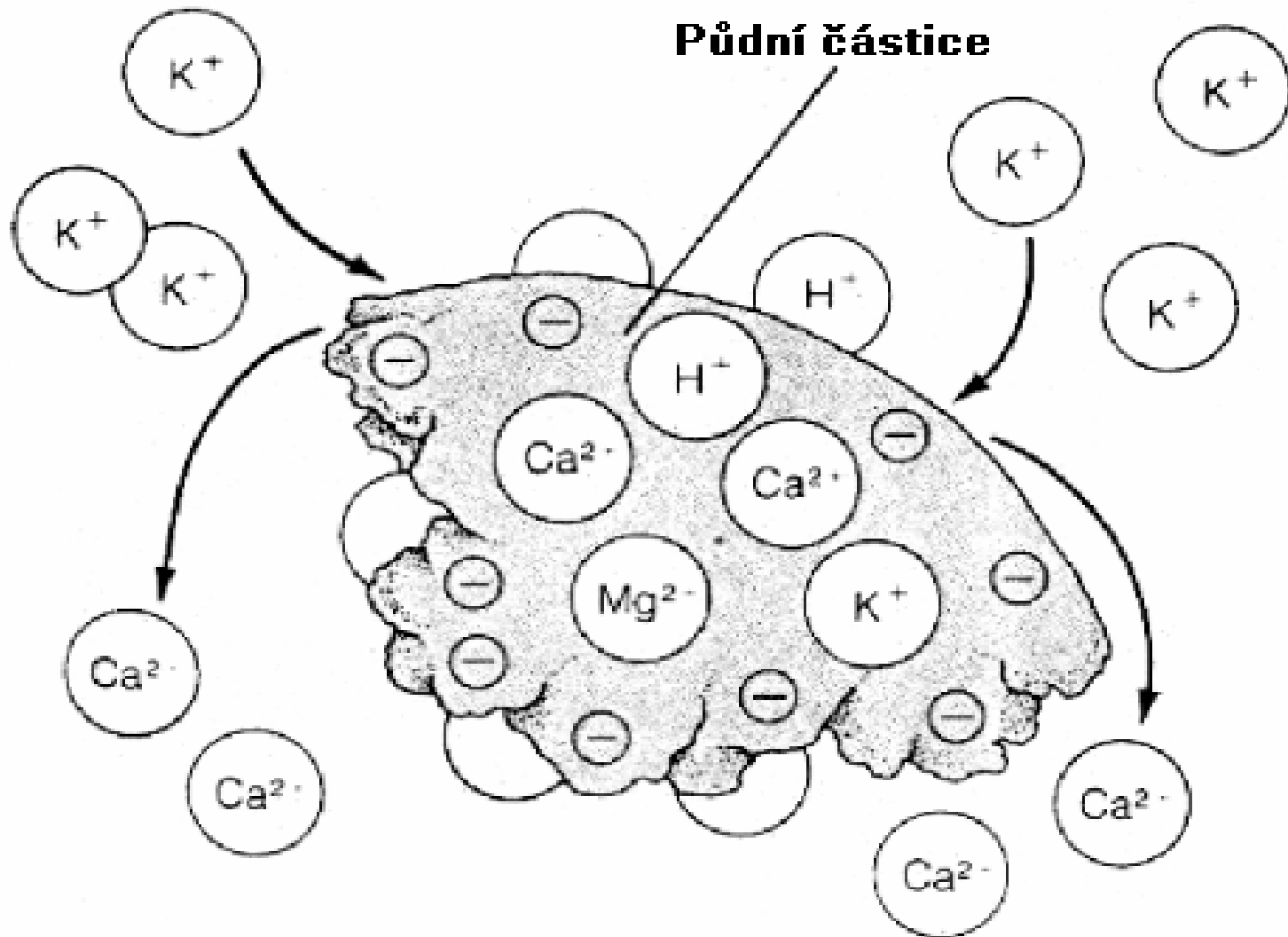
Makroelementy mají zásadní význam jako biologické molekuly či jako molekulové komplexy. N, S a P jsou například součástí aminokyselin, nukleotidů a proteinů obecně. Fe je součástí ferredoxinu, hemů a enzymů vůbec. Mg je součástí chlorofylů. K je důležitý především jako volný kation. Ca je důležitým prvkem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

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.

Princip výměny iontů na povrchu půdních částic



Hodnota pH má vliv na mobilitu iontů.

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 protoplazmy 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/ Absorpcí 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 kolidní složky půdy.

b/ Výměnnou absorpcí 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

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.

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 $351 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$.

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 kovaletní vazbu a tvoří nitrátové ionty, které jsou deštěm splachovány do půdy. Zbylých 90% dusíku, který je k dispozici rostlinám v důsledku přirodních 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 vracejí do půdy a mění se v amonné ionty v **procesech amonifikace**.

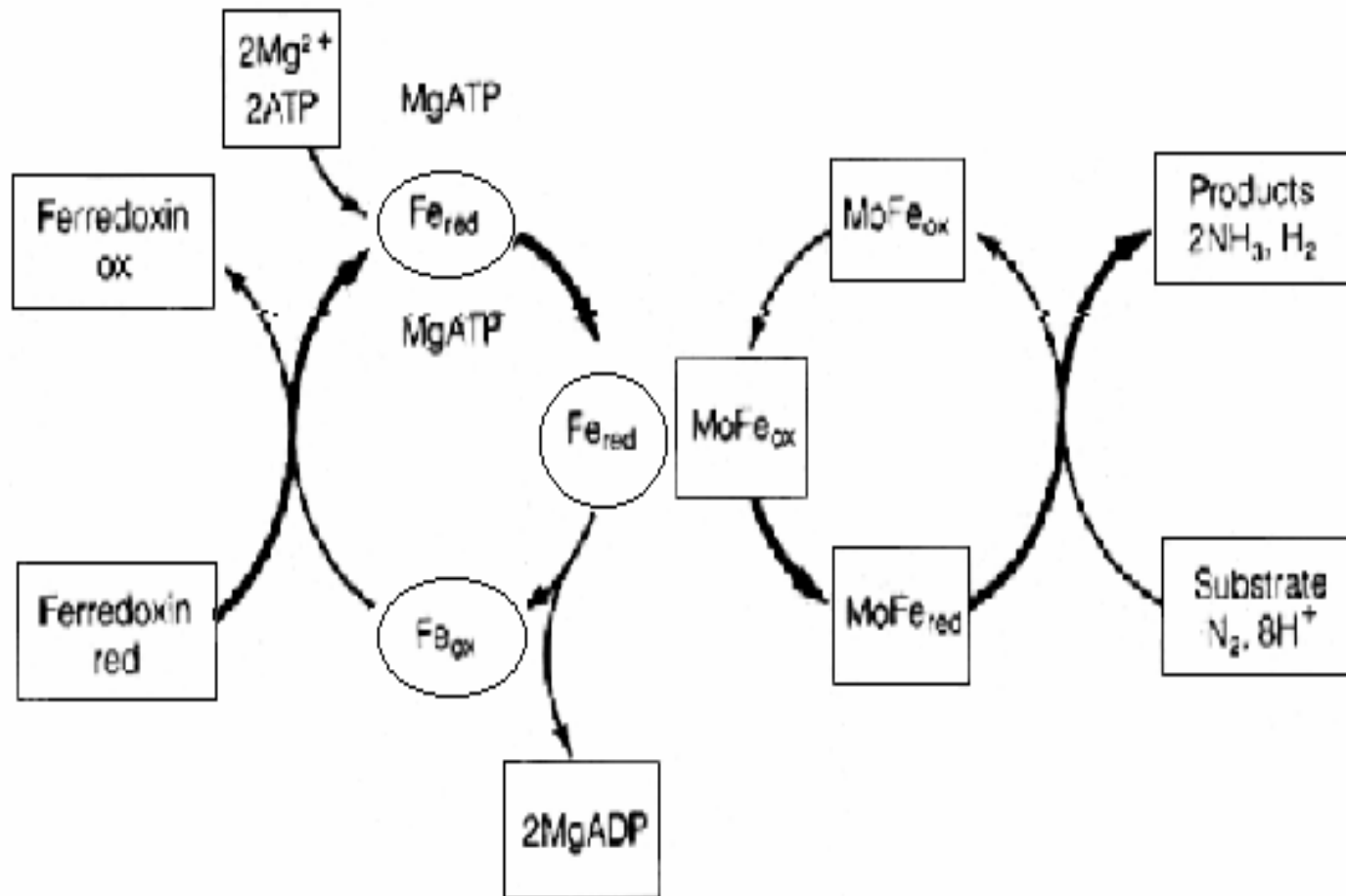
Zde opět pracují půdní bakterie a houby, které transformují aminodusík do volného amoniaku. Takto uvolněný amoniak je v půdě často oxidován na nitrit a později na nitrát v procesu nitrifikace. Za nitrifikaci jsou opět zodpovědné bakterie Nitroso a Nitro skupiny. Dusík v nitrátové formě je znova využíván rostlinami, nebo je vrácen do atmosféry prostřednictvím transformace nitrátového dusíku na jeho molekulární formu procesem denitrifikace. To způsobují bakterie, které používají nitrátového iontu jako konečného akceptoru elektronu v respiraci místo kyslíku.

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. Heterocysty mají fotosystém I, nikoli však fotosystém II.

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 existencí kyslík-vázacího hemového proteinu - leghemoglobinu. 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 pouze v rostlinné říši.

Nitrogenasová reakce fixace vzdušného dusíku



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

Celková forma biologické fixace je:



Enzymatický systém, katalyzující tuto reakci se nazývá nitrogenáza.

Nitrogenáza má dvě složky 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 inaktivován kyslíkem, ale čas inhibice je delší, asi 10min.

Kromě dusíku a nitrogenasy je pro fixaci N 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. Ferredoxin 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.

***A to je pro dnešek vše,
moji vážení kolegové....***

