

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta



Fotosyntetický aparát vyšších rostlin pod vlivem
různých stresových faktorů

Bakalářská práce
Biochemie

Radka Špánková

Školitel: RNDr. Alice Šonská, Dr.

Praha 2008

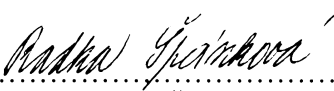
Přírodovědecká fakulta UK
KNIHOVNA CHEMIE



3233218428

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracovala samostatně, pod vedením školitele RNDr. Alice Šonské, a že jsem všechny použité zdroje řádně citovala.

V Praze dne


.....
Radka Špánková

Děkuji svému školiteli RNDr. Alici Šonské, Dr. za odborné a obětavé vedení mé bakalářské práce.

Dále děkuji RNDr. Tomáši Kučerovi, Ph.D. za odborné připomínky a rady, které mi po celou dobu vypracování bakalářské práce poskytoval.

Obsah

Seznam zkratk.....	5
1. Úvod.....	6
2. Obecný přístup ke studiu stresu rostlin.....	7
3. Cíl práce.....	9
4. Abiotické stresové faktory.....	10
4.1 Poškození rostlin zářením.....	10
4.1.1 Vznik a odstraňování aktivních forem kyslík.....	11
4.1.2 Mechanismus vzniku fotoinhibice.....	13
4.1.3 Fluorescence, detekce stresu pomocí fluorescence.....	16
4.2 Poškození rostlin pod vlivem teplotních změn.....	18
4.2.1 Cyklický tok elektronů.....	19
4.2.2 Stimulace cyklického toku elektronů teplotním stresem.....	21
4.2.3 Vliv vysokých teplot.....	22
4.2.4 Poškození rostlin chladem.....	23
4.3 Vliv nedostatku vody na funkce rostlin.....	24
4.4 Toxické látky v prostředí.....	25
4.4.1 Ozon.....	25
4.4.2 Oxid siřičitý.....	26
4.4.3 Toxické, těžké kovy.....	26
4.5 Vliv kombinace tří stresů na fotosyntézu u pšenice.....	32
5. Závěr.....	34
6. Seznam literatury.....	35

Seznam zkratk

SOD	superoxiddismutasa
AP	askorbátperoxidasa
PSI	fotosystém I
PSII	fotosystém II
RuBisCO	ribulosabisfosfátkarboxylasa
CET	cyklický elektronový transport
F_v/F_m	poměr variabilní a maximální fluorescence
Φ_{PSII}	kvantový výtěžek
P_N	čistá rychlost fotosyntézy
g_s	propustnost průduchů
C_i	vnitřní koncentrace oxidu uhličitého

1. Úvod

Termín stres je obvykle (i když nejednotně) používán pro souhrnné označení stavu, ve kterém se rostlina nachází pod vlivem různých stresových faktorů. Přitom nejde nikdy o nějaký ustálený a snadno definovaný stav, ale spíše o dynamický komplex mnoha reakcí.

Problematika stresu u rostlin je složitější a komplikovanější než ve fyziologii živočichů. Je to dáno nejen jejich přisedlým způsobem života, který neumožňuje únik před působením stresových faktorů, ale také tím, že u rostlin se setkáváme s mnohem větší mezidruhovou variabilitou i heterogenitou vnitřního prostředí. Ta se projevuje značným kolísáním fyzikálně-chemických parametrů rostlinných buněk i v průběhu běžného fungování. Potíže s určením normálního stavu se pak nutně přenášejí i do stanovení počátku „neběžných“, tedy stresových reakcí.

2. Obecný přístup ke studiu stresu u rostlin

Stresové faktory, které jsou buď abiotické či biotické, mohou pronikat do vnitřního prostředí rostlin různých druhů nesterjně snadno, především v důsledku různě vyvinutých ochranných struktur. Takovýto způsob ochrany má hlavně pasivní a dlouhodobý charakter. Např. tlustá kutikula na listech rostlin, výrazná impregnace buněčných stěn, rezervoáry vody a snadno rozložitelných organických látek, které tlumí jejich nedostatek. Vlastně je to snaha rostlin, aby se vyhnuly stresu (*stress avoidance*, Levitt 1980), ke které přispívají také vhodně načasované životní cykly. Faktory, které způsobují stresové reakce v rostlinách, byly podnětem pro zkoumání vztahů mezi rostlinou a vnějším prostředím.

Z fyziologického hlediska jsou zajímavější mechanismy aktivní odolnosti (*stress tolerance*), které zabraňují negativnímu dopadu stresorů na rostlinu. Tyto stresory proniknou k plazmatické membráně buněk a do symplastu, aniž by cestou poškodily či jinak narušily rostlinu. Teprve až v symplastu dochází k nastartování změn, které bývají označovány jako stresová reakce. [1]

Hned na začátku působení stresového faktoru dochází k narušení buněčných struktur a funkcí – poplachová fáze. Jestliže intenzita působení faktoru nepřekročí letální úroveň, dochází poté k mobilizaci kompenzačních mechanismů, které vedou ke zvýšení odolnosti rostliny vůči působícím faktorům – fáze rezistence. Při dlouhodobém a intenzivním působení stresového faktoru odolnost rostliny klesá – fáze vyčerpání. [2]

Průběh stresové reakce a její konečný výsledek závisí jak na intenzitě a délce působení stresového faktoru na danou rostlinu, tak i na genetických předpokladech odpovědi, označovaných jako adaptační schopnosti.

Studium stresu u rostlin je komplikováno tím, že často působí současně více stresových faktorů (např. silné záření, vysoká teplota, nedostatek vody nebo těžké kovy). Interakce mezi nimi mohou podstatně měnit charakter stresové reakce v porovnání s působením každého faktoru zvlášť.

Působení stresorů může být také omezeno jen na určitou část rostliny, jako je kořen nebo list. V tomto místě dochází k lokální stresové reakci, která může druhotně způsobovat stres i v ostatních orgánech. [1]

Stresové a aklimační reakce neprobíhají nahodile. Jsou závislé na aktivaci určitých genů, které mohou být za určitých okolností spuštěny, a to někdy i několika odlišnými mechanismy. Metabolické změny v buňkách za působení odlišných stresorů mají řadu společných znaků, ale nejedná se o jednu obecnou stresovou reakci. Jde spíše o dílčí komplexy společných reakcí, které vedou ke zvýšení odolnosti vůči několika stresorům současně.

3. Cíl práce

Cílem bakalářské práce bylo podat přehled různých stresových faktorů působících na vyšší rostliny. Některé z těchto poznatků mohou být použity ve studiích a praktických úlohách, které se zabývají strukturou a funkcí vyšších rostlin.

Zaměřila jsem se na problematiku stresu u rostlin pod vlivem:

- Záření. Ultrafialové záření a viditelné záření – vznik fotoinhibice a fluorescence chlorofylu.
- Stresových teplotních podmínek – změny ve struktuře thylakoidů, stimulace fotosyntetického toku elektronů teplotním stresem.
- Nedostatku vody.
- Toxických kovů, škodlivých plynů a xenobiotik – redukce růstu a produktivity rostlin.

4. Abiotické stresové faktory

4.1 Poškození rostlin zářením

Ultrafialové (UV) záření v oblasti vlnových délek 200 až 400 nm představuje jen kolem 7 % z celkového slunečního záření, které dopadá na planetu. Ultrafialové záření kratších vlnových délek, UV-C (200 až 280 nm) a částečně i UV-B (280–320 nm) je pohlceno v atmosféře Země. Nejméně je atmosférou absorbována oblast UV-A (320 až 400 nm), která ale má na rostliny méně škodlivý účinek než pronikající zbytek záření UV-B.

UV záření s kratší vlnovou délkou (B,C) je silně absorbováno aromatickými aminokyselinami a nukleotidy, tudíž také makromolekulami proteinů a nukleových kyselin. Po absorpci UV záření dochází u excitovaných molekul k fotochemickým reakcím, které způsobují poškození jejich normální funkce.

UV záření je odpovědné za poškození asimilačního aparátu, a tím může dojít k snížení rychlosti fotosyntézy. Nejcitlivější jsou proteiny D1 a D2 ve fotosystému II a proteiny kyslík vyvíjejícího komplexu. [3] Může dojít i k poškození asimilačních pigmentů a redoxních systémů, zejména plastochinonu.

Rostliny se snaží adaptovat na škodlivé účinky tohoto záření. Adaptace spočívá především v zamezení vstupu záření do vnitřních částí exponovaných orgánů, do asimilačního parenchymu listů. Ochrana je zajištěna kutikulárními vosky na vnějším povrchu a flavonoidními pigmenty ve vakuolách epidermálních buněk.

Enzymy fotolyasy slouží k opravě poškozených nukleových kyselin. Štěpí vazby nově vzniklých dimerů thyminu, proces se nazývá fotoreaktivace. Fotolyasy jsou flavoproteiny, které jsou aktivovány krátkovlnným zářením (370–450 nm). Radiační energie, která je zachycena flavinovým chromoforem, je přenesena na redoxní skupinu FADH a využita ke štěpení nežádoucího dimeru. Poškozené proteiny je obvykle nutno odbourat a nahradit novými. Rychlost resyntézy proteinů rozhoduje o době nutné k návratu buněčných funkcí do původního stavu. [5]

Viditelné záření v oblasti vlnových délek 400 až 700 nm je energeticky nejbohatší částí spektra slunečního záření a listy rostlin je účinně absorbováno. Zpracování velkého množství absorbované radiační energie v chloroplastech je pro všechny rostliny dosti nebezpečná operace, protože v relativně uzavřeném prostoru s vysokou koncentrací kyslíku se vytvářejí silná oxidační i redukční činidla, která mohou poškodit velmi jemné struktury thylakoidní membrány. K důležitým změnám struktury a funkce fotosyntetického aparátu působením světla skutečně dochází – souhrnně jsou označovány jako fotoinhibice. Dochází k snížení jak maximální rychlosti fotosyntézy (při saturační ozáření), tak i k snížení hodnot kvantového výtěžku. Snížení bývá obvykle plně vratné, i když až po několika hodinách nebo dnech. [1]

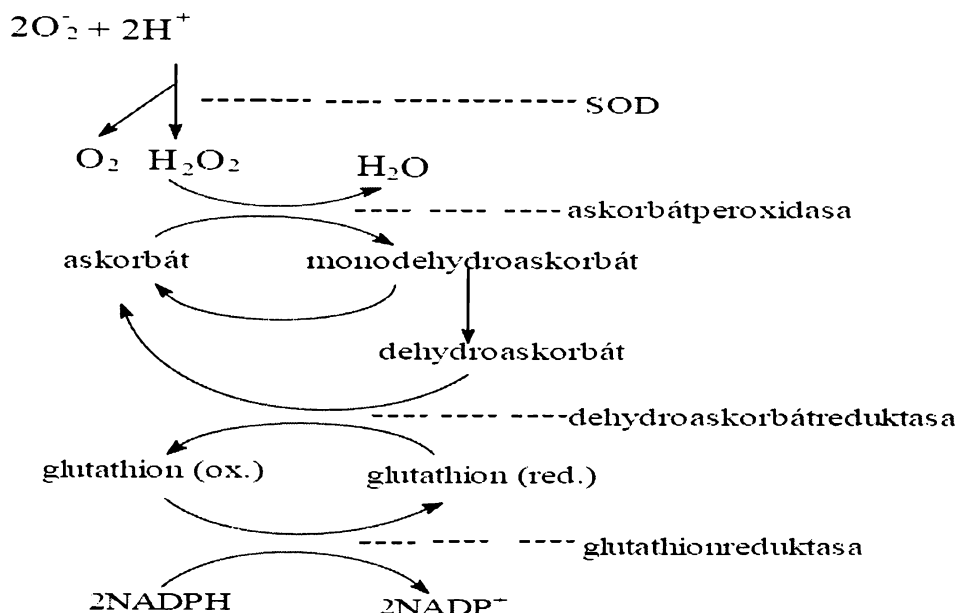
4.1.1 Vznik a odstraňování aktivních forem kyslíku

Stresové reakce rostlin jsou neodmyslitelně spojeny se zvýšením tvorby aktivních forem kyslíku (singletní kyslík, superoxidový radikál, hydroxylový radikál a peroxid vodíku), ale současně i se zvýšením potenciálu pro jejich odstraňování. Tyto aktivní formy vznikají jako nebezpečné produkty při působení řady stresových faktorů, jednak mohou mít kladnou úlohu jako signály či ochranné látky při některých typech stresů, a je tudíž žádoucí jejich koncentraci udržovat na jisté úrovni. [1]

Tvorba aktivních forem kyslíku probíhá u všech rostlin, a to i při růstu v optimálních podmínkách. Největší množství aktivních forem kyslíku se vytváří v chloroplastech, ale i v mitochondriích a v jiných membránových systémech (tonoplast, peroxisomy, glyoxysomy). Ve většině případů jako redukční činidlo slouží NAD(P)H ve spojení s příslušnou NAD(P)H oxidasou.

Negativní působení aktivních forem kyslíku spočívá především v peroxidaci lipidů. Náchylné jsou zejména membránové lipidy s vysokým obsahem nenasycených mastných kyselin. Poškozeny mohou být i některé aminokyseliny, proteiny a nukleové kyseliny. K oxidaci je náchylný zejména histidin, methionin, tryptofan a guanin. [5]

Ochranu před poškozením aktivními formami kyslíku ve všech částech buňky poskytují specializované enzymy a antioxidační substráty.



Obr. 1. Schéma inaktivace superoxidu a peroxidu vodíku s navazujícími regeneračními cykly askorbátu a glutathionu s finální redukcí pomocí NADPH. Tento komplex redoxních reakcí se označuje jako Halliwell-Ashadova cesta.

K hlavním enzymům patří superoxiddismutasa (SOD), která katalyzuje přeměnu superoxidu na peroxid vodíku (obr. 1) V rostlinách se vyskytují Cu/Zn SOD, Mn SOD a Fe SOD. Peroxid vodíku je dále rozkládán buď katalasou (v peroxisomech a glyoxisomech) nebo askorbátperoxidasou (AP, v chloroplastech, někdy i v cytosolu). K reakci AP je nutný askorbát a ke vzniku dehydroaskorbátu také redukovaná forma glutathionu, společně s enzymy dehydroaskorbátreduktasou a glutathionreduktasou (obr. 1). Klíčovou úlohu v antioxidační ochraně hraje askorbát a glutathion. Askorbát může reagovat se superoxidem a singletním kyslíkem přímo, bez účasti enzymů, navíc přispívá k regeneraci α -tokoferolu (vitamínu E), významné lipofilní sloučeniny chránící membránové lipidy před peroxidací. [1]

4.1.2. Mechanismus vzniku fotoinhibice

Nejnáchylnější k poškození je fotosystém II, ve kterém dochází k oxidaci vody a k počátku přenosu uvolněného elektronu necyklickou cestou. [3] Jestliže zůstávají po delší dobu v plně redukovaném stavu volné plastochinony a chinony Q_A a Q_B , pak nejsou schopny přijímat elektron, který je předán z chlorofylu P680 na feofytin. Tudíž je odchod elektronů z fotosystému II nedostatečně rychlý (např. v důsledku hromadění nevyužitých produktů primárních procesů fotosyntézy, ATP a NADPH). Rekombinací náboje mezi oxidovaným chlorofylem P680 a redukovaným feofytinem dojde k přechodu molekuly P680 do tripletního stavu. Reakcí s běžným (tripletním) kyslíkem vzniká vysoce reaktivní singletní kyslík. [5] Ten může způsobit poškození součástí elektrontransportního řetězce fotosystému II a poškození vlastního proteinu D1. Tento sled událostí se označuje jako fotoinhibice na akceptorové straně a přítomnost kyslíku je zde nutná. Ale k fotoinhibici může také dojít i bez účasti kyslíku, a to tehdy, když je omezena funkčnost centra štěpení vody a nelze tudíž zajistit dostatečně rychlou redukci molekuly chlorofylu P680. Tato molekula se stává po separaci náboje mimořádně silným oxidačním činidlem schopným poškodit součásti reakčního centra–fotoinhibice na donorové straně. [1]

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

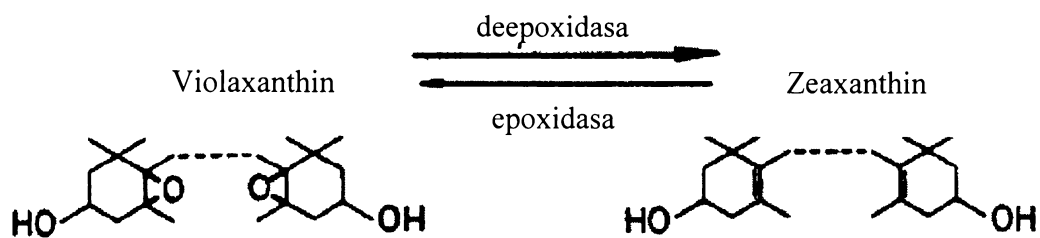
Ochrana fotosyntetického aparátu před poškozením zahrnuje jednak regulační mechanismy, které směřují k předcházení vzniku fotoinhibice, a jednak mechanismy směřující k nápravě škod, tedy zejména k rychlé obměně poškozených proteinů a k rychlému odstraňování reaktivních forem kyslíku. [5]

a) snížení účinnosti funkce světlosběrných komplexů (antén)

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

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

Obě tyto reakce reverzibilně a rychle reagují na aktuální energetickou potřebu fotochemických procesů pomocí citlivosti na změny pH v lumen thylakoidu. Při nasycení fotochemických procesů zářením dochází k velkému nahromadění vodíkových iontů v lumen (není dostatek ADP pro tvorbu ATP) a nízké pH aktivuje enzymy, které se podílejí na zmíněných změnách. [5]



Obr. 2. Znárodnění funkce xanthofylového cyklu při regulaci přeměn excitační energie ve světloběrných komplexech. Aktivita deepoxidasy je stimulována nízkým pH (za působení silného záření), naopak epoxidasa má optimální funkci při pH 7,5 a je tedy nejvíce aktivní za tmy nebo za velmi slabého záření.

Ochranná funkce xanthofylů při přeměně radiační energie na teplo je mimořádně významná – zvláště účinný je v tomto směru zeaxanthin, který se vytváří deepoxidací z neúčinného violaxanthinu právě jen za nadbytku záření a poklesu pH v lumen (obr. 2). [1]

b) snížení účinnosti vlastních fotochemických procesů

Hromadění produktů primárních procesů fotosyntézy, buď v důsledku jejich rychlé tvorby (vysoká ozáření) nebo jejich malé spotřeby (zpomalení růstu působením stresu) vede ke zpomalení až zastavení fotochemických procesů, a tím i ke zvýšení nebezpečí fotodestrukce. Sníží-li se účinnost energetických přeměn v primárních procesech fotosyntézy, což vede také k snížení rychlosti tvorby ATP a NADPH. Jednou z možností snížení účinnosti primárních procesů je přenos elektronů z plastochinonu na cytochrom b_{559} , který je součástí fotosystému II, a jejich návrat zpět do reakčního centra na chlorofyl P680.

V samém závěru lineárního transportu elektronů může dojít k tomu, že elektrony nepostupují z redukovaného ferredoxinu obvyklou cestou na NADP^+ , nýbrž redukují kyslík (Mehlerova reakce). [4] Vzniklý silně reaktivní superoxid je nutno rychle inaktivovat pomocí enzymu superoxidodismutasy a navazující série reakcí v přítomnosti antioxidačních substrátů, askorbátu a glutationu, kterých je v chloroplastech vždy velké množství.

Ze schématu (obr. 1) je vidět, že se při nich spotřebovává i určité množství NADPH.

Zachování lineárního toku elektronů pomocí Mehlerovy reakce i při nedostatku obvyklého akceptoru (NADP^+) pomáhá udržovat transport protonů do lumen thylakoidu. Nízké pH v lumen má zásadní důležitost pro správnou funkci dalších ochranných mechanismů, především xanthofylového cyklu. [1]

c) snížená rychlost opravy fotosystému II

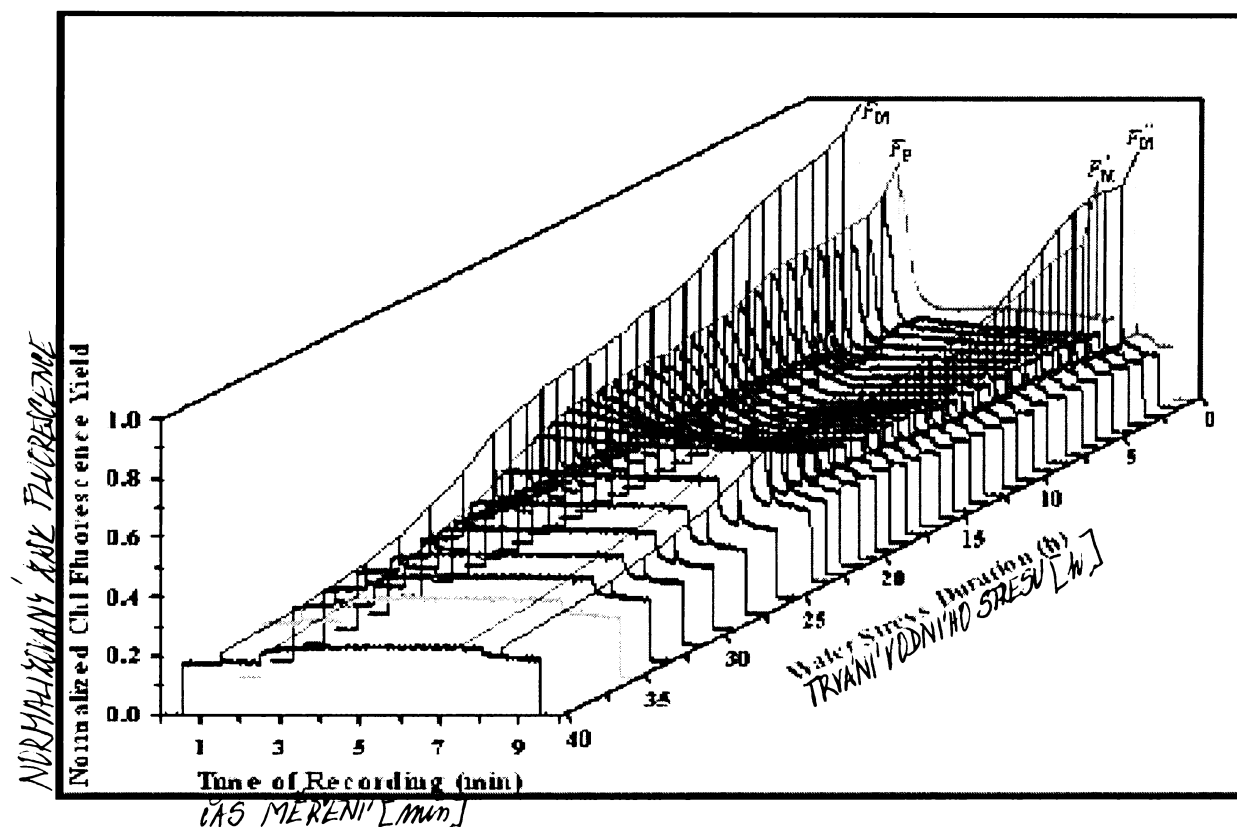
Poškození proteinu D1 ve fotosystému II je nejčastějším průvodním znakem fotoinhibice. Zároveň je možná i jeho velmi rychlá výměna. K výměně poškozeného proteinu se však musí celý fotosystém přemístit z granální (stěsnané) části thylakoidní membrány do stromální (volné) části. Právě snadná inaktivace proteinu D1 může být velmi účinným způsobem ochrany ostatních částí chloroplastu před poškozením. Syntéza proteinu D1 se zrychluje se vzestupem ozáření, po dosažení saturačních hodnot se opět zpomaluje. Většina inaktivovaných fotosystémů zůstává za nadměrné ozáření v granální části membrán a absorbované záření se v nich přeměňuje na teplo. Po poklesu ozáření přestávají plnit ochrannou funkci a jsou rychle opraveny. [2]

4.1.3 Fluorescence, detekce stresu pomocí fluorescence

Fluorescence chlorofylu je jedním z deexcitačních procesů po absorpci světelné energie světlosběrným systémem. Fluorescenční emise chlorofylu je světlo o vlnové délce 685 nm; zpětnou reabsorpci listy může být tato emise posunuta až k 740 nm.

Díky vztahu mezi fotosyntézou a fluorescencí se měření fluorescence chlorofylu stalo velmi používanou metodou pro monitorování fotochemické účinnosti rostlin. Tato metoda je neinvazivní, rychlá a zároveň velmi citlivá. Používá se nejen v základním výzkumu

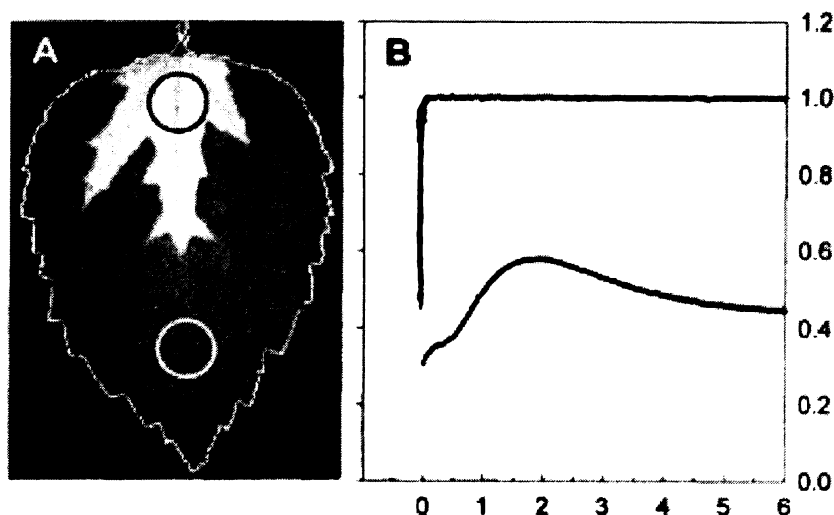
fotosyntézy, ale i při detekci mutantních rostlin a včasné detekci abiotického i biotického stresu. [6]



Obr. 3. Odras přirozeného zasychání listu durmanu stromového (*Datura arborescens*) v „3D“-tvaru fluorescenčních indukčních křivek. [7]

Příklad vlivu vodního stresu na změny fluorescenční indukce je na obrázku 3, kde je zobrazen odras přirozeného zasychání listu durmanu stromového v čase [7]

Dalším příkladem abiotického stresu je působení herbicidu DCMU na obrázku 4. DCMU (diuron) je neselektivní fenylnmočovinný herbicid. DCMU blokuje fotosyntetický transport elektronů vazbou v Q_B kapse fotosystému II. Proto v oblasti zasažené herbicidem je fluorescence vysoká. Oblast, která je nezasažená, nevykazuje žádné změny ve fluorescenční indukci, a tím ani poškození fotosyntetického aparátu. [8]



Obr. 4. List africké fialky *Saintpaulia* byl na jednu hodinu ponořen do roztoku herbicidu DCMU. DCMU blokuje fotosyntetický transport elektronů vazbou v Q_B kapse fotosystému II. V části A je zřetelná oblast poškozená působením herbicidu (světlá horní část), která vykazuje vysokou intenzitu fluorescence chlorofylu. Průběh a tvar fluorescenční indukční křivky je znázorněn v části B horní křivka pro poškozenou oblast, dolní křivka pro nepoškozenou oblast. [8]

4.2 Poškození rostlin za příliš vysokých a nízkých teplot

Listy rostlin, které dosud nebyly vystaveny teplotním stresovým podmínkám, jsou na změnu teploty nejcitlivější a dochází v nich k stimulaci toku elektronů. Při vrácení listů do stavu před stresovou teplotu může být kapacita fotosyntetického toku elektronů podstatně utlumena kontrolním systémem. Další teplotní stres je fyziologicky významný. Způsobuje omezení transportu elektronů a ovlivňuje všechny reakce v thylakoidech. Teplotní stresové studie zahrnují zkoumání důsledků jedné nebo více teplotně stresových epizod. [9]

Změny ve struktuře thylakoidních membrán byly pozorovány mrazovým zlomem, jakožto stresový faktor. [10] Tyto strukturální změny způsobily změnu funkce thylakoidů. [11] Malé zvýšení teploty způsobilo zvýšení přenosu excitační energie z antén směrem k reakčnímu centru fotosystémů a také zvýšení cyklického toku elektronů fotosystému I. [12] Havaux a kol. (1996) zjistil zvýšení thylakoidní propustnosti, která vedla ke větší funkci xantofylového cyklu, tudíž ke zvýšení množství zeaxanthinu. [13] Jednou z významných vlastností thylakoidní membrány v teplotním stresu bylo je i to, že chybějící trienolové mastné kyseliny v thylakoidech způsobují větší toleranci k teplu. [14] Stres vyvolaný nízkou teplotou způsobuje vyšší citlivost rostlin k fotoinhibici. [15]

Poškození thylakoidních reakcí mírným teplotním stresem tedy nekončí jen poruchou PSII, ale zahrnuje celkový tok elektronů včetně komplexu cytochromů.

4.2.1 Cyklický tok elektronů

Množství energie obsažené v cyklických a pseudocyklických tocích elektronů bylo mnohokrát debatováno, v několika studiích zjištěny poměrně nízké toky ostatních cest (např. necyklický tok elektronů) pod vlivem stresových, nestabilních podmínek. Fotosystém I se nachází v těch částech thylakoidních membrán, které komunikují přímo se stromatem. Reakční centrum PSI obsahuje především dva velké polypeptidy (Ia, Ib), které na sebe vážou ionizovatelnou molekulu chlorofylu *a* (označovanou jako P700, absorbuje nejvíce záření o vlnové délce 700 nm). K reakčnímu centru jsou připojeny další molekuly chlorofylu *a*, spolu s několika molekulami karotenoidů. Anténní systém fotosystému I (světlosběrný komplex, LHC I) obsahuje asi 100 molekul chlorofylu *a* i *b*, které jsou vázány na několik integrálních proteinů v těsné blízkosti reakčního centra. [3]

Cyklický tok elektronů není spojen s fotolýzou vody a nedává vznik NADPH. Při něm jsou elektrony uvolněné z P700 přenášeny přes přenašeče fotosystému I a mobilní ferredoxin nikoliv k NADP⁺, ale ke komplexu cytochromů, na kterém je zprostředkována redukce plastochinonu. Elektrony jsou dále přenášeny plastocyaninem k P700 a tím se jejich cyklus uzavírá. Dva protony však zůstávají v lumen.

Cyklický transport elektronů slouží k „pumpování“ vodíkových iontů ze stromatu do lumen. Využívá světelnou energii zachycenou jen ve fotosystému I a je tudíž zcela nezávislý na fotosystému II a na fotolýze vody. [5]

Cyklický tok elektronů zřejmě probíhá ve struktuře izolovaného elektronového transportního řetězce, který zahrnuje PSI, cyt *b₆f* komplex, ferredoxin a plastocyanin. [16]

Průběh cyklického toku elektronů a průběh cyklu voda-voda. V cyklu voda-voda dochází k transportu elektronů z molekuly vody na lumenální straně thylakoidní membrány na molekulu vody na stromální straně thylakoidů. Elektrony získané štěpením molekuly vody na donorové straně PSII redukuje molekulární kyslík na superoxidový radikál na akceptorové straně PSI – Mehlerova reakce. Vzniklý superoxidový radikál je dále sledem enzymatických reakcí přeměněn na molekulu vody, čímž se cyklus voda-voda uzavírá. Mehlerova reakce je konkurenční reakcí redukci NADP^+ a za normálních podmínek minimální (< 10 %). Její význam však narůstá za stresových podmínek, kdy je inhibována činnost Calvinova cyklu. [17]

Správná funkce všech enzymatických reakcí cyklu voda-voda je závislá na koncentraci askorbátu a dalších redoxních reakcích ve stromatu chloroplastu. Kapacita antioxidačních reakcí je za normálních podmínek (nestresované rostliny, přiměřená ozáření) dostatečná a v chloroplastech nedochází k akumulaci reaktivních forem kyslíku. Limitující reakcí cyklu voda-voda je v tomto případě samotná Mehlerova reakce. [18] Cyklus voda-voda sám o sobě nespotebovává ATP, ale naopak se podílí na elektronovém transportu v thylakoidní membráně a tím i na její energizaci. [19] Tato alternativní cesta toku elektronů hraje významnou roli zejména při inhibici funkce Calvinova cyklu.

Ve studiích, ve kterých listy přizpůsobené na tmu byly vystaveny světelnému záření, docházelo ke zvýšení toku elektronů v cyklu voda-voda. [17]

V případě nízkého množství kyslíku se aktivita PSI zvýšila, zatímco aktivita PSII klesla v důsledku změny cyklu z voda-voda na cyklický elektronový transport. [18]

Během fotosyntézy hraje cyklus voda-voda a cyklický tok elektronů důležitou roli v ustavení thylakoidního protonového gradientu. Nevýhoda cyklu voda-voda je vytvoření aktivované formy kyslíku, která musí být odstraněna, neboť by mohla být nebezpečná. [17]

4.2.2 Stimulace cyklického toku elektronů teplotním stresem

Bylo prokázáno, že cyklický elektronový transport (CET) je běžnou součástí fotosyntézy [20], pomáhá udržovat rovnováhu produkce ATP a NADPH a tvořit gradient protonů přes membránu pro regulaci světlosběrné funkce. V současné době podléhá CET intenzivnímu výzkumu. Ukázalo se, že CET je regulován redoxním stavem řetězce transportu elektronů [21] a je důležitý hlavně za podmínek, kdy je inhibován Calvinův cyklus, při teplotních stresech a při počáteční adaptaci na světlo.

Význam CET je výrazně druhově závislý. U C_3 rostlin byl donedávna za normálních podmínek (nestresované rostliny) považován za nevýznamný. Nicméně nedávno bylo ukázáno, že CET se významně podílí na fotosyntéze také u C_3 rostlin a to, že jeho příspěvek nebyl pozorován dříve, je připisováno použitým experimentálním podmínkám měření. [20]

Zvýšením teploty dochází k ovlivnění cyklického toku elektronů fotosystému I. [12] Při zvýšené teplotě došlo ke zrychlení přenosu elektronů přes přenašeče fotosystému I a mobilní ferredoxin k cytochromovému komplexu, kde redukce plastochinonu je také zrychlena. Přenos elektronů z redukovaného plastochinonu plastocyaninem byl aktivní do teploty 35 °C, nad tuto hodnotu došlo k inhibici přenosu. [13]

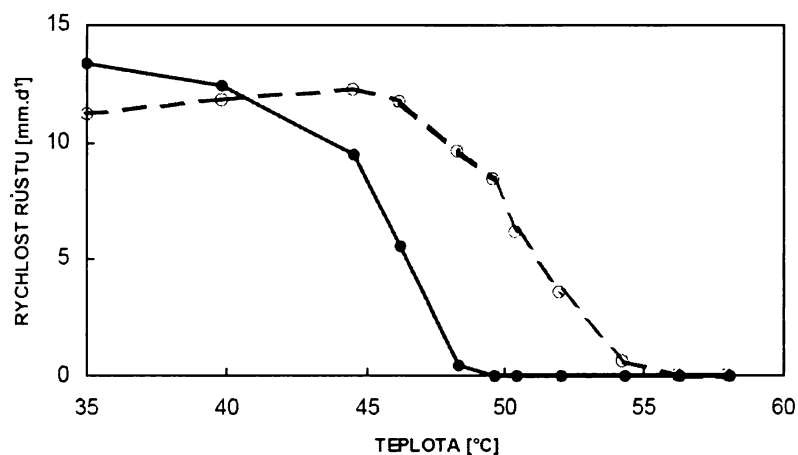
Vliv na funkci přenosu elektronů mělo i působení antimycinu A na ferredoxin-plastochinonreduktasu. Antimycin A je přírodní antibiotikum, které je produkováno bakterií *Streptomyces*. Způsobuje inhibici ferredoxin-plastochinonreduktasy a tudíž i redukci plastochinonu. Tím je ovlivněn celkový cyklický tok elektronů. [21]

Během studie teplotního stresu došlo k poklesu transportu vodíkových iontů ze stromatu do lumen thylakoidu. [20]

4.2.3 Vliv vysokých teplot

Při zvýšení teploty zhruba nad 40 °C dochází u většiny rostlin k zásadním změnám ve fyzikálně-chemických vlastnostech buněčných membrán i proteinů. Lipidová vrstva membrán přechází do lamelárně-kapalného (superfluidního) stavu, ve kterém nemůže plnit svoje základní funkce. Stává se propustnou pro ionty a přestává poskytovat dostatečně pevnou oporu pro membránové proteiny. U proteinů dochází také ke změnám konformace a tím ke ztrátě funkce.

Jako první jsou postiženy thylakoidní membrány v chloroplastech. Velmi nápadným indikátorem vznikajícího stresu je poškození fotosystému II, které lze snadno zjistit měřením fluorescence *in vivo*. Za zvyšující se teploty dochází k rozpadu jednotlivých částí fotosystému (především k odtržení světloběrných komplexů) a potom k denaturaci proteinů.



Obr. 5. Graf znázorňuje závislost rychlosti růstu na teplotě u mladých rostlin prosa (C_4 rostliny s optimem růstu za vyšších teplot). Plná čára představuje kontrolní rostliny pěstované za teploty 35 °C, čárkovaně jsou vyznačeny reakce rostlin, které byly vystaveny teplotě 45 °C po dobu 24 hodin. Po uplynutí této doby začalo měření, které trvalo dvě hodiny. [4]

Aklimační reakce na zvýšenou teplotu lze pozorovat již za necelou hodinu od začátku působení, a to především ve výrazných změnách v zastoupení proteinů. Ke změnám chemického složení membrán dochází pomaleji, většinou až za několik dní. Díky aklimačním změnám může být kritická teplota posunuta až o 5 °C, znázorněno na obr. 5.

Proteiny indukované zvýšenou teplotou (HSP, z angl. *heat-shock proteins*) patří k nejdéle známým. Řada z nich se vytváří při zvýšení teploty (asi o 10 °C proti normálním podmínkám). K indukci jejich tvorby dochází po navázání specifických proteinů regulujících transkripci (*heat-shock factors*) na příslušné úseky DNA (*heat-shock elements*) v blízkosti genů pro HSP. Regulační proteiny jsou stále přítomny v buňkách, ale v nefunkčním stavu. Až po náhlém zvýšení teploty dochází k jejich aktivaci. Patří sem například chaperony, proteasy a ubikvitin. Některé regulační proteiny nepochybně přispívají ke zvýšení termostability citlivých proteinů nejen v cytosolu, ale i v organelách. Příkladem lze uvést dva, označované jako HSP21 a HSP24, které se transportují do chloroplastu, kde chrání před poškozením mimořádně citlivé proteiny fotosystému II v tylakoidní membráně. [1]

4.2.4 Poškození rostlin chladem

Většina proteinů není nízkými teplotami poškozována, a tak primární účinky nepříznivého působení chladu jsou ve změně fyzikálně-chemických vlastností membrán. Pokud jejich lipidová vrstva přejde z optimální polotekuté konzistence do stavu pevného gelu, nedaří se udržovat dokonalou celistvost membrány, zejména v důsledku oslabení vazby lipidů k membránovým proteinům. Volná propustnost membrán pro ionty vede ke ztrátě transmembránového potenciálu, k zastavení selektivního a aktivního transportu.

K poruše struktury membrán a jejich funkce dochází i nepřímo, a to peroxidací membránových lipidů. Nebezpečí oxidativního poškození membrán vzrůstá za nízkých teplot hlavně proto, že jsou zpomaleny růstové procesy. Hromadění nevyužitých produktů fotosyntézy vede ke zpomalení fotochemických procesů a k tvorbě aktivních forem kyslíku. [22]

Proteiny indukované nízkou teplotou hrají úlohu při zvyšování odolnosti vůči chladu a mrazu. Většinou se jedná o proteiny s vyšší molekulovou hmotností.

Časté jsou glykoproteiny a některé silně hydrofobní proteiny s velmi účinnou schopností chránit některé enzymy před denaturací. V chloroplastech byl nalezen po působení chladu protein (31 kDa), který je homologní s proteiny světlosběrných komplexů. [1]

4.3 Vliv nedostatku vody na funkce rostlin

Příjem oxidu uhličitého pro fotosyntézu otevřenými průduchy je obvykle spojen s takovou ztrátou vody, kterou nelze okamžitě nahradit. Tudíž nejvíce postiženými orgány jsou vždy listy. U běžných mezofytních druhů rostlin hodnoty vodního potenciálu listů do $-0,5$ MPa způsobují mírný vodní stres, od $-0,5$ do $-1,5$ MPa stres středně velký. Při hodnotách pod $-1,5$ MPa jde o stres velmi silný, při kterém již často klesá turgorový tlak v buňkách listů na nulu a listy začínají vadnout.

V rozmezí hodnot $-0,2$ až $-0,8$ MPa dochází v buňkách k velmi podstatnému zvýšení koncentrace kyseliny abscisové, hlavně v listech, kde má za následek zavírání průduchů. Tato změna pak vede ke snížení rychlosti výměny plynů, a tím i rychlosti fotosyntézy a transkripce. [23]

K minimalizaci ztrát vody při příjmu nezbytného množství oxidu uhličitého pro fotosyntézu slouží průduchová regulace výměny plynů mezi listem a okolním vzduchem. Mimořádně účinnou adaptací k omezení ztrát vody při asimilaci uhlíku jsou varianty fixačních cest typu C_4 a CAM. Při jejich fungování dochází ke zvýšení koncentrace CO_2 v okolí chloroplastů. Současně díky vysoké afinitě PEP-karboxylasy bývá snížena koncentrace CO_2 v intercelulárách listů. Při stejné otevřenosti průduchů je u rostlin typu C_4 rychlejší tok CO_2 do listů, a tudíž transpirační spotřeba vody na jednotku vytvořené sušiny (transpirační koeficient) je podstatně nižší než u C_3 rostlin. [24]

Sukulentní rostliny vybavené metabolickou cestou CAM jsou ze všech rostlin nejlépe adaptovány k úspornému hospodaření s vodou.

Jejich metabolismus umožňuje ponechat průduchy ve světelné periodě dne zcela uzavřené. Fixační cesta CAM udržuje fotosyntetickou aktivitu a pozitivní uhlíkovou bilanci i v podmínkách, kdy je příjem vody dočasně zastaven. Tyto rostliny mají také možnost dlouhodobě uzavřít průduchy a provádět vnitřní recyklaci uhlíku. Jedná se o adaptaci pro podmínky extrémního sucha, ale v méně extrémních podmínkách není už tak prospěšná. Ani v případě přechodu na přímou efektivnější fixaci oxidu uhličitého (u fakultativních CAM-rostlin) nelze změnit základní morfologické charakteristiky nevýhodné pro rychlý růst.

4.4 Toxické látky v prostředí

Jedná se o chemické sloučeniny, z nichž některé mohou mít inhibiční až toxické účinky. Z plynů je nejvíce nebezpečný ozón a oxid siřičitý, v půdě pak ionty těžkých kovů a aromatické organické látky. Většinou se jedná o toxické látky (xenobiotika), které jsou spojeny hlavně s průmyslovou a zemědělskou činností člověka. [2]

4.4.1 Ozón

Jedná se o nejtoxičtější složku přízemní vrstvy atmosféry. Vstupuje do listů výhradně průduchy a již v intercelulárách, v kontaktu s vlhkými buněčnými stěnami, se rychle rozkládá. Při rozkladu ozónu vzniká nejen molekulový kyslík, ale jako meziproducty i reaktivní superoxid (O_2^-), peroxid vodíku (H_2O_2) a hydroxylový radikál (OH^\cdot). Při dlouhodobém působení i poměrně nízké koncentrace ozónu může dojít k chronickému poškození listů, které se vyznačuje snížením antioxidační ochrany, úbytkem enzymu RuBisCO, poklesem rychlosti fotosyntézy a zrychlením stárnutí.

4.4.2 Oxid siřičitý

Vstupuje do rostlin hlavně otevřenými průduchy a difúzí v intercelulárách se snadno šíří ke všem buňkám listového mezofylu. Po proniknutí buněčnou stěnou se rychle rozpouští a mění na siřičitanové anionty, jejichž naprostá většina vstupuje do chloroplastů. Tam se v malém množství neprojevují škodlivě, neboť za dostatku záření dochází právě v chloroplastech k redukci anorganických sloučenin síry a k jejich zabudování do organických vazeb. Ve vyšší koncentraci siřičitanové ionty způsobují nadměrné snížení pH cytosolu a blokují činnost karboxylačního enzymu RubisCO, čímž je inhibován i průběh sekundárních procesů fotosyntézy.

Bylo zjištěno, že druhy s fixační cestou C_4 jsou mnohem odolnější vůči toxickému působení SO_2 než rostliny typu C_3 . Je to dáno hlavně menší citlivostí PEP-karboxylasy k SO_2 a lokalizací Calvinova cyklu do velmi dobře chráněných buněk pochev cévních svazků se zvýšenou koncentrací CO_2 . [3]

4.4.3 Toxické, těžké kovy

Jedná se zejména o zinek, olovo, měď a kadmium, které se dostávají do půdy ve větších množstvích usazováním prachu z průmyslových procesů, z výfukových plynů nebo z kontaminovaných odpadních vod a hnojiv. Ionty těžkých kovů jsou velmi snadno přijímány kořeny, po vstupu do buněk inaktivují některé enzymy a redoxní systémy. Část toxických iontů je translokována i do nadzemních orgánů, kde nejvíce ovlivňuje fyziologické procesy v listech, v první řadě fotosyntézu. [23]

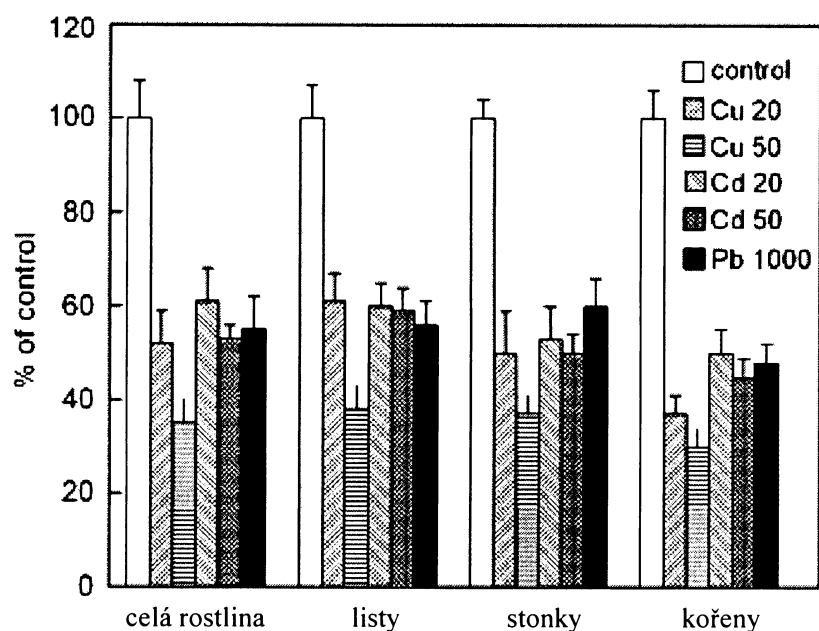
U rostlin, které jsou vystaveny působení těžkých kovů, dochází ke zpomalení růstu. Jejich vliv je limitující pro příjem a transport rozpuštěných látek i pro využití asimilátů v metabolických a růstových procesech.

Bezesporu ovlivňují nejdůležitější proces u rostlin, fotosyntézu. [25] Působnost je závislá na koncentraci kovu, která se dostane do rostliny a na druhu rostliny. [26]

Nadbytek mědi, kadmia a olova přímo inhibuje přenos elektronů ve fotosyntéze, [27] také snižuje aktivitu Calvinova cyklu a asimilaci oxidu uhličitého. [26] Kovy mohou měnit aktivitu fotosyntézy nepřímo, snižují množství fotosyntetických pigmentů. Způsobují poškození fotosyntetického aparátu v chloroplastech, [28] zejména poškozují lipidy a proteiny obsažené v thylakoidech. [25]

Těžké kovy působí na příjem a transport vody a iontů, což jsou rozhodující mechanismy pro fotosyntetickou aktivitu a růst rostlin. Naprostá většina transportních procesů v rostlinách se odehrává ve vodných roztocích. Kovy snižují transpiraci a kořenový vztlak, obsah vody v pletivech je nízký. Tím dochází i k ovlivnění regulace výdeje ve formě vodní páry. [29] Příjem iontů je omezen, klesá význam gradientu elektrochemického potenciálu v buňkách. Poruchy v transportu iontů vedou k předčasnému stárnutí listů. [25]

Transport mědi, kadmia a olova z kořene do nadzemních částí rostlin je slabý. [30] Zejména olovo je kov, který se ve velkém množství hromadí v kořenu rostliny. Kadmium je mobilnější ve srovnání se zmíněným olovem či mědí. Bylo zjištěno, že transport kadmia z kořene do listů rostlin byl třikrát vyšší než u mědi. Koncentrace kovů v živném roztoku byla 50 μM . Podobných výsledků bylo dosaženo, když koncentrace kovů byla 1 000 μM , opět pohyb kadmia z kořene byl vyšší než u olova. [31]



Obr. 7. Studie prováděná na kukuřici (*Zea mays*). Obsah sušiny celých rostlin, listů, stonků a kořenů za přítomnosti Cu, Cd (20 a 50 μM), olova (1 000 μM). Průměrné hodnoty v procentech kontrolních rostlin. Kontrolní forma kukuřice: celá rostlina 6,18 g, listy 3,03 g, stonky 1,78 g, kořeny 1,37 g. [31]

Tabulka 1. Fotosyntetické fluorescenční parametry v kukuřici pod vlivem 20 nebo 50 μM Cu nebo Cd a 1 000 μM Pb. Průměrné hodnoty. [32]

F_v/F_m poměr variabilní a maximální fluorescence

Φ_{PSII} kvantový výtěžek

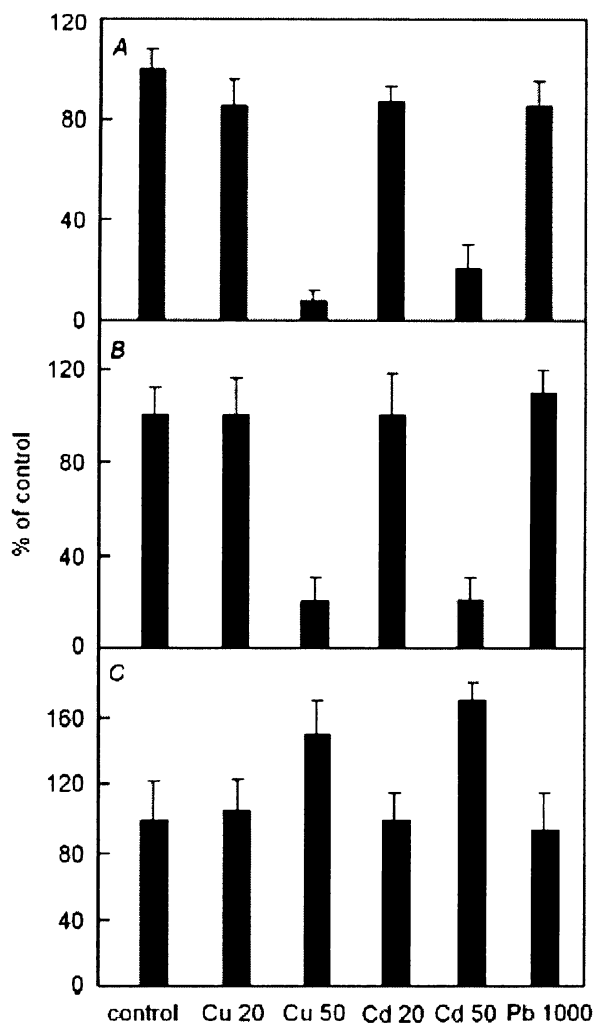
Obsah kovů v živném roztoku [μM]	listy rostliny [$\text{mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ (DM)]	F_v/F_m	% kontrolní hodnoty	Φ_{PSII}	% kontrolní hodnoty
Kontrolní forma		$0,839 \pm 0,015$		$0,740 \pm 0,022$	
Cu 20	$0,75 \pm 0,19$	$0,829 \pm 0,009$	98	$0,666 \pm 0,019$	90
50	$0,90 \pm 0,21$	$0,811 \pm 0,012$	96	$0,629 \pm 0,011$	85
Cd 20	$1,12 \pm 0,25$	$0,825 \pm 0,012$	98	$0,651 \pm 0,012$	87
50	$3,51 \pm 0,37$	$0,815 \pm 0,010$	97	$0,658 \pm 0,014$	89
Pb 1000	$1,22 \pm 0,21$	$0,832 \pm 0,013$	99	$0,725 \pm 0,019$	98

Jestliže je poměr F_v/F_m vyšší než hodnota 0,8, potenciál fotosystému II není ovlivněn (tabulka 1). [32] Mírná změna ve fotosystému II v nadbytku mědi byla také pozorována v pšenici (*Triticum durum*). [33] Koncentrace mědi jen mírně snižuje výkonnost fotosystému II. [34] Změny ve fotosystému II nebyly zjištěny ve smetance lékařské (*Taraxacum officinale*) rostoucí na půdách kontaminovaných olovem, zinkem a mědí. [35] Poruchy ve výkonnosti fotosystému II pod vlivem těžkých kovů závisí na druhu a stáří rostlin, na době, po jakou jsou rostliny vystaveny působení kovů a také na stavbě a složení listů.

Fotochemický kvantový výtěžek fotosystému II (Φ_{PS2}) je definován jako podíl počtu fotonů, které se spotřebují na fotochemii a počtu všech absorbovaných fotonů. Φ_{PS2} klesá se snižujícím se poměrem F_v/F_m u rostlin, které byly vystaveny vlivu mědi a kadmia (tabulka 1). Pokles Φ_{PS2} v působení olova byl zanedbatelný (tabulka 1).

Podobný vztah mezi F_v/F_m a Φ_{PS2} byl získán pro rostliny, které byly vystaveny většímu množství manganu. Pokles Φ_{PS2} může být vysvětlen snížením kapacity metabolismu uhlíku. [36]

Ve studii mezi stanovenými parametry fotosyntézy, byla čistá rychlost fotosyntézy P_N zřetelně ovlivněna mědí, kadmíem a olovem. Tento fakt potvrzuje, že redukce uhlíku a jeho metabolismus v tmavé fázi fotosyntézy je citlivější na těžké kovy, než světelná fáze fotosyntézy. Bylo zjištěno, že rychlost fotosyntézy P_N byla snížena mědí a kadmíem o koncentraci 50 μM (tabulka 1). Zároveň byla v těchto rostlinách pozorována velmi nízká propustnost průduchů g_s .



Obr. 8. V části A je znázorněna rychlost fotosyntézy (P_N), v části B propustnost průduchů (g_s), v části C je vnitřní koncentrace oxidu uhličitého (C_i) v listech kukuřice (*Zea mays*) za působení Cu, Cd (20 a 50 μM) či Pb (1 000 μM). Průměrné hodnoty kontrolní rostliny v %. Kontrolní hodnoty: P_N 8,5 $\mu\text{mol}(\text{CO}_2)\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, g_s 120 $\mu\text{mol}(\text{CO}_2)\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, C_i 130 $\text{cm}^3\cdot\text{m}^{-3}$. [37]

Významný pokles rychlosti fotosyntézy P_N v rostlinách pod vlivem mědi nebo kadmia o koncentraci 50 μM nebyl způsoben nízkou hodnotou g_s ani nízkou koncentrací oxidu uhličitého v chloroplastech. Hodnoty vnitřní koncentrace oxidu uhličitého C_i byly totiž vyšší v listech těchto rostlin než v kontrolních rostlinách (obr. 8C). Vysoké C_i mohou být vysvětleny nízkou P_N nebo zvýšením rychlosti respirace. [37] Zvýšená rychlost respirace pod vlivem kovů je obvykle spojena se stárnutím pletiv.

Vysoká hodnota vnitřní koncentrace oxidu uhličitého zjištěná v kukuřici (*Zea mays*), která byla vystavena chemickému působení mědi nebo kadmia o koncentraci 50 μM , určuje to, že snížení rychlosti fotosyntézy nebude mít účinek na uzavírání průduchů. Podobné výsledky naznačují, že otevírání průduchů mělo nepatrný vliv na asimilaci oxidu uhličitého u rostlin, které byly pod vlivem manganu. [36] Existuje mnoho studií týkajících se vlivu mědi, kadmia nebo olova na temnou fázi fotosyntézy. [26] Výsledky ukazují, že přenos elektronů ve fotosyntéze je tolerantnější ke stresu způsobenému mědí, kadmiem a olovem ve srovnání s redukcí oxidu uhličitého, která je náchylnější na působení těžkých kovů.

Tabulka 2. Průměrný obsah chlorofylu (Chl) *a+b*, vody a železa v listech kukuřice, působení Cu, Cd, a Pb. Kontrolní hodnoty: Chl *a+b* 4,2 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, voda 890 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, Fe 175 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$.

kov [μM]	voda [%]	Chl <i>a+b</i>	Fe
Control	100 \pm 3	100 \pm 2	100 \pm 5
Cu 20	95 \pm 2	80 \pm 2	80 \pm 5
50	90 \pm 3	68 \pm 4	65 \pm 7
Cd 20	96 \pm 2	88 \pm 3	71 \pm 4
50	95 \pm 2	80 \pm 5	63 \pm 5
Pb 1 000	95 \pm 4	88 \pm 6	88 \pm 8

Také bylo zjištěno, že těžké kovy ovlivňují reakce fotosyntézy nepřímo. Přebytek těžkých kovů obvykle snižuje obsah chlorofylu, často dochází k snížení přenosu železa v listech (tabulka 2). Nízký obsah železa působí na strukturu chloroplastů a ovlivňuje světlou a tmavou fázi fotosyntézy. [25]

Porovnáním vlivu těžkých kovů na fotosyntézu a na obsah vody a chlorofylu lze jejich toxicitu seřadit následovně: Cu > Cd > Pb. Jak již bylo zmíněno, olovo, měď a kadmium se hromadí hlavně v kořenu rostliny. V nadzemních částech rostliny se kovy převážně nacházejí v apoplastu, v chloroplastech listů a v menším rozsahu ve vakuolách.

4.4.4 Vliv kombinace tří stresů na fotosyntézu u pšenice

Fotosyntéza je jedním z nejdůležitějších procesů rostlin. Intenzita fotosyntézy listů je maximální v období, kdy list dosáhne 50–80 % své plochy a je fotosynteticky dospělý.

Byla provedena studie rostliny pšenice ozimé odrůd Stella, Olga, Patria, Plodna a Zdar, které byly pěstovány v nádobách s homogenizovanou zeminou s optimálním množstvím minerálních látek. Rostliny byly ve skleníku s průměrnou denní teplotou 23 ± 1 °C a v noci 15 ± 1 °C. Varianta stresové rostliny (St) zahrnovala vzájemnou kombinaci tří stresů: nízké pH (pH = 4,5), vysoká teplota (ve dne $37,6$ °C a v noci $25,5$ °C) a sucho. Sucho bylo stimulováno sníženou zálivkou na úroveň 17 % půdní vlhkosti, na hodnotu vodního potenciálu 0,12 MPa. Kontrolní rostliny byly zalévány na úroveň 31 % půdní vlhkosti, což představovalo hodnotu vodního potenciálu půdy 1,28 MPa při pH 6,7. Rychlost fotosyntézy se měřila infraanalyzátozem LCA 4 při intenzitě ozáření $490 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ a teplotě 25 ± 1 °C.

Rostliny se sledovaly ve čtyřech fázích:

- I. fáze – 22.DC: Období odnožování, hlavní stéblo a 1. viditelná odnož
- II. fáze – 39.DC: Období sloupkování, objevení jazýčku posledního listu
- III. fáze – 59.DC: Období metání, celý klas je vymetán
- IV. fáze – 69.DC: Období kvetení, většina klásků odkvetlá

Tabulka 3. Průměrná rychlost fotosyntézy u rostlin pšenice ($\mu\text{molCO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), kontrolní a stresová varianta.

Odrůda	Kontrolní varianta				Stresová varianta			
	22.DC	39.DC	59.DC	69.DC	22.DC	39.DC	59.DC	69.DC
Stella	12,264	13,587	15,097	14,999	11,400	12,857	13,996	14,255
Olga	12,097	14,001	15,254	14,574	11,925	13,985	14,002	14,521
Patria	13,201	15,654	16,539	16,657	11,255	13,155	14,547	16,657
Ploda	12,004	13,141	14,650	15,155	11,865	13,985	13,999	14,152
Zdar	11,547	13,994	15,054	15,154	10,547	12,000	13,444	14,155

U vybraných odrůd pšenice byla po dobu pěti let měřena okamžitá rychlost fotosyntézy (tabulka 3). Z naměřených hodnot vyplývá, že rostliny stresové mají nižší intenzitu fotosyntézy v porovnání s kontrolní variantou. Toto zjištění bylo statisticky průkazné. Statisticky významná vyšší rychlost fotosyntézy byla zjištěna u odrůdy Patria (průměrná hodnota $14,749 \mu\text{molCO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) a naopak nejnižší u odrůdy Zdar (průměrná hodnota $13,237 \mu\text{molCO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$). Vliv ročníku nebyl zjištěn, neboť se jednalo o pěstování rostlin v definovaném prostředí. V průběhu vegetace je možné zaznamenat nárůst fotosyntézy. Nejnižší rychlost fotosyntézy byla naměřena na počátku sledovaného období – 22.DC (průměrná hodnota $11,811 \mu\text{molCO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), poté se zvyšovala až do období metání – 59.DC (průměrná hodnota $14,652 \mu\text{molCO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$). V následné fázi ontogeneze byl zaznamenán mírný pokles.

Závěrem je možné konstatovat díky této studii, že abiotické stresy snižují rychlost fotosyntézy a následně i růst a tvorbu výnosu. Reakce na působení abiotických stresů je dána geneticky neboť jako tolerantnější se jeví odrůda Patria a méně tolerantní odrůda Zdar. [38]

5. Závěr

Působení rostlinného stresu je značně komplexní a stále v něm zůstává mnoho nejasností. Pro růst a produkci rostlin jsou nejvíce limitující zejména abiotické stresové faktory. Tato bakalářská práce je zaměřena především na shrnutí dosavadních znalostí vlivu různých stresových faktorů na fotosyntézu. Některé z těchto poznatků mohou být použity a aplikovány ve studiích zabývajících se strukturou a funkcí vyšších rostlin. V dané problematice však stále zůstává mnoho nezodpovězených otázek a výzkum v této oblasti rostlinné fyziologie může přinést zajímavé poznatky o funkční integritě rostlinného těla a interakcích rostliny s prostředím.

6. Seznam literatury

- [1] Procházka, S., Macháčková, I., Krekule, J., Šebánek, J. (1998) *Filozofie rostlin*. Academia, Praha
- [2] Bláha, L. (2003) *Rostlina a stres*. VÚRV, Praha, ISBN80-86555-32-1, 156–175
- [3] Voet, D., Voet, J.G. (2004) *Biochemistry* (3rd Edition), 884–895
- [4] Campbell, N.A., Reece, J.B. (2006) *Biologie*
- [5] Buchanan, B.B., Gruissem, W., Jones, R.L. (2000) *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*
- [6] Krause, G.H., Weis, E. (1991) Chlorophyll fluorescence and photosynthesis. The basics. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **42**, 313–349
- [7] Roháček, K. (2002) Chlorophyll fluorescence parameters: the definitions, photosynthetic meaning and mutual relationships. *Photosynthetica* **40**, 13–29
- [8] Nedbal, L., Soukupová, J., Whitmarsh, J. a Trtílek, M. (2000) Postharvest imaging of chlorophyll fluorescence from lemons can be used to predict fruit quality. *Photosynthetica* **38**, 571–579
- [9] Schrader, S.M., Wise, R.R., Wacholtz, W.F., Ort, D.R. & Sharkey, T.D. (2004) Thylakoid membrane responses to moderately high leaf temperature in Pima cotton. *Plant Physiol.* **27**, 725–735
- [10] Armond, P.A., Björkman, O. & Staehelin, H.A. (1980) Disociation of supramolecular complexes in chloroplast membranes. A manifestation of heat damage to the photosynthetic apparatus. *Acta Physiol. Plant* **601**, 433–442
- [11] Gounaris, K., Brain, A.P.R., Quinn, P.J. & Williams, W.P. (1984) Structural reorganization of chloroplast thylakoid membranes in response to heat stress. *Acta Physiol. Plant* **766**, 198–208
- [12] Bukhov, N.G., Wiese, C., Neimanis, S. & Heber, U. (1999) Heat sensitivity of chloroplast and leaves, leakage of protons from thylakoids and reversible activation of cyclic elektron transport. *Photosynthetica* **59**, 757–762
- [13] Havaux, M. & Tardy, F. (1996) Temperature-dependent adjustment of the thermal stability of Photosystem II *in vivo*: possible involvement of xanthophyll-cycle pigment. *Planta* **198**, 324–333
- [14] Murakami, Y., Tsuyama, M., Kabayashi, Y., Kodama, H. & Iba, K. (2000) Trienoic fatty acids and plant tolerance of high temperature. *Science* **287**, 476–479

- [15] Vijayan, P. & Browse, J. (2002) Photoinhibition in mutant of *Arabidopsis* deficient in thylakoid unsaturation. *Plant Physiol.* **129**, 876–885
- [16] Joliot, P. & Joliot A. (2002) Cyclic elektron transfer in plant leaf. *Photos. Res.* **99**, 10209–10214
- [17] Makino, A., Miyake C. & Yokota, A. (2002) Physiological functions of the water-water cycle and the cyclic elektron flow around PSI in rice leaves. *Plant Physiol.* **43**, 1017–1026
- [18] Asada, K. (1999) The water-water cycle in chloroplast: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **50**, 601–639
- [19] Schreiber, U., Heimann, S. & Klughammer, C. (1998) Two distinct states of the thylakoid bf complex. *FEBS Letters* **426**, 126–130
- [20] Joët, T., Cournac, L., Peltier, G. & Havaux, M. (2002) Cyclic elektron flow around photosystem I in C₃ plants. In vivo control by the redox state of chloroplasts and involvement of the NADH-dehydrogenase komplex. *Plant Physiol.* **128**, 126–130
- [21] Yamane, Y., Shikanai, T., Kashino, Y., Koike H. & Satoh K. (2000) Reduction of Q_A in the dark: Another cause of fluorescence increases by high temperatures in higher plants. *Photos. Res.* **63**, 23–34
- [22] Teiz, L., Zeiger, E. (2002) Stress physiology. *Plant Physiol.* **125**, 607–608
- [23] Bray, E.A. (1997) Plant response to water deficit. *Trends in Plant Science* **2(2)**, 48–55
- [24] Munns, R. (2002) Komparative physiology of salt and water stress. *Environ. Exp. Bot.* **25**, 239–250
- [25] Krupa, Z., Baszyński, T. (1995) Some aspects of heavy metals toxicity towards photosynthetic apparatus – direct and indirect effects on light and dark reactions. *Acta Physiol. Plant* **17**, 177–190
- [26] Prasad, M.N.V., Strzalka, K. (1999) Impact of heavy metals on photosynthesis, *Plant Physiol.*, 117–139
- [27] Myśliwa-Kurdziel, B. (2002) Heavy metal influence on the light phase of photosynthesis, *Plant Physiol.* **19**, 229–257
- [28] Molas, J. (2002) Changes of chloroplast ultrastructure and total chlorophyll concentration in cabbage leaves caused by excess of organic Ni(II) komplex. *Environ. Exp. Bot.* **47**, 115–126
- [29] Poschenrieder, C., Barcelo, J. (1999) Water relation in heavy metals stressed plants, *Plant Physiol.* **25**, 207–231

- [30] Burzyński, M., Buczek, J. (1989) Interaction between cadmium and molybdenum affecting the chlorophyll content and accumulation of some heavy metals in the second leaf *Cucumis sativus* L. *Acta Physiol. Plant* **11**, 137–145
- [31] Greger, M. (1999) Metal availability and bioconcentration in plants, *Plant Physiol.* **41**, 1–29
- [32] Björkman, O., Demming, B. (1987) Proton yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. *Planta* **170**, 489–504
- [33] Cistato, M., Valcke, R. (1997) Effect of in vivo copper treatment on the photosynthetic apparatus of two *Triticum durum* cultivars with different stress sensitivity. *Physiol. Plant* **100**, 901–908
- [34] Cook, C.M. (1997) Effects of copper on the growth, photosynthesis and nutrient concentrations of *Phaseolus* plants. *Photosynthetica* **34**, 179–193
- [35] Scardelis, S., Cook, C.M. (1998) Comparison of chlorophyll fluorescence and some heavy metal concentrations in *Sonchus spp.* and *Taraxacum spp.* along an urban pollution gradient. *Sci. Total. Environ* **158**, 157–164
- [36] Subrahmanyam, D., Rathore, V.S. (2000) Influence of manganese toxicity on photosynthesis in ricebean (*Vigna umbellata*) seedlings. *Photosynthetica* **38**, 449–453
- [37] Romanowska, E., Igamberdiev, A. (2002) Stimulation of respiration by Pb²⁺ ions detached leaves and mitochondria of C₃ and C₄ plants. *Physiol. Plant* **116**, 148–154
- [38] Hnilička, F., Novák, V., Bláha, L. (1998) The influence of abiotic stresses on the photosynthetic rate of wheat plants