

Karlova Univerzita v Praze  
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Karolína Vydrová

**Ovlivnění produkce primárních a sekundárních metabolitů rostlin  
ekologickými faktory**

Diplomová práce

Hradec Králové 2006

Prohlašuji, že jsem předloženou práci vypracovala samostatně s využitím citovaných literárních pramenů.

Ráda bych poděkovala za pomoc, kterou mi poskytl vedoucí diplomové práce Prof. RNDr. Luděk Jahodář, dále Prof. RNDr. Ing. Michal V. Marek, DrSc. a Alexander Ač, Ms Scs z Ústavu systémové biologie a ekologie AV ČR v Brně.

## Obsah

Obsah.....	3
Úvod.....	4
Rostlina a prostředí.....	6
Globální změna klimatu .....	10
Základní metabolismus rostlin.....	16
Primární metabolismus .....	19
<i>Fotosyntéza</i> .....	19
<i>Fotorespirace</i> .....	22
<i>Metabolismus dusíku</i> .....	22
<i>Metabolismus síry</i> .....	23
Sekundární metabolismus .....	23
Vliv ekologických faktorů na produkci isoprenoidů.....	30
<i>Obecná charakteristika VOC a isoprenoidů a jejich role u rostlin</i> .....	30
<i>Vliv teploty a osvětlení na vylučování isoprenu a isoprenoidů</i> .....	35
<i>Vliv vody na vylučování isoprenu a isoprenoidů</i> .....	50
<i>Vliv dusíku na vylučování isoprenu a isoprenoidů</i> .....	52
<i>Vliv oxidu uhličitého na vylučování isoprenu a isoprenoidů</i> .....	54
<i>Projekt v České Republice: Emise biogenních sloučenin z Picea abies (L.)</i>	
<i>Karst při dlouhodobém vlivu zvýšeného obsahu oxidu uhličitého</i> .....	59
Závěr.....	67
Přehled použité literatury.....	69

## Úvod

Globální klimatické změny jsou v současnosti často diskutovaným problémem. Nejčastěji se hovoří o tzv. skleníkovém efektu a s ním spojeném globálním oteplování. Skleníkový efekt je způsobován skleníkovými plyny, z nichž je nejvýznamnější oxid uhličitý. Zvýšení množství skleníkových plynů v atmosféře je způsobeno lidskou činností a v průběhu „industriální éry“ došlo k jejich výraznému nárůstu (Friedlingstein et Solomon 2005). Globální klimatické změny pravděpodobně budou mít v budoucnu katastrofální následky. Tudíž se v posledních letech začaly dělat kroky k omezení emisí skleníkových plynů, kdy asi nejvýznamnějším krokem byl Kyotský protokol, ve kterém se evropské a některé další státy zavázaly snížit emise oxidu uhličitého v letech 2008- 2012 o 8 % ve srovnání s úrovní v roce 1990 a souhlasily také s dalším snižováním emisí po roce 2012.

V posledních desítkách let se také vědci zaměřili na studování globálních klimatických změn a jejich dopadu na život na Zemi. Ovlivnění rostlinné říše vyplývá ze změny faktorů prostředí, které ovlivňují život rostlin. Teplotní změny a změny obsahu oxidu uhličitého, který je pro rostliny nezbytným zdrojem uhlíku, vedou ke změně životních pochodů rostlin. Vědci se zabývají otázkami jakým způsobem a do jaké míry bude v budoucnu ovlivněn jejich život.

Rostliny a především lesní společenstva jsou současně důležitým spotřebitelem oxidu uhličitého z atmosféry, a tak odlesňování rozsáhlých ploch ještě vede k prohlubování problémů spojených se zvýšenou produkcí oxidu uhličitého.

Změny životního prostředí rostlin vedou ke změnám metabolismu a to jak primárního, tak sekundárního. To může mít vliv i na globální změny klimatu, jelikož některé látky vylučované rostlinami mohou ovlivňovat atmosféru. Příkladem mohou být isoprenoidy, které patří mezi těkavé organické sloučeniny. Tyto látky ovlivňují oxidativní kapacitu atmosféry (Fehsenfeld, Calvert et al. 1992). Ačkoliv se nejedná o skleníkové plyny, skleníkový efekt ovlivňují a sice ovlivněním doby, kdy skleníkové plyny setrvávají v atmosféře. Oxidace isoprenu za přítomnosti oxidů dusíku vyvolává vznik ozonu a smogu a pokud oxidy dusíku přítomny nejsou, dochází naopak

k redukci množství ozonu v atmosféře (Daum, Kleinman et al. 2000). Monoterpeny ovlivňují srážky, jelikož vytváří kondenzační jádro mraků, a také ovlivňují velikost dešťových kapek (Went 1960).

Ve své práci se pokouším shrnout současné poznatky o vlivu základních parametrů prostředí na produkci isoprenoidů, které patří mezi sekundární metabolity a mohou mít významný vliv na životní prostředí.

## Rostlina a prostředí

Rostliny osídlily téměř všechny oblasti Země, včetně oceánů a vnitrozemských vod; na souši je můžeme nalézt dokonce i v tak nehostinných místech jako jsou pouště a ledovce. V dávných geologických dobách, když se první suchozemské rostliny vyvíjely, utkávaly se se světem vody vzduchu a hornin, tj. jejich životní prostředí sestávalo z hydrosféry, atmosféry a litosféry. Teprve později, když se rostlinný pokryv souše postupně uzavíral, vznikl s pomocí mikroorganismů a živočichů nejdůležitější substrát rostlin: půda- pedosféra.

Hydrosféra zahrnuje světové oceány, které pokrývají zhruba 71 % zemského povrch, stejně jako vody vnitrozemské a podzemní. V chemickém složení těchto vodních těles jsou však velké rozdíly.

Vzduch obklopující Zemi poskytuje rostlinám oxid uhličitý a kyslík. Vzduch také vyrovnává vodní bilanci prostřednictvím srážek, kondenzace a „evapotranspirace“. Neustálý pohyb vzduchu zajišťuje, že jeho složení zůstává konstantní: 79 % (objemových) dusíku, 21 % kyslíku, 0.03 % oxidu uhličitého, vodní pára a vzácné plyny. Kromě toho obsahuje vzduch plynné, kapalné a pevné nečistoty, kterými jsou v první řadě oxid siřičitý, nestabilní sloučeniny dusíku, sloučeniny halogenů, prach a saze.

Část atmosféry, se kterou přicházejí rostliny do styku, je troposféra, zóna počasí zemského vzdušného obalu.

Zemská kůra je nevyčerpatelnou zásobárnou rozmanitých chemických prvků, ze kterých jsou organismy složeny. Litosféra vyměňuje látky s hydrosférou a působí také na složení atmosféry prostřednictvím sopečné činnosti a produktů radioaktivního rozpadu. Především však je základním materiálem pro tvorbu půdy.

Půda je více než jen povrchově rozložená litosféra. Je to produkt přeměny a míšení minerálních a organických látek.

Atmosféra, hydrosféra a litosféra existovaly dříve než byl na zemi život, ale teprve objevením se živých organismů začaly mít význam prostředí.

Ta část země, která nese život, se nazývá ekosféra. Společenstva organismů a jejich neoživené prostředí jsou v přírodě propojeny mnohonásobnými strukturními a funkčními vzájemnými vztahy. Jakoukoliv do jisté míry jednotnou oblast exosféry označujeme jako biocenózu nebo ekosystém.

Každý ekosystém schopný samostatné funkce obsahuje nejméně dvě biologické složky: primární producenty a rozkladače. Mezi ně se může zapojit řetězec konzumentů (spotřebitelů).

Primární producenti jsou autotrofní organismy, které převádějí anorganické výchozí látky do organické vazby, a tím je pozdvihují na vyšší energetickou hladinu. Zelené rostliny a některé bakterie vytvářejí z oxidu uhličitého a vody fotosynteticky (pomocí slunečního záření) glycidy jako výchozí látky pro další syntézy.

Veškerý život na zemi spočívá na toku energie vyzařované sluncem do biosféry. I to poměrně malé množství zářivé energie, vázané ve formě latentní chemické energie fotosyntézou rostlin, dostává se na udržování biomasy a vitálních procesů všech článků potravního řetězce. Daleko větší část absorbovaného záření se přeměňuje bezprostředně v teplo; části této frakce je využito pro výpar vody a zbytek způsobuje vzrůst teploty zemského povrchu. Záření je tedy zdrojem energie, která ovlivňuje distribuci tepla, vody a organických látek. Vytváří předpoklady pro takové prostředí, které umožňuje udržovat život.

Exosféra přijímá sluneční záření ve vlnovém rozmezí přibližně od 290 nm do 3000 nm. Záření kratších vlnových délek je absorbováno ve svrchních vrstvách atmosféry ozonem a kyslíkem obsaženým ve vzduchu; míru absorpce dlouhovlnného záření určují tlak vodní páry a koncentrace oxidu uhličitého v atmosféře.

Část dopadajícího záření se od rostlinného povrchu odráží, fyziologická složka je absorbována a zbytek je propouštěn (transmise). Absorpci viditelného záření určují především chloroplastové pigmenty.

Záření je pro rostlinu zdrojem energie (fotoenergetické účinky) a stimulatorem vývoje (fotokybernetické účinky), ale může způsobovat i poškození rostliny (fotodestrukční účinky).

Rostliny jsou poikilotermní organismy, tzn. že jejich vlastní teplota má tendenci přibližovat se teplotě okolí.

Každý životní pochod probíhá jenom v jistém teplotním rozmezí a má svou optimální pracovní teplotu, pod níž a nad níž jeho účinnost klesá. Suchozemským cévnatým rostlinám se obvykle daří v širokém rozmezí teplot a nazývají se proto

eurytermní. Mezi vodními rostlinami, zvláště stélkatými, se vyskytují stenotermní druhy specializované na život ve velmi úzkých— a často extrémních— teplotních rozmezech.

Teplotní rozmezí pro fotosyntetický příjem uhlíku je u většiny rostlin v aktivním stadiu jen asi o 5 °C užší, než jsou hranice teplot, tak nízkých, že poškozují listy, a tak vysokých, že je usmrcují. Rozmezí optimálních teplot pro fotosyntézu a produkci sušiny nebývá ale zpravidla širší než 10- 15 °C a má zřejmý vztah k teplotnímu podnebí oblasti, kde daný druh roste. Totéž platí i pro růst rostlin. Má-li se populace udržet a má-li se druh ve svém areálu rozšiřovat, nestačí jen to, že jednotlivé rostliny jsou prostě schopny přežít v extrémních situacích a patřičně plnit své vegetativní funkce; musí být splněny i jejich požadavky na kvetení, zrání a klíčení semen. Rozmezí teplot, vhodných pro tyto procesy, se zpravidla liší od rozmezí pro růst a rozvoj vegetativních orgánů.

Rostliny potřebují mnoho anorganických prvků, pocházejících z minerálů anebo dostupných rostlinám v minerální formě po rozkladu organické hmoty. Minerální prvky rostliny přijímají jako ionty, a buď je začleňují do své hmoty, anebo je ukládají v buněčné šrávě. Bez některých z nich se život neobejde; to jsou jednak makroelementy neboli hlavní živiny: N, P, S, K, Ca, Mg a Fe, potřebné v dosti velkém množství, jednak mikroelementy čili stopové prvky: Mn, Zn, Cu, Mo, B a Cl. Rostlinné živiny jsou v půdě obsaženy buď v roztoku, anebo vázané. V půdním roztoku je rozpuštěn jen nepatrný podíl (méně než 0,2 %) celkové půdní zásoby živin. Asi 98 % biogenních prvků, obsažených v půdě, je uloženo v odpadu, humusu a těžko rozpustných anorganických sloučeninách, nebo zabudováno v minerálech.

Buněčný metabolismus uhlíku spojuje s vnějším prostředím výměna plynů. Při fotosyntéze spotřebovávají chloroplasty  $\text{CO}_2$ , jehož přísun musí být zajištěn, a uvolňují kyslík. Současně buňky ve dne i v noci přijímají kyslík potřebný pro dýchání a uvolňují oxid uhličitý.

Oxid uhličitý zaujímá v atmosféře asi 0,03 % objemu. Spotřebovaný  $\text{CO}_2$  se za přirozených podmínek znovu doplňuje pohybem podle nepatrného koncentračního gradientu. Nedostatečný přísun  $\text{CO}_2$  je často faktorem limitujícím výnos u suchozemských i vodních rostlin.

Na výměnu  $\text{CO}_2$  působí mnoho vnějších faktorů. Fotosyntéza, jako fotochemický proces, je samozřejmě přímo závislá na dostupnosti záření. Temnostní



reakce syntézy a dýchání jsou čistě biochemické procesy, limitované hlavně teplotou a dostupností  $\text{CO}_2$ .

Život vznikl ve vodě a voda je stále jediné prostředí, kde mohou probíhat biochemické procesy. Protoplazma jeví známky života, jen když je zásobena vodou- pokud vyschne, nemusí sice nezbytně odumřít, ale musí přinejmenším přejít do anabiotického stavu, v němž jsou životní projevy zastaveny.

Pro suchozemské rostliny, jejichž asimilující části jsou v kontaktu se vzduchem a neustále ztrácejí vodu výparem, je prvotním požadavkem zavedení vhodného vodního provozu.

Výpar je určován především deficitem tlaku vodní páry ve vzduchu (rozdíl mezi tlakem vodní páry při nasycení a aktuálním tlakem vodní páry), zatím co pro příjem vody je rozhodující množství vody v půdě.

Rostliny mohou absorbovat vodu celým svým povrchem, ale největší díl získávají z půdy. Vyšší rostliny přijímají vodu z půdy pomocí kořenů- orgánů specializovaných pro absorpci. Nižší rostliny jsou bez kořenů, a tak jsou závislé na přímém příjmu vody nadzemními orgány.

( Larcher 1988)

## Globální změna klimatu

Globální klimatické změny mohou být definovány jako dlouhodobé fluktuace teploty, množství srážek, rychlosti větru a ostatních složek atmosféry Země ( Krauchi 1993).

Pozorování z pozemních meteorologických stanic a z lodí na moři byla nashromážděna, opravena o nemeteorologické základy a interpolována do běžné sítě a průměrů oblastí aby byly odhadnuty změny teplot v globálním měřítku během minulých století. Tyto data ukazují, že dochází k oteplování o zhruba 0,5 °C, s viditelně kratším časovým úsekem rok od roku a desetiletí od desetiletí. Předpokládá se, že částečný podíl na tomto dlouhodobém ohřívání mají lidské činnosti, ale určení jak velkou roli hraje činnost člověka je obtížné posoudit (Wigley, Jones et al. 1997).

Ohřívání klimatu je porušení energetické rovnováhy mezi Zemí a vesmírem. Skelníkové plyny absorbují a vyzařují infračervené záření. Jelikož teplota klesá s výškou v zemské troposféře, vzrůst skleníkových plynů způsobuje, že vyzařování do vesmíru nastává ve vyšších, chladnějších oblastech, tudíž se snižuje záření do vesmíru. Tato dočasná nerovnováha se vstupující solární energií způsobuje ohřívání planety dokud nebude znovu obnovena rovnováha (Hansen, Laris et al. 1998).

Míra růstu CO<sub>2</sub> výrazně vzrostla na konci sedmdesátých let, za patnáct let se více než zdvojnásobila. Ale v posledních 20 letech je stálá, ačkoliv mírně pokračoval vzrůst používání fosilních paliv. Očividně vzrostla míra vychytávání spotřebiči CO<sub>2</sub>, oceány, nebo, pravděpodobněji, lesy a půdami.

Faktor, který především způsobuje pokles skleníkového oteplování, je pokles růstu množství CH<sub>4</sub>. Důvod tohoto poklesu není jistý. Zdroje atmosférického methanu jsou mokřiny, rýžová pole, fermentace v trávicím traktu a živočišné odpady, produkce fosilních paliv, spalování biomasy, přičemž hlavní mechanismus jeho odstraňování je reakce s hydroxylovými radikály v troposféře. Na zpomalení růstu množství methanu se podílí pravděpodobně několik faktorů, včetně změn ve vzrůstu

množství zdrojů. Je neopomenutelné, že se toto zpomalení vyskytuje současně s obdobím nedostatku ozonu. Pokud nedostatek ozonu zvýší hojnost troposférického vycytávače OH, a tak sníží poločas methanu, pak růst methanu může vzrůst, jak bude klesat množství chloroflourouhlovodíků (CFCs) a obnoví se ozon. Další faktor způsobující pokles skleníkového oteplování je zpomalování růstu CFCs. Produkce CFCs klesá vzhledem k restrikcím v jejich používání k ochraně ozonové vrstvy (Hansen, Sato et al. 1998).

Pokračující vzrůstání koncentrace atmosférického oxidu uhličitého způsobené antropogenními emisemi, podle předpovědí povede k významným změnám klimatu.

Zhruba jedna polovina současných emisí je absorbována oceány a suchozemskými ekosystémy, ale tato absorpce je citlivá na klima, stejně tak jako na koncentraci oxidu uhličitého v atmosféře a vytváří zpětnovazebnou smyčku (Cox, Betts et al. 2000).

Suchozemské ekosystémy jsou malým „úložištěm- deponiím“ uhlíku v porovnání s oceány, ale roční toky uhlíku mezi povrchem terestrických ekosystémů a atmosférou jsou srovnatelné s toky mezi oceány a atmosférou (Smith, Cramer et al. 1993).

Stoupající koncentrace CO<sub>2</sub> v atmosféře odráží současný globální cyklus uhlíku, ve kterém je více uhlíku do atmosféry uvolňováno než je absorbováno jeho spotřebiči. Limitace současných možností plného pochopení globálního cyklu uhlíku spočívá ve stanovení hodnověrné bilance uhlíku v systému „atmosféra- biosféra“. To především vyžaduje přesné stanovení nejen kapacit zdrojů, ale i spotřebičů (sinků) atmosférického uhlíku a to jak v měřítku globálním, tak v měřítku konkrétních oblastí (Ozenda et Borel 1990).

Průměrná globální povrchová teplota vzrostla zhruba o 0,6°C od konce 19. století. Většina tohoto vzrůstu se objevila ve dvou obdobích, Zhruba od roku 1910 do 1945 a od roku 1976 a největší současné oteplování je během zimy v netropických oblastech severní polokoule. Míra oteplování od roku 1976, 0,17°C/desetiletí, byla mírně vyšší než míra oteplování během let 1910- 1945 (0,14°C/desetiletí), ačkoliv celkový vzrůst teplot byl vyšší během období 1910- 1945. (Folland, Karl et al. 2001)

V polovině 18. století činila koncentrace CO<sub>2</sub> v atmosféře 270- 280 μmol mol<sup>-1</sup>, zatímco současná koncentrace CO<sub>2</sub> činí 350 μmol mol<sup>-1</sup> s ročním nárůstem 1,2 μmol mol<sup>-1</sup> (Conway, Tans et al. 1988).

Emise CO<sub>2</sub> do atmosféry stále pokračují, neboť nejsou jen důsledkem spotřeby fosilních paliv, ale odráží se na nich i rozsáhlé odlesňování především v tropických oblastech a změny ve využívání půdy. Přitom globální dynamika této emise a její regulace stále ještě není zcela jasná (Smith, Cramer et al. 1993).

Odhaduje se, že minulá a současná generace se podílejí ze dvou třetin na současném oteplování způsobeném CO<sub>2</sub>. Pokud by byly emise okamžitě zastaveny, vzhledem k době nutné k odstranění CO<sub>2</sub> z atmosféry a časové prodlevě charakteristické pro fyzikální odpověď klimatického systému, by minimálně dalších dvacet let docházelo k globálnímu vzrůstu teploty o 0,7 °C; to znamená, že je zde vazba dodatečného oteplování vyvolaného oxidem uhličitým i přes absenci emisí. Pokud by míra nárůstu emisí CO<sub>2</sub> pokračovala do roku 2025 a pak by byly sníženy na nulu, vzrůst teplot přibližně o 1,3 °C oproti předindustriálním podmínkám by se stále vyskytoval v roce 2100, zatímco konstantní emise oxidu uhličitého po roce 2025 by více než zdvojnásobily ohřívání v roce 2100 (Friedlingstein et Solomon, 2005).

V rámci suchozemských ekosystémů hrají lesní porosty významnou úlohu v globálním cyklu uhlíku. Je to nejen dáno podílem rozlohy lesů na celkové ploše suchozemských ekosystémů, která podle současných odhadů činí asi  $4,1 \cdot 10^9$  hektaru a množstvím deponovaného uhlíku v lesní vegetaci a půdách. Dlouhověkost je příčinou toho, že se v lesích na jistou dobu ukládá značná část uhlíku. Mimo deposit ve stromech je nesmírně významný i deposit uhlíku v lesních půdách (Dixon, Brown et al 1994). Síla sinků a tedy i konečná míra depozice uhlíku v lesních ekosystémech je ovlivňována řadou procesů.

Tyto procesy zahrnují:

- 1) přímý fyziologický účinek zvýšené koncentrace CO<sub>2</sub> na rostliny
- 2) konečnou reakci rostlin k měnícímu se klimatu
- 3) obhospodařování lesů zvyšující depozici uhlíku
  - údržba stávajících lesních sinků uhlíku
  - expanze lesních ploch a potenciálních sinků uhlíku

(Smith, Cramer et al. 1993)

Reakce rostlin na měnící se klima, které je důsledkem působení skleníkových plynů, mezi nimiž má právě CO<sub>2</sub> velice významný podíl, lze odhadnout z výsledků rozličných globálních cirkulačních modelů (GCM). Tyto modely zvažují možnost potenciálních účinků dvojnásobné koncentrace CO<sub>2</sub> v atmosféře. Je nanejvýš pravděpodobné, že k tomuto nárůstu dojde již v průběhu příštích padesáti let (Harrington 1987). Odhady GCM, které se zabývají účinky nárůstu koncentrace CO<sub>2</sub>, se zabývají především globálními změnami v distribuci vegetace (změny vegetačních pásem) a s tím spojených změn v depozici uhlíku. Procesy, jako je hynutí lesů v důsledku nárůstu rozlohy aridních oblastí se podle těchto předpovědí mohou uskutečňovat s časovou periodou desetiletí až staletí. Hynutí lesů a nárůst množství lesních požárů, které mohou být důsledkem zrádnějšího klima, povede k výraznějšímu uvolňování CO<sub>2</sub> do atmosféry, což dále zesílí skleníkový efekt (tzv. pozitivní zpětná vazba). Na straně druhé ale bude zřetelný nárůst depozice uhlíku v lesních ekosystémech jako důsledek expanze lesů (např. expanze boreálních lesů do oblasti tundry, tzv. negativní zpětná vazba). Tento optimistický předpoklad je ale poněkud zmírněn tou skutečností, že migrace lesa se uskutečňuje v měřítku staletí (Price et Apps 1995).

Dopad na globální koloběh uhlíku, mají také změny ve využívání krajiny, které jsou spojeny především s rozsáhlým odlesňováním, ke kterému dochází v tropických oblastech. Lze předpokládat, že toto odlesňování bude pokračovat i v budoucnu, což bude významným zdrojem uhlíku uvolňovaného do atmosféry. Tyto nepříznivé tendence mohou být zmírněny lesnickými opatřeními vedoucími k ochraně lesů, či takovými způsoby jejich obhospodařování směřujícími ke zvýšené depozici uhlíku (Riswan et Hartantin 1995).

Bylo zjištěno, že různé pozemské biologické druhy reagují nelineárním způsobem na klimatické změny jejich prostředí. Například na Aljašce došlo ke snížení míry růstu a z toho důvodu snížení vychytávání uhlíku v ekosystému smrků, v průběhu posledních 90 let, očividně v důsledku sucha. Toto snížení růstu je výraznější než pozitivní efekty prodloužení vegetativního období (Barber, Juday et al. 2000).

Klimatické modely naznačují, že přímé efekty antropogenního oteplování mohou také způsobovat změny v denním rozsahu teplot. Nicméně, pozorované změny denního rozsahu teplot změněné v průběhu posledního století mohou být

vysvětleny změnami ve fyziologickém chování rostlin ( a tudíž možná nepřímým důsledkem klimatických změn) (Collatz, Bounoua et al. 2000).

Antropogenní zásahy v průběhu dvou století přispěly k přeměně velké části severoamerických boreálních lesů z jehličnatých na listnaté a ovlivnění různých klimatických proměnných (Kronberg et Watt 2000).

V Evropě bylo na základě fenologických sledování zjištěno prodloužení vegetativního období o 11 dnů od roku 1951 (Wuethrich 2000).

Pozorované změny koncentrací atmosférického CO<sub>2</sub> představují změnu ve výživě rostlin, k jaké nedošlo během posledních 500 000 let a může být další důležitou stránkou pro změny využívání půdy při tvarování chování budoucího ekosystému. Pozorování ukazují, že v mnohodruhovém ekosystému, odpovědi nástupnických a dalších ekologických procesů na zvýšenou koncentraci oxidu uhličitého se liší podle rostlinného druhu a dostupnosti světla (Hattenschwiler et Korner 2000). V průběhu času budou tyto odlišné odpovědi ovlivňovat ekologické procesy, skladbu nakonec diverzitu druhů v ekosystémech. Většina druhů ukazuje při zvýšené koncentraci CO<sub>2</sub> zvýšenou fotosyntézu a sníženou koncentraci dusíku (a tudíž sníženou kvalitu potravy) (Korner 2000). Často je pozorována zvýšená akumulace biomasy a půdní uskladnění uhlíku (Ross, Tate et al. 2000).

Odpověď je také citlivá na další faktory prostředí. V aridních ekosystémech, například vytrvalých keřů byl pozorován dvojnásobný růst při 50 % vzrůstu oxidu uhličitého během období dešťů, ale neobjevil se zvýšený růst během období sucha (Smith, Huxman et al. 2000).

Mnohé rostlinné druhy budou schopné přizpůsobit se předpokládané míře klimatický změn, ale mnohé další nikoliv. Invazivní druhy s vysokou rozsávací kapacitou se adaptují nejrychleji, často bude výsledkem zvýšená dominance rychle rostoucích plevelových druhů v krajině. Jiné druhy naopak mohou vymřít. Míra vymření bude pravděpodobně nejvíce znát ve vysokých zeměpisných šířkách a horských oblastech a tam kde jsou druhy izolovány, migraci brání velké vodní plochy nebo jsou ovlivňovány dalšími vlivy lidské činnosti (Malcolm et Markham 2000).

V arktických oblastech bude teplejší klima podporovat vznik nových rostlinných společenstev (během století) a zvyšovat akumulaci biomasy, především u křovinných druhů (Epstein, Walker et al 2000). Avšak, permafrost a vegetace tundry jsou významně ovlivňovány lokálním regulováním a budou odpovídat na změny

klimatu špatně srozumitelnými nelineárními a nekontinuálními procesy. Z toho důvodu je taková odpověď těžko předpovědatelná (Camill et Clark 2000).

Citlivost lesních ekosystémů ke klimatickým změnám závisí na jejich fenologii, kdy boreální lesy jsou nejvíce citlivé ke změnám teploty a frekvenci závažných mrazů, lesy mírných pásem jsou především citlivé ke změnám teploty a jehličnaté lesy subtropických oblastí jsou citlivé na změny vlhkosti (Kamer, Leinonen et al. 2000). V Kanadských boreálních lesích výsledky změn teploty a frekvence mrazů také ovlivňují riziko vypuknutí nákazy hmyzem a lesní požáry, které hrají hlavní roli v odpovědi lesů (Fleming 2000). Na středovýchodně USA pravděpodobně vzroste množství druhů dubů a borovic a vytlačí druhy javorů, buků a bříz (McKenney- Easterling, DeWalle et al 2000). Nicméně zvýšené množství srážek a větrů může také vyvolat poruchy. Mimoto změny teplot a srážek, kromě jejich přímého efektu na fyziologii rostlin, mohou také mít rozličný vliv na biochemické procesy v lesních ekosystémech. Toto může vyvolat extrémní souhrn nepřímých odpovědí, které jsou často přehlíženy ve studiích sledujících účinek (Johnson, Susfalk et al. 2000).

Zranitelnost mokřin změnami klimatu závisí na poloze mokřin v hydrologické krajině, s tím, že ty, které jsou závislé na srážkách jako na primárním zdroji vody, jsou nejcitlivější (Winter 2000). Vlivy mohou být v měřítku změn ve struktuře společenstva až po změny v ekologických funkcích a od zániku po nárůst (Burkett et Kusler 2000). V boreálních oblastech změny v odtokovém chování pozmění influx organického uhlíku do jezer a z toho důvodu nepřímo ovlivní jezerní ekosystém tím, že změní pronikání škodlivého UV záření (Pienitz et Vincent 2000).

Nové studie ukazují, že na východě USA pravděpodobně způsobí mírné změny klimatu, zvláště pokud budou doprovázeny vzrůstem srážek, vzrůst úrody. Ačkoliv výraznější zvýšení teplot bez odpovídajícího zvýšení srážek by měly většinou negativní vliv, toto může být alespoň částečně kompenzováno přímým fertilizačním účinkem oxidu uhličitého (Alexandrov et Hoogenboom 2000). Experimenty s produkcí rýže v Indii ukazují stejný kompenzační efekt vzrůstu teploty ( která snižuje výnosy) a vzrůst srážek a přímý účinek CO<sub>2</sub> ( který zvyšuje produkci) (Saseendran, Singh et al 2000). Tyto studie nepočítají s variabilitou klimatických změn nebo změnami využití půdy. Mimoto neberou v úvahu vliv změny klimatu na rozložení a intenzitu propuknutí různých chorob rostlin. Takové vlivy je těžké zhodnotit na globální úrovni (Chakraborty, Tiedemann et al 2000).

## Základní metabolismus rostlin

Soubor životně důležitých metabolických reakcí, probíhajících ve všech organismech, se označuje jako základní látková přeměna čili primární metabolismus.

Produkty primárního metabolismu jsou:

1. funkční látky ( např. enzymy, nukleové kyseliny),
2. strukturální součásti protoplastů ( proteiny, membránové lipidy),
3. meziprodukty metabolismu,
4. zásobní látky ( škrob, glykogen, tuky)

(Hubík, Dušek et al. 1989).

Sekundární metabolity jsou látky, které jsou vytvářeny rostlinami, ale nejsou nezbytné pro základní fotosyntetický nebo respirační metabolismus. Mnohé z těchto sloučenin mají významnou ekologickou roli zatímco také ukazují fylogenetickou spřízněnost, takovou, že detaily distribuce chemických struktur mezi taxony nemohou být vysvětlovány bez ohledu na evoluční vztahy. Nicméně se záhy ukázalo, že fylogenetické vztahy mezi rostlinami nejsou dostatečné k odhadnutí funkčních úloh sekundárních metabolitů. Například některé chemicky podobné sloučeniny jako jsou terpeny mohou mít množství funkcí, včetně ochrany před býložravci, toxicitu vůči houbám a lákání opylovačů, ale mohou také fungovat jako rozpouštědla pro vysokomolekulární (Theis et Lerdaу 2003).

Sekundární metabolismus představuje reakce vytvářející látky specifické pro určité taxony, zejména rostlinné, vyznačující se často určitým farmakologickým účinkem.

Sekundární metabolity jsou charakterizovány těmito znaky:

1. Nejsou rozšířeny všeobecně, nýbrž jen v určitých skupinách organismů.
2. Nejsou zpravidla zdroji energie, jejich rozklad nemá význam pro syntetizující buňku. Nepatří k základnímu biochemickému vybavení buňky, jejich biologická funkce se zpravidla projevuje až na úrovni orgánů nebo organismů.

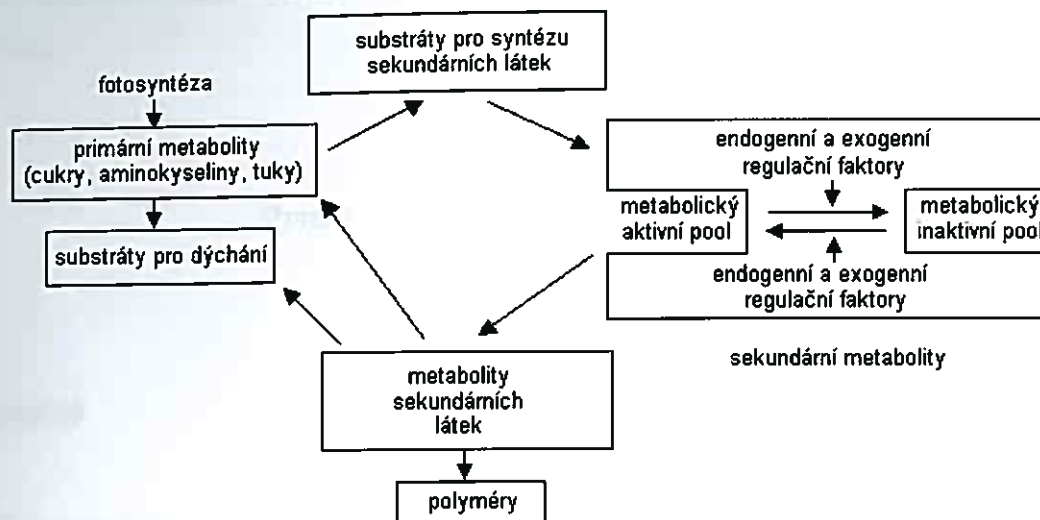


3. Tvoří se jen v určitých stádiích ontogenetického vývoje organismu.
4. Jejich rozklad a syntéza je pomalejší, ukládají se v určitých orgánech.

Jen malá část sekundárních metabolitů jsou odpadní látky, které se dále nepřeměňují. Přeměna a rozklad se děje převážně oxidačními pochody. Podle rozsahu oxidačních změn se látka buď zapojí do primárního metabolismu, event. jako substrát pro dýchání, nebo přechází v konečný produkt, obvykle polymerizací.

#### Vztahy primárního a sekundárního metabolismu

Primární látky	Sekundární látky
Cukry	přeměněné cukry: desoxycukry, methylované cukry oxidační produkty: kys. Uronové, cukerné dikarboxylové kyseliny, askorbová kyselina redukováné produkty: cukerné alkoholy, cyklitoly
Kyseliny octová a malonová	acetylenové deriváty: deriváty mastných kyselin polyketidy: anthracenové deriváty, tetracykliny, griseofulvin, deriváty pyridinu
Isopentanyldifosfát	Terpenoidy
Kyselina pyrohroznová, glycin	porfyriny: cytochromy, hemoglobin, chlorofyl, kobalaminy, žlučová barviva
Kyselina anthranilová	alkaloidy (chinolinové a chinazolinové), naftochinony, antrachinony
Aminokyseliny	aglykony kyanogenních glykosidů, glukosinoláty, alkaloidy, peniciliny
Fenylalanin, tyroxin	fenylpropany, kumariny, flavonoidy, ligniny, fenoly, alkaloidy
Puriny	methylované puriny, purinová antibiotika



Obr. 1 Oběh látek sekundárního metabolismu (Barz W.: Ber. Deut. Bot. Ges. 88, 71, 1975)

Tvorba přírodních látek vychází z poměrně malého počtu prekurzorů. Variabilita primárních látek je dána převážně změnou sekvence základních jednotek, např. aminokyselin u peptidů a proteinů. U sekundárních látek jde zpravidla o přeměnu funkčních skupin původních molekul a jejich spojování (Hubík, Dušek et al. 1989).

Hranice mezi primárními a sekundárními metabolity je nejasná. Sekundární metabolity mohou být na základě jejich biosyntetického původu rozděleny do tří hlavních skupin: terpenoidy, alkaloidy a fenylypropanoidy a přidružené fenolické sloučeniny. Terpenoidy obsahují jak primární metabolity, tak více než 25 000 sekundárních metabolitů, které jsou všechny odvozeny od prekurzoru, kterým je isopentenylidifosfát. Primární a sekundární metabolity nemůžeme rozlišit na základě jejich prekurzoru, chemické struktury či biosyntetického původu. Například mezi diterpeny a triterpeny můžeme nalézt jak primární tak sekundární metabolity. Obdobně esenciální aminokyselina prolin je klasifikována jako primární metabolit, zatímco její C<sub>6</sub> analog kyselina pipecolová je považována za alkaloid a tudíž sekundární metabolit. Pokud chybí platné rozlišení založené na struktuře či biochemii, je nutné vrátit se k funkčním definicím, kdy primární metabolity se podílí na výživě a základních metabolických procesech v rostlině a sekundární metabolity

ovlivňují ekologické interakce mezi rostlinou a jejím prostředím (Croteau, Kutchan et al. 2000).

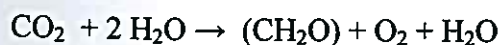
## Primární metabolismus

### *Fotosyntéza*

Fotosyntéza je jeden z nejstarších a současně nejdůležitějších dějů v živé přírodě, protože umožňuje existenci chemotrofních organismů:

1. Zachycuje sluneční energii a z nejjednodušší sloučeniny uhlíku, oxidu uhličitého, vyrábí organickou hmotu pro výživu chemotrofů.
2. Je hlavním producentem kyslíku naší planety, nepostradatelného pro existenci aerobních organismů.

Z fyzikálního hlediska je fotosyntéza přeměnou energie slunečního záření na energii chemickou biologickým objektem. Chemicky představuje fotosyntéza velmi náročný úkol: převedení uhlíku z nejméně oxidované formy o nízké energii, oxidu uhličitého na redukovaný materiál o vysoké energii- sacharidy. Je to tedy silně endergonický redukční proces: energii poskytuje sluneční záření, zachycované fotoreceptory (chlorofylem) a redukční síla pochází u vyšších rostlin z vodíku vody. Redukce CO<sub>2</sub> na cukry je pak spřažena s oxidací H<sub>2</sub>O, vedoucí ke vzniku O<sub>2</sub>,



kde (CH<sub>2</sub>O) představuje manosovou jednotku molekuly sacharidu, jejíž vznik vystihuje sumární rovnice



Fotosyntéza probíhá ve dvou oddělených, ale na sebe navazujících fázích- světlé (světelné) a temné (temnotní). Světlá fáze (reakce) je fotochemický děj spočívající v přeměně energie fotonů slunečního záření na energii chemickou.

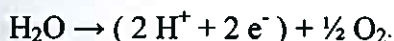
Energie záření se nejprve mění na energii excitovaných elektronů, která se pak v „biochemické baterii“, složené z oxidoreduktás, používá na výrobu makroergických sloučenin- ATP, zdroje chemické energie, a NADPH, energii bohatého redukovala.

Světlou reakci provádí fotosyntetizující aparát, který u všech fototrofů sestává ze tří součástí:

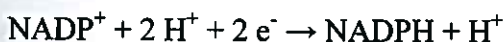
1. Fotoreceptory, které tvoří pigmenty absorbující záření.
2. Fotosyntetické reakční centrum, přeměňující světelnou energii na energii elektrickou, tj. provádějící excitaci elektronů absorbovaným zářením.
3. Řetězec (baterie) oxidoreduktás, přeměňující energii excitovaných elektronů na energii chemickou (výroba ATP a NADPH).

V nejdokonalejší podobě (u oxygeničích fototrofů) sestává světlá fáze ze čtyř procesů:

- a) Fotochemická excitace fotoreceptoru (chlorofylu), tj. zachycení (absorpce) slunečního záření. Výsledkem tohoto fyzikálního děje je vznik excitovaných elektronů (tj. jejich přesun do vyšších energetických hladin molekuly).
- b) Fotooxidace (fotolýza) vody

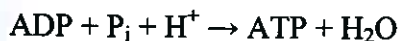


- c) Fotoredukce  $\text{NADP}^+$



Elektrony použité v této endergonické reakci nepocházejí z fotolýzy vody (ta poskytuje na redukci  $\text{NADP}^+$  pouze 2  $\text{H}^+$ ), ale jsou elektrony chlorofylu, které byly excitovány slunečním zářením.

- d) Fotofosforylace (tvorba ATP)



Paralelně s unikátní světlou fází probíhá temná fáze (reakce) fotosyntézy. Ta už není jedinečná pro fototrofy- většina jejích reakcí je identická nebo podobná jako obrácené reakce glykolýzy a obrácená regenerační fáze pentosového cyklu.

Temná reakce sestává ze série enzymových reakcí, které využívají energii a redukovač, vyrobené ve světlé fázi, k redukci  $\text{CO}_2$  na cukry. Reakce probíhají v cyklických sledech.

Biosyntéza sacharidů se odehrává v kapalně části chloroplastu (stroma) a v cytosolu a zahrnuje řadu enzymových reakcí. Je realizovaná několika metabolickými cestami, z nichž všechny nejsou zatím objasněny. Nejznámějším je tzv. hexosafosfátový- pentosa fosfátový cyklus, nazývaný podle objevitele M. Calvina (1930) též Calvinův cyklus.

Calvinův cyklus používá k fixaci  $\text{CO}_2$  většina rostlin a řas; označujeme je jako  $\text{C}_3$ , protože prvním produktem asimilace je tříuhlíková sloučenina, 3-fosfoglycerát. M. Hatch a C. Slack v roce 1970 objevili, že některé rychle rostoucí tropické rostliny (např. cukrová třtina a bambus) jsou schopné fixovat  $\text{CO}_2$  jiným způsobem. Primárním akceptorem  $\text{CO}_2$  je přitom fosfoenolpyruvát a meziproductem místo 3-fosfoglycerátu oxalacetát, který se dále přeměňuje převážně na malát nebo aspartát. Hovoříme proto o čtyřuhlíkové (nebo též  $\text{C}_4$ ) cestě a o  $\text{C}_4$ -rostlinách. Dekarboxylací oxalacetátu, resp. z něho vzniklého malátu nebo aspartátu se může vytvořit v místě Calvinova cyklu vysoká koncentrace  $\text{CO}_2$ , což umožňuje velkou rychlost a účinnost fotosyntézy.

Oxid uhličitý fixovaný při  $\text{C}_4$ -cestě nemusí být nutně zpracován v Calvinově cyklu. Byly navrženy dvě odlišné cesty přenosu uhlíku ze čtyřuhlíkových dikarboxylových kyselin až do sacharidů. Může se též tvořit malát a aspartát, které mohou vstupovat do dalších metabolických přeměn.

Pro rostliny z čeledi *Crassulaceae* je charakteristický vyslovený rytmus den/noc v obsahu  $\text{C}_4$ -dikarboxylových kyselin, zejména malátu. Přes noc se hromadí produkt fixace, malát, vznikající při  $\text{C}_4$ -cestě z oxalacetátu a ukládá se do vakuol. Ve dne dochází k jeho dekarboxylaci a uvolněný  $\text{CO}_2$  vstupuje do Calvinova cyklu. Tento typ asimilace, při kterém se uplatňují  $\text{C}_3$  i  $\text{C}_4$ -karboxylační systémy, se označuje CAM.

## *Fotorespirace*

Z důvodů ještě neznámých, je ještě většina rostlin schopná během ozáření konsumovat též  $O_2$  a uvolňovat  $CO_2$ . Proces je nazýván fotorespirace (světelné dýchání) a liší se od mitochondriální respirace, kterou užívají rostliny při heterotrofním metabolismu. Je umožněn druhou katalytickou aktivitou ribulosa- 1,5-bisfosfátkarboxylázy, vedoucí ke vzniku fosfoglykolátu. Ten je pak při fotorespiraci, probíhající v peroxizomech, přeměňován účinkem  $O_2$  na glyoxalát. Při tom vznikající peroxid vodíku je rozkládán katalásou. Glykolát se tvoří z ribulosa- 1,5-bisfosfátu přijetím  $O_2$  místo  $CO_2$ , za vzniku peroxidového meziproductu.

Fotorespirace sice znamená pro rostlinu ztrátu absorbovaného  $CO_2$ , ale umožňuje jí syntézu aminokyselin glycinu a serinu. Glycin vzniká z glyoxylátu účinkem aminotransferázy a v mitochondriích pak probíhá jeho přeměna na serin.

## *Metabolismus dusíku*

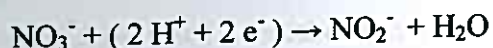
Zelené rostliny i velká část nižších chlorofylu prostých rostlin a hub, vycházejí při výrobě svých součástí, obsahujících dusíkové atomy v molekule, z iontů  $NH_4^+$  které získávají z půdy. Mohou tedy tvořit veškeré aminokyseliny a bílkoviny svého těla z anorganického zdroje dusíku; hovoříme proto o autotrofii dusíku.

Dusík použitelný pro rostliny je jen malou částí celkového množství mineralizovaného dusíku v půdě. Rostliny absorbují jen tu část, kterou jim přenechají půdní mikroorganismy, které s nimi o dusík soutěží.

Některé rostliny žijící v kyselých půdách (tzv. kalcifyty) nemohou zachycovat  $NH_4^+$  z prostředí. Dovedou však tvořit tyto ionty redukcí hlavní skladovací formy dusíku v půdě- nitrátů. Tento přechod nejvýše oxidované formy dusíku (formální oxidační číslo +5) na nejredukovanější formu (formální oxidační číslo -3), představující transfer 8 elektronů na  $NO_3^-$ , je silně endergonickou reakcí.

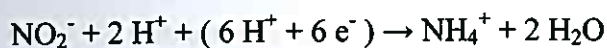
Proces je označován jako metabolismus anorganického dusíku a probíhá ve dvou stupních:

1. Redukce nitrátu na nitrit



Reakce je realizována nitrátreduktázovým komplexem umístěným v cytoplasmě a jeho kofaktory jsou ionty železa a molybdenu a FAD nebo FMN. Jako donory elektronů slouží NADH nebo NADPH, pocházející pravděpodobně z glykolýzy nebo pentosového cyklu.

## 2. Redukce nitritu na amoniak



Uskutečňuje ji nitritreduktáza, enzym chloroplastů obsahující ionty železa. Donorem elektronů je redukovaný ferredoxin, vznikající ve světlé reakci fotosyntézy; přenáší stupňovitě 6 elektronů na  $\text{NO}_2^-$ .

## ***Metabolismus síry***

Rostliny s autotrofním metabolismem síry ji přijímají z půdy ve formě síranů (formální oxidační číslo +6) a přeměňují je na redukované organické sloučeniny (formální oxidační číslo -2), jako jsou sírné aminokyseliny (cystein, methionin) a sírné heteroglykosidy (sinigrin, sinalbin aj.). Hovoříme o disimilaci (nebo redukci) síranů, desulfurikaci nebo též sulfátové dýchání.

## **Sekundární metabolismus**

Sekundární metabolity jsou volně definovány jako produkty metabolismu organismu, které nemají výraznou funkci v metabolismu producenta, ačkoli mohou poskytovat selektivní výhody.

Mnohé sekundární metabolity získaly během vývoje dokonce základní důležitost pro život produkčního organismu (např. rostlinné hormony). Jinak nabyly

ekologického významu a fungují jako atraktanty (vábívé látky) (barevné a pachové látky), odpuzující látky a toxické obranné nebo útočné látky (některé alkaloidy, srdeční glykosidy). Některé sekundární metabolity působí jako kofaktory enzymů, jiné jako stavební materiál buněčných stěn, ochrana před světlem nebo jako skladovací formy dusíku a uhlíku. Jiné sekundární metabolity hrají úlohu při fotosyntéze nebo transportu iontů, vyvolávají zvýšení stability membrán atd. Podle biologických funkcí můžeme sekundární metabolity rozdělit na tyto hlavní skupiny:

1. Efektory působící v buňce, která je syntetizovala, tj. intracelulární přenašeče informací.
2. Efektory účinkující na jiné buňky téhož organismu, tj. intercelulární přenašeče informací
3. Efektory působící na jiné organismy (rostlinná barviva, vůně květin, antibiotika, insekticidy, fytoalexiny, toxiny, odpuzující látky)
4. Faktory umožňující využívání specifických ekologických situací (chelatační činidla, antibiotika a inhibitory antibiotické aktivity).
5. Skladovací formy odpadních produktů primárního metabolismu.

Sekundárních metabolitů je nepředstavitelně mnoho. Známe jich několik desítek tisíc a stále přibývají nové (Vodrážka 1996).

Rozvoj rozmanitosti příbuzných sekundárních metabolitů u rostlin je stále velmi málo známý. Často se předpokládá, že rozvoj sekundárních metabolitů rostlin je řízen specializovanými hmyzími býložravci a na základě tohoto modelu je očekáváno, že se příbuzné sloučeniny liší v jejich vlivu na specializované býložravce. Jedním z možných vysvětlení pro rozmanitost strukturně příbuzných metabolitů je, že se nové sloučeniny vyvíjejí v neustálých závodech ve zbrojení mezi rostlinou a jejími specializovanými hmyzími býložravci, v těchto závodech rostliny syntetizují nové sloučeniny, aby unikly svým škůdcům a ti se naopak přizpůsobují těmto sloučeninám. Tento model předpokládá, že se příbuzné sloučeniny liší ve svých toxických a odstrašujících účincích (Macel, Klinkhamer et al. 2002).

Předpoklad, že během vývoje vyšších rostlin, se vyvíjely nové formy sekundárních metabolitů, je implicitní pro jejich používání v taxonomii a v ekologické roli jako je ochrana před býložravci a patogeny a jako podněty pro opylení a mechanismy rozptylu semen (Harborne 1993).

Sekundární metabolismus navazuje na metabolismus primární: sekundární metabolity se tvoří biosyntézou, přeměnami a odbouráváním z meziproductů



primárního metabolismu. Jejich důležitým stavebním materiálem jsou kódované aminokyseliny nebo jejich prekurzory (např. šikimát), acetyl- a sukcinyl-CoA a koenzymem A aktivované další karboxylové kyseliny, isopentenylidifosfát, sacharidy. Jsou to často sloučeniny tvořící klíčové body větvení primárního metabolismu.

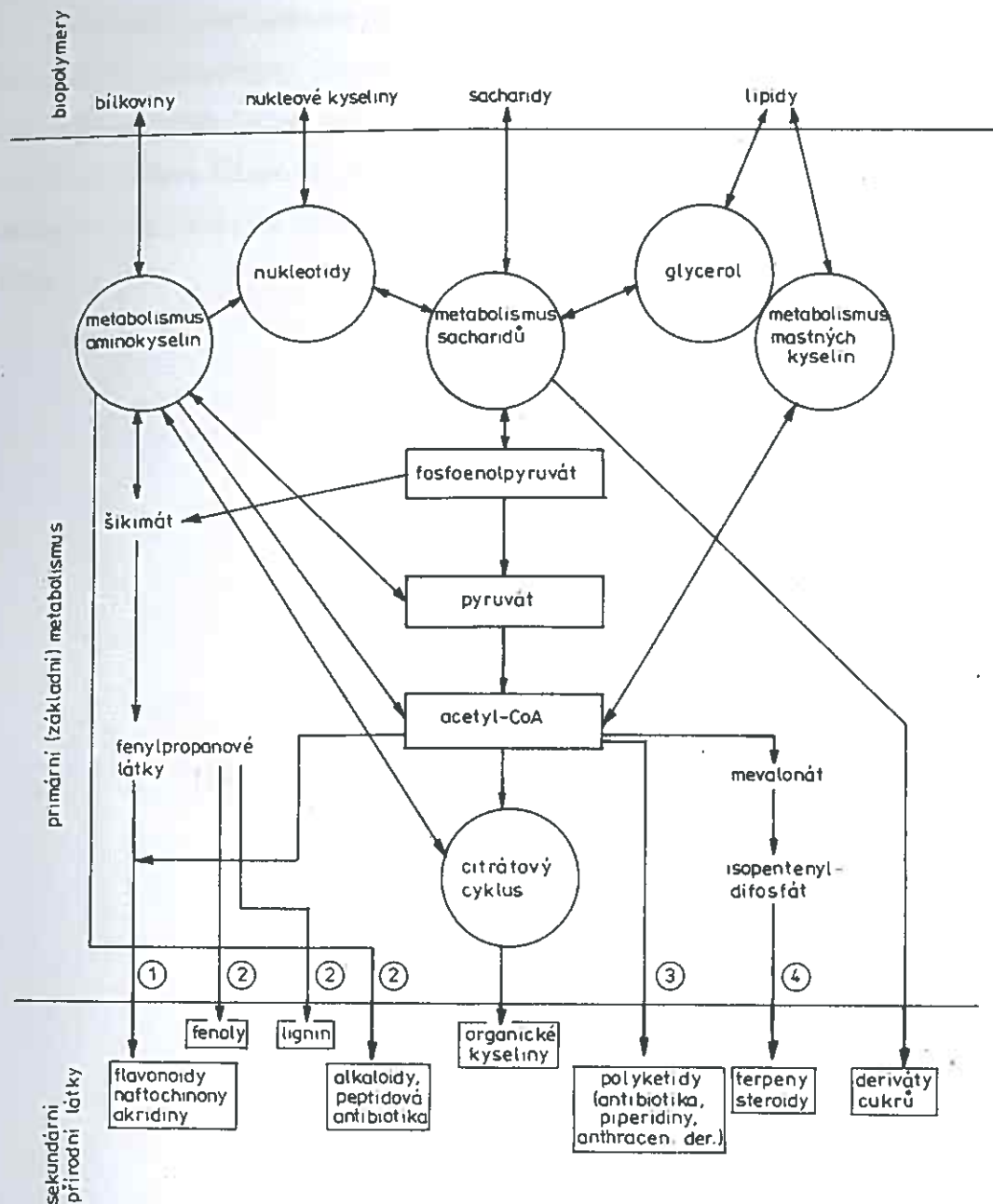
V mnohobuněčném organismu je sekundární metabolismus výsledkem specializace buněk, umožněné jejich diferenciací a uplatněním regulačních mechanismů. Proto jsou sekundární metabolity většinou vyráběny jen ve specializovaných tkáních během určitého stádia vývoje nebo diferenciacie produkčního organismu.

Tvorba sekundárních metabolitů je koordinovaný děj, sekundární metabolismus je zapojen do programu specializace a vývoje buněk. Dalším rysem biosyntézy sekundárních metabolitů je precizní kontrola množství a aktivity enzymů řídících vznik prekurzorů a konečných produktů a striktní kompartmentace, lokalizace a uspořádání těchto enzymů v metabolických drahách.

Syntéza sekundárních látek odčerpává stavební materiál a energii ze základního metabolismu, a proto negativně ovlivňuje růst a rozmnožování organismu. To, že k ní přesto dochází, musí mít tedy závažné důvody. V úvahu přichází několik možností.

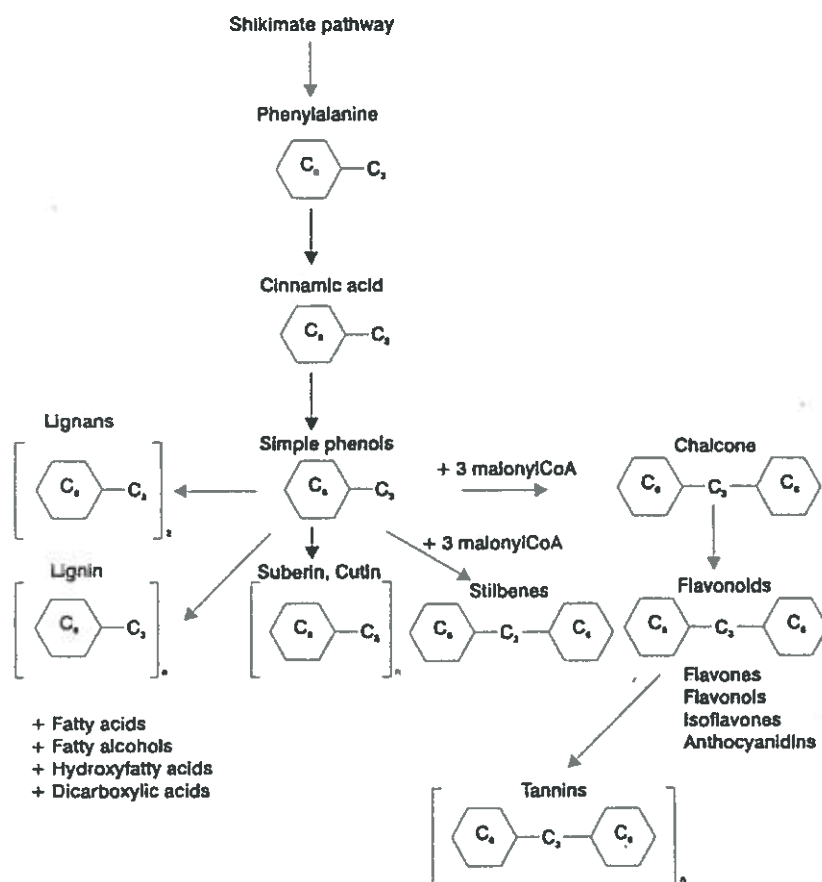
- a) Sekundární metabolity vznikají jako výsledek detoxikace látek, které se nahromadily během primárního metabolismu (tzv. teorie metabolického vyměšování). Např. většina rostlin neumí odbourávat tryptofan a aromatické aminokyseliny fenylalanin tyroxin, a hromadí proto sekundární metabolity, které z těchto látek vznikají (alkaloidy, deriváty skořicové kyseliny).
- b) Sekundární metabolity jsou vyráběny protože jejich funkce jsou nezbytné, zejména působí jako chemické signály, umožňující koordinaci metabolismu různých specializovaných buněk (mnohé hormony a neurotransmitéry), koordinují aktivitu organismů téhož druhu (feromony) a vztahy mezi různými skupinami organismů v ekosystémech.
- c) Na základě rozsáhlých studií produkce sekundárních metabolitů u mikroorganismů byla vyslovena teorie nevyváženého růstu. Předpokládá, že mechanismus kontroly primárního metabolismu

nestačí zabránit nadprodukcii určitých sloučenin, kterou se snaží vyrovnávat zastavením růstu mikrobiální kultury. Protože tyto látky mohou být toxické, sekundární metabolismus odklání jejich syntézu na výrobu neškodných produktů, které jsou z buněk vylučovány. Podle této teorie by měl sekundární metabolismus zvyšovat životnost organismu (Vodrážka 1996).



Obr. 2 Vztahy mezi primárním a sekundárním metabolismem. Název metabolické cesty: šikimátová (1), aminokyselinová (2), acetátová (3) a nebalonová (4) (Podle D. Schlee) (Vodrážka 1996)

Příkladem sekundárních metabolitů a rozličnosti jejich funkcí mohou být třeba fenolické sloučeniny. Tyto sloučeniny jsou velmi důležitými sekundárními metabolity, produkovanými každou vyšší rostlinou a pravděpodobně každou rostlinnou buňkou. Chemicky jsou rostlinné fenoly velmi heterogenní a mohou zahrnovat jednoduché monomery až velmi velké polymery (Cviková et Hrubcová 1999).



Obr. 3 Biosyntetický původ rostlinných fenolů jako produktů metabolismu fenylypropanu (Heldt 1997).

Fenolické sloučeniny mohou být nalezeny v cytoplasmě, vakuolách, buněčných stěnách a místech jejich biosyntézy (plastidech, mikrozomech, endoplasmatických retikulech), to značí velký význam těchto sloučenin v životě rostlin (Zaprometov 1989).

Míra syntézy a přeměny fenolických sloučenin může odrážet fyziologický stav a ukazuje na jejich schopnost účastnit se zásadních metabolických procesů (Molgaard et Ravin 1988).

Funkce fenolických sloučenin v rostlinách jsou stejně rozdílné jako jejich strukturní varianty. Jejich význam v prostředí, obzvláště ve vztahu k signalizaci (pigmenty rostlin, ochrana před býložravci). Nízkomolekulární fenolické sloučeniny slouží jako ochrana před UV zářením (Lichtenthaler et Schweiger 1998). Také jsou zapojeny do interakcí rostlina- houba (tvorba fytoalexinů (Niemann 1990). Dále fungují jako komplexní. Polymerní složky povrchových a oporných struktur jako suberin, lignin a další složky buněčné stěny (Hahlbrock et Grisebach 1979).

Poměr mezi volnými a glykosidickými formami kyseliny ferulové a p-kumarinové může být charakteristickým rysem exprese pohlaví v reprodukčních pupenech *Populus tremula*. Reprodukční pupeny samčích rostlin jsou bohaté na volnou kyselinu ferulovou a p-kumaronovou, zatímco samičí rostliny obsahovaly vyšší množství glykosidů těchto kyselin (Lapa et Udre 1986).

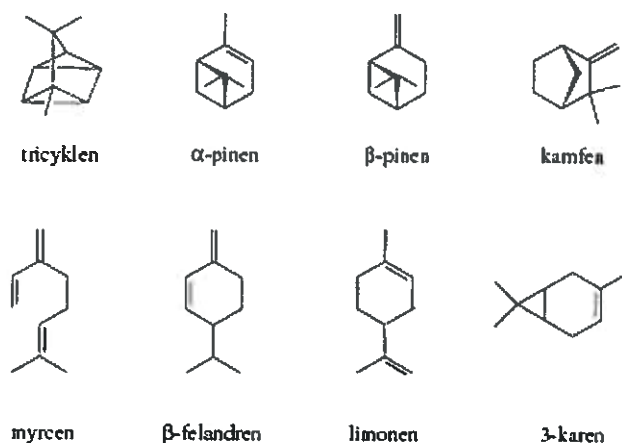
Bylo zjištěno, že fenolické sloučeniny se podílejí na růstu vývoji rostlin, kdy růst a vývoj rostlin se týkají vzájemné koordinace buněčného dělení, růstu buněk a jejich diferenciaci. Ačkoliv patří deriváty fenylopropanu mezi sekundární metabolity, účastní se nebo významně ovlivňují primární funkce rostlinného systému (Cviková et Hrubcová 1999).

## Vliv ekologických faktorů na produkci isoprenoidů

### *Obecná charakteristika VOC a isoprenoidů a jejich role u rostlin*

Jedním z nejzáhadnějších přírodních procesů je vylučování podstatné části (může být do 10 %) asimilovaného uhlíku ve formě těkavých organických sloučenin (volatile organic compounds – VOCs) do atmosféry rostlinami. VOC jsou produkovány rozličnými fyziologickými procesy v množství různých rostlinných tkání a samy jsou velmi různorodé (30 000 sloučenin) a patří mezi ně alkány, alkeny, alkoholy, aldehydy, étery, estery a karboxylové kyseliny (Fehsenfeld et al. 1992).

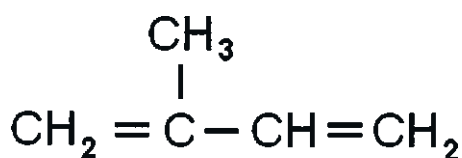
Těkavé isoprenoidy patří ke skupině biogenních sloučenin, které je možné obecně zařadit mezi těkavé (VOC) nebo polotěkavé (SVOC) organické sloučeniny. V globálním měřítku je produkce tohoto druhu isoprenoidů významná a zásadním způsobem ovlivňuje chemii atmosféry. Ty které významně ovlivňují chemické procesy v atmosféře se vyznačují nepříliš vysokými body varu (155- 185 °C) a nízkou polaritou molekuly, která je příčinou jejich relativně vysoké těkavosti (Večeřa 2001).



Obr. 1. Strukturální vzorce nejdůležitějších těkavých terpenů

Isopren je nejhojnější VOC vylučovaný z množství tropických lesů i lesů mírného pásma. V Severní Americe tvoří 35 % celkového vstupu neethanových uhlovodíků do atmosféry (Guenther et al. 2000).

Isoprenoidy, které tvoří velmi rozsáhlou a pestrou skupinu přírodních látek povahy tzv. sekundárních metabolitů, jejichž zástupci jsou přítomni téměř v každé buňce, je vyráběna z „aktivního isoprenu“, isopentenylidifosfátu (Vodrážka 1996).



isopren

Obr. 2 Isopren

Tyto sloučeniny patří k rozsáhlé skupině rostlinných látek (isoprenoidů), do níž zahrnujeme i zdánlivě tak rozdílná chemická individua, jako jsou kaučuk, karoten a kyselina gibberelová. Zvláštní postavení mezi isoprenoidy má isopren.

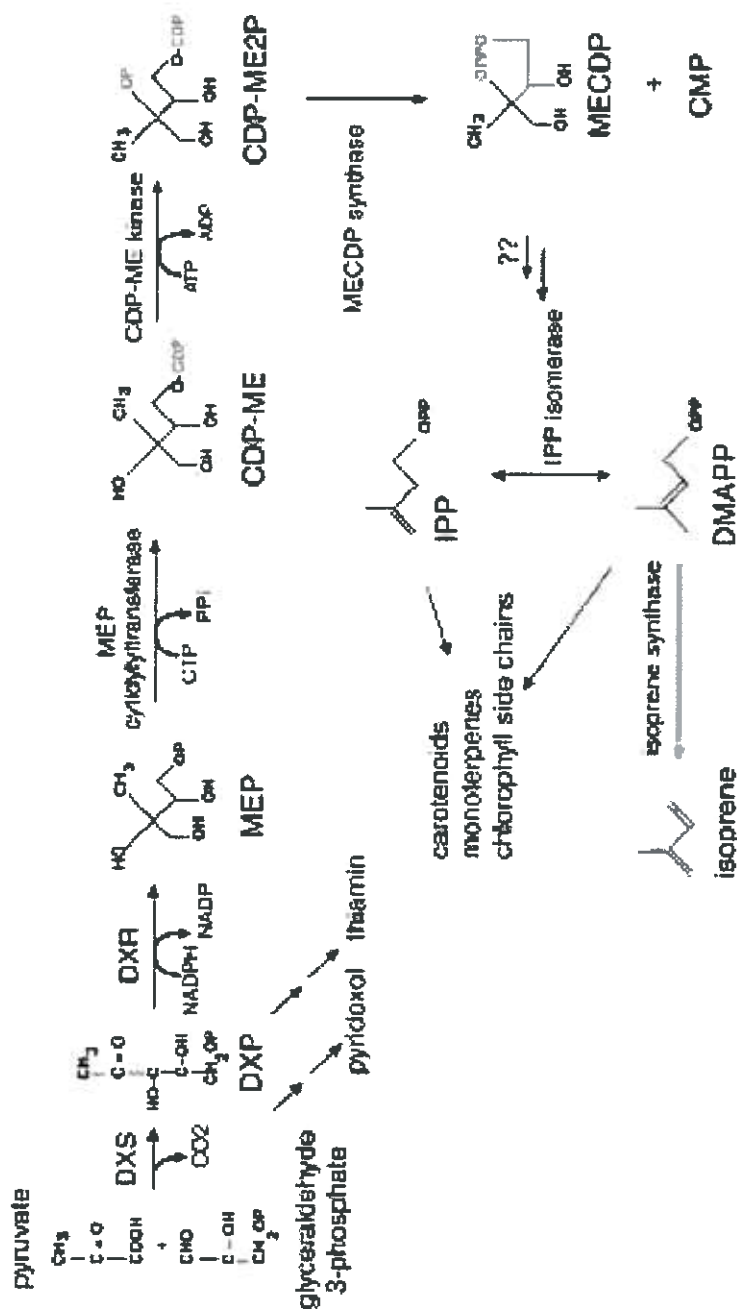
Systematika terpenové chemie dělí terpeny na monoterpeny, seskviterpeny, diterpeny, triterpeny, tetraterpeny, sesterterpeny a polyterpeny. Tyto názvy vznikly historickým vývojem a označení vychází ze sloučenin, které obsahují dvě isoprenové jednotky. Monoterpeny obsahují dvě isoprenové jednotky, diterpeny čtyři isoprenové jednotky, triterpeny šest isoprenových jednotek. Seskviterpeny mají tři isoprenové jednotky a sesterterpeny pět isoprenových jednotek. Sloučeniny s vyšším počtem uhlíků než patnáct mají vysoké body varu a minimální těkavost. V přírodě lze také

nalézt skupinu polyterpenů představovanou kaučukem a gutaperčou, což jsou polymery se zanedbatelnou tenzí par (Večeřa 2001).

Každá ze skupin isoprenoidů obsahuje odlišné strukturní typy. Mohou se lišit způsobem spojení C<sub>5</sub>- jednotek, cyklizací, zavedením různých funkčních skupin do isoprenoidního řetězce (např. alkoholových, oxo- , karboxylových, laktonových), tvorbou epoxidů, přítomností heteroatomů (např. terpenové alkaloidy obsahující dusík), otevřením cyklické struktury, přeuspořádáním, atd. (Vodrážka 1996).

Isopren je syntetizován z dimethylallyldifosfátu (DMAPP), vyrobeného chloroplastovou methylethritol 4- fosfátovou (MEP) cestou. Isoprensyntaxa (IspS) konvertuje DMAPP na izopren. Aktivita isoprensyntaxy může řídit míru vylučování isoprenu. Aktivita isoprensyntaxy může být ve výsledku závislá na transkripčním, translačním nebo post-translačním regulačním mechanismu (Wiberley, Linskey et al. 2005).





Obr. 3 MEP cesta je zdrojem DMAPP pro syntézu isoprenu. V současnosti není známo, zda tato cesta vytváří nejprve IPP, pak DMAPP isomerizací nebo zda vytváří DMAPP bez toho, aby nejdříve vytvořila IPP. CDP-ME, 4-(cytidin 5'-difosfo)-2-C-methyl-D-erythritol; DXR, deoxyxylulosa-5-fosfát reduktisomerasa; DXS, deoxyxylulosa-5-fosfátsyntasa; IPP, isopentenyl pyrofosfát; MECDP, 2-C-methyl-D-erythriol 2,4-cyklodifosfát (Sharkey et Yeh 2001).

Tradičně byly hledány vysvětlení funkcí VOC emisí. Ačkoliv některé vylučované VOC mají role v obraně rostlin, ochraně a/nebo komunikaci, mnohé další mají neznámé role (Peñuelas et Llusia 2004).

V některých rostlinách jsou VOC shromažďovány ve specializovaných orgánech jako jsou pryskyřičné kanálky nebo žlaznaté trichomy a pokud jsou uvolněny, fungují jako

- (i) ochrana proti patogenům nebo býložravcům nebo jsou pro ně přímo toxické
- (ii) výplň ran
- (iii) relativně nepolární rozpouštědla pro vysokomolekulární ochranné látky, které by se jinak nerozpustily (Pichersky et Gershenzon 2002).

Nejhojnější z VOC, které nejsou skladovány v orgánech, isoterpenoidy, mohou mít ochrannou funkci v metabolismu; energie a uhlík kombinované v VOC mohou fungovat jako bezpečnostní záklopka k odstranění nadbytečné energie nebo uhlíku, které nemohou být rostlinou zpracovány, obvykle se vyskytují za stresových podmínek (např. vysoké teploty, sucho, nedostatek výživy, atd.) (Sharkey et Yeh 2001).

Jiná hypotéza je založená na funkci podobných bezpečnostních záklopek nebo přebytečných záklopek. DMAPP je potřebný v chloroplastech pro syntézu vyšších isoprenoidů, jako jsou karotenoidy a chlorofyl. Enzymatický a translokační proces zajišťuje, že DMAPP je dostupný v chloroplastech. Isoprensyntaxa, která katalyzuje konverzi DMAPP na isopren a pyrofosfát, by zabránila akumulaci DMAPP na úrovních, které vychytávají fosfáty. Tato funkce „bezpečnostní záklopky“ isoprensyntaxy může být vysvětlena její nízkou afinitou k DMAPP, která způsobuje, že je funkční jen při vysoké koncentraci DMAPP (Rosenstiel et al 2004).

Další typ ochrany, kterou možná poskytují VOC, vychází z jejich fyzikálně chemických vlastností. Isoterpenoidy reagují s membránovými dvojvrstvami (zvyšují stabilitu membrán) a/nebo s oxidanty tudíž chrání rostlinu před oxidativním poškozením (Loreto et Velikova 2001). Další teorie (termotolerantní) je založená na pozorováních, že listy uvolňující isopreny jsou schopny odolávat vyšším teplotám než listy, u kterých byla inhibice isoprenů inhibována (Peñuelas et Llusia 2003).

Zdá se že VOC lákají jak opylovače, tak býložravce, bez ohledu zda jsou skladovány ve specializovaných orgánech. Zdá se také, že jsou používány

v komunikaci jak s rostlinami a dalšími rostlinami a živočichy (Peñuelas et al. 1995). Některé VOC jsou vylučovány během útoku býložravých živočichů, aby nalákaly predátory parazity útočícího býložravce (Shulaev et al. 1997). VOC nejsou vylučovány jen napadenými listy, ale celou rostlinou a někdy i sousedními nenapadenými rostlinami (Dicke et al 2003)

Významná část uhlíku emitovaná biosférou do atmosféry je emitovaná ve formě VOC a znalost těchto emisí je důležitá pro pochopení tropické a globální atmosférické chemie a koloběhu uhlíku (Trostdorf, Gatti et al. 2004).

Globálně je odhadováno, že za rok je do atmosféry emitováno kolem 1800 Tg VOC. Methan je vylučován do atmosféry jak z přirozených zdrojů (přirozené mokřiny), tak z antropogenních zdrojů (hospodářská zvířata- přežvýkavci, rýžová pole, atd.). 510 milionů Tg/rok methanu je vylučováno do atmosféry, kdy 220 milionů Tg/rok je vylučováno z antropogenních zdrojů. Do atmosféry je také vylučováno velké množství nemethanových organických sloučenin (non- methane organic compounds- NMOC), včetně isoprenu (2- methyl- 1,3- butadien), řada  $C_{10}H_{16}$  monoterpenů,  $C_{15}H_{24}$  seskviterpenů a oxidovaných VOC (methanol, linalool). Je odhadováno, že je vylučováno kolem 500 Tg/rok s dalšími 130 Tg/rok monoterpenů (Guenther, Hewitt et al. 1995).

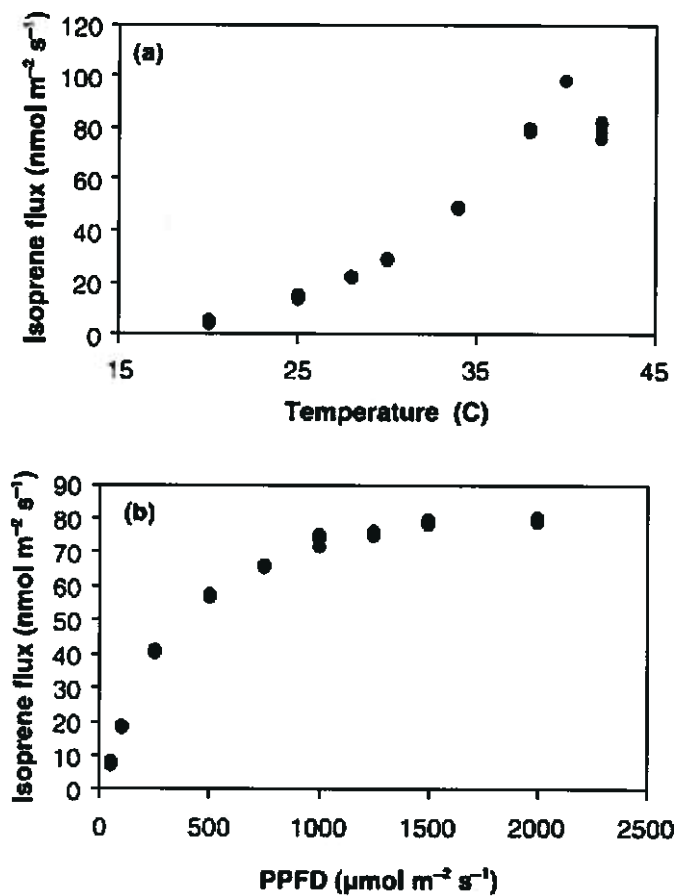
### ***Vliv teploty a osvětlení na vylučování isoprenu a isoprenoidů***

Současné modely odhadují základní míru emisí isoprenu (basal emission rate- BER) za standardních podmínek definovaných jako: míra osvětlení  $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  PFD (hustota toku fotonů) a teplota listů  $30^\circ\text{C}$  (Guenther et al. 1993). Nicméně BER isoprenu se může v průběhu několika dnů lišit až o 50 % (Guenther et al. 1991).

K získání výstižných odhadů BER isoprenu během krátkého časového období, je třeba porozumět fyziologickým a biotickým faktorům, které regulují denní průběh. Krátkodobě ovlivňují světlo a teplota produkci isoprenu regulací dostupnosti

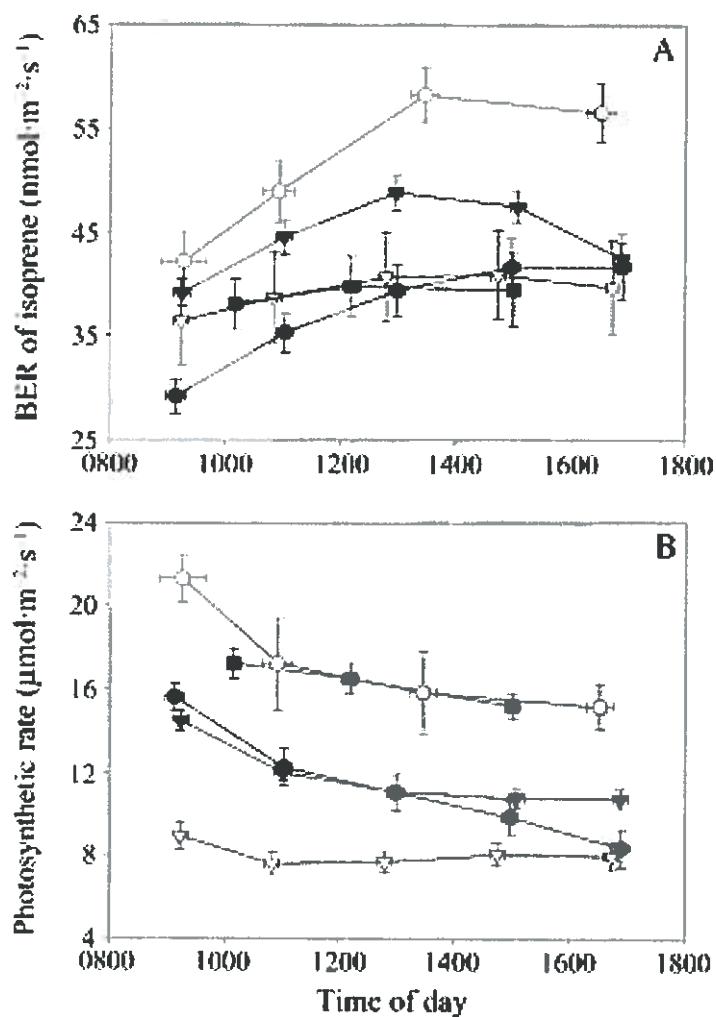
substrátu a enzymovou kinetikou. Mezi všemi rostlinnými druhy se ukazuje, že vylučování isoprenu je hyperbolicky závislé na intenzitě světla (Guenther et al. 1995). Vylučování je exponenciálně závislé na teplotě, ale při vysokých teplotách dochází k poklesu v důsledku enzymatické denaturace (Guenther et al. 1991).

Světelné prostředí, ve kterém se listy vyvíjejí ovlivňuje přesný tvar křivky odpovědi na osvětlení, kdy studie četných taxonů prokázalo, že listy adaptované na stín vykazují křivky, které jsou zřetelně saturovány (rovnoběžná hyperbola) a osvětlené listy nevykazují saturaci vzhledem k plné sluneční intenzitě (Lerdau et Troop 2000).



Obr. 4 Závislost isoprenových emisí na (a) světle a (b) na teplotě. Měřeno jako plochy píků plynového chromatogramu (GC). Data jsou z měření prováděných na *Quercus kelloggii* (Gray nepublikováno).

Vzhledem k indukci vylučování isoprenu na počátku vegetačního období, se předpokládá, že panující světelné a teplotní podmínky řídí BER isoprenu, pravděpodobně regulací aktivity isoprensyntasy (Monson et al. 1994).



Obr. 5 Denní změny v (A) BER isoprenu a (B) míry fotosyntézy u rok starých rostlin *Populus deltoides* ve školce (prázdná kolečka, n = 10 jedinců), volně rostoucí *Populus deltoides* (vyplněná kolečka, n = 14 jedinců), duby ve školce (prázdné trojúhelníky, n = 12 jedinců), volně rostoucí duby (plné trojúhelníky, n = 15 jedinců) a eukalyptu (plné čtverce, n = 7 jedinců). Denní rozsah 24 hodin (Funk et al. 2003).

Světelné prostředí, ve kterém se listy vyvíjí je jednou z hlavních determinant jejich SER (standardized emission rate- emise při konstantní úrovni osvětlení a teploty), kdy listy vyvíjející se při plném slunečním osvětlení mají vyšší SER než listy, které se vyvíjejí ve stínu. Obdobné znaky byly pozorovány v souvislosti s fotosyntetickou kapacitou (Reich et al. 1998). Biochemická změna je v souladu s myšlenkou, že funkce isoprenů může být významnější pro listy vyvíjející se ve světlém prostředí než pro listy vyvíjející se v tmavém prostředí. Kromě vývojového prostředí hraje velkou roli v determinaci emisní kapacity isoprenů ontogenetický stav listů, kdy listy listnatých rostlin neprodukují isopren dokud nejsou plně vyvinuty (Kuzma et Fall 1993).

Poněkud překvapivě, tento vývojový model neplatí u jehličnatých rostlin, kde vylučování isoprenů u smrku a methylbutenolu u borovice začíná, když jsou jehličky stále ve vývoji. Tento rozdíl mezi jehličnatými a listnatými rostlinami může být chápán tak, že isopren resp. methylbutenol se podílejí na toleranci vůči vysokým teplotám (Sharkey et Singsaas 1995).

Nedostatek emisí na jaře pravděpodobně vyplývá z prodlení v emisní kapacity isoprenu v důsledku vývoje listů (Grispoon, Bowman et al 1991).

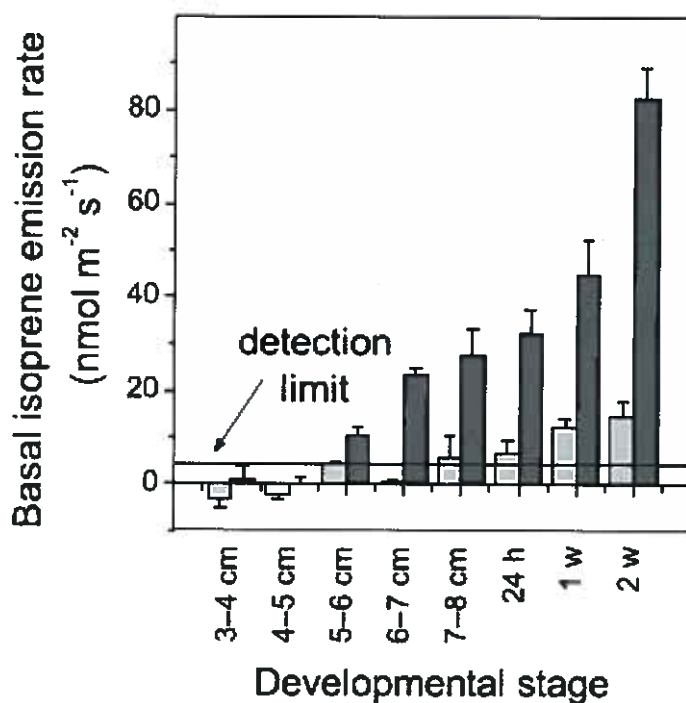
Vylučování je vysoce závislé na teplotě, ale není přímo ovlivňováno světlem (Tingey et al. 1980).

Pro enzymovou aktivitu isoprensintasy je nezbytná episodní vysoká teplota, bez ní listy nevylučují isopren.

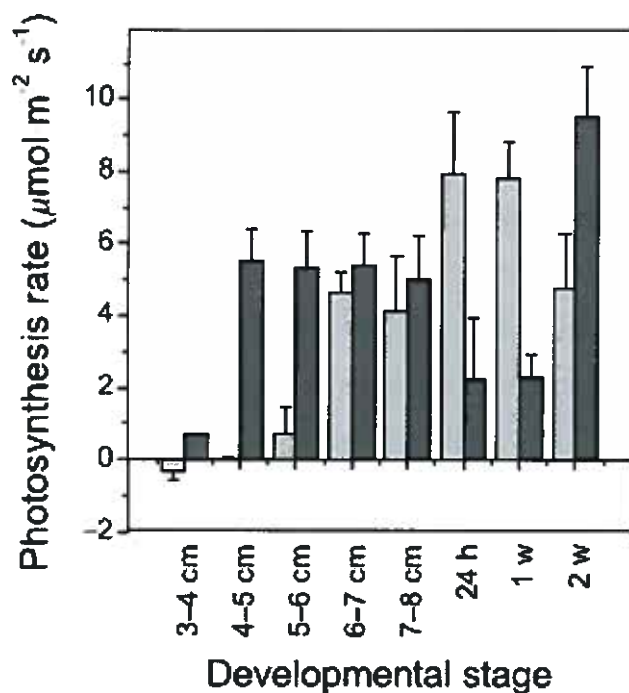
Role isoprenu v termotoleranci je v souladu s pozorováními, že emisní kapacita isoprenu vzrůstá když jsou pravděpodobnější vysoké poškozující teploty, jako když teplota prostředí překročí 30 °C, nebo při silném osvětlení. Dospělé listy druhů, které vylučují isopren, mohou být přinuceny k vylučování isoprenu vystavením vysoké teplotě: pokud rostly v chladném skleníku během zimy, rostlina nevylučuje isopren, ale u listů vyrostlých ve skleníku může být vylučování vyvoláno vystavením teplotě 30 °C po dobu 6 hodin (Sharkey et Loreto 1993).

Bylo pozorováno, že listy rostliny kudzu (*Pueraria lobata*), které rostly v indukčních podmínkách (teplota denní doby 30 °C), vylučovaly isopren týden před

tím než byly plně vyvinuty, zatímco listy, které rostly v neindukčních podmínkách (teplota denní doby 20 °C), nevylučovaly isopren dokud nebyly plně rozvinuty a pak vylučovaly výrazně méně než jejich „30 °C protějšky“. Emise z rostlin s listy vyrostlými při 30 °C začaly jeden den po té co byly schopné fotosyntézy, zatímco listy vyrostlé při 20 °C nezačaly vylučovat dříve než zhruba dva týdny po té co rychlost fotosyntézy překročila nulu (Wiberley, Linskey et al. 2005).



Obr. 6 BER isoprenu listů kudzu v různých vývojových stádiích vyrostlých při 20 a 30 °C. Rychlosti emisí byly měřeny při 30 °C a 1000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  světla. Každá hodnota je průměrem z rychlosti emisí 3 listů  $\pm$  standardní chyba. Světlé sloupce- 20 °C listy, tmavé sloupce- 30 °C listy. Detekční limit byl 5  $\text{nmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , nižší rychlosti byly nerozlišitelné od šumu (Wiberley, Linskey et al. 2005).



Obr. 7 Rychlost fotosyntézy listů kudzu v různých vývojových stádiích vyrostlých při 20 a 30 °C. Rychlosti fotosyntézy byly měřeny při 30 °C a intenzitě světla 1000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Každá hodnota je průměrem z rychlosti fotosyntézy 3 listů  $\pm$  standardní chyba. Světlé sloupce- 20 °C listy, tmavé sloupce- 30 °C listy (Wiberley, Linskey et al. 2005).

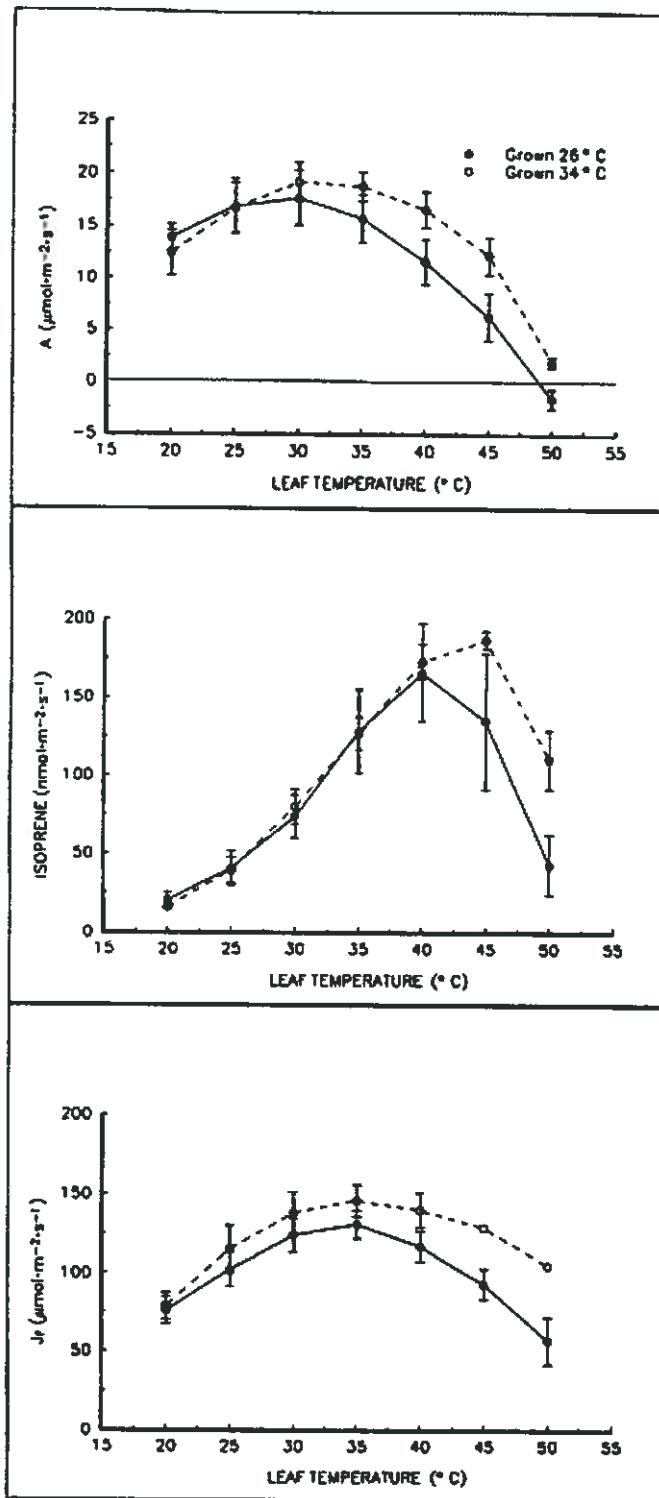
Bylo zjištěno, že listy topolů, které se vyvíjely při chladných jarních teplotách, měly zpoždění mezi schopností fotosyntézy a vylučováním isoprenů zhruba dva týdny, zatímco listy, které se vyvíjely v létě, měly zpoždění jen dva dny (Monson et al. 1994).

Listy rostliny kudzu se vyvíjejí rychleji pokud rostou při vyšších teplotách, ale pokud jsou analyzovány na základě vývojového stádia spíše než na základě času od objevení se, je jasné, že počátek emisí isoprenu je řízen více podmínkami, při kterých rostlina roste než vývojovým stádiem listů (Wiberley, Linskey et al. 2005).



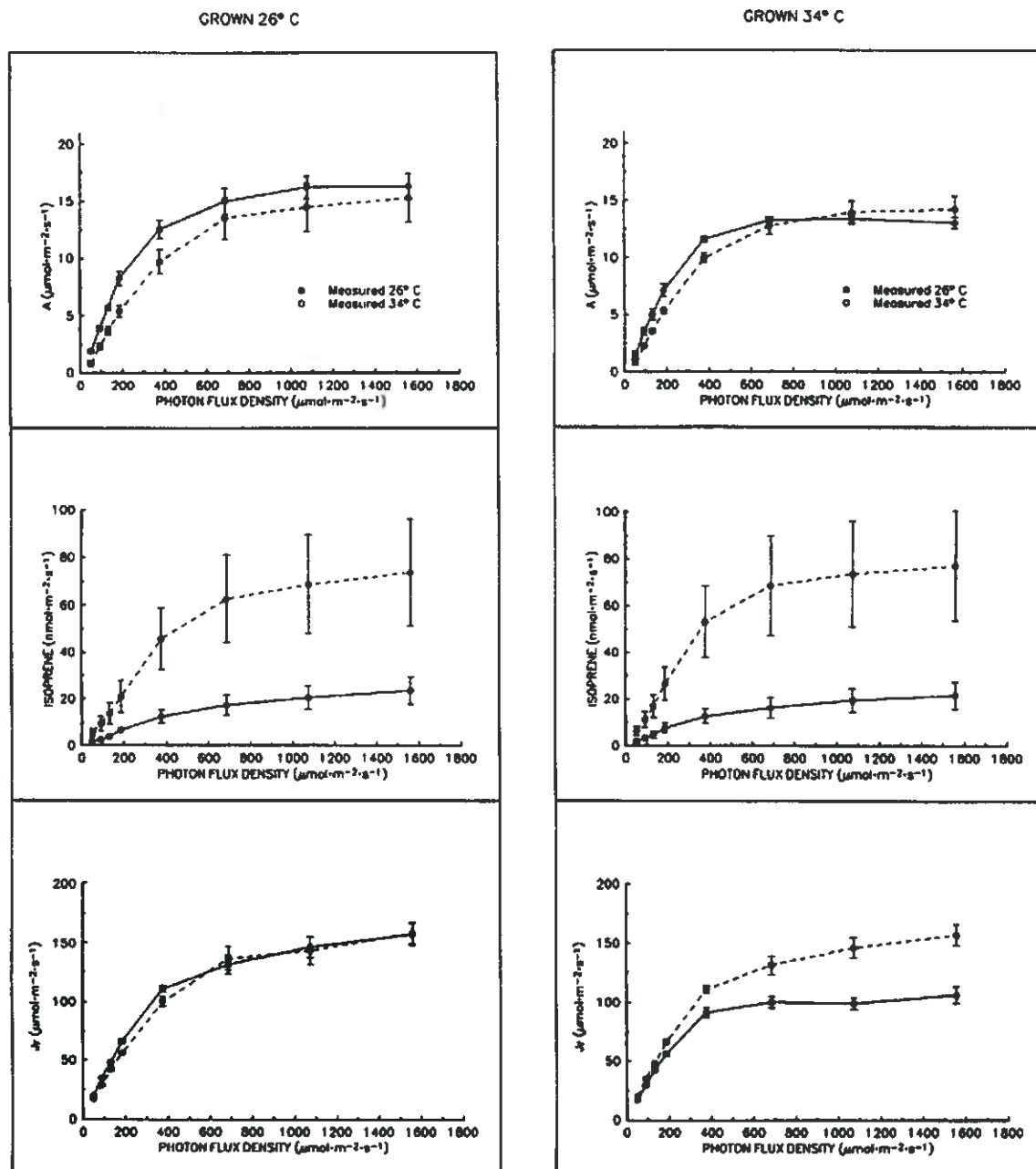
Bylo pozorováno, že teploty, prodělané dva dny před měřením výkonu vylučování isoprenu listy, se značně uplatňují v ovlivnění výkonu vylučování, což značí, že to může hrát roli jak v případě vyvíjejících se listů, tak u plně vyvinutých (Sharkey et al. 1999).

Zvýšení rychlosti fotosyntézy při vysokých teplotách listů ukázalo teplotní přizpůsobení rychlosti asimilace CO<sub>2</sub>, pokud rostliny rostly v teplém prostředí a byly srovnávány s rostlinami, které rostly v chladu. Při nízkých teplotách listů nebyly pozorovány žádné zřetelné rozdíly ve výkonu fotosyntézy při porovnání rostliny, které vyrostly za nízkých a vysokých teplot. Míra vylučování isoprenu ukazovala podobné přizpůsobení k růstové teplotě, které se projevovalo vyšší rychlostí emisí při vysokých teplotách listů u rostlin, které vyrostly za vyšších teplot a byly srovnávány s rostlinami, které vyrostly za nižších teplot. Teplotní optimum pro vylučování isoprenu se posunulo z 40 °C, u rostlin pěstovaných v chladnějších podmínkách, na 45 °C, u rostlin pěstovaných v teplejším prostředí. Teplotní závislost rychlosti elektronového transportu ukazuje aklimatizační odpověď s vyjádřenými rozdíly mezi rostlinami pěstovanými v chladném a teplém prostředí, u měření při vysokých teplotách, ale ne u měření při nízkých teplotách. Teplotní optimum pro rychlost elektronového transportu bylo podle pozorování 35 °C a nedošlo k jeho změně v důsledku růstových teplot.



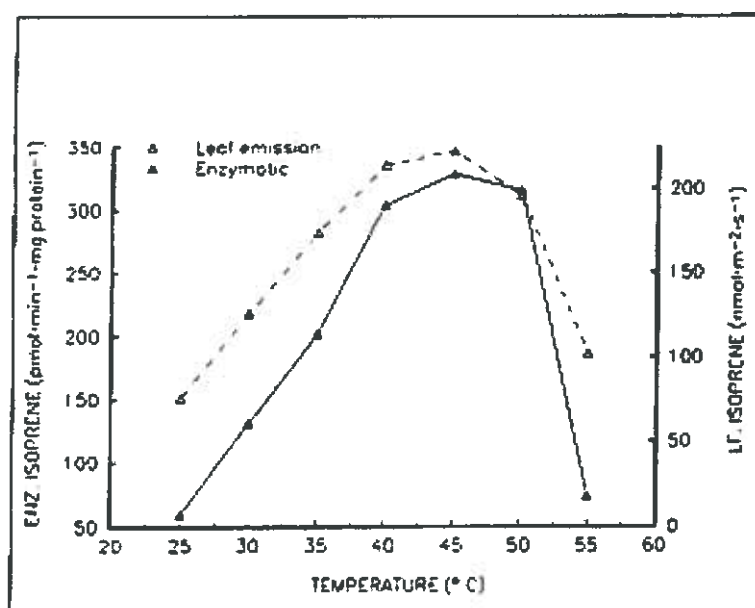
Obr. 8 Rychlost asimilace CO<sub>2</sub> (A), rychlost vylučování isoprenu a rychlost fotosyntetického transportu elektronů (J<sub>F</sub>) jako funkce teploty listů u rostlin *Mucuna pruriens* L. var. *utilis* vyrostlých v teple (○) a v chladu (●) (Monson, Jaeger et al. 1992).

Závislost rychlosti emisí isoprenu na ozáření byla velmi citlivá na teplotu. Při měření při 26 °C byly rychlosti vylučování isoprenu nižší u obou typů rostlin při všech hustotách proudu fotonů ve srovnání s rychlostí vylučování při 34 °C. Podobně tomu bylo i u rychlosti elektronového transportu u rostlin pěstovaných v teplém prostředí, ale ne u rostlin pěstovaných v chladném prostředí. Odpověď rychlosti asimilace CO<sub>2</sub> nebyla významně citlivá na teplotu. Tudiž nebyla pozorována významná závislost mezi závislostí emisí isoprenu na světle ovlivňované teplotou a závislostí rychlosti elektronového transportu na světle a rychlosti asimilace CO<sub>2</sub> ovlivňované teplotou.



Obr. 9 Světelné křivky rychlosti asimilace  $\text{CO}_2$  (A), rychlost vylučování isoprenu a rychlost fotosyntetického transportu elektronů ( $J_F$ ) u rostlin *Mucuna pruriens* L. var. *utilis* pěstovaných při denní teplotě 26 °C (levé grafy) či 34 °C (pravé grafy). Teploty měření byly 26 °C (●) nebo 34 °C (○) (Monson, Jaeger et al. 1992).

Výše zmíněné výsledky by byly lépe vysvětleny pokud by byla předpokládána spojitost mezi odpovědí míry vylučování isoprenů na teplotu a aktivitou isoprensytasy spíše než fotosyntézy. Teplotní závislost enzymatické produkce isoprenu blízce souvisí s teplotní závislostí vylučování isoprenu z neporušených listů. Teplotní přizpůsobení vylučování isoprenu může vycházet ze změny tepelné stability isoprensytasy a/ nebo změn v teplotní závislosti její aktivity způsobené změnami v aktivačním stavu nebo prostředí chloroplastů (Monson, Jaeger et al. 1992).



Obr. 10 Teplotní závislost rychlosti emisí isoprenu listů osiky (prázdný trojúhelník [in vivo]) a aktivity isoprensytasy osiky (plný trojúhelník [in vitro]). Byla použita částečně čištěná isoprensytasa, která katalyzuje přeměnu DMAPP na isopren (Monson, Jaeger et al. 1992).

Bylo odhadnuto, že zhruba 0,4 % uhlíku, který byl fixován při fotosyntéze, je vylučováno ve formě monoterpenů u druhů, které je vylučují (Tingey et al. 1991). Toto procentuální množství je jednou desetinou procentuálního množství uhlíku vylučovaného v podobě isoprenu u rostlin, které ho vylučují (Loreto et Sharkey 1990). Nicméně, korunové emise monoterpenů v lesích v oblastech mírného pásma jsou srovnatelné s emisemi isoprenu (Fehsenfeld et al. 1992).  $\alpha$ - Pinen a  $\beta$ - pinen jsou celkově nejhojnější mezi vylučovanými monoterpeny (Juuti et al. 1990).

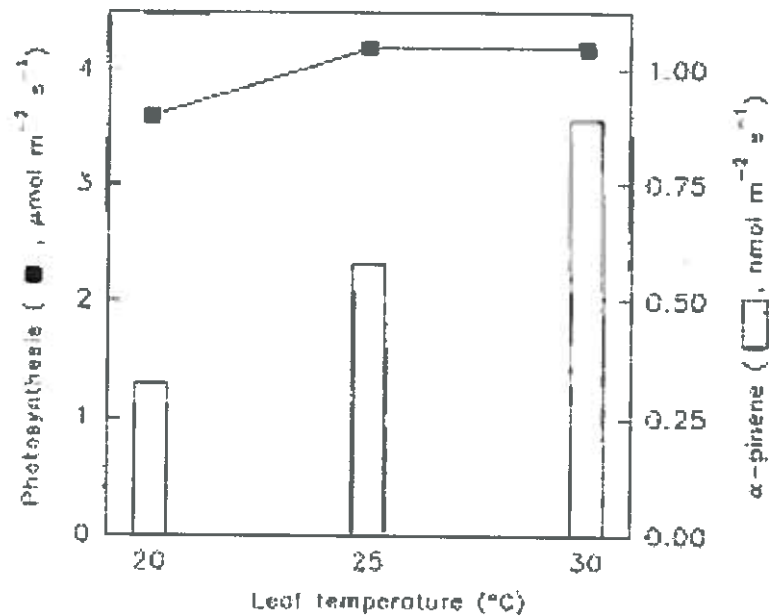
Ve středozemní oblasti je hlavním stálezeleným rostlinným druhem *Quercus ilex* L.. *Q. ilex* nevylučuje isopren, ale vylučuje množství monoterpenových sloučenin a především  $\alpha$ - pinen a studie naznačují závislost jeho vylučování na fotosyntéze a transpiraci (BEMA 1994).

Závislost monoterpenů na parametrech prostředí se liší u monoterpenů skladovaných ve specializovaných orgánech (Loreto et al. 1996).

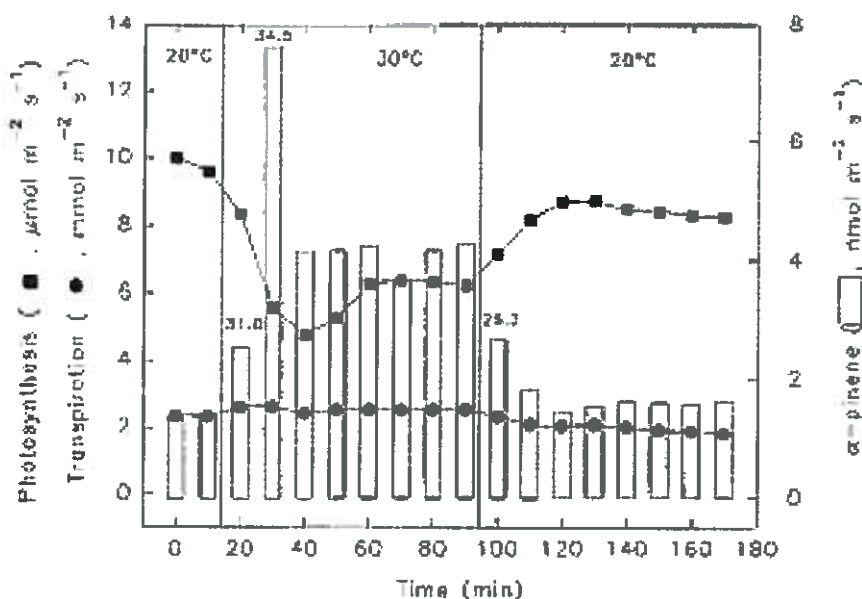
Zhruba 1 % uhlíku, který je fixován, je vylučováno v podobě  $\alpha$ - pinenu, který je desetiuhlíkatou sloučeninou. Tyto emise tvoří přibližně 40 % celkového množství vylučovaných monoterpenů, listy *Q. ilex* vylučují asi 2,5 % fixovaného uhlíku (Staudt et Seifert 1995).

Teplota je hlavním faktorem, který ovlivňuje vylučování monoterpenů (Lingey et al. 1980). Bylo zjištěno, že emise  $\alpha$ - pinenu vzrostly trojnásobně, když byla teplota zvýšena z 20 na 30 °C (Loreto et al. 1996). Tato odpověď je velmi podobná odpovědi popisované u isoprenu u druhů, které ho vylučují (Loreto et Sharkey 1990). Teplotní závislost emisí  $\alpha$ - pinenu z listů *Q. ilex* může naznačovat, že tvorba těchto sloučenin je enzymatická, přičemž je předpokládána enzymatická cyklizace  $\alpha$ - pinenu z geranyl PP (Croteau 1987).

Studie zjistily, že vzestup teplot z 20 na 30 °C při stálém osvětlení neovlivňuje dramaticky jen vzestup emisí  $\alpha$ - pinenu, ale snižuje nebo výrazně neovlivňuje fotosyntézu. Tudiž se zdá, že vztah mezi fotosyntézou a vylučováním  $\alpha$ - pinenu neplatí pokud jediným faktorem, který se mění je teplota. Byla také zkoumána kinetika vylučování  $\alpha$ - pinenu jako odpovědi na změny teploty. Je zajímavé, že když byla teplota zvýšena z 20 na 30 °C, emise  $\alpha$ - pinenu dosáhly krátkodobého maxima a pak poklesly na stálou úroveň, která byla opět přibližně třikrát vyšší než při 20 °C. Toto krátkodobé maximum se nikdy neobjevilo po změnách teploty nebo CO<sub>2</sub>. Může to být přijatelně prisuzováno faktu, že teplota listů byla vyšší než teplota vzduchu během přechodu z 20 na 30 °C (Loreto et al. 1996).



Obr. 11 Odpověď vylučování  $\alpha$ -pinenu (sloupce) a fotosyntézy (■) na změny teploty listů. Listy byly udržovány při okolních vzdušných podmínkách a intenzitě světla  $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Každé měření bylo prováděno hodinu po dosažení teploty listů, aby bylo možné dosáhnout ustáleného stavu fotosyntézy a vylučování  $\alpha$ -pinenu (Loreto et al. 1996).



Obr. 12 Časový průběh změn emisí  $\alpha$ -pinenu (sloupce), fotosyntézy (■) a transpirace (●) následujících po náhlé změně teploty vzduchu z 20 na 30 °C (první svislá čára) a z 30 na 20 °C (druhá svislá čára). Pokud byly rozdíly mezi teplotou listů a vzduchu během přechodů vyšší než 1 °C, teplota listů je uvedena nad sloupcem ukazujícím odpovídající emise  $\alpha$ -pinenu. Experiment byl zahájen po té co byly listy ponechány na jednu hodinu při teplotě 20 °C. Listy byly v prostředí se světelnou intenzitou 1000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  a při složení vzduchu odpovídajícím okolnímu prostředí (Loreto et al. 1996).

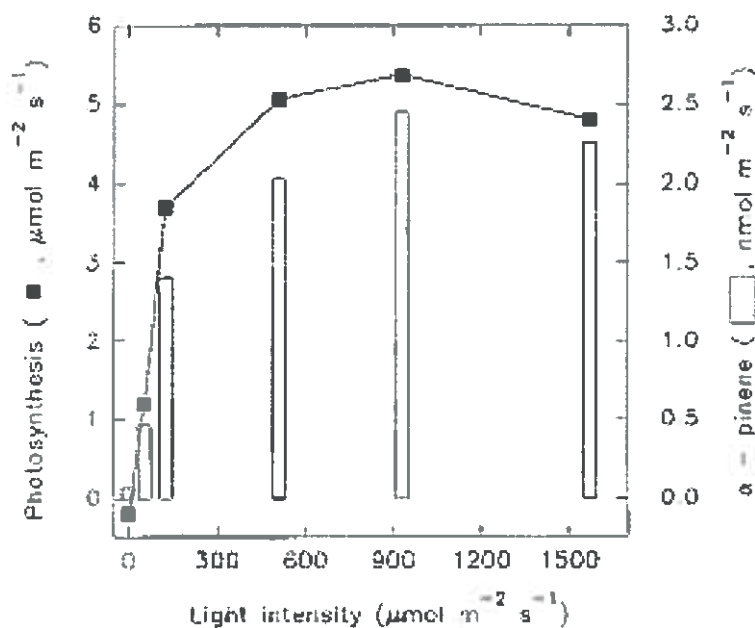
Vylučování  $\alpha$ -pinenu je závislé na světle a odpověď na světlo byla podobná jako odpověď pozorovaná u fotosyntézy. Stejná odpověď byla také pozorována u emisí isoprenu u dubů (Loreto et Sharkey 1990). To i přesto, že bylo pozorováno, že vylučování monoterpenů je nezávislé na světle (Tingey et al. 1980).

Ve tmě dochází k rychlému vyčerpání zdrojů v mesofylu listů, což pravděpodobně souvisí s fotosyntetickými sloučeninami (Staudt et Seifert 1995).

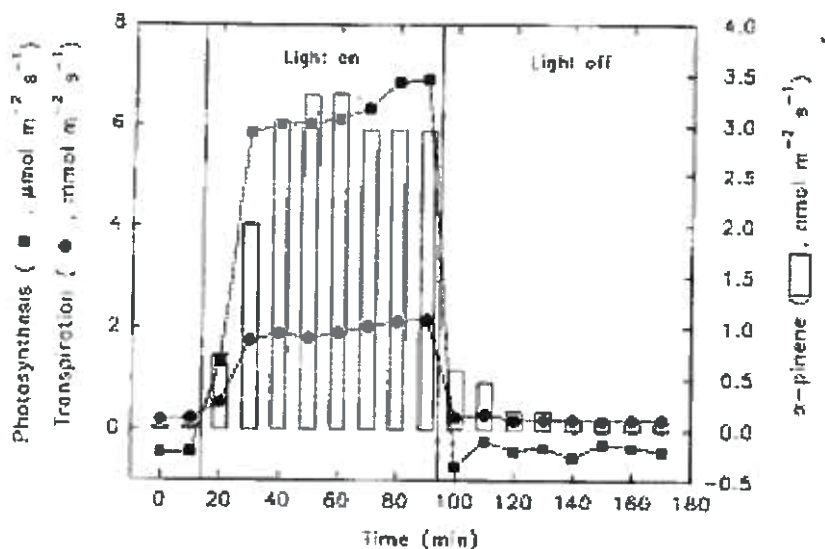
Bylo zjištěno, že je třeba přibližně stejná doba pro vzestup fotosyntézy a emisí  $\alpha$ -pinenu na stálou úroveň po té co došlo k přechodu ze tmy na světlo u listů,



které byly přizpůsobeny tmě alespoň po dobu jedné hodiny. Toto naznačuje, že oba procesy jsou aktivovány světlem a potřebují stejnou redukční sílu k podpoře fixace uhlíku. Na druhou stranu, při přechodu ze světla do tmy bylo pozorováno dvoufázové snížení emisí  $\alpha$ -pinenu. Emise byly pětinasobně nižší po deseti minutách tmy, ale zbytkové emise upadaly pomalu a k úplnému zastavení vylučování došlo až po hodině (Loreto et al. 1996). Tento časový průběh byl odlišný od průběhů pozorovaných u fotosyntézy a transpirace a byl obdobný jako u isoprenu u dubů vylučujících isopren po stejné světelné změně. Jelikož dostupnost ATP může přetrvávat ve tmě zatímco NADPH je rychle vyčerpáno, tento výsledek naznačuje, že, stejně jako u isoprenu, tvorba  $\alpha$ -pinenu je také závislá na stavu ATP (Loreto et Sharkey 1990).



Obr. 13 Světelné křivky emisí  $\alpha$ -pinenu (sloupce) a fotosyntézy (■). Každé měření bylo prováděno po hodinové adaptaci na novou intenzitu světla. Listy byly uchovávány v prostředí se vzdušnými podmínkami odpovídajícími vnějšímu prostředí a teplotě listů 30 °C (Loreto et al. 1996).



Obr. 14 Časový průběh změn vylučování  $\alpha$ -pinenu (sloupce), fotosyntézy (■) a transpirace (●) po změně tma- světlo a světlo- tma. Listy byly před osvětlením ponechány hodinu ve tmě. Intenzita světla byla  $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Během experimentu byly listy v prostředí se vzdušnými podmínkami odpovídajícími vnějšímu prostředí a teplotě listů  $30 \text{ }^\circ\text{C}$  (Loreto et al. 1996).

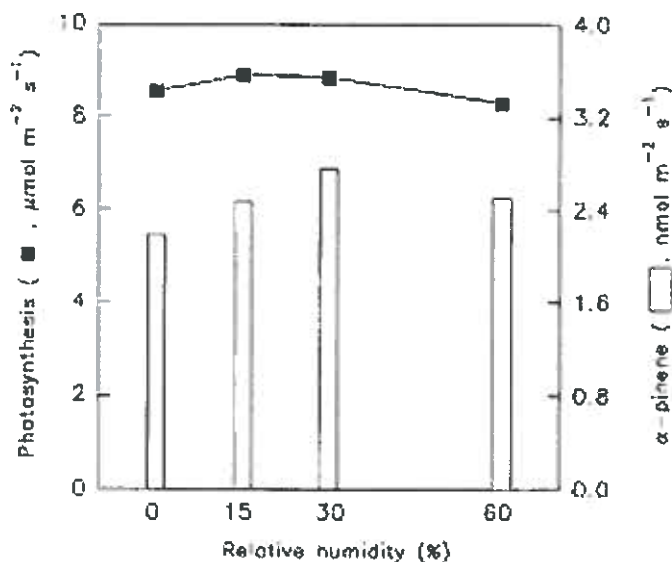
### *Vliv vody na vylučování isoprenu a isoprenoidů*

Vylučování isoprenu a isoprenoidů může být ovlivňováno také relativní vlhkostí. Tento efekt je přisuzován jak zvýšené permeabilitě kutikuly pro výměnu plynů, ke které dochází při vysoké vlhkosti, tak přímému poškození žlaznatých buněk. Poškození žlaznatých buněk je způsobováno kapkami deště a může být

vysvětlováno jako „hrubé zacházení“, které poškozuje žlaznaté buňky a umožňuje tékání přítomných terpenových sloučenin (Tingey, Turner et al. 1991).

Monoterpeny jsou obzvláště citlivé k hrubému zacházení a jejich emise mohou výrazně vzrůst, pokud dojde k mechanickému poškození (Guenther, Monson et al.).

Když bylo vyloučeno ovlivnění emisí hrubým zacházením, odpověď na změnu vlhkosti byla velmi malá. Rostliny byly ponechány v prostředí s každým stupněm vlhkosti po dobu jedné hodiny a tento čas nebyl dostatečný, aby došlo ke změně fotosyntézy nebo otevření průduchů. Je možné, že delší expozice suchému vzduchu by vyvolala odlišné odpovědi jak u fotosyntézy, tak u vylučování  $\alpha$ -pinenu. Ačkoliv odpověď  $\alpha$ -pinenu na vlhkost byla malá, poukazuje na to, že emise nepochází z žláz a nejsou závislé na hydrataci kutikuly (Loreto, Ciccioli et al. 1996).



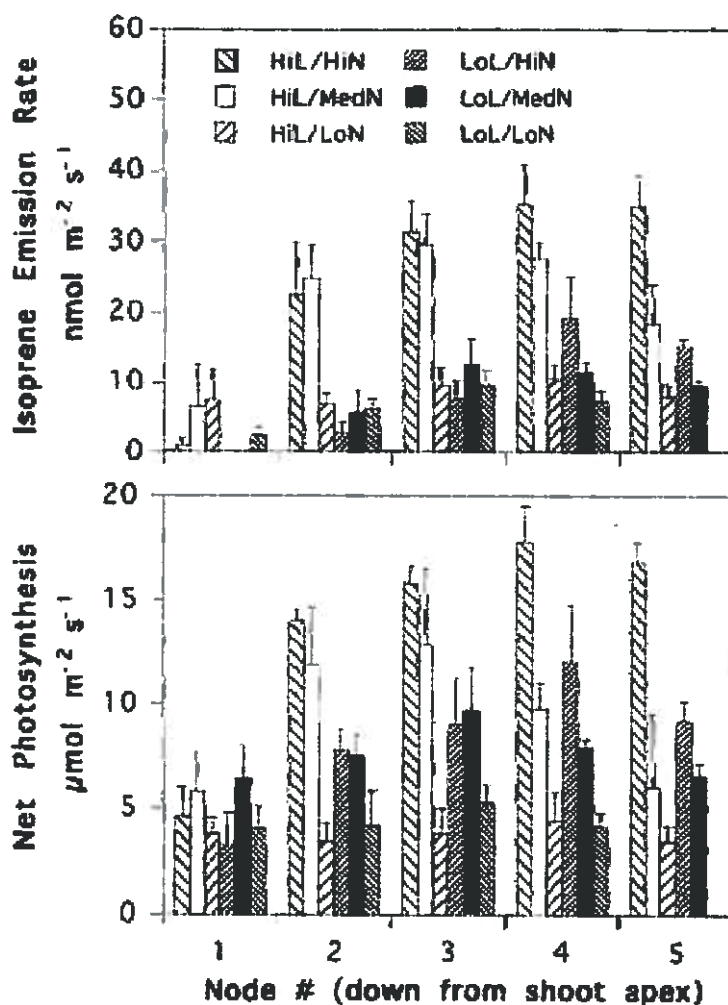
Obr. 15 Odpověď emisí  $\alpha$ -pinenu (sloupce) a fotosyntézy (■) na změny relativní vlhkosti vzduchu. Listy byly v prostředí se vzdušnými podmínkami odpovídajícími vnějšímu prostředí při světelné intenzitě  $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  a teplotě listů  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ . Relativní vzdušná vlhkost byla snižována ve čtyřech krocích od 60 do 0 %. Každé měření bylo prováděno hodinu po dosažení požadované relativní vlhkosti, tak aby bylo umožněno dosažení ustáleného stavu fotosyntézy a emisí  $\alpha$ -pinenu (Loreto, Ciccioli et al. 1996).

Pokud jsou rostliny vystaveny nedostatku vody, emise isoprenu se změní málo, i když je fotosyntéza zastavena (Tingey, Evans et al. 1981). Nicméně po opětovném zavodnění dochází k mnohonásobnému nárůstu emisí isoprenu oproti míře před nedostatkem vody a zůstávají vysoké po několik týdnů (Sharkey et Loreto 1993).

### ***Vliv dusíku na vylučování isoprenu a isoprenoidů***

Vylučování isoprenu může být ovlivňováno dusíkovou výživou. Stromy s nízkou dostupností dusíku, měli nižší míru vylučování isoprenu než stromy s vyšší dostupností dusíku. Tento efekt interaguje se světlem. Stromy, které vyrostly na slunci či ve stínu, ale s nízkou dostupností dusíku měly podobné nízké míry vylučování isoprenu; ale stromy s vysokou dostupností dusíku vylučovaly podstatně více isoprenu pokud vyrostly na slunci než ty, které vyrostly ve stínu (Litvak, Loreto et al. 1996).

Úroveň dusíkové výživy jasně ovlivňuje rychlost fotosyntézy a vylučování isoprenu vyjádřené na základě plochy listů.



Obr. 16 Střední hodnoty rychlosti fotosyntézy a rychlosti vylučování isoprenu (vyjádřeno na základě plochy listů) jako funkce pozice nodů listů *Mucuna pruriens* L. var. *utilis* u rostlin, které rostly při šesti světelných/dusíkových režimech. Všechny měření byly prováděny při intenzitě světla  $1000 \pm 50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  a teplotě listů  $30 \pm 0,3 \text{ }^\circ\text{C}$ . Hi- vysoký, Lo- nízký, Med- střední, L- světlo, N- dusík (Harley, Litvak et al. 1994).

Bylo zjištěno, že míra vylučování isoprenu vzrostla se zvýšenou koncentrací dusíku v listech, bez ohledu na to zda rostliny vyrostly při nízké či vysoké intenzitě

světla. Vzhledem k tomu, že rychlost fotosyntézy také vzrostla, může být toto pokračováním spojení mezi rychlostí vylučování isoprenu a mírou fotosyntézy. Nebo může zvýšená koncentrace dusíku v listech způsobovat zvýšenou koncentraci isoprensintasy, nezávisle na fotosyntetických enzýmech.

Pokud byly emise isoprenu hodnoceny v podobě procent fotosyntetické asimilace uhlíku, při poklesu koncentrace dusíku v listech by byly vyšší. Tento výsledek má dva důsledky. První ukazuje, že fotosyntetická asimilace CO<sub>2</sub> a emise isoprenu mohou odpovídat nezávisle na změny v růstovém prostředí. Druhý ukazuje, že jak poměr uhlík/dusík ve tkáních listu roste, vyšší procentuální podíl fixovaného uhlíku uniká v podobě těkavých emisí (Harley, Litvak et al. 1994).

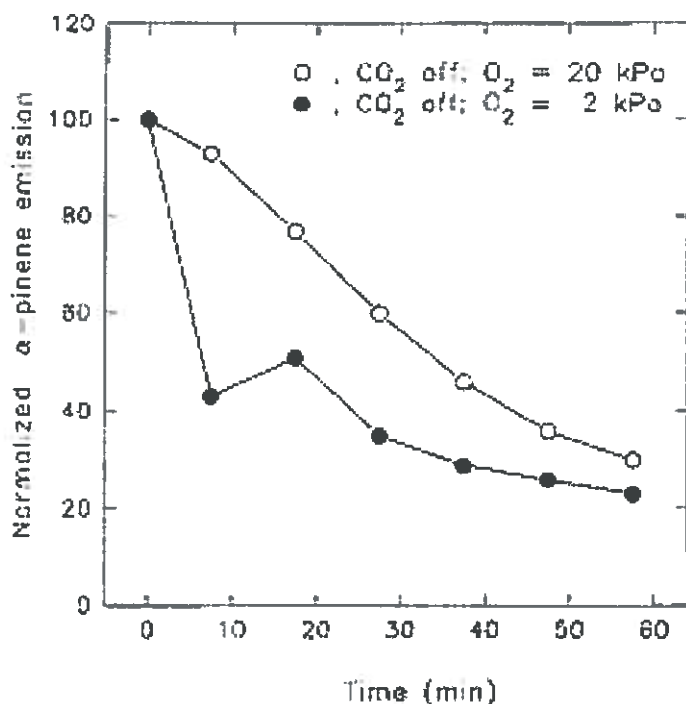
### *Vliv oxidu uhličitého na vylučování isoprenu a isoprenoidů*

Odpověď fotosyntézy a vylučování isoprenu na oxid uhličitý je opačná k odpovědi na teplotu: Fotosyntéza je velmi citlivá, ale isopren je relativně necitlivý. Ve vzduchu bez oxidu uhličitého mohou být emise isoprenu sníženy o 50 % či více (Monson et Fall 1989). Při 50 ppm oxidu uhličitého emise isoprenu dosahují zřetelného maxima a někdy dochází k jejich mírnému snížení při vysokých koncentracích (500 ppm) oxidu uhličitého. Snížení vylučování při vysokých koncentracích oxidu uhličitého je více vyjádřeno při nízkém obsahu kyslíku v atmosféře a při nízkých teplotách, v souladu se závislostí vylučování isoprenu na ATP (Loreto et Sharkey 1990). Při vysoké koncentraci oxidu uhličitého a středních až nízkých teplotách může být limitována syntéza ATP zpětnou vazbou z metabolismu uhlíku Sharkey, Stitt et al. 1986).

Emise isoprenu v prostředí bez oxidu uhličitého mohou být 50 % z maximální rychlosti, ale pokud je odstraněn i kyslík, zastaví se úplně (Loreto et Sharkey 1990). Interpretace tohoto fenoménu je, že pro vylučování isoprenu je třeba aktivní Calvinův cyklus. Ve vzduchu bez oxidu uhličitého, kde je kyslík, je Calvinův cyklus udržován fotorespirací a mobilizací škrobových rezerv. Avšak bez kyslíku a oxidu

uhlíčitého je Calvinův cyklus inhibován, což vede k zastavení vylučování isoprenu. Nepřímo tyto pozorování ukazují, že 3-PGA (3-fosfoglyceraldehyd) je metabolitem uhlíku, který je nezbytný pro syntézu isoprenu (Singaas, Lerdau et al. 1997).

Po odstranění oxidu uhličitého byly emise  $\alpha$ -pinenu výrazně inhibovány a po obnovení původní koncentrace oxidu uhličitého se vrátili na původní úroveň. Tento experiment podporuje domněnku, že existuje spojení mezi metabolismem uhlíku a vylučováním  $\alpha$ -pinenu, a že uhlík, který je fixován při fotosyntéze je nezbytný pro produkci  $\alpha$ -pinenu v listech *Q. ilex*.

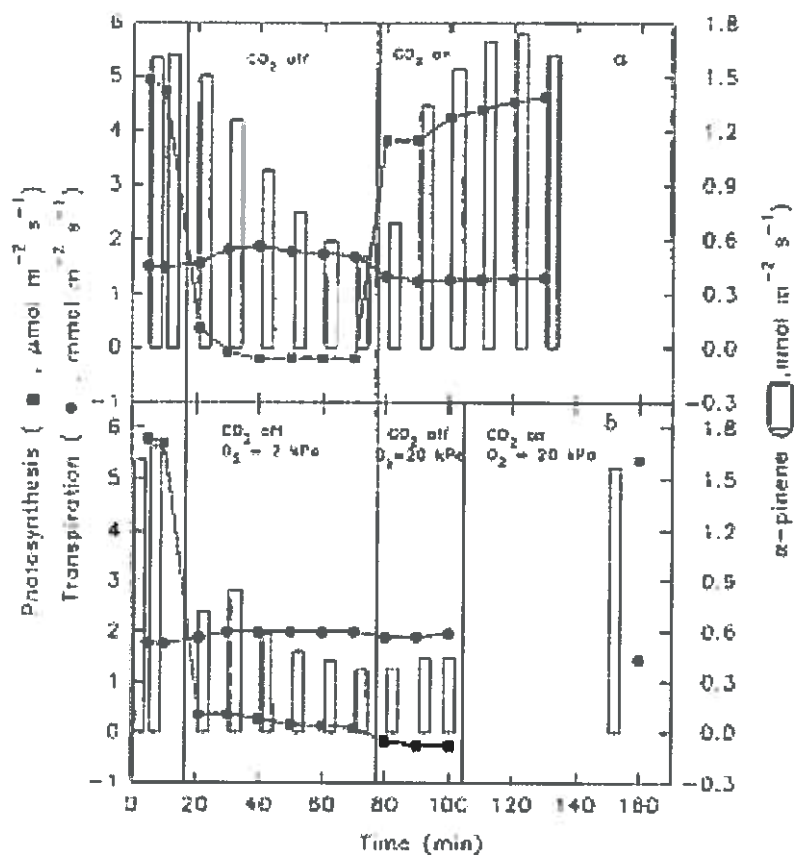


Obr. 17 Porovnání normalizovaných emisí  $\alpha$ -pinenu z listů po vystavení vzduchu bez oxidu uhličitého ( $\circ$ ) se vzduchem bez oxidu uhličitého a nízkým obsahem kyslíku (2 kPa) ( $\bullet$ ). Emise v čase 0 (= 100) byly měřeny za normálních vzdušných podmínek. Měření při světelné intenzitě  $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  a teplotě listů  $30^\circ\text{C}$  (Loreto, Ciccioli et al. 1996).

Odstranění a následné obnovení oxidu uhličitého vedlo k náhlým změnám fotosyntézy, ale odpověď vylučování  $\alpha$ -pinenu byla pomalejší. Podle pozorování se zdá, že k dosažení ustáleného stavu emisí  $\alpha$ -pinenu je nutná 40- 50 min dlouhá doba vždy když dojde ke změně složení vzduchu. Tato odpověď je relativně pomalá v porovnání s odpovědí isoprenu u druhů, které ho vylučují (Loreto, Ciccioli et al. 1996).

Doklad, že tvorba  $\alpha$ -pinenu v mezofylu listů může být závislá na metabolismu uhlíku, byl také ukázán u rostlin, které vylučují monoterpeny specializovanými orgány (Janson 1992).





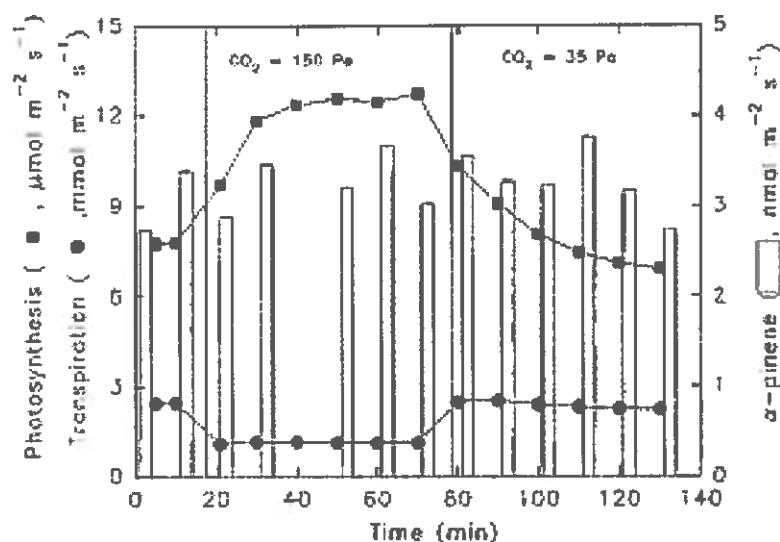
Obr. 18 a) Časový průběh změn vylučování  $\alpha$ -pinenu (sloupce), fotosyntézy (■) a transpirace (●) po odstranění CO<sub>2</sub> (první svislá čára) a po jeho obnovení (druhá svislá čára).

b) složení vzduchu bylo změněno, tak, že byl současně odstraněn CO<sub>2</sub> a byl snížen parciální tlak O<sub>2</sub> na 2 kPa (první svislá čára), později byl obnoven normální parciální tlak O<sub>2</sub> (20 kPa) a zachovány podmínky bez CO<sub>2</sub> (druhá svislá čára) a na závěr byl obnoven normální parciální tlak CO<sub>2</sub> (35 Pa) (třetí svislá čára).

Měření začalo (čas 0) po ponechání listů v kyvetě po dobu jedné hodiny při světelné intenzitě  $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  a teplotě listů 30 °C. Intenzita světla a teplota listů se během experimentu neměnily (Loreto, Ciccioli et al. 1996).

Pozorování, že vylučování  $\alpha$ -pinenu je rychle a silně inhibováno po vystavení atmosféře bez oxidu uhličitého a s nízkým obsahem kyslíku (to znamená když je předpokládáno, že dostupnost 3- PGA je nízká), naznačuje, že vylučování  $\alpha$ -pinenu listy *Q. ilex* může být také regulováno dostupností 3- PGA. Nicméně, jak odstranění oxidu uhličitého, tak odstranění oxidu uhličitého v atmosféře se sníženým obsahem kyslíku, způsobili, že emise  $\alpha$ -pinenu dosáhly nového ustáleného stavu, který odpovídal přibližně 20- 25 % emisí pozorovaných za normálních podmínek. Obdobně po přechodu ze světla do tmy byly pozorovány zbytkové emise, což může znamenat, že malá část  $\alpha$ -pinenu není přímo závislá na fotosyntetickém metabolismu uhlíku (Loreto, Ciccioli et al. 1996).

Zvýšení  $\text{CO}_2$  neovlivňuje vylučování  $\alpha$ -pinenu, ale inhibuje vylučování isoprenu u druhů, které ho vylučují (Monson et Fall 1989). Inhibice isoprenu při vysokých koncentracích  $\text{CO}_2$  je připisována začátku odezvy na podmínky (Loreto et Sharkey 1990). Když se objeví zpětná vazba, dostupnost 3- PGA neodpovídá dostupnosti ATP, která je také nezbytná pro podporu syntézy isoprenu (Loreto et Sharkey 1993b). Podmínky odpovědi jsou také charakterizovány nedostatkem stimulace fotosyntézy při nízkém parciálním tlaku kyslíku. Necitlivost emisí  $\alpha$ -pinenu ke zvýšenému obsahu  $\text{CO}_2$  v atmosféře značí pouze, že běžný parciální tlak  $\text{CO}_2$  je dostatečný k pohánění tvorby sloučenin naplno, a tak není očekáván další nárůst míry vylučování při parciálním tlaku  $\text{CO}_2$  vyšším než je běžný (Loreto, Ciccioli et al. 1996).



Obr. 19 Časový průběh změn vylučování  $\alpha$ -pinenu (sloupce), fotosyntézy(■) a transpirace (●) po expozici vzduchem obohaceným o  $\text{CO}_2$ . V čase, který je označený první svislou čarou, vzrostl parciální tlak  $\text{CO}_2$  z běžného (35 Pa) na 150 Pa. Složení běžného vzduchu bylo obnoveno v čase označeném druhou svislou čarou. Měření začalo (čas 0) po té co byly listy ponechány v kvetě po jednu hodinu při světelné intenzitě  $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  a teplotě listů  $30^\circ\text{C}$ . Světelná intenzita a teplota listů byly během celého experimentu nezměněny (Loreto, Ciccioli et al. 1996).

***Projekt v České Republice: Emise biogenních sloučenin z *Picea abies* (L.) Karst při dlouhodobém vlivu zvýšeného obsahu oxidu uhličitého***

Projekt Emise biogenních sloučenin z *Picea abies* (L.) Karst při dlouhodobém vlivu zvýšeného obsahu oxidu uhličitého probíhal od roku 2003 do roku 2005. Projekt byl řešen na třech pracovištích: Ústav analytické chemie AV ČR, Ústav systémové biologie a ekologie AV ČR a Mendelova zemědělská a lesnická

univerzita v Brně- Agronomická fakulta. Na spolupráci se podílel prof. Maenhaut z Gent University v Belgii.

Projekt se soustředil na porozumění základních procesů vzniku, akumulace a emise isoprenu, monoterpenů a ostatních organických sloučenin produkovaných *Picea abies* (L.) Karst pod vlivem dlouhodobého působení zvýšených koncentrací oxidu uhličitého. V průběhu projektu byly hledány souvislosti mezi fotosyntézou, Calvinovým cyklem a syntézou biogenních sloučenin. Byla testována hypotéza, podle které distribuce a složení škrobových zrn a obsahu sacharidů v jehličí mohou být indikátorem schopnosti jehličí produkovat a následně emitovat zvýšená množství těkavých sloučenin do ovzduší. V průběhu projektu byla také sledována základní meteorologická data společně s údaji o koncentraci vybraných polutantů jako jsou: ozon, oxid dusičitý, kyselina dusičná a dusitá. V minisférách: relativní vlhkost, intenzita slunečního záření.

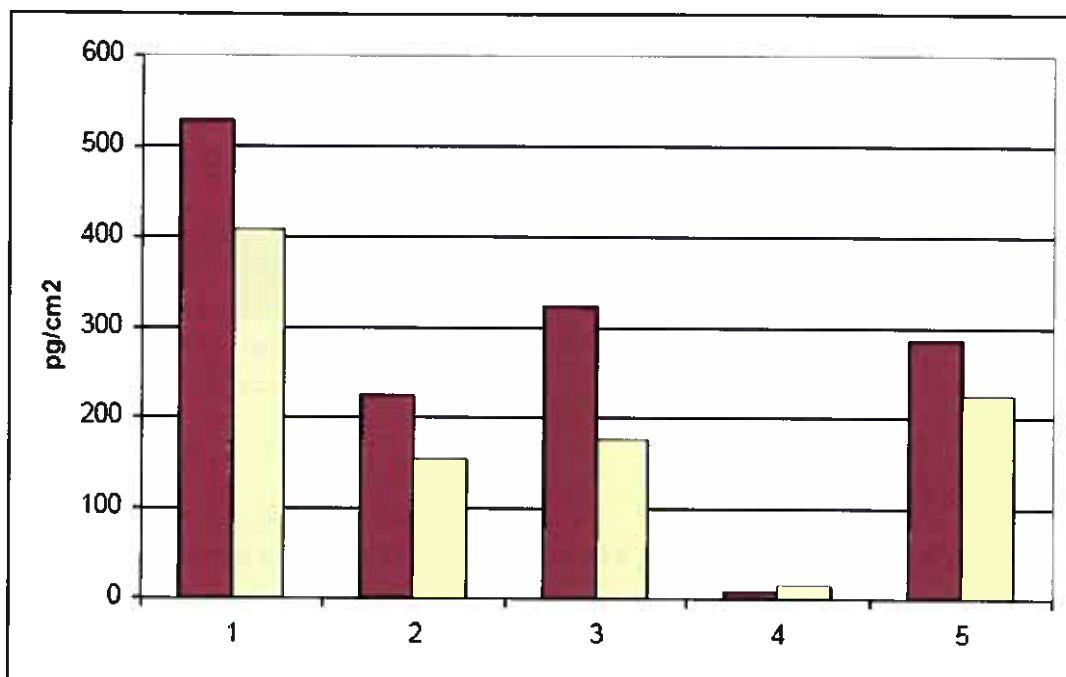
Studie byla prováděna ve dvou lamelárních minisférách na Bílém Kříži. Do jedné z nich byl vháněn vzduch z okolí. Do druhé byl vháněn vzduch obohacený o cca 350 ppm (v/v) CO<sub>2</sub>. Při vzorkování byla použita tzv. „kyvetová metoda“, při které byly části větví vsunuty do „kyvet“ zhotovených z inertního materiálu a byly pokryty PE folií. Do kyvet (30 x průměr 20 cm, jejich objem 9,42 litru) byl nasáván čistý vzduch (přes aktivní uhlí) objemovou rychlostí 0,5 l/min. Tento vzduch, obsahující biogenní sloučeniny, byl následně analyzován metodou LVI- GC/MS. Studium složení vzduchu v jednotlivých minisférách bylo zjištěno v měřitelném množství (koncentrace větší než 10 ppt (v/v) ) lze v minisférách identifikovat alfa a beta pineny, kamfen, limonen.

Vzhledem k destruktivním zásahům do porostu v minisférách, které proběhly v roce 2004 a 2005, bylo nutné pro rok změnit metodiku odběru vzorků ovzduší. Odběr vzorků se prováděl ve dvou inminisférách, které byly postaveny uvnitř původních lamelových minisfér A a E. Inminisféra „A“ (ambiend) byla naplněna okolním vzduchem a inminisféra „E“ (elevated) se zvýšeným obsahem oxidu uhličitého (A + 350 ppm (v/v) ).

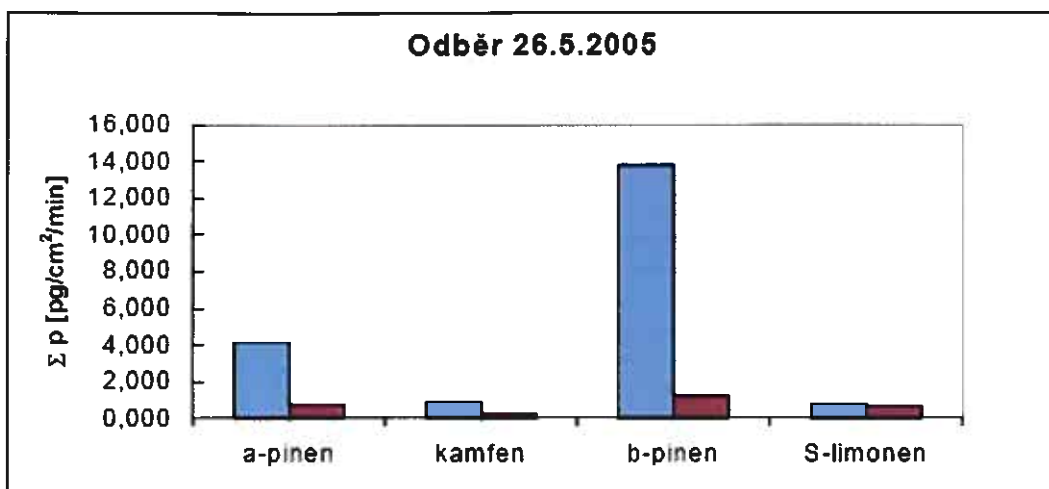


Obr. 20 Inminisféra s příslušenstvím

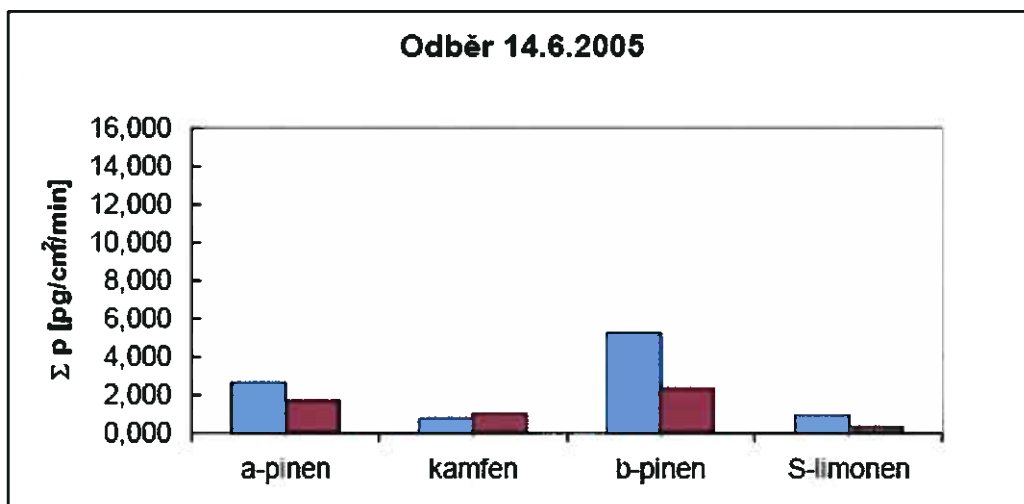
Přestože není dokončeno celkové vyhodnocování výsledků, zdá se, že obsah monoterpenů (alfa a beta pinen, felandren, karen a limonen) je v jeřličí, které rostlo v prostředí pozad'ové koncentrace  $\text{CO}_2$  (A + 350 ppm (v/v) ).



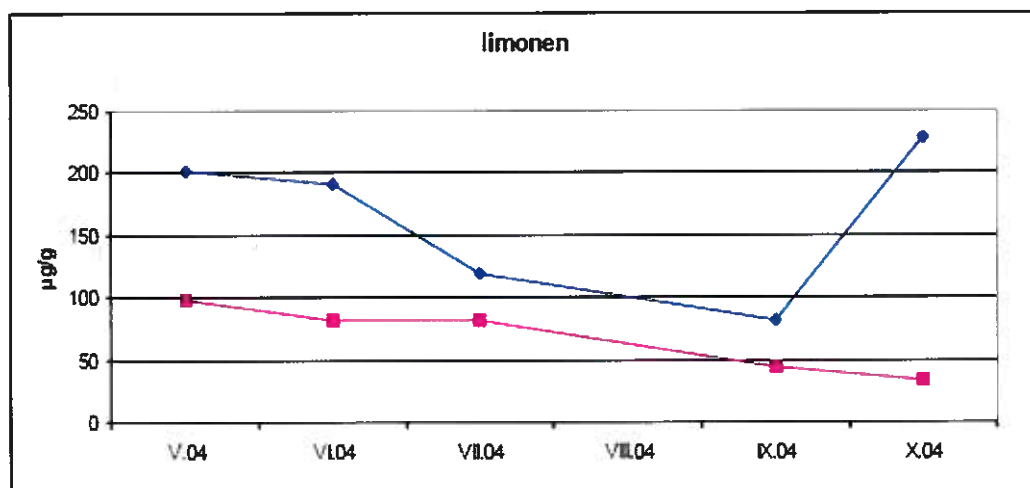
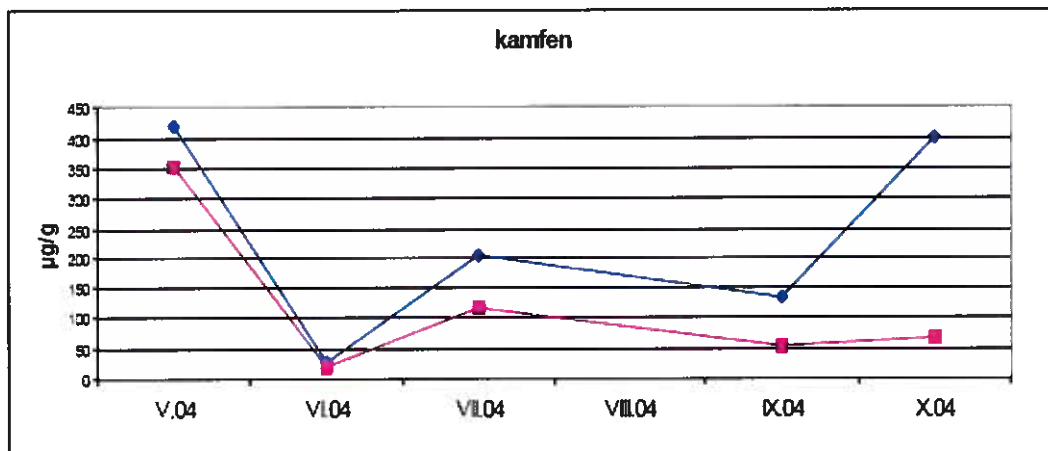
Obr. 21 Žlutě jsou označeny emise monoterpenů z větví vystavených vyšší koncentraci CO<sub>2</sub>, červené sloupce představují emise monoterpenů z větví pod vlivem pozad'ové koncentrace CO<sub>2</sub>. 1- alfa pinen, 2- kamfen, 3- beta pinen, 4- felandren, 5- limonen.



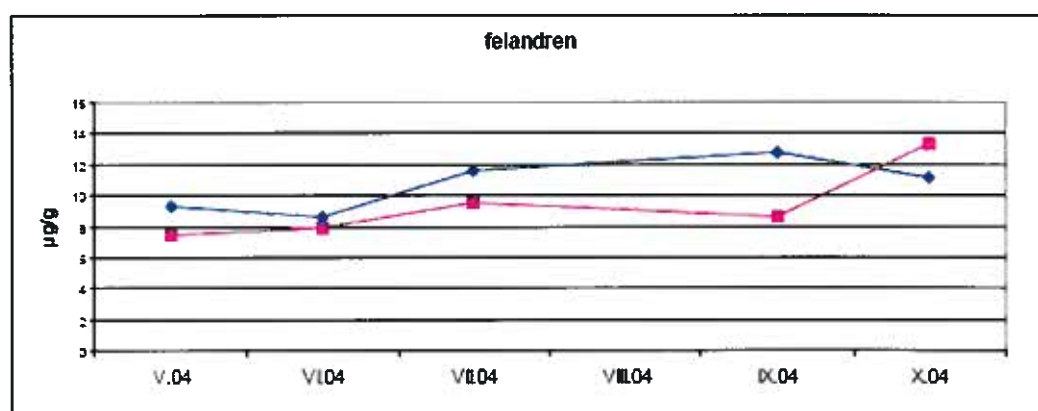
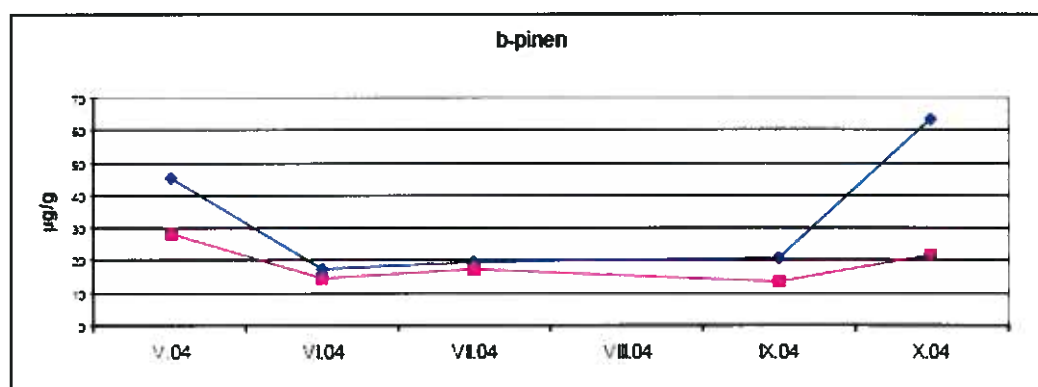
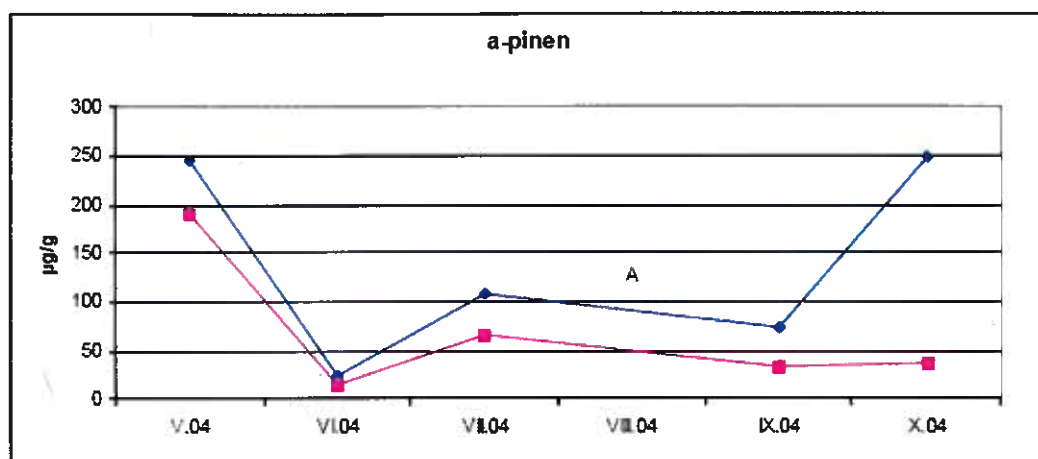
Obr. 22 Modře jsou vyznačeny emise ze stromů s pozad'ovou koncentrací CO<sub>2</sub>, červeně se zvýšenou koncentrací CO<sub>2</sub>.



Obr. 23 Modře jsou vyznačeny emise ze stromů s pozad'ovou koncentrací CO<sub>2</sub>, červeně se zvýšenou koncentrací CO<sub>2</sub>







Obr. 24 Červená křivka představuje množství monoterpenů v 1 gramu jehličí v přítomnosti zvýšeného obsahu CO<sub>2</sub> (A + 350 ppm (v/v) ). Křivka modrá představuje množství monoterpenů v jehličí při pozad'ové koncentraci CO<sub>2</sub>. Na časové ose jsou uvedena data odběrů na Bílém Kříži (rok 2004).

Kyvetové i pokusy v minisférách prokázaly, že lesní porost *Picea abies* (L.) *Karst* emituje v měřitelném množství pouze monoterpeny. Emise dalších biogenních sloučenin nebyly za daných podmínek zjištěny. Z obou experimentů je zřejmé, že v prostředí se zvýšeným obsahem CO<sub>2</sub> nedochází ke zvýšené emisí monoterpenů v porovnání s emisemi v prostředí pozad'ové koncentrace CO<sub>2</sub>. Emise *Picea abies* (L.) *Karst* budou v budoucnu nižší a nebudou se podílet na zvýšení oxidační kapacity atmosféry. Potvrdilo se, že v prostředí zvýšeného obsahu oxidu uhličitého dochází ke snížení obsahu monoterpenů v jehličí (Večeřa 2005).

## Závěr

Ekologické faktory, které nejvíce ovlivňují primární a sekundární metabolismus rostlin jsou osvětlení, teplota, relativní vlhkost a dostupnost vody, dostupnost dusíku a koncentrace oxidu uhličitého v atmosféře. Při sledování vlivu těchto faktorů, se také hledala souvislost mezi primárním a sekundárním metabolismem (vztah fotosyntézy, transpirace a produkce isoterpenoidů).

Vliv intenzity osvětlení a teploty je významný, především v období růstu rostlin a ovlivňuje jejich pozdější reakce při změně těchto podmínek. Vylučování isoprenu je hyperbolicky závislé na světle a exponenciálně na teplotě.

Zdá se, že větší vliv na vylučování isoprenu při změnách teplot, má změna aktivity isoprensintasy než změna intenzity fotosyntézy. Obdobně bylo u  $\alpha$ -pinenu zjištěno, že vztah mezi jeho vylučováním a fotosyntézou neplatí, je-li jediným faktorem, který se mění, teplota.

Odpověď na světlo je u isoprenoidů obdobná jako u fotosyntézy, ale reakce na tmu má odlišný průběh než fotosyntéza a transpirace. Toto značí, že tvorba isoprenoidů je závislá na ATP, neboť dostupnost ATP ve tmě přetrvává, zatímco NADPH je rychle vyčerpáno.

Vliv relativní vlhkosti na vylučování isoprenu spočívá ve změně permeability kutikuly či v mechanickém poškození žlaznatých buněk kapkami deště, ovšem u  $\alpha$ -pinenu, jehož emise nepocházejí za žláz a jsou nezávislé na hydrataci, byly změny vylučování v důsledku relativní vlhkosti malé.

Vliv dusíku interaguje s vlivem světla a je tudíž odlišný v různých světelných podmínkách. Při malé dostupnosti dusíku se rozdíl v prostředí, ve kterém rostliny vyrostly neprojevil významným rozdílem ve vylučování isoprenu, avšak při vyšší dostupnosti dusíku měly rostliny, které vyrostly na slunci vyšší emise isoprenu, než rostliny vyrostlé ve tmavých podmínkách. Se zvyšující se dostupností dusíku dochází ke zvyšování, jak emisí isoprenu, tak intenzity fotosyntézy, což může naznačovat spojení mezi syntézou isoprenu a fotosyntézou, ale na druhou stranu zvýšení dostupnosti dusíku může zvyšovat koncentraci isoprensintasy, bez ohledu na fotosyntetické enzymy.

Také vliv oxidu uhličitého je poněkud odlišný u emisí isoprenoidů a fotosyntézy. Zatímco fotosyntéza je na jeho změny citlivá, isopren je relativně necitlivý. Malé zvýšení množství oxidu uhličitého vede ke zvýšení emisí, ale velké zvýšení vedlo naopak k jejich snížení. Toto snížení, pak bylo ještě výraznější při snížení obsahu kyslíku v atmosféře a při nízkých až středních teplotách. Vysvětlením může být limitovaná syntéza ATP zpětnou vazbou metabolismu uhlíku.

Při odstranění oxidu uhličitého z atmosféry bylo pozorováno pouze snížení emisí isoprenu, ale při současném odstranění oxidu uhličitého a kyslíku došlo k zastavení emisí. Možným vysvětlením je, že pro vylučování isoprenu je nutný aktivní Calvinův cyklus. Při nedostatku oxidu uhličitého, ale přítomnosti kyslíku je Calvinův cyklus udržován fotorespirací a mobilizací škrobových zásob, pokud ale dojde k odstranění kyslíku, je Calvinův cyklus inhibován. Z toho vyplývá, že 3-fosfoglyceraldehyd je metabolitem uhlíku, který je nezbytný pro syntézu isoprenu. Emise  $\alpha$ -pinenu vykazovaly určité zbytkové emise, což naznačuje, že malá část  $\alpha$ -pinenu není závislá na fotosyntetickém metabolismu uhlíku.

I český projekt: Emise biogenních sloučenin z *Picea abies* (L.) Karst při dlouhodobém vlivu zvýšeného obsahu oxidu uhličitého potvrdil snížení emisí monoterpenů.

Vztah mezi syntézou isoprenu a isoprenoidů a fotosyntézou není vždy zcela jasný, ale pravděpodobně zde určité souvislosti existují.

## Přehled použité literatury

Alexandrov, V. A. et Hoogenboon, G. (2000): Vulnerability and adaptation assessmentsof agricultural crops under climate change in the Southeastern USA. *Theor. Appl. Climatol.*, 67: 45- 63

Barber, V. A., Juday, G. P. et al. (2000): Reduced growth of Alaska white spruce in the twentieth century from temperature- induced drought stress. *Nature*, 405: 668- 673

Biogenic Emissions in the Mediterranean Area (BEMA) (1994), Report on the preliminary measurment campaign at Castelporziano, Rome (Italy), June 1993. CEC-EUR 15955, Luxembourg, Belgium

Burkett, N. et Kusler, J. (2000): Climate change potential impacts and interactions in wetlands of United States. *JAWRA*, 36: 313- 320

Camill, P. et Clark, J. S. (2000): Long term perspectives on lagged ecosystem responses to climate change: Permafrost in boreal peatlands and the grassland/ woodland boundary. *Ecosystems*, 3: 534- 544

Collatz, G. J., Bounoua, L. et al. (2000): A mechanism for the influence of vegetation on the response of the diurnal temperature range to changing climate. *GRL*, 27: 3381- 3384

Conway, T. J, Tans, P. et al. (1986): Atmospheric carbon dioxide measurments in the remote global troposphere. *Tellus*, 40B: 81- 115

Cox, P. M., Betts, R. A. et al. (2000): Acceleration of global warming due to carbon-cycle feedbacks in a coupled climate model. *Nature*, 408: 184- 187

Croteau, R. (1987): Biosynthesis and catabolism of monoterpenoids. *Chem. Rev.*, 87: 929- 954

Croteau, R., Kutchan, T. M. et al. (2000): Natural Products (Secondary Metabolites). In: *Buchanan, B., Gruissem, W. et al.: Biochemistry and Molecular Biology of Plants, American Society of Plant Physiologist. s.: 1250- 1318*

Cvikrová, M. et Hrubcová, M. (1999): The role of phenolic substances in the proces of differentiation and morphogenesis. *Advances in Regulation of Plant Growth and Development. Academia, Praha. s. 213- 220*

Daum, P.H., Kleinman, L. I. et al. (2000): Analysis of O<sub>3</sub> formation during a stagnation episode in central Tennessee in summer 1995. *J. Geophys. Res. Atmos.*, 105: 9107- 9119

Dicke, M. et al. (2003): Plants talk, but are they deaf? *Trends Plant Sci.*, 8: 403- 405

Dixon, R. K., Brown, S. et al. (1994): Carbon pools and flux of global forest ecosystems. *Science*, 263: 185- 190

Epstein, H. E., Walker, M. D. et al. (2000): A transient nutrient- based model of arctic plant community response to climatic warming. *Ecol. Appl.*, 10: 824- 841

Fehsenfeld, F. C., Calvert, J. et al. (1992): Emissions of volatile organic compounds from vegetation and the implications for atmospheric chemistry. *Global Biochem. Cyc.*, 6: 389- 430

Fleming, R. A. (2000): Climate change and insect disturbance regimes in Canada's boreal forests. *World Res. Rev.*, 12: 512- 555

Folland, C. K., Karl, T. R. et al. (2001): Observed Climate Variability and Change. In: Houghton, J. T., Ding, Y, et al.: *Climate Change 2001: The Scientific Basis. Contribution of Working Group I to the Third Assessment Report of Intergovernmental Panel on Climate Change, Cambridge University Press, Cambridge and New York. s. 101- 165*

Friedlingstein, P., Solomon, S. (2005): Contributions of past and present human generations to committed warming caused by carbon dioxide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 102: 10832- 10836*

Funk, J. L., Jones, C. G. et al. (2003): Diurnal variation in the basal emission rate of isoprene. *Ecological Applications, 13: 269- 278*

Grinspoon, J., Bowman, W. D. et al. (1991): Delayed onset of isoprene emission in developing velvet bean (*Mucuna sp.*) leaves. *Plant Physiol., 97: 170- 174*

Guenther, A. B., Monson, R. K. et al. (1991): Isoprene and monoterpene emission rate variability: observations with Eucalyptus and emission rate algorithm development. *J. Geophys. Res., 96: 10799- 10808*

Guenther, A. B., Zimmerman, P. R. et al. (1993): Isoprene and monoterpene emission rate variability: model evaluations and sensitivity analyses. *J. Geophys. Res., 98: 12609- 12617*

Guenther, A., Geron, C. et al. (2000): Natural emissions of non- methane volatile organic compounds, carbon monoxide, and oxides of nitrogen from North America. *Atmos. Environ., 34: 2205- 2230*

Guenther, A., Hewitt, N. C. et al. (1995): A global model of natural volatile organic compound emissions. *J. Geophys. Res., 100: 8873- 8892*

Hahlbrock, K. et Grisebach, H. (1979): Enzymatic controls in the biosynthesis of lignin and flavonoids. *Annu. Rev. Plant Physiol., 30: 105- 130*

Hansen, J., Ruedy, R. et al. (1998): Climate forcing in industrial era. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95: 12753- 12758

Hansen, J., Sato, M. et al. (1998): A common- sense climate index: Is climate changing noticeably? *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95: 4113- 4120

Harborne, J. B. (1993): *Introduction to ecological biochemistry*, Academic Press, London

Harley, P. C., Litvak, M. E. et al. (1994): Isopren emission from velvet bean leaves. Interactions among nitrogen availability, growth, photon flux density, and leaf development. *Plant. Physiol.*, 105: 279- 285

Harrington, J. B. (1987): Climate change: review of causes. *Canad. J. For. Res.*, 17: 1313- 1339

Hattenschwiler, S. et Korner, C. (2000): Tree seedling responses to in situ CO<sub>2</sub>-enrichment differ among species and depend on understorey light availability. *GCB*, 6: 213- 226

Heldt, H. W. (1997): *Plant Biochemistry and Molecular Biology*. Oxford University Press, Oxford. s. 378

Hubík, J., Dušek, J. et al. (1989): *Farmakognosie I.. Státní pedagogické nakladatelství, Praha*. s. 16- 20

Chakraborty, S., Tiedemann, A. V. et al. (2000): Climate change: potential impact on plant diseases. *Environ. Poll.*, 108: 317- 326

Janson, R. (1992): Monoterpene concentrations in and above a forest of Scots pine. *J. Atmos. Chem.*, 14: 385- 394



Johnson, D. W., Susfalk, R. B. et al. (2000): Simulated effect of temperature and precipitation changes in several forest ecosystems. *J. Hydrol.*, 235: 183- 204

Juuti, S., Arey, J. et al. (1990): Monoterpene emission rate measurements from a Monterey pine. *J. Geophys. Res.*, 95: 7515- 7519

Korner, C. (2000): Biosphere responses to CO<sub>2</sub> enrichment. *Ecol. Appl.*, 10: 1596- 1613

Kramer, K., Leinonen, I. et al. (2000): The importance of 381. phenolog for the evaluation of impact of climate change on growth of boreal, temperate and Mediterranean forests ecosystems: an overview. *Int. J. Biometeorol.*, 44: 67- 75

Krauchi, N. (1993): Potential impacts of climate change on forest ecosystems. *Eur. J. Forest Path.*, 23: 28- 50

Kronberg, B. I. et Watt, M. J. (2000): The precariousness of North American boreal forests. *Environ. Monit. Assess.*, 62: 261- 272

Kuzma, J. et Fall, R. (1993): Leaf isoprene emission rate is dependent on leaf development and the level of isoprene synthase. *Plant Physiol.*, 101: 435- 440

Lapa, I. K. et Udre, V. Yu. (1986): Phenolic compounds in developing generative buds of aspen trees in relation to sex expression. *Fiziol. Rast.*, 33: 1104- 1112

Larcher, W. (1988): *Fyziologická ekologie rostlin. Academia, Praha*

Lerdau, M. et Gray, D. (2003): Ecology and evolution of light- dependent and light independent phytogetic volatile organic compounds. *New Physiol.*, 157: 199- 211

Lerdau, M. et Throop, H. L. (2000): Sources of variability in isoprene emission and photosynthesis in two species of tropical wet forest trees. *Biotropica*, 32: 670- 676

Lichtenthaler, H. K. et Schweiger, J. (1998): Cell wall bound ferulic acid, the major substance of the blue- green fluorescence emission of plants. *J. Plant Physiol.*, 152: 272- 282

Litvak, M. E., Loreto, F. et al. (1996): The response of isoprene emission rate and photosynthetic rate to photon flux and nitrogen supply in aspen and white oak trees. *Plant Cell. Environ.*, 19: 549- 559

Loreto, F. et Sharkey, T. D. (1990): A gas- exchange study of photosynthesis and isoprene emission in *Quercus rubra* L.. *Planta*, 182: 525- 531

Loreto, F. et Sharkey, T. D. (1993): On the relationship between isoprene amission and photosynthetic metabolites under different environmental conditions. *Planta*, 189: 420- 424

Loreto, F. et Velikova, V. (2001): Isoprene produced by leaves protect the photosynthetic apparatus against ozone damage, quenches ozone products, and reduces lipid peroxidation of cellular membranes. *Plant Physiol.*, 127: 1781- 1787

Loreto, F., Ciccioli, P. et al. (1996): Influence of environmental factors and air composition on the emission of  $\alpha$ -pinen from *Quercus ilex* leaves. *Plant Physiol.*, 110: 267- 275

Macel, M. Klinkhamer, P. G. L. et al. (2002): Diversity of pyrrolizidine alkaloids in *Senecio* sp. Does not affect the specialist herbivore *Tyria jacobaeae*. *Oecologia*, 133: 541- 550

Malcolm, J. R. et Markham, A. (2000): Global warming and terrestrial biodiversity decline. *World Wildlife Fund*, s. 34

McKenney- Easterling, M., De Walle, D. R. et al. (2000): The potential impacts of climate change and variability on forests and forestry in Mid- Atlantic Region.

*Climate Res.*, 14: 195- 206

Molgaard, P. et Ravin, H. (1988): Evolutionary aspects of caffeoyl ester distribution in dicotyledons. *Phytochemistry*, 27: 2411- 2421

Monson, R. K. et Fall, R. (1989): Isopren emission from aspen leaves. The influence of environment and relation to photosynthesis and photorespiration. *Plant Physiol.*, 90: 267- 274

Monson, R. K., Jaeger, C. H. et al. (1992): Relationships among isoprene emission rate, photosynthesis, and isopren synthase activity as influenced by temperature.

*Plant Physiol.*, 98: 1175- 1180

Monson, R., Harley, P. et al. (1994): Environmental and developmental controls over the seasonal pattern of isoprene emission from aspen leaves. *Oecologia*, 99: 260- 270

Niemann, G. J. (1990): A carnations defense against fungal invasion: A combined effort. *Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent.*, 55: 1019- 1028

Ozenda, P. et Borel, J. L. (1990): The possible responses of vegetation to a global climatic change. Scenarios for Western Europe with special references to the Alps. In: Boer, M. M., de Groot, R. S. et al. (1990): *Landscape- ecological Impact of Climatic Change*, IOS Press, Amsterdam. s.: 2212- 2249

Peñuelas, J. et al. (1995): Terpenoids: a plant language. *Trends Ecol. Evol.*, 10: 289

Peñuelas, J. et Llusià, J. (2003): PVOCs: plant defense against climatic warming? *Trends Plant Sci.*, 8: 105- 109

Peñuelas, J. et Llusià, J. (2004): Plant VOC emissions: making use of the unavoidable. *Trends Ecol. Evol.*, 19: 402- 404

- Pienitz, R. et Vincent, W. F. (2000): Effect of climate change relative to ozone depletion on UV exposure in subarctic lakes. *Nature*, 404: 484- 487
- Pichersky, E. et Greshenzon, J. (2002): The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defense. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 5: 237- 243
- Price, D. T. et Apps, M. J. (1995): The boreal forest transect case study: global change effects on ecosystem processes and carbon dynamics in boreal Canada. *Water, Air and Soil Poll.*, 82: 203- 214
- Reich, P. B., Ellsworth, D. et al. (1998): Leaf stucture (specific leaf area) modulates photosynthesis- nitrogen relations evidence from within and across species and functional groups. *Funct. Ecol.*, 12: 948- 958
- Riswan, S. et Hartanti, L. (1995): Humanimpacts on tropical forest dynamics. *Vegetatio*, 121: 41- 52
- Rosenstill, T. N. et al. (2004): Induction of popler leaf nitrate reductase: a test of extrachloroplastic control of isoprene emission rate. *Plant Biol.*, 6: 12- 21
- Ross, D. J., Tate, K. R. et al. (2000): Carbon and nitrogen pools and mineralization in grassland gley soil under elevated carbon dioxide at natural CO<sub>2</sub> spring. *GCB*, 6: 779- 790
- Saseendran, S. A., Singh K. K. et al. (2000): Effects of climate change on rice production in the tropical humid climate of Kerala, India. *CC*, 44: 495- 514
- Sharkey, T. D., Singaas, E. L. et al. (1999): Weather effects on isoprene emission capacity and applications in emissions algorithms. *Ecol. Appl.*, 9: 1132- 1137

- Sharkey, T. D., Stitt, M. et al. (1986): Limitation of photosynthesis by carbon metabolism. O<sub>2</sub> sensitive CO<sub>2</sub> uptake results from limitation of triose phosphate utilization. *Plant Physiol.*, 81: 1123- 1129
- Sharkey, T. et Loreto, F. (1993): Water- stress, temperature, and light effects on the capacity for isoprene emission and photosynthesis of kudzu leaves. *Oecologia*, 95: 326- 333
- Sharkey, T. et Singsaas, E. (1995): Why plants emit isoprene. *Nature*, 374: 769
- Sharkey, T. et Yeh, S. (2001): Isoprene emission from plants. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 52: 407- 436
- Shulaev, V. et al. (1997): Airborne signaling by methyl salicylate in plant pathogen resistance. *Nature*, 385: 718- 721
- Singsaas, E. L., Lerdau, M. et al. (1997): Isopren increases thermotolerance of isoprene- emitting species. *Plant Physiol.*, 115: 1413- 1420
- Smith, S.D., Huxman, T. E. et al. (2000): Elevated CO<sub>2</sub> increases productivity and invasive species success in arid ecosystem. *Nature*, 408: 79- 82
- Smith, T. M., Cramer, W. P. et al. (1993): The global terrestrial carbon cycle. *Water, Air and Soil Poll.*, 70: 19- 37
- Staudt, M. et Seufert, G. (1995): Light- dependent emission of monoterpenes by holm oak (*Quercus ilex* L.). *Naturwissenschaften*, 82: 89- 92
- Theis, N. et Lerdau, M. (2003): The evolution of function in plant secondary metabolites. *Int. J. Plant. Sci.*, 164: S93- S102
- Tingey, D. T., Evans, R. et al. (1981): Effects of environmental conditions on isoprene emission from live oak. *Planta*, 152: 565- 570

- Tingey, D. T., Manning, M. et al. (1980): Influence of light and temperature on monoterpene emission rates from slash pine. *Plant Physiol.*, 65: 797- 801
- Tingey, D. T., Turner, D. P. et al. (1991): Factors controlling the emission of monoterpenes and other volatile organic compounds. In: *Sharkey, T. D., Holland, E. A. et al. (1991): Trace Gas Emissions by Plants, Academic Press, San Diego. s.: 93-119*
- Trostdorf, C.R., Gatti, L.V. et al. (2004): Seasonal cycles of isoprene concentrations in the Amazonian rainforest. *Atmos. Chem. Phys. Discuss.*, 4: 1291- 1310
- Večeřa, Z. (2001): Isoprenoidy v atmosféře. *Chem. Listy*, 95: 157- 162
- Večeřa, Z. (2005): Emise biogenních sloučenin z *Picea abies* (L.) Karst při dlouhodobém vlivu zvýšeného obsahu oxidu uhličitého. Závěrečná zpráva o řešení grantového projektu 526/03/1182
- Vodrážka, Z. (1996): *Biochemie. Academia, Praha. s. II/ 109- 113, III/ 55-67*
- Went, F. W. (1960): Blue hazes in atmosphere. *Nature*, 187: 641- 643
- Wiberley, A. E., Linskey, A. R. et al. (2005): Development of the capacity for isoprene emission in kudzu. *Plant, Cell and Environ.*, 28: 898- 905
- Wigley, T. M. L., Jones, P. D. et al. (1997): The observed global warming records: What does it tell us? *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94: 8314- 8320
- Winter, T. C. (2000): The vulnerablility of wetlands to climate change: a hydrological landscape perspective. *JAWRA*, 36: 305- 311
- Wuethrich, B.(2000): How climate change alters rythmus of the wild. *Science*, 287: 793

Zaprometov, M. N. (1989): The formation of phenolic compounds in plant cell and tissue cultures and the possibility of this regulation. *Adv. In Cell Cult.*, 7: 201- 206