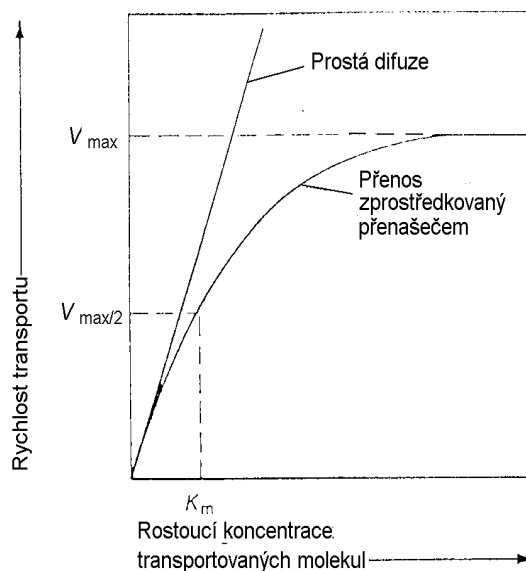
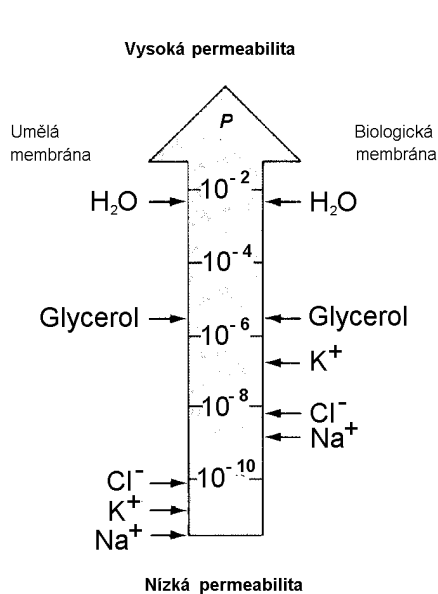


## 9. PŘÍJEM ROZPUŠTĚNÝCH LÁTEK DO BUŇKY A JEJICH PŘESUNY MEZI BUŇKAMI A ORGÁNY

### 9.1 PŘENOSY LÁTEK A JEJICH ROVNOVÁHY NA BIOLOGICKÝCH MEMBRÁNÁCH

Vzhledem k lipidní povaze jsou biologické membrány málo propustné pro ionty a polární molekuly. Pro nepolární molekuly ( $O_2$ ) a malé polární molekuly ( $H_2O$ ,  $CO_2$ , glycerol) jsou propustnosti vyšší, ale ještě stále dosti malé (**obr. 9.1-1**).

Pokud jde o vstup nějaké látky do buňky, rozlišujeme především prostou difuzi (látka difunduje buď přímo lipidním základem membrány nebo vodu obsahujícími kanály) a přenos prostřednictvím přenašečů (**obr. 9.1-2**). Přenašeče opět dělíme na takové, které usnadňují samovolný přestup látky po spádu koncentrace (facilitated diffusion) a takové, které aktivně přenášejí látku proti spádu koncentrace (active transport). Aktivní přenosy potřebují ovšem zdroj energie.



**Obr. 9.1-1.** Koeficienty permeability některých látek pro umělou a biologickou membránu. Hodnoty jsou v  $cm \cdot s^{-1}$ .

**Obr. 9.1-2.** Závislost rychlosti příjmu látky do buňky při prosté difuzi a při přenosu zprostředkovaném přenašečem.

Hodnota teplotního kvocientu,  $Q_{10}$ , pro volnou difuzi ve vodním roztoku je 1,2 - 1,5, zatímco pro difuzi přes membránu je tento kvocient  $Q_{10} = 2 - 4$ . Hodnota  $Q_{10} > 1,5$  se tedy nemůže považovat za důkaz pro aktivní transport. Lepším důkazem je, pokud se ukáže, že se přenos zastaví působením nějakého inhibitoru dýchání nebo jiné tvorby ATP (např. je-li přenos citlivý ke kyanidu).

Je-li membrána propustná pro sledovaný ion, pak lze také z Nernstovy rovnice určit, zda je rozdělení tohoto iontu na membráně aktivní nebo pasivní. Je-li Nernstův potenciál pro tento ion,  $dE_n$ , roven potenciálu na membráně lze soudit, že tento ion je rozdělen pasivně. Proto nejjednodušší test pro to, zda dochází k aktivnímu přenosu iontu, je změřit jeho koncentraci v buňce a ve vnějším prostředí a Nernstův potenciál, vypočtený pro rozdíl v koncentracích, srovnat s potenciálem naměřeným na membráně.

Za rovnováhy bude elektrochemický potenciál iontu  $j$  na obou stranách membrány týž (vnější strana je označena indexem  $^o$ , podle anglického "outer" a vnitřní  $^i$ , podle inner).

$$\mu_j^o = \mu_j^i \quad (9.1.1)$$

a tedy

$$\mu_j^* + RT \cdot \ln C_j^o + z_j F E^o = \mu_j^* + RT \cdot \ln C_j^i + z_j F E^i \quad (9.1.2)$$

kde  $R = 8,31441 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$  je univerzální plynová konstanta,  $T$  je absolutní teplota,  $z$  počet nábojů, které ion nese,  $F = 9,649 \cdot 10^4 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{V}^{-1}$  je Faradayova konstanta,  $E^o$  a  $E^i$  jsou potenciály na vnějším a vnitřním povrchu membrány a  $C_j^o$  a  $C_j^i$  jsou koncentrace iontu  $j$  ve vnějším prostředí a v buňce. Z rovnice 9.1.2 získáme pro rozdíl elektrických potenciálů na membráně, čili tzv. Nernstův potenciál,  $dE_{nj}$ ,

$$dE_{nj} = E^i - E^o = (RT/z_j F) \cdot \ln(C_j^o / C_j^i) \quad (9.1.3)$$

čili

$$dE_{nj} = (2,3 \cdot RT/z_j F) \cdot \log(C_j^o / C_j^i) \quad (9.1.4)$$

Pro jednomocný ion se může Nernstova rovnice dále zjednodušit na

$$dE_{nj} = 59 \cdot \log(C_j^o / C_j^i) \quad (9.1.5)$$

kde 59 je hodnota výrazu  $2,3 \cdot RT/F$  v mV.

**Tabulka 9.1-1** ukazuje, že se kromě iontů  $K^+$  ve všech případech vypočtené a nalezené koncentrace výrazně liší a jde tedy o ionty přenášené aktivně.

**Tabulka 9.1-1.** Nalezené a vypočtené koncentrace iontů v kořenech hrachu (*Pisum sativum*).

ion	vnější	vnitřní stanovená	vnitřní vypočtená
$K^+$	1,0	75	74
$Na^+$	1,0	8	74
$Mg^{2+}$	0,25	3	2700
$Ca^{2+}$	1,0	2	10800
$NO_3^-$	2,0	28	0,027
$Cl^-$	1,0	7	0,014
$H_2PO_4^-$	1,0	21	0,014
$SO_4^{2-}$	0,25	19	0,00009

Typické hodnoty pro membránový potenciál rostlinných buněk jsou -60 až -240 mV. Naměřené membránové potenciály rostlinných buněk mají obvykle mnohem větší záporné hodnoty (-110 až -130 mV), než jaké plynou výpočtem pro difusní potenciály vzhledem k naměřeným koncentracím iontů (-50 až -80 mV). Je to dáno tím, že vedle difusních potenciálů je dosti silná elektrogenní složka. Tu vytváří elektrogenní pumpa, reversibilní protonová ATPasa umístěná jednak v buněčné plasmatické membráně, jednak v tonoplastu vakuoly. Tyto pumpy mimo jiné udržují pH v cytoplasmě v okolí neutrality, zatímco roztok v buněčných stěnách a ve vakuolách bývá kyselější o jednu nebo dvě jednotky pH.

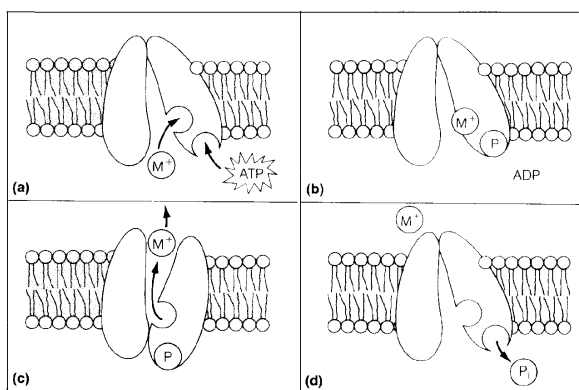
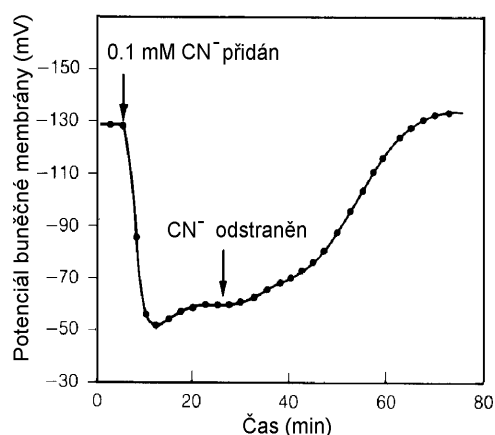
Že část membránového potenciálu v rostlinné buňce závisí na činnosti ATPas, ukazují vliv kyanidu nebo jiných metabolických jedů (**obr. 9.1-3**).

V rostlinných buňkách jsou tři typy ATPas:

(1) ATPasa plasmatické membrány, je dimer bílkoviny prostupující membránu o mol. hmot. asi 100 kDa. Hydrolyzuje ATP a čerpá protony ven z cytoplasmy.

(2) ATPasy vnitřních membrán sestávají z několika podjednotek o úhrnné mol. hmot. 400 - 500 kDa. Čerpají protony z cytoplasmy do vakuoly, do dutin endoplasmatického retikula a Golgiho aparátu.

(3)  $F_0F_1$ -ATPasa sestává z komplexu  $F_0$ , který prostupuje membránu a tvoří kanál vedoucí protony ke katalytickému komplexu  $F_1$ , který čerpá protony proti koncentračnímu gradientu za energii získanou hydrolyzou ATP nebo syntetizuje ATP za energii získanou z toku protonů vyrovnávajících koncentrační rozdíl na membráně. Jsou to především ATPasy vnitřních membrán mitochondrií a chloroplastů.



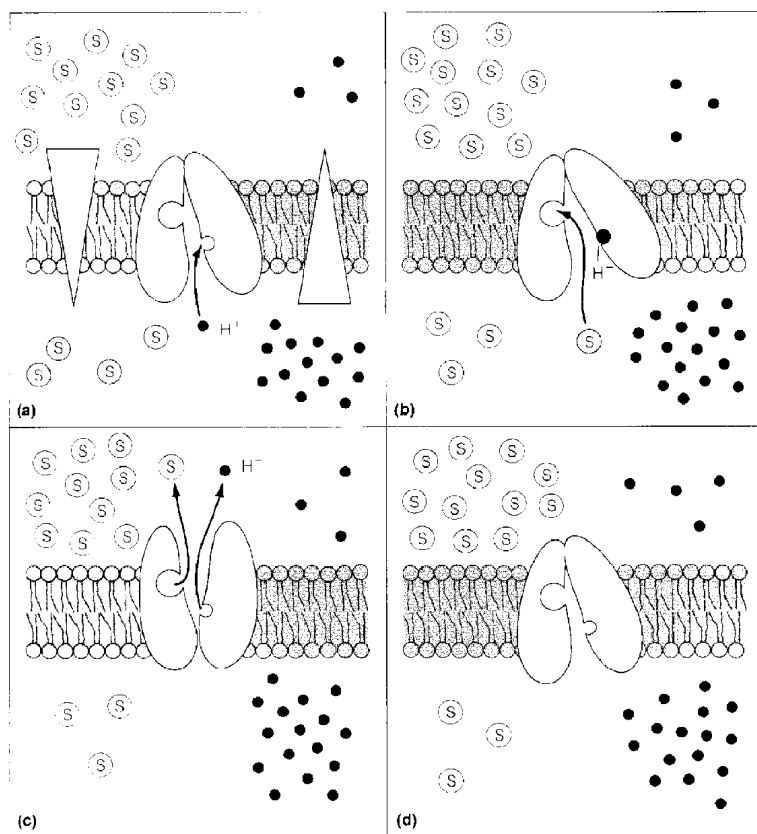
**Obr. 9.1-3.** Membránový potenciál buněk hrachu poklesne, když se přidá do roztoku, v němž jsou suspendovány, KCN. Kyanid zastaví přenos elektronů v mitochondriích a tím produkci ATP. Když se buňky přenesou do roztoku bez iontů  $CN^-$ , činnost mitochondrií se obnoví a potenciál opět poklesne.

**Obr. 9.1-4.** Jak může pracovat elektrogenní pumpa čerpající kation  $M^+$ . Bílkoviny, které pumpu tvoří, uzavírají kanál v membráně. Na cytoplasmatické straně jsou na bílkovině místa pro vazbu ATP a  $M^+$ . Když se obě místa obsadí, ATP se hydrolyzuje, dodá tím energii pro konformační změnu bílkoviny, která uvolní  $M^+$  na vnější stranu membrány. Pak se odštěpí fosfátová skupina z bílkoviny a ta se navrácí do počátečního stavu.

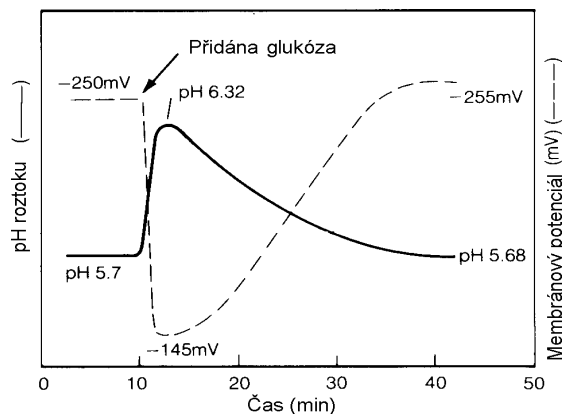
Na **obr. 9.1-4** je znázorněná zatím převážně hypotetická modelová představa o tom, jak pracují ATPasy plasmatických membrán, které přenášejí kationty, zejména protony. Co se ví bezpečně, je, že charakteristickým znakem cyklu je fosforylace bílkoviny přenašeče. Vzhledem k tomu jsou tyto ATPasy silně inhibovány orthovanadičnanem, který soutěží s fosfátem o totéž místo na molekule bílkoviny.

Většina iontových gradientů přes membrány rostlinné buňky je závislá na gradientu protonů, který je také hnací silou pro většinu aktivních přenosů (**obr. 9.1-5**).

$Na^+$  se přenáší ven z buňky protisměrně  $Na^+/H^+$ -antiporterem, kdežto ionty  $Cl^-$ , cukry a aminokyseliny se do buněk přivádějí různými symportery. Jak se o tom lze elegantně přesvědčit, ukazuje pro glukosu **obr. 9.1-6**. Schématický přehled přenosů je na **obr. 9.1-7**.



**Obr. 9.1-5.** Model souběžného přenosu (ko-transportu) přes membránu. Energie, která pohání přenos, je uložena v rozdílu koncentrace protonů na obou stranách membrány. Na počátku přenašeč váže na vnějším povrchu membrány proton. Tím dojde ke konformační změně bílkoviny, která vytvoří místo s afinitou pro substrát přenosu S. Jeho navázání způsobí další konformační změnu, jejímž důsledkem je uvolnění protonu i substrátu do cytoplasmu. Přenašeč se pak vrátí do své původní konformace a cyklus se může opakovat.

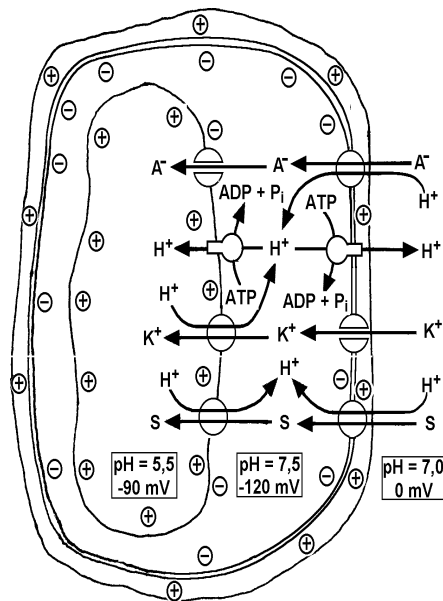


**Obr. 9.1-6.** Na rostlinkách okřehku (*Lemna gibba*) se současně měřil potenciál na membráně kořenné buňky a pH roztoku, který rostliny obklopoval. Po přidání glukosy pH roztoku i membránový potenciál prudce stoupnou. To ukazuje, že glukosa je do buňky přenášena symporterem, který spotřebovává protony. S postupem času se stimuluje ATPasa, která obnoví obvyklé hodnoty pH a membránového potenciálu.

Na obrázku je dobře si všimnout, že přestup aniontů do vakuoly neutralizuje kladný náboj vytvářený protony a tak umožňuje protonové ATPase vytvořit velký rozdíl koncentrace protonů přes membránu tonoplastu. Proto je pH ve vakuole běžně okolo 5,5; zatímco cytoplazma má pH = 7,0 - 7,5. Rozdíl pH mezi cytoplasmou a vakuolou může být někdy mnohem větší. Citrónová šťáva je převážně obsah vakuol z buněk citrusového plodu a má pH okolo 2,5. U hnědé mořské řasy *Desmarestia* bylo ve vakuolách naměřeno pH nižší než 1,0.

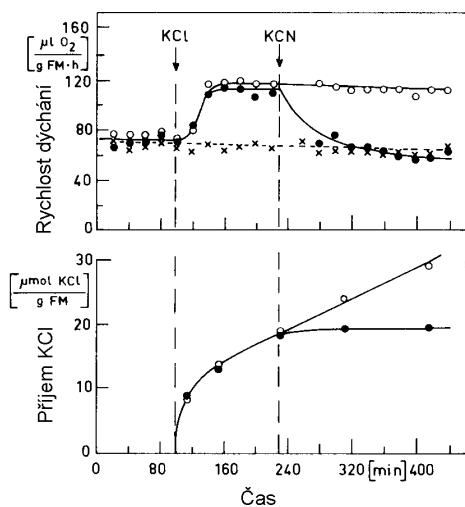
Kationty a cukry se do vakuoly dopravují antiportery, poháněnými protonovým gradientem. Tak se hromadí sacharosa ve vakuolách buněk kořene cukrovky (dosahuje koncentrace až 0,6 M). Druhy rostoucí na zasolených stanovištích (halofyta) mají velmi

účinné  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiportery, které jim umožňují odstraňovat přebytek  $\text{Na}^+$  z cytoplasmy do vakuol. Také  $\text{Ca}^{2+}$  se přenáší do vakuol antiporterem.

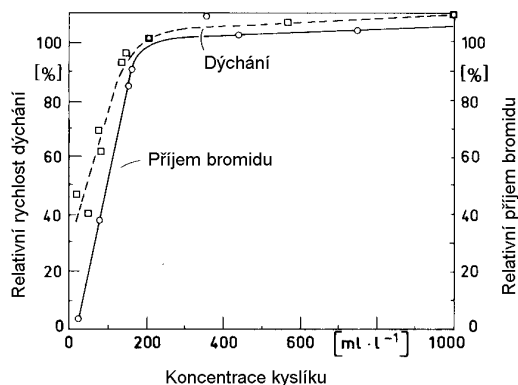


**Obr. 9.1-7.** Přenosy látek přes plasmatickou membránu a přes tonoplast. Z vnějšího prostředí do cytoplasmy vstupují anionty a organické látky (zde cukry) souběžným přenosem s protony prostřednictvím symporterů. Kationy mohou samovolně difundovat kanály, pohání je spád potenciálu na membráně. Do vakuoly se přenášejí cukry a kationty prostřednictvím antiporterů, výměnou za protony. Anionty tam mohou vstupovat samovolně, protože obsah vakuoly má proti cytoplasmě o 20 až 30 mV pozitivnější potenciál.

Spřažení aktivního transportu iontů do buněk s energetickým metabolismem ukazuje názorně stimulace dýchání při příjmu iontů do pletiva (salt respiration). Příklady jsou ilustrovány na **obr. 9.1-8 a 9.1-9**.



**Obr. 9.1-8.** Stimulace rychlosti dýchání řízků z kořene mrkve po přidání KCl do roztoku. Nahoře rychlost dýchání, dole příjem KCl do buněk. Zvýšené dýchání i příjem iontů se inhibuje kyanidem. Naměřené hodnoty jsou vztaženy na gram čerstvé váhy (g.FM).

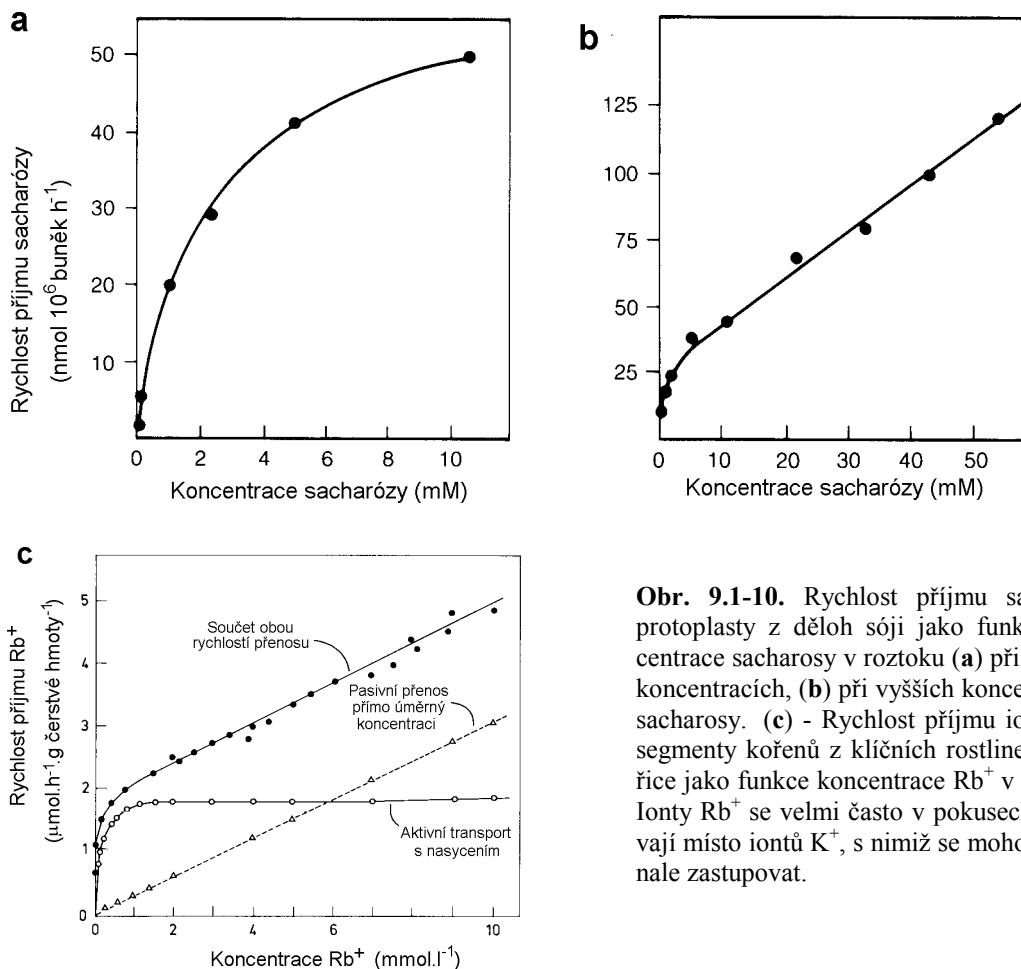


**Obr. 9.1-9.** Závislost rychlosti dýchání a příjmu bromidových iontů do řízků z hlíz bramboru na koncentraci kyslíku v atmosféře, se kterou je roztok v rovnováze. Oba pochody jeví stejnou závislost na koncentraci kyslíku.

Buněčné stěny jsou velmi bohaté na ionty vápníku, které váží karboxylové skupiny pektinů. Ve vakuolách se  $\text{Ca}^{2+}$  ukládá ve formě krystalů šťavelanu vápenatého. V cytoplasmě se však jeho koncentrace udržují na velmi nízkých hodnotách v oblasti  $10^{-6}$  mol tím, že je  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPasy čerpají ionty  $\text{Ca}^{2+}$  z cytoplasmy. Některé z významných

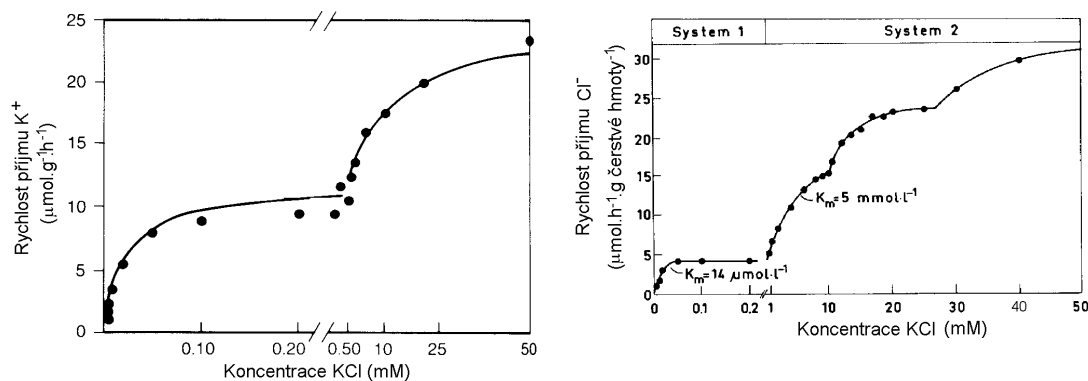
metabolických reakcí se regulují změnami koncentrace  $\text{Ca}^{2+}$  v buňce. Mechanismus těchto regulací v rostlinné buňce není dosud dobře objasněn.

Ke transportu anorganických iontů membránou dochází často prostřednictvím iontových kanálů. Ty sestávají z bílkovin prostupujících membránu, které vytváří kanál naplněný vodou a umožňující difuzi iontů, např.  $\text{K}^+$ . Kanály se mohou v důsledku konformačních změn bílkovinných molekul zavírat a otevírat. Otevřeným kanálem může projít až  $10^8$  iontů za sekundu. To je asi 1000krát více než může přenést přes membránu přenašeč.



**Obr. 9.1-10.** Rychlost příjmu sacharózy protoplasty z děloh sóji jako funkce koncentrace sacharózy v roztoku (a) při nízkých koncentracích, (b) při vyšších koncentracích sacharózy. (c) - Rychlost příjmu iontů  $\text{Rb}^+$  segmenty kořenů z klíčících rostlinek kukuřice jako funkce koncentrace  $\text{Rb}^+$  v roztoku. Ionty  $\text{Rb}^+$  se velmi často v pokusech používají místo iontů  $\text{K}^+$ , s nimiž se mohou dokonale zastupovat.

Na přenosu těžé látky do buňky se někdy podílí více mechanismů. Častá je situace, kdy při nízkých koncentracích látky v prostředí pracuje aktivní přenos, který se při jisté koncentraci nasytí, ale příjem stoupá dále a to rychlostí přímo úměrnou koncentraci látky ve vnějším prostředí - tedy pasivní difuzí (obr. 9.1-10). Někdy lze pozorovat také dva mechanismy zprostředkované přenašeči s různou afinitou k přenášené látce a se dvěma různými úrovněmi nasycení (obr. 9.1-11).



**Obr. 9.1-11.** Rychlost příjmu iontů  $K^+$  (vlevo) a  $Cl^-$  (vpravo) do odřezaných kořínků ječmene jako funkce koncentrace iontů v roztoku. Pro draslík mají kořínky dva přenašeče, jeden s vysokou afinitou ( $K_m = 0,02$  mM), druhý s nižší afinitou ( $K_m = 11$  mM). Pro chloridové ionty jsou při vyšších koncentracích zřejmě tři přenašeče s odlišnými kinetickými vlastnostmi.

## 9.2 PŘÍJEM IONTŮ DO TĚLA ROSTLINY

V buňkách rostlin je obvykle výrazně vyšší koncentrace iontů, nežli v jejich prostředí. Obsah iontů ve vakuole řasy *Nitella clavata* je v **Tabulce 9.2-1**. **Tabulka 9.2-2** ukazuje hromadění tří iontů v cytoplasmě a vakuole různých rostlin. Je z ní patrné, že sladkovodní řasy a vyšší rostliny hromadí řádově podobná množství těchto iontů. Liší se od nich mořské řasy, které musí vyšší koncentrací rozpuštěných látek ve vakuolách kompenzovat vysoký osmotický tlak mořské vody. **Tabulka 9.2-3** ukazuje, že koncentrace iontů ve vakuolách buněk je do značné míry nezávislá na koncentraci ve vnějším prostředí, že tedy buňky vyvíjejí velmi rozdílnou akumulaci práci.

**Tabulka 9.2-1.** Obsah iontů ve vakuole parožnatky *Nitella clavata* ve srovnání se sladkovodním prostředím, v němž vyrostla.

Ion	$K^+$	$Na^+$	$Ca^{2+}$	$Mg^{2+}$	$Cl^-$	$SO_4^{2-}$	$H_2PO_4^-$	úhrn
k o n c e n t r a c e $mmol.l^{-1}$								
prostředí	0,51	1,2	2,6	6,0	1,0	1,34	0,008	12,66
vakuola	49,3	49,9	26,0	21,6	101,1	26,0	1,7	275,6

Když se použije kritérium Nernstova potenciálu, zjistí se, že ionty  $K^+$  se hromadí v buňce pasivně, ačkoli jsou v buňce v podstatně vyšší koncentraci než v médiu. Hnací silou této akumulace je membránový potenciál plasmatické membrány, jejíž vnitřní povrch je  $-170$  mV proti vnějšímu. Na rozdíl od iontů  $K^+$  se ionty  $Na^+$  čerpají aktivně ven z buňky a do vakuoly a aktivně se v buňkách hromadí ionty  $Cl^-$ ,  $NO_3^-$ ,  $SO_4^{2-}$  a  $H_2PO_4^-$ . Pravděpodobně existují pro většinu aniontů specifické  $H^+$ /anionové kotransportní mechanismy v plasmatické membráně.

**Tabulka 9.2-2.** Obsah  $K^+$ ,  $Na^+$  a  $Cl^-$  v cytoplasmě a vakuole některých rostlin ve srovnání s obsahem iontů v jejich prostředí. Zkratky pro jména rostlin: *N.t.* - *Nitella translucens*, *T.i.* - *Tolypella intricata*, *H.a.* - *Hydrodictyon africanum*, *H.v.* - *Hordeum vulgare* (kořeny), *A.s.* - *Avena sativa* (koleoptile), *V.v.* - *Valonia ventricosa* (mořská řasa), Roz. - rozpětí, v němž kolísají hodnoty pro sladkovodní řasy a vyšší rostliny.

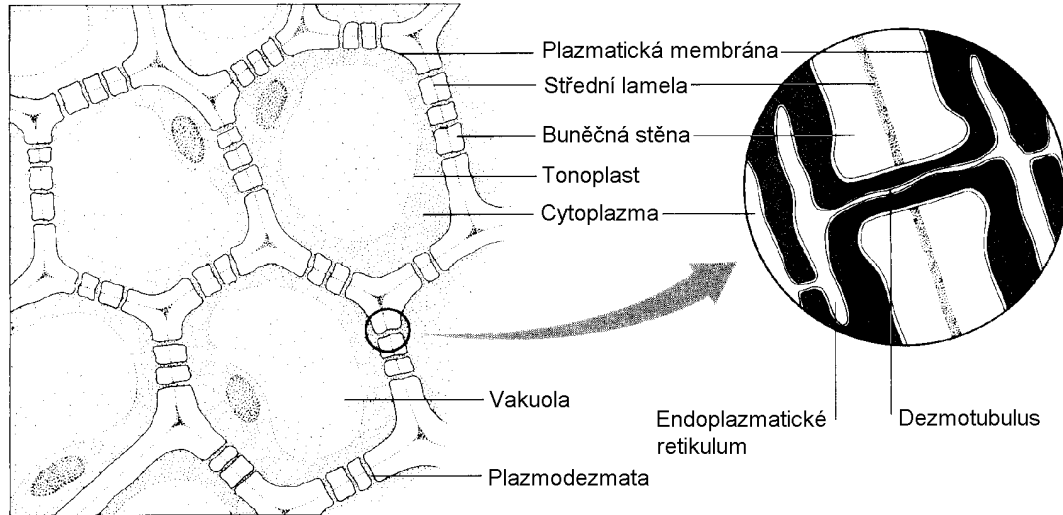
k o n c e n t r a c e mmol.l <sup>-1</sup>									
	prostředí			cytoplasma			vakuola		
Druh	$K^+$	$Na^+$	$Cl^-$	$K^+$	$Na^+$	$Cl^-$	$K^+$	$Na^+$	$Cl^-$
<i>N.t.</i>	0,1	1,0	1,3	119	14	75	75	65	160
<i>T.i.</i>	0,4	1,0	1,4	92	13	27	105	21	123
<i>H.a.</i>	0,1	1,0	1,3	93	51	58	40	17	38
<i>H.v.</i>	2,5	7,5	-	102	70	-	74	29	-
<i>A.s.</i>	10	10	10	175	15	76	175	26	65
<i>V.v.</i>	10	490	560	434	40	138	625	44	643
Roz.				58-205	12-70	16-87	40-205	3-65	38-170

**Tabulka 9.2-3.** Obsah  $Cl^-$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$  a  $Ca^{2+}$  ve vakuole parožnatků při různých koncentracích těchto iontů v prostředí. v-vakuola, m-medium, koncentrace jsou uvedeny v miliekvivalentech na litr.

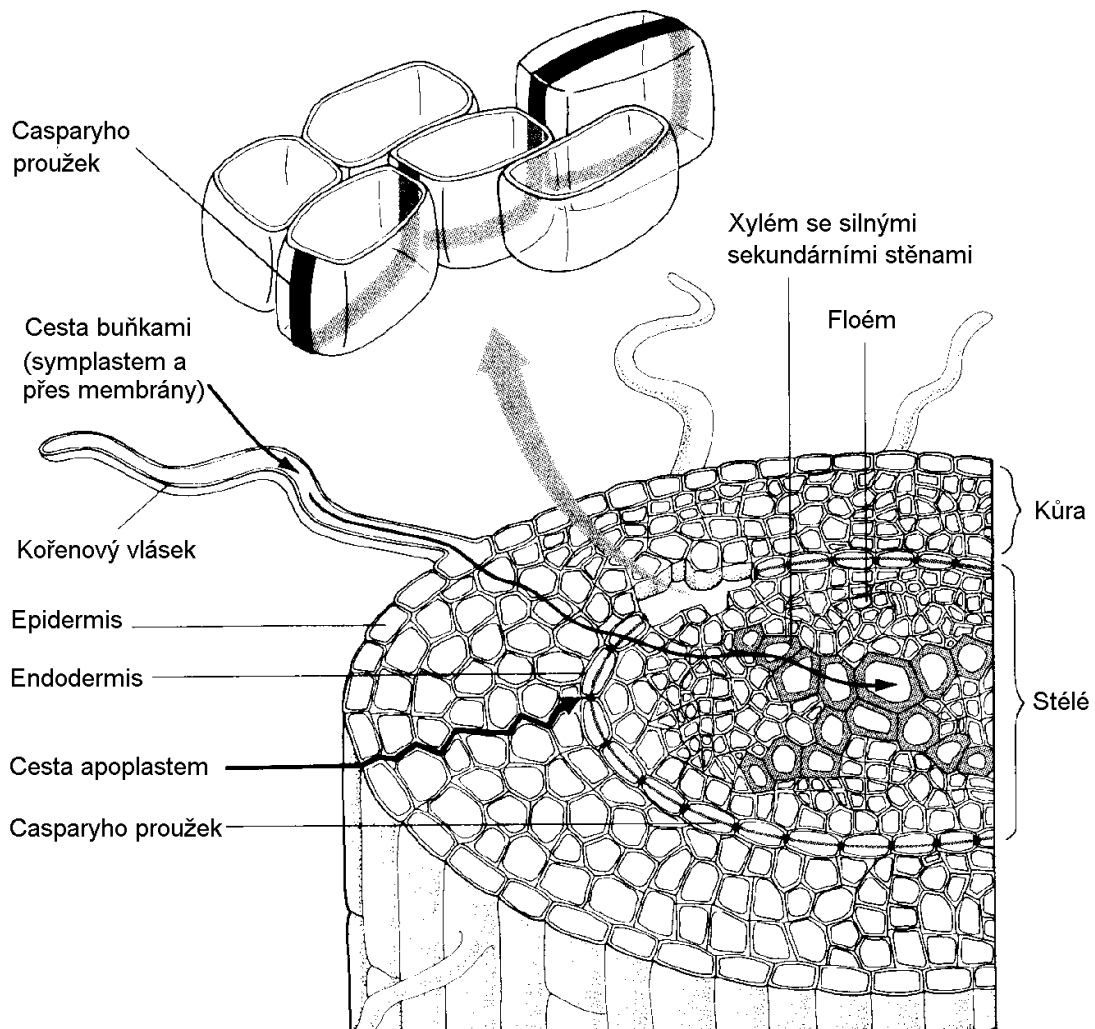
	$Cl^-$		$Na^+$		$K^+$		$Ca^{2+}$	
	m	v	m	v	m	v	m	v
	m é d i u m : b r a k i c k á v o d a							
<i>Chara ceratophylla</i>	36	208	31	126	0,6	61	2,0	11
<i>Nitella hyalina</i>	50	184	43	97	0,9	52	2,4	8
	m é d i u m : s l a d k á v o d a							
<i>Chara ceratophylla</i>	0,13	176	0,21	84	0,04	77	3,3	13
<i>Nitella flexilis</i>	0,04	131	0,16	63	0,03	58	0,22	17

V kořenech se půdní roztok může pohybovat v buněčných stěnách, které tvoří souvislé prostředí, apoplast. Struktura buněčných stěn umožňuje nerušený pohyb anorganických iontů a malých organických molekul. Apoplast tvoří okolo 20 % objemu kořenového pletiva (rozmezí 5 - 30 %). Také cytoplasma rostlinných (a tedy také kořenových) buněk tvoří souvislé prostředí, protože buňky jsou propojeny plasmodesmaty (název v jednotném čísle: to plasmodesma). Plasmodesmata (**obr. 9.2-1**) jsou otvory v buněčných stěnách o průměru 20 až 60 nm, kterými prochází cytoplasma z jedné buňky do druhé kanálem vystlaným plasmatickou membránou. Středem plasmodesmatu prochází trubice endoplasmatického retikula, tzv. desmotubul. Buňky, mezi nimiž dochází k intenzivní výměně látek, mívají velkou hustotu plasmodesmat, až 15 na 1  $\mu m^2$ . Plasmodesmaty mohou volně procházet ionty a malé organické molekuly do m.h. asi 1000. Ionty vstupující s půdním roztokem do kořene se mohou v kořenové kůře pohybovat jak symplastem tak apoplastem (**obr. 9.2-2**).





**Obr. 9.2-1.** Schématická kresba ukazuje plasmodesmata propojující cytoplasmu a endoplazmatické retikulum sousedních buněk. Světlost plasmodesmat je zakreslena větší v poměru k tloušťce stěny, než je ve skutečnosti (průměr plasmodesmatu okolo 50 nm, tloušťka primární stěny nejméně 500 nm, spíše 1  $\mu\text{m}$ , průměr buňky asi 10  $\mu\text{m}$ ).



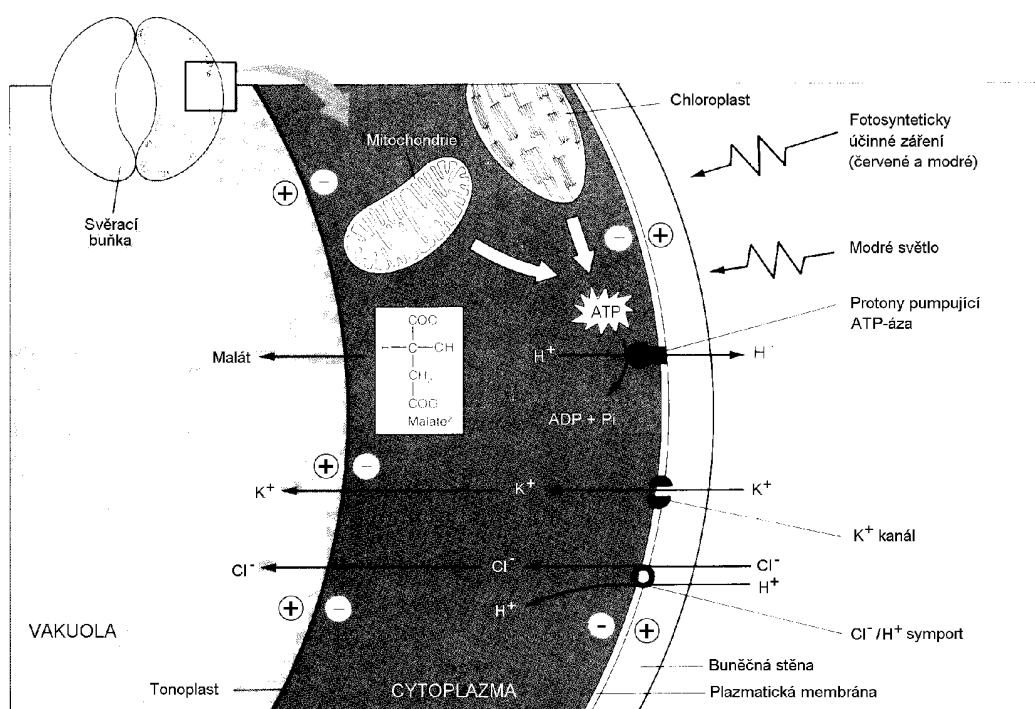
**Obr. 9.2-2.** Dvě možné cesty pro vodu a v ní rozpuštěné ionty od povrchu kořenů k vodivým pletivům: apoplastová a symplastová. Apoplastová cesta je přerušena vrstvou buněk endodermis, jejichž radiální stěny mají Casparyho proužek.

Aby mohly kořeny dostatečně zásobovat rostlinu vodou a minerálními živinami, musí intensivně růst. Ve většině případů jsou totiž živiny velmi málo pohyblivé, protože jsou adsorbovány na půdních částicích a v půdním roztoku je rozpuštěna jen malá jejich část. Objem půdy, do které kořeny vrostou, také vysají, pokud jde o živiny a v sušších oblastech to platí i o vodě. Aby získaly další zdroje, musí růst. Rostliny mají podle podmínek, v nichž rostou, různé strategie prostorového rozdělení kořenů (např. převážně při povrchu, nebo hlavně v hloubce). Úhrnná délka kořenů rostliny, zejména připočte-li se kořenové vlášení, dosahuje ohromných čísel, jak ukazuje **Tabulka 9.2-4**.

**Tabulka 9.2-4.** Úhrnná délka kořenů obilovin pěstovaných v polních podmínkách.

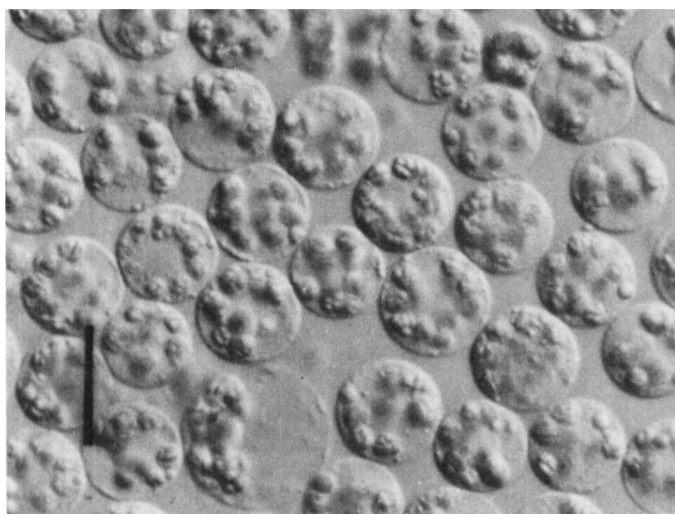
Druh	oves	pšenice	žito	ječmen
Počet dnů od vzejití	ú h r n n á d ě l k a k o ř e n ů , m			
5	0,9	1,7	3,6	5,4
22	46	62	105	144
40	158	177	206	253
80	389	259	337	405

Délka kořenů závisí silně na sponu, v němž se rostliny pěstují. Když se obiloviny z **Tabulky 9.2-4** pěstovaly v takových vzdálenostech, že jednotlivé rostliny na sebe nepůsobily, byla úhrnná délka jejich kořenového systému 80krát větší, nežli v případě obvyklého sponu při polním pěstování, který je doložen v tabulce.



**Obr. 9.2-3.** Schématické znázornění přenosů iontů a jiných dějů, které se uplatňují v pohybech průduchů. ATP, které pohání ATPasovou protonovou pumpu, pochází buď z chloroplastu nebo z mitochondrií. Ty zpracovávají glukosu vznikající hydrolyzou škrobu uloženého v chloroplastech a vytvářejí také malát, který částečně kompenzuje náboje  $K^+$

### 9.3 PŘESUNY IONTŮ A POHYBY PRŮDUCHŮ

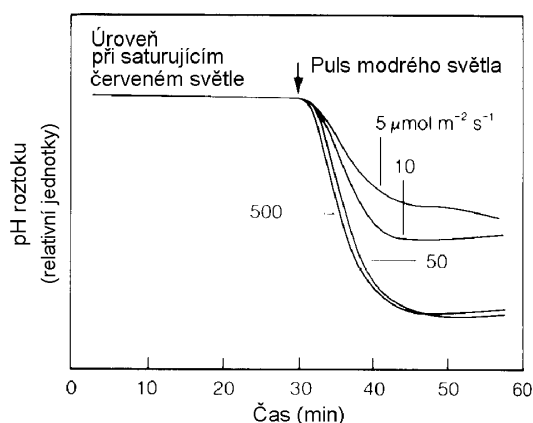


Základem pohybů svěřacích buněk průduchů jsou změny jejich turgoru. Ten se mění především v důsledku přesunů iontů do vakuol svěřacích buněk a ven z nich.

**Obr. 9.3-1.** Protoplasty svěřacích buněk *Nicotiana glauca*. Buněčná stěna byla rozpuštěna enzymy v přítomnosti 0,35 M manitolu, proto jsou protoplasty kulaté. Každý protoplast obsahuje 10 až 12 chloroplastů. Černá úsečka odpovídá 20  $\mu\text{m}$ .

F. E. Lloyd r.1908 vyslovil hypotézu, že ke změnám osmotického tlaku ve svěřacích buňkách dochází přeměnou škrobu v glukosu a naopak. Chloroplasty svěřacích buněk skutečně často obsahují velká škrobová zrna, která se zmenšují, při otevírání průduchů a zvětšují, když se průduchy zavírají. Tato teorie se všeobecně přijímala v první polovině tohoto století. Toky iontů  $\text{K}^+$  ve svěřacích buňkách poprvé pozoroval S. Imamura r.1943, ale jejich rozhodující význam pro pohyby průduchů se prokázal až v šedesátých letech.

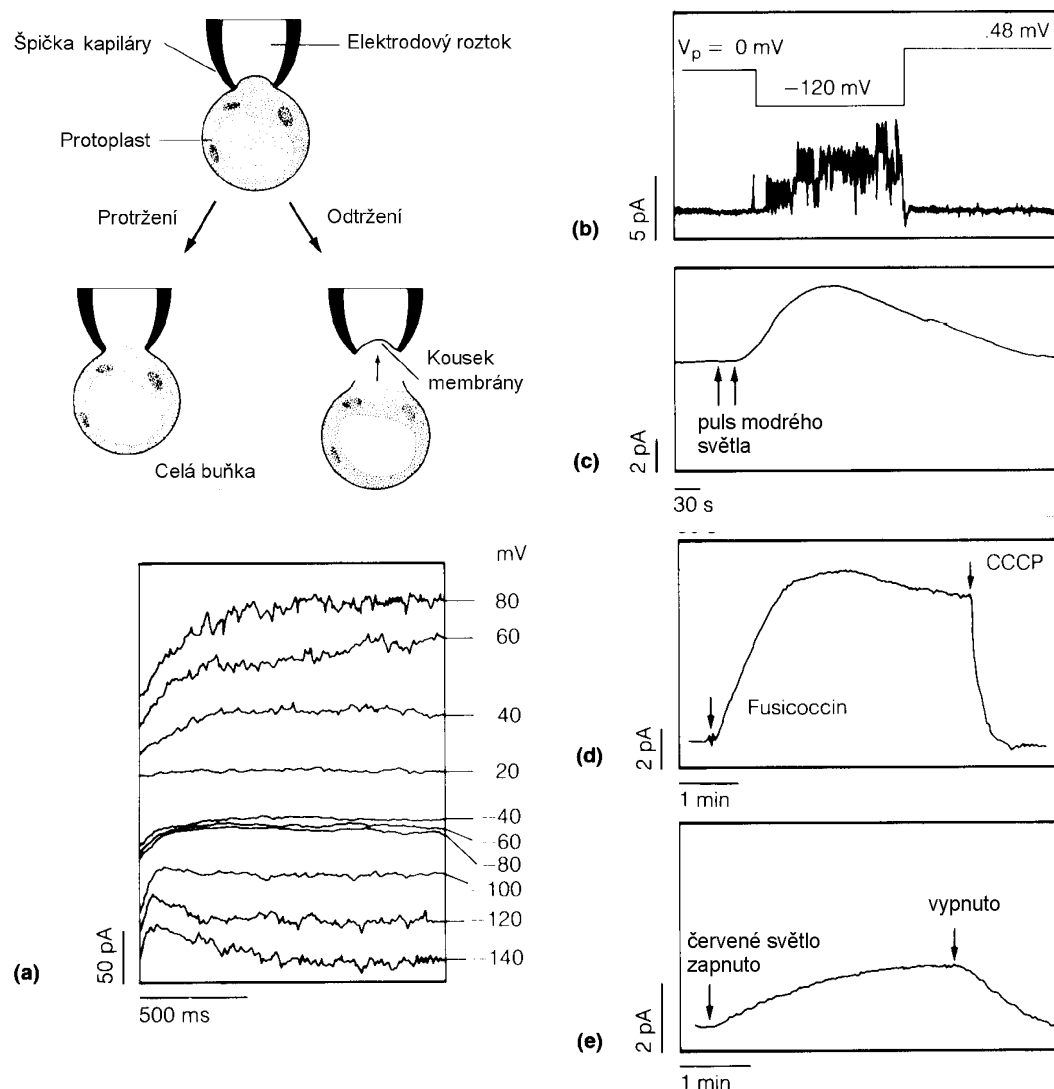
Při otevírání průduchů stoupne koncentrace iontů  $\text{K}^+$  ve svěřacích buňkách z hodnoty asi 100 mM na 400 až 800 mM. Elektroneutralita se ve svěřacích buňkách zachovává jednak souběžným přenosem iontů  $\text{Cl}^-$  do buňky, jednak tvorbou malátu (jablčnanu), který vzniká z produktů glykolýzy. (To je pravou příčinou zmenšování škrobových zrn). energii pro přenos iontů (jak  $\text{K}^+$ , tak  $\text{Cl}^-$ ) do vakuoly svěřací buňky dodává protonový gradient, který vytváří protonová ATPasa v plasmatické membráně svěřacích buněk (**obr. 9.3-1**). Tuto pumpu podněcuje k silné aktivitě především modré



**Obr. 9.3-2.** Protoplasty svěřacích buněk fazoly okyselují roztok, v němž jsou suspendovány po osvětlení pulsy modrého světla. Míra okyselení stoupá s intenzitou pulsů a reakce je nasycena světlem při ozářenostech nad  $50 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Modré pulsy se dávaly na pozadí červeného světla, které již vysytilo reakci podněcovanou chlorofylem.

světlo absorbované kryptochromem, ale svůj podíl na její aktivitě má i podnět od světla červeného absorbovaného chlorofylem. To dokázaly přesvědčivě elegantní pokusy na protoplastech svěřacích buněk. Ty lze výhodně izolovat ze spodní epidermis fazoly působením celulolytických enzymů v 0,35 M manitolu. Protoplasty si zachovávají mnohé charakteristické vlastnosti svěřacích buněk, včetně charakteristické aktivace protono-

vé pumpy světlem. Po jejich osvětlení červeným světlem se objeví prvé okyselení rozto-  
 ku, v němž jsou protoplasty suspendovány. Další osvětlení modrým světlem způsobuje  
 další pokles pH, který je úměrný ozáření (obr. 9.3-2).



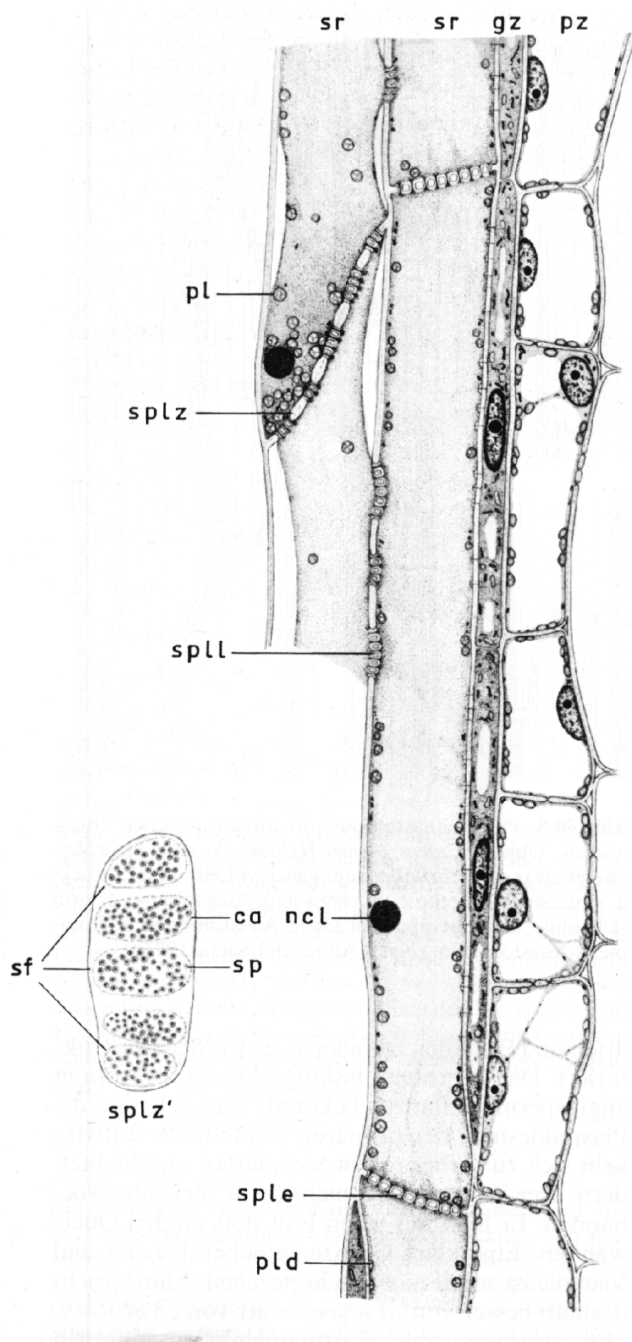
**Obr. 9.3-3.** Metoda terčíkového zámku. A - přísátí kapiláry k protoplastu (a), protržení (b) nebo odtržení (c) části plasmatické membrány pro dva různé způsoby měření. B - měření na plasmatické membráně celé buňky (postup Ab): proudy procházející plasmatickou membránou po vložení různých napětí (a); proud vyvolaný činností protonové pumpy po osvětlení protoplastů pulsem modrého světla (c) nebo červeného světla (e); proud vyvolaný činností protonové pumpy, podněcenou přidáním houbového toxinu fusicoccinu, lze zrušit účinkem karbonylkyanid m-chlorphenylhydrazonu (CCCP), který přenáší protony přes membránu; (b) měření na odtrženém terčíku membrány (postup Ac), ukazuje proud jdoucí jedním iontovým kanálem, který se otevírá vloženým napětím.

Pro měření na malých okrscích plasmatické membrány protoplastů lze s výhodou použít metody terčíkového zámku (patch clamp method, obr. 9.3-3). Při ní se skleněná kapilára vytažená do velmi tenkého hrotu (světlost asi 1  $\mu\text{m}$ ) a naplněná roztokem KCl, přiloží k povrchu protoplastu a mírným podtlakem se k němu těsně přisaje. Dalším sáním lze terčík plasmatické membrány uzavírající kapiláru protrhnout a obsah buňky se spojí s roztokem v kapiláře. Pokud je v roztoku naplňujícím kapiláru umístěna měřící elektroda (obvykle Ag/AgCl) a referenční elektroda (také Ag/AgCl) je v roztoku, který obklopuje protoplast, můžeme v tomto uspořádání měřit elektrické proudy, které procházejí plasmatickou membránou celé buňky při různých vložených napětích, nebo

proudy vytvářené elektrogenními pumpami. Jestliže po přisátí kapiláru od protoplastu odtrhneme, lze odtrhnout terčík plasmatické membrány, který kapiláru uzavírá a lze měřit jeho elektrofyziologické vlastnosti, např. otevírání a zavírání iontových kanálů (obr. 9.3-3).

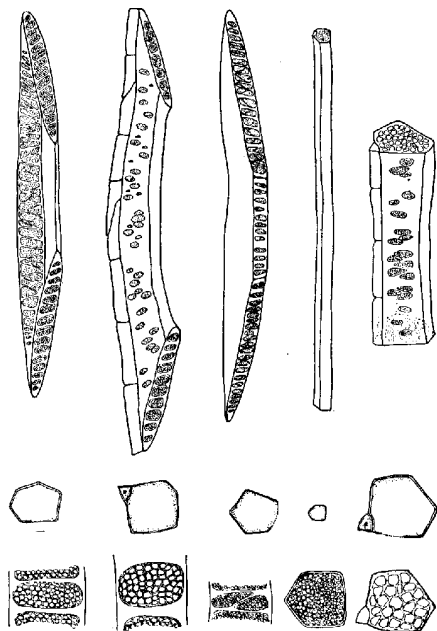
## 9.4 PŘENOS LÁTEK FLOÉMEM

### 9.4.1 SÍTKOVICE A PRŮVODNÍ BUŇKY

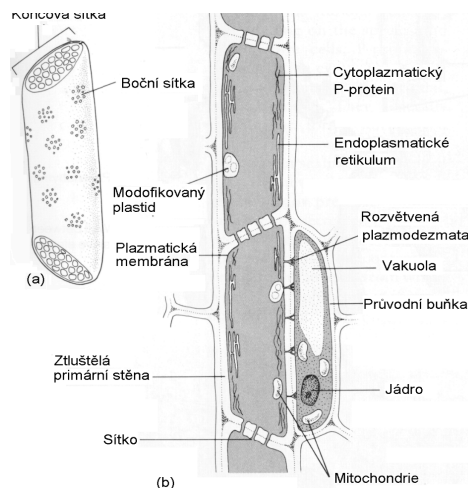


Pro porozumění mechanismu floémového transportu je nezbytné znát anatomické znaky jeho součástí (obr. 9.4-1). Nejvýznačnější složkou jsou vodivé buňky, které se u krytosemenných nazývají sítkovice (obr. 9.4-2). Jsou to protáhlé živé buňky, uspořádané nad sebou do podélných řad a spojené více či méně sešikmenými přehrádkami, v nichž jsou otvory (perforace) sdružené v jedno nebo více sítěk. Otvory v sítkách jsou mnohem větší nežli plasmodesmata (z nichž fylogeneticky pocházejí), mají průměr 1 až 15  $\mu\text{m}$ , ale obsah sousedních sítkovic je jimi propojen, podobně jako je tomu u buněk s plasmodesmaty.

**Obr. 9.4-1.** Kresba mikroskopického preparátu podélného řezu floémem cévního svazku mučenky (*Passiflora caerulea*). sr - sítkovice, gz - průvodní buňky, pz - parenchymové buňky, sple - jednoduché sítko, splz - složené sítko, příčný řez, splz' - složené sítko, pohled z plochy, sf - sítková pole, sp - póry sítky, ca - kalosové lemování póru (na reprodukci není patrné), spll - boční sítko, pld - plasmodesmy mezi sítkovicí a průvodní buňkou, ncl - tělíska považovaná dříve za jádřerka zbylá z rozložených jader, jsou to ale spíše shluky bílkovin, pl - amyloplasty.



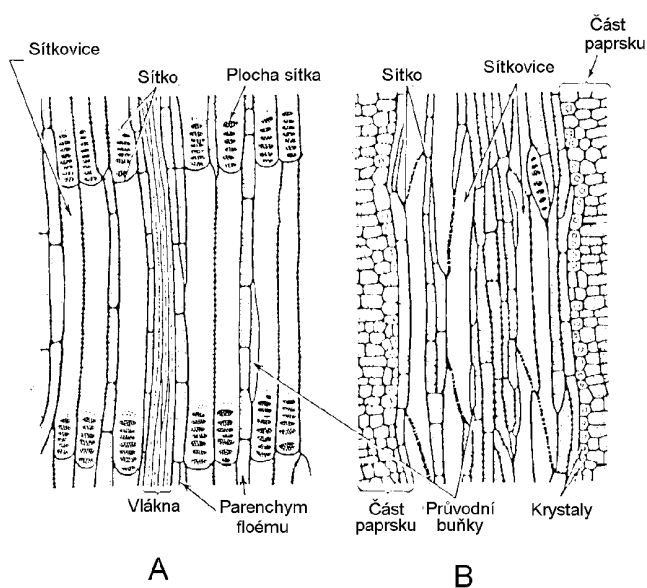
**Obr. 9.4-2.** Rozmanitost tvarů sítkovic a sítěk z lýka různých rostlin. Průměrné rozměry sítkovic se pohybují mezi 10 x 100 μm a 50 x 500 μm.



**Obr. 9.4-3.** Schématická kresba sítkovic a průvodních buněk. (a) Trojrozměrný pohled na sítkovici ukazující koncová a boční sítko. (b) Provazec sítkovic a průvodní buňka. V sítkovicích je velmi málo organel, endoplasmatické retikulum je podélně orientováno jakož i protein P, který má vláknitou strukturu. Průvodní buňka má jádro, mnoho ribosomů a zvýšený počet organel.

Na bočních stěnách mají sítkovice sítko jen tam, kde přiléhají k jiným sítkovicím, s ostatními buňkami komunikují plasmodesmaty. Ta jsou zvláště hojná mezi sítkovicemi a průvodními buňkami, které mají pro funkci sítkovic nepostradatelnou úlohu (**obr. 9.4-3**). Sítkovice a její průvodní buňka vznikají podélným dělením z jedné mateřské buňky, průvodní buňka se pak někdy ještě příčně rozdělí. V jistém smyslu zůstává sítkovice živá jen díky průvodním buňkám, poněvadž se velmi výrazně specializuje. Ponechává si plazmatickou membránu a tím semipermeabilitu a schopnost udržet turgorový tlak, který je obvykle velmi značný, 2 MPa a maximálně až 6 MPa. Jejich jádro se však postupně rozpadá, z cytoplasmy vymizí ribosomy, dictyosomy, mikrotubuly a mikrofilamenta. Zachovává se a zmožutní endoplasmatické retikulum, orientuje se souběžně s podélnou osou sítkovice, změní se struktura mitochondrií a proplastidů, někdy mizí. Ztrácí se tonoplast a jasná hranice mezi vakuolou (roztokem látek uvnitř buňky) a cytoplasmou (která je vždy přisedlá na stěnách). Struktura průvodních buněk svědčí o jejich vysoké metabolické aktivitě: mají velké, endopolyploidní jádro, obsahují velmi mnoho ribosomů a asi desetkrát více mitochondrií než běžná buňka. V podélném směru na sebe průvodní buňky nenavazují a nemohou tedy mít vodivou funkci (**obr. 9.4-4**).

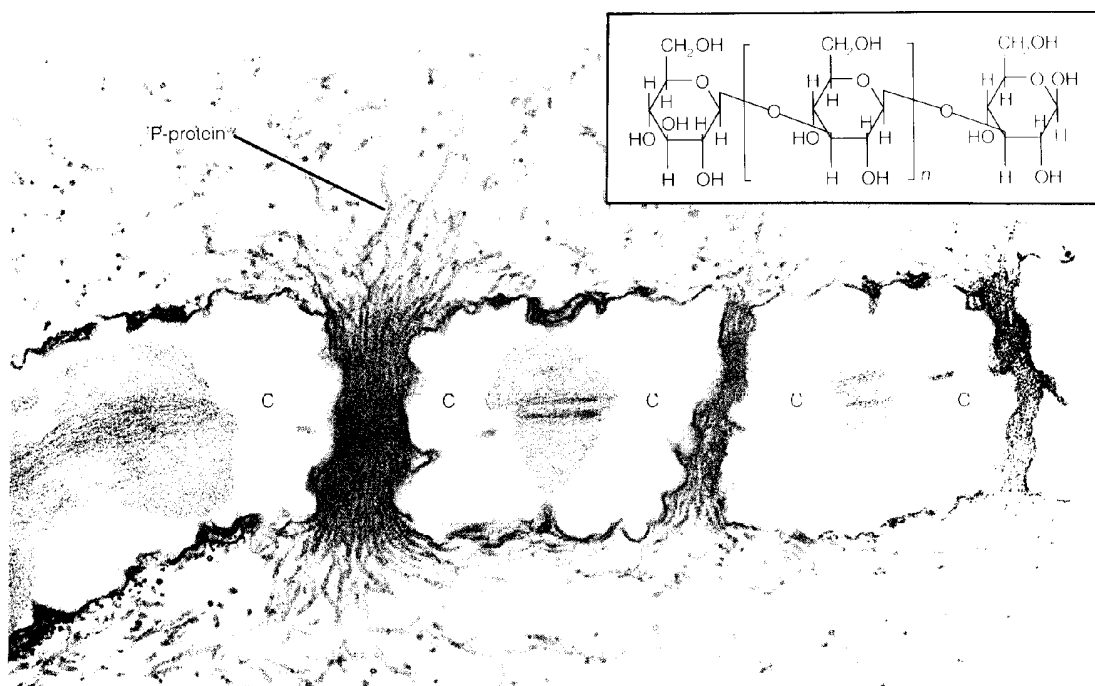
Příznačným pro sítkovice je vysoký obsah proteinu P. Vyskytuje se v různých formách (tubulární, fibrilární, granulární) a tvoří tělíčka také nejružnějšího tvaru, ale v dospělých sítkovicích většinou protáhlá. Nemá vlastnosti ani tubulinu ani aktinu a tak se nemůže uplatnit v pohybu cytoplasmy. Jeho úkolem je zřejmě u poškozených sítkovic co nejrychleji ucpat otvory v sítkách. Obsah sítkovic je pod vysokým turgorovým tlakem (2 MPa a více) a při poranění lýka rychle vytéká. Proto je výhodné, když sítkovice poraněné části své póry ucpou (**obr. 9.4-5**).



**Obr. 9.4-4.** Radiální (A) a tangenciální (B) podélný řez druhotným floémem vinné révy (*Vitis vinifera*). Složená sítko jsou v (A) vidět z plochy v (B) v řezu. Boční stěny sítkovic mají korálkovitou strukturu, protože je na nich mnoho malých sítek. Z parenchymatických paprsků je nakreslena jen část. Parenchymatické buňky mají tečkované stěny.

K trvalejšímu uzavření pórů v sítkách slouží kalosa, což je  $\beta$ -(1-3) glukán syntetizovaný zvláštním enzymem (syntetasa kalosy) v odezvu na poranění sítkovice. Enzym je umístěn v plasmatické membráně a produkuje kalosu na vnější stranu směrem k buněčné stěně.

Kalosa velmi účinně uzavře poraněnou sítkovici od okolních buněk. Když se poranění zhojí, kalosa se opět rozpustí. Kalosa se vytváří i bez poranění, pokud je třeba sítkovici uzavřít. Tak v období dormance se u přezimujících rostlin vytváří často kalosa, která se na jaře opět rozpustí. Také definitivně odumírající sítkovice se uzavírají kalosou. Sítkovice většinou i u dřevin pracují jen jednu sezónu a v dalším roce jsou při tvorbě nového lýka stlačeny (ucpány kalosou) a vyřazeny.



**Obr. 9.4-5.** Elektronová mikrofotografie příčného řezu sítkem, jehož otvory se uzavřely nejprve proteínem P a dále se uzavírají kalosou (C). S jsou části buněčné stěny, která tvoří perforovanou přehrádku (sítko). V pravém horním rohu vzorec řetězce kalosy (která je  $\beta$ -(1-3) glukán).

Vodivé buňky floému nahosemenných se od sítkovic liší v několika směrech a nazýváme je sítkovými buňkami. Především nemají v koncových přehrádkách výraznější sítková pole, všechna sítko jsou stejná a poměrně malá. Póry sítek v koncových přehrádkách se jeví vyplněny membránami, nejsou volně průchodné jako u sítkovic.

V sítkových buňkách není protein P a doprovázejí je tzv. albuminosní buňky, které se obvykle netáhnou podél celé sítkové buňky, ale jsou kratší.

### 9.4.2 RYCHLOST PŘESUNŮ VE FLOÉMU A SLOŽENÍ FLOÉMOVÉ ŠŤÁVY

Již ve dvacátých letech tohoto století spočítali různí autoři podle rychlosti růstu hlíz bramboru a bataty, že průměrná rychlost transportu asimilátů do těchto hlíz musí být okolo  $5 \text{ g.cm}^{-2}.\text{h}^{-1}$  (čili  $4.10^{-2} \text{ mol(sacharosy).m}^{-2}.\text{h}^{-1}$ , uvažuje se  $\text{cm}^2$  nebo  $\text{m}^2$  průřezu floémového pletiva). Tyto hodnoty se potvrdily mimo jiné měřeními pohybu izotopy značených látek, která také přinesla maximální hodnoty pro rychlosti postupu látek floémem. Některé výsledky měření různých autorů na různých rostlinách jsou (v  $\text{m.h}^{-1}$ ): tykev 0,5; réva vinná 0,6; cukrová třtina 0,8; cukrová řepa 0,9; fazol obecný 1,0; sója 1,0; vřba 1,0; dýně 2,9. Výše uvedené hodnoty pro hustotu toku látek xylémem se shodují také s tímto výpočtem: v 1 l floémové šťávy je obsaženo 100 - 300 g organických látek a šťáva se pohybuje rychlostí 10 až  $100 \text{ cm.h}^{-1}$ . Vezmeme-li rychlost  $50 \text{ cm.h}^{-1}$  a obsah cukru  $200 \text{ mg.ml}^{-1}$  a uvažujeme pohyb prostého sloupce vody o průřezu  $1 \text{ cm}^2$ , dostáváme  $10 \text{ g.cm}^{-2}.\text{h}^{-1}$ . Předpokládáme-li dále, že světlost sítkovic obnáší asi polovinu průřezu floému, dostáváme  $5 \text{ g.cm}^{-2}.\text{h}^{-1}$ . Je ještě zajímavé si uvědomit, že při rychlosti  $50 \text{ cm.h}^{-1}$  a průměrné délce jedné sítkovice  $100 \mu\text{m}$  projde každá transportovaná molekula za 1 h 5000 sítkovicemi. Při plnění sítkovic asimiláty je aktivní přenos sacharosy přes plasmatickou membránu sítkovice v oblasti hodnot  $10^{-4} \text{ mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , což je podstatně vyšší průtok než při příjmu iontů, který se odhaduje na  $3.10^{-9} \text{ mol.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$ .

Obsah sítkovic (podle analýz šťávy získané z mšicích sosáků) je 0,5 až 1,0 M roztok převážně cukrů (osmotický tlak má hodnoty větší než 1,5 MPa). Koncentrace sacharosy v sítkovicích proti mesofylovým buňkám může být až 40 násobná.

Tabulka 9.4-1. Složení floémové šťávy u skočce a tykve.

	<i>Ricinus communis</i>	<i>Cucurbita maxima</i>
Látka	koncentrace látky v $\text{g.l}^{-1}$	
cukry	80,0 - 106,0	0,5 - 12,0 *)
aminokyseliny	5,2	5,0 - 30,0
organické kyseliny	2,0 - 3,2	3,0 - 5,0
bílkoviny	1,45 - 2,20	76,2 - 112,2
chloridy	0,355 - 0,675	0,041 - 0,176
fosfáty	0,350 - 0,550	0,028 - 0,083
draslík	2,3 - 4,4	2,1 - 4,6
hořčík	0,109 - 0,122	0,016 - 0,033

\*) Skočec jako většina rostlin přenáší hlavně sacharidy a to především sacharosu. *Cucurbitaceae* jsou jednou z výjimek, jejich floémová šťáva obsahuje především bílkoviny a aminokyseliny, sacharid je především stachyosa.

Nejvyšší nalezené obsahy cukrů ve floémové šťávě jsou  $300 \text{ g.l}^{-1}$ . Monosacharidy se floémem nepřenášejí. Nejčastěji transportovaným cukrem je sacharosa. U některých rostlin se však přenáší oligosacharidy rafinosové řady (rafinosa je sacharosa s jednou galaktosovou molekulou, stachyosa se dvěma a vrbaskosa se třemi molekulami



galaktozy). Dusíkaté látky jsou především aminokyseliny a amidy. Může jich být úhrnem až  $40 \text{ g.l}^{-1}$ . Nitrátové a amonné ionty ve floému prakticky chybí.

Všeobecně se soudí, že se floémem přenáší také hormony. Ve floémové šťávě jsou také kationty: hodně  $\text{K}^+$ , dále  $\text{Mg}^{2+}$ , ale jen stopy  $\text{Ca}^{2+}$  a  $\text{Na}^+$ . pH floémové šťávy je poměrně vysoké, mezi 7,4 a 8,7. Snad to souvisí s čerpáním protonů ven z průvodních buněk, koncentrační spád protonů je potřebný pro kotransport sacharosy při plnění sítkovic.

**Tabulka 9.4-2.** Obsah volných aminokyselin a amidů ve floémové šťávě yuky (*Yucca flaccida*). Hodnoty v molárních procentech.

Látka	Molární procento
glutamin/glutamát	54,9
asparagin/aspartát	9,4
valin	8,0
prolin + threonin	9,2
serin	5,7
lysin	4,0
isoleucin	2,8
leucin	2,4
phenylalanin	2,0
glycin	1,5
alanin	1,3
ornithin	0,3
tyrosin	stopy

Pro získání obsahu sítkovic k analýzám se používají mšice. Ty svým sosákem dovedou napíchnout jednu sítkovici. Vysoký turgorový tlak v sítkovici pak do mšice vtlačuje obsah sítkovice, mšice si ze šťávy zaživacím ústrojím odejme živiny, které potřebuje a zbytek vystupuje ze zadečku jako "medovice", kterou sají často mravenci. Aby se získala čistá floémová šťáva, odstříhne se po nabodnutí sítkovice mšice od sosáku, z něhož pak vytéká obsah sítkovice. Výtok je zřejmě tak pomalý, že nepodní ucpání sítek sítkovice a šťáva vytéká po mnoho hodin. Často používanými mšicemi jsou *Tuberlachnus salignus* žijící na vrbách, *Acyrtosiphon pisum*, jejímž hostitelem je bob koňský, a zvláště oblíbená je velká mšice *Longistigma caryae*.

### 9.4.3 MECHANISMUS TRANSPORTU FLOÉMEM

Mechanismus přesunů (transportu) látek floémem dosud není jednoznačně objasněn. Nejrozšířenější je představa o toku floémové šťávy pod tlakem čili tlakoproudová hypotéza (pressure-flow model), která se také podle svého autora nazývá Münchova (publikoval ji již r. 1930!). Podle této představy teče floémová šťáva z místa zdroje, kde je vysoký turgorový tlak k místu jímky, kde je turgorový tlak nízký, jen účinkem tohoto rozdílu hydrostatického tlaku (**obr. 9.4-6**). Vysoký osmotický tlak se na počátku dráhy vytvoří aktivním transportem sacharosy do sítkovic, kde její koncentrace může být až 40× vyšší, než v mezofylových buňkách. Na konci transportní dráhy se naopak sacharosa opět aktivně přenáší ze sítkovic do bu-

něk jímky, ať již jsou to květy, plody, růstové vrcholy nebo oddenky, kořeny, různé hlízy atd. Do sítkovic u zdroje, s vysokou osmotickou hodnotou, se nasává voda z xylému, v němž je osmotická hodnota nižší. Ze sítkovic u jímky, kde se osmotická hodnota snížila transportem sacharosy do jímky, se naopak voda vytlačuje do xylému, který má zde osmotickou hodnotu vyšší. Tak se uskuteční koloběh vody, která při pohybu floémem přenáší asimiláty od zdroje k jímcce.

Hypotéza je pravděpodobná a není v rozporu s žádným z termodynamických zákonů. Bylo by ovšem dobré početně ověřit, že rozdíl tlaků mezi zdrojem a jímkou (který nepřesáhne několik desetin MPa) může vyvolat dostatečně rychlý tok obsahu sítkovic, aby došlo k přesunům látek, jejichž rychlosti se znají. Takovému ověření brání skutečnost, že se nic jistého neví o odporu, který tomuto toku mohou klást sítková pole. Někteří autoři se domnívají, že část pórů je uzavřena bílkovinami nebo membránami (zcela jistě tomu tak je u nahosemenných) a tak je téměř nemožné odhadnout jejich odpor. P. S. Nobel provedl výpočet za předpokladu, že póry v sítkách jsou volné pro tok roztoku a předpokládal tyto hodnoty: rychlost toku šťávy floémem je  $J_V = 0,6 \text{ m} \cdot \text{h}^{-1}$  ( $0,17 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$ ), průměrná sítkovice má průměr  $24 \mu\text{m}$  a délku  $1 \text{ mm}$ , buněčné stěny v sítkách jsou  $5 \mu\text{m}$  tlusté, průměr pórů je  $2,4 \mu\text{m}$  a jejich úhrnná světlost odpovídá  $1/3$  plochy přehrádky, proto rychlost toku je v sítku třikrát větší než v těle sítkovice a tedy  $1,8 \text{ m} \cdot \text{h}^{-1}$  ( $0,51 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$ ). Viskozita,  $\eta$ , dopravovaného roztoku odpovídá viskozitě  $0,5 \text{ M}$  roztoku sacharosy při  $20^\circ\text{C}$ , tj.  $1,7 \text{ MPa} \cdot \text{s}$ . Z Poiseuilleovy rovnice lze spočítat tlakový spád na délku jedné buňky potřebný pro předpokládanou rychlost toku

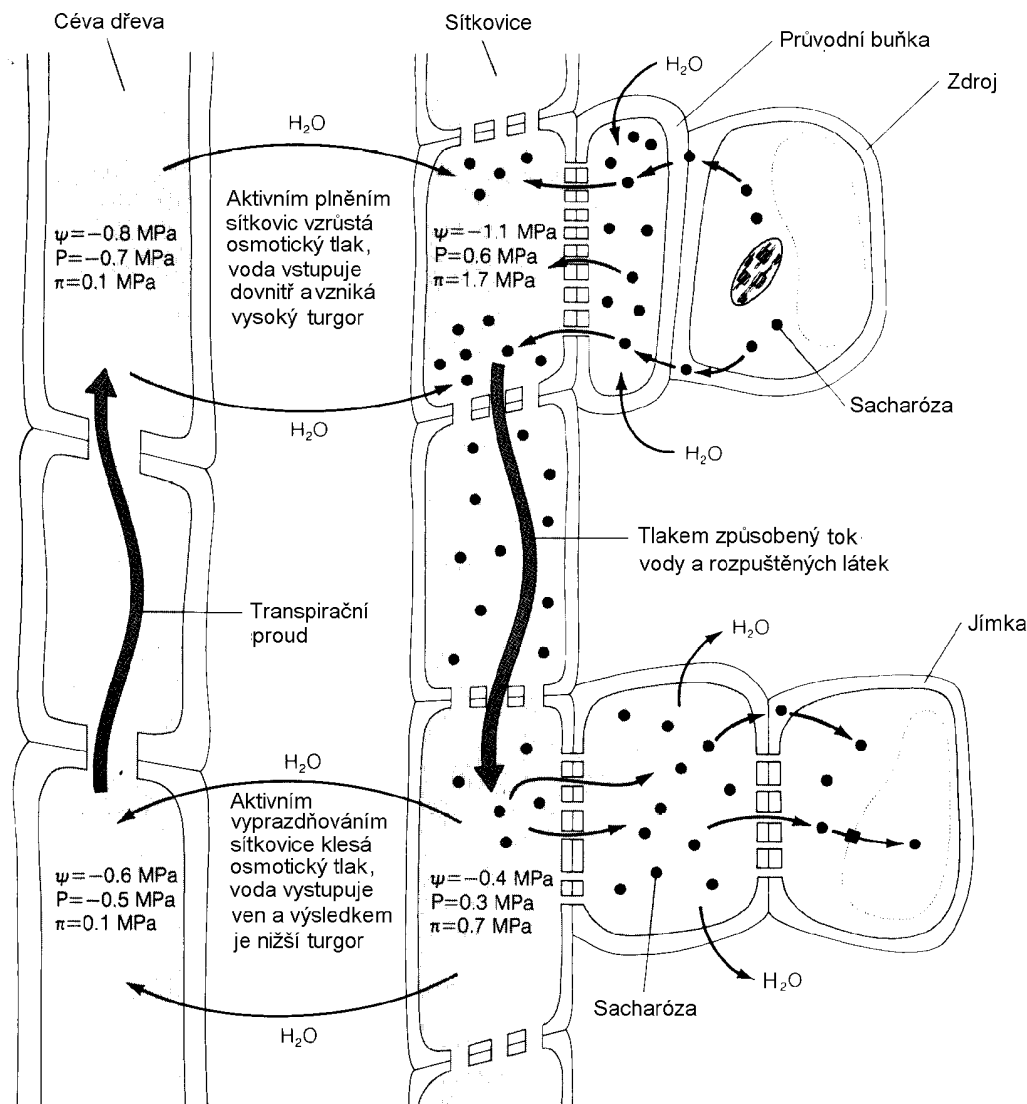
$$\begin{aligned} dP &= (-8 \cdot \eta \cdot J_V / r^2) dx = \\ &= (-8 \times 1,7 \cdot 10^{-3} \text{ Pa} \cdot \text{s}) (0,17 \cdot 10^{-3} \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}) (10^{-3} \text{ m}) / (12 \cdot 10^{-6} \text{ m})^2 = \\ &= -16 \text{ Pa} \end{aligned} \tag{9.4.1}$$

a tlakový spád přes sítko bude obdobně  $-24 \text{ Pa}$ . Úhrnem tedy na  $1 \text{ mm}$  dráhy je potřebný spád  $-40 \text{ Pa}$  a na  $1 \text{ m}$  dráhy to bude  $-0,040 \text{ MPa}$ . Tyto výsledky jsou spolu s dalšími pravděpodobnými hodnotami použity při konstrukci schématu na **obr. 9.4-6**, který představuje situaci pro dráhu  $10 \text{ m}$  v těle nějakého stromu.

Aby takovéto výpočty mohly svědčit ve prospěch tlakoproudové hypotézy je třeba, aby se dokázalo několik skutečností. Především, že póry v sítkovicích jsou volné pro proudění šťávy. Tomu nasvědčují mikroskopická vyšetření preparátů připravených moderními postupy s rychlým zmrazením objektu a jeho vysušení a zafixování ve zmrazeném stavu. Uzavření pórů bílkovinami a membránami často dříve pozorované bylo asi artefaktem způsobeným nedokonalými metodami fixace. Dosud se nevyjasnilo, zda zaplnění pórů membránami endoplasmatického retikula, které se zatím vždy pozorovalo u nahosemenných lze také považovat za artefakt, nebo je skutečné. V druhém případě by u nahosemenných nemohl platit model toku floémové šťávy pod tlakem.

Tento model dále vylučuje možnost, že by se touž sítkovicí současně dopravovaly látky dvěma směry. Proto se provedla řada pokusů, v nichž se obsah floémové šťávy označil různými značkami na dvou místech v rostlině a mezi těmito místy se odebíraly vzorky a analyzovaly. V jednom z těchto pokusů byly nalezeny obě značky ve šťávě odebrané z jedné sítkovice metodou mšičího sosáku. Soudí se však, že to může být také výsledek výměny značek difuzí mezi dvěma oddělenými protisměrnými proudy.

Bylo také dokázáno, že doprava šťávy sítkovicemi nepotřebuje přísun energie na dráze transportu. Značené asimiláty se odváděly z listů cukrovky a tykve nezmenšenou rychlostí i když jistý úsek řapíku byl zchlazen ze  $30^\circ\text{C}$  na  $0^\circ\text{C}$  (u řepy) nebo vystaven atmosféře dusíku (u tykve).

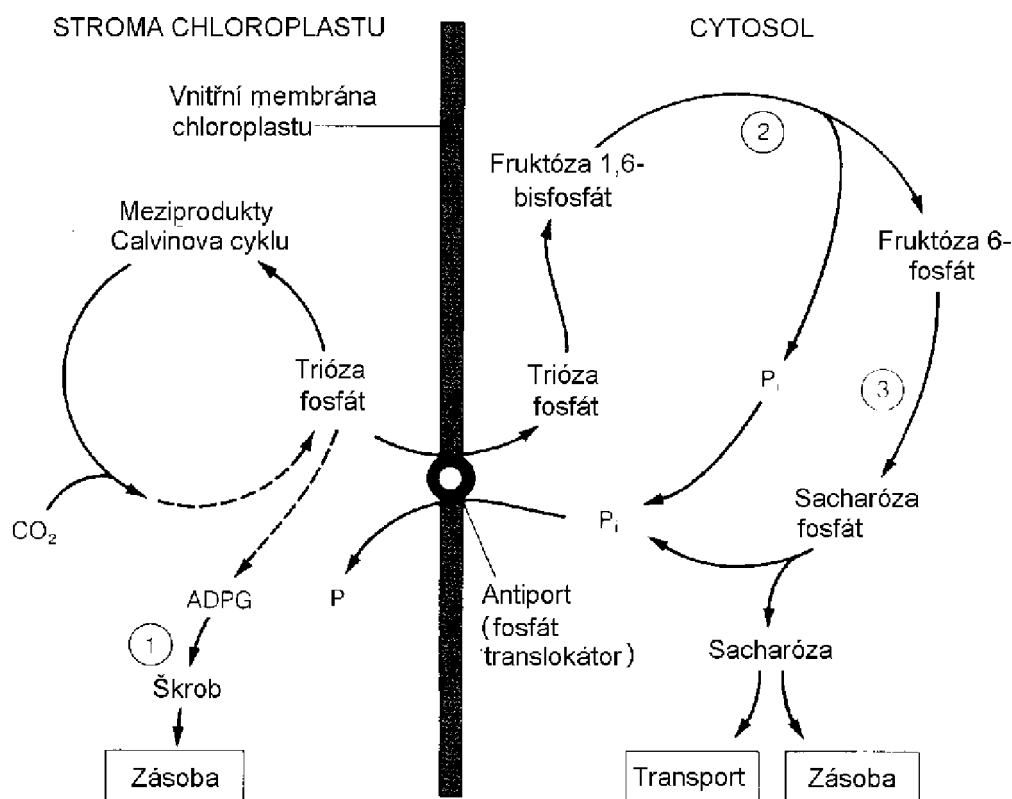


**Obr. 9.4-6.** Schéma ilustrující základní představy o toku floémové šťávy pod tlakem. U zdroje se sacharosa aktivně přenáší do sítkovice. Voda vstupuje do sítkovice osmoticky a vytváří vysoký turgorový tlak ( $P = 0,6 \text{ MPa}$ ). U jímky se sacharosa aktivně odnímá ze sítkovice a voda se z ní osmoticky odsává okolními buňkami, v nichž je vodní potenciál nižší ( $\psi = -0,6 \text{ MPa}$ ) a voda je v nich v podtlaku ( $P = -0,5 \text{ MPa}$ ) daném sáním na horním konci cév dřeva, jímž prochází transpirační proud.

Skutečnost, že dodávka energie po dráze transportu není potřebná, svědčí proti hypotéze, formulované Eschrichem r. 1972. Podle ní se podél celé dráhy transportu ve floému posouvá sacharosa kupředu aktivním transportem a tak vždy v daném místě zvyšuje osmotický potenciál natolik, že přisává vodu z apoplastu. Pohyb vody je tedy jen na krátké vzdálenosti a v podstatě příčný, nikoli podélný. Je možné, že se oba typy transportu ve floému kombinují.

#### 9.4.4 PLNĚNÍ FLOÉMU

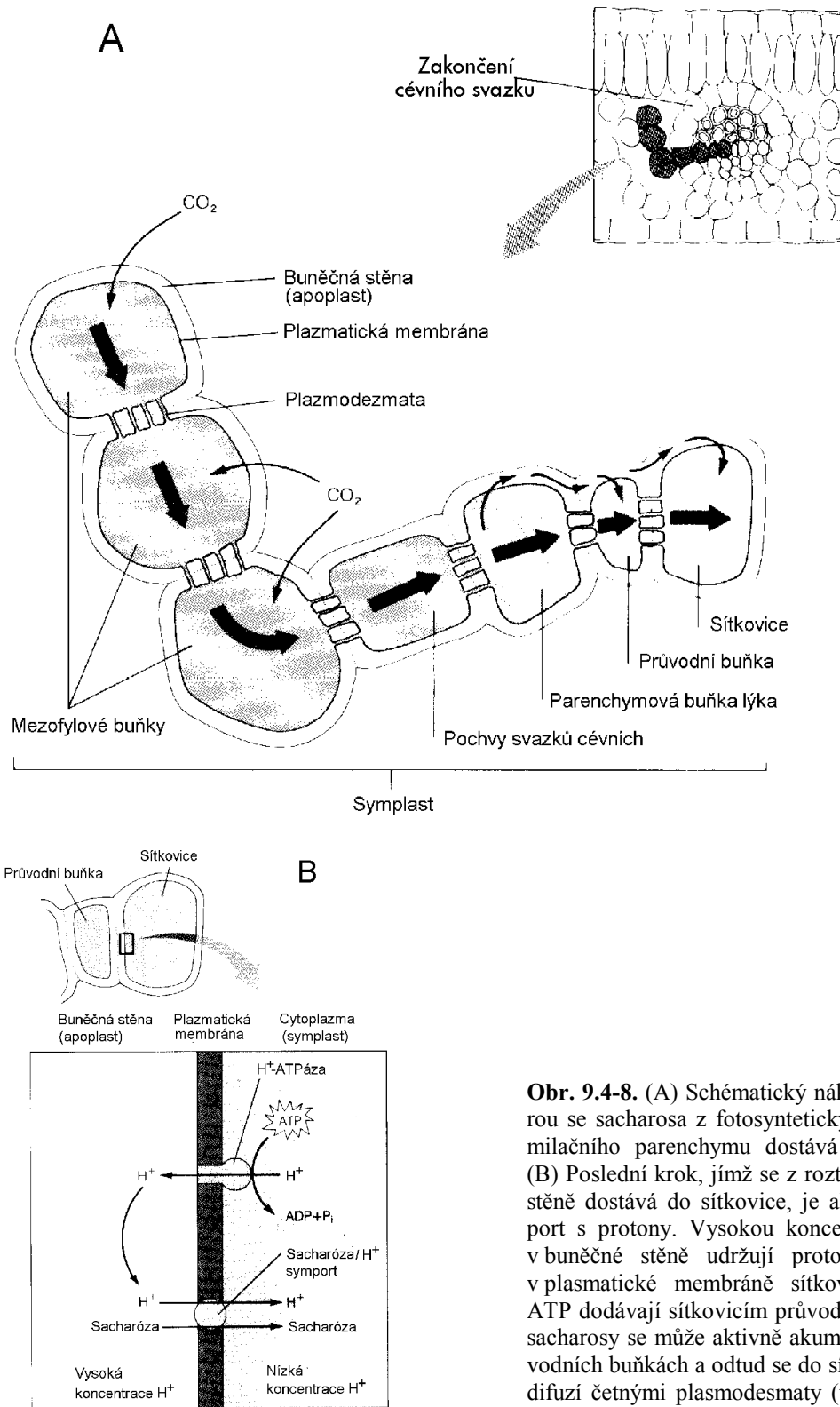
Sacharosa, která se z listů odvádí, se syntetizuje v cytoplasmě buněk asimilačního parenchymu. Naproti tomu škrob se z prvotních produktů fotosyntézy, tj. z fosfátů trios, syntetizuje v chloroplastu (obr. 9.4-7).



Obr. 9.4-7. Schéma ukazující zjednodušeně regulaci syntézy sacharosy a škrobu. ADPG - glukosa-adenosindifosfát.

O množství sacharosy, která je pro transport k dispozici, rozhoduje řada regulačních mechanismů, mezi něž patří také translokátor fosfátu, umístěný ve vnitřní obalové membráně chloroplastu. Ten uskutečňuje výměnu (antiport) jedné molekuly fosfátu triosy za jednu molekulu anorganického fosfátu. Fosfát se z triosofosfátů postupně uvolňuje při syntéze sacharosy (obr. 9.4-7), a tak rychlost syntézy sacharosy určuje rychlost přenosu triosofosfátů do cytoplasmy. Na rychlost syntézy sacharosy má vliv rychlost jejího odsunu z buňky, takže, konec konců, rychlost transportu reguluje rozdělení primárních produktů fotosyntézy mezi syntézu škrobu a sacharosy.

Do sítkovic se z buněk asimilačního parenchymu sacharosa dostává jednak difuzí v symplastu, jednak difuzí v apoplastu, z něhož se pak aktivně přenáší do sítkovic (obr. 9.4-8). Podíl jedné a druhé cesty na celkovém objemu transportu je u různých rostlin různý. U některých však byla přesvědčivě dokázána rozhodující úloha cesty apoplastem. Jak sacharosa z buněk vystupuje do buněčné stěny není dosud jasné. Dobře prostudován je však aktivní přestup z buněčné stěny do sítkovic. ATPasa vytvářející spád protonů pro aktivní transport se reguluje také turgorovým tlakem v sítkovici.



**Obr. 9.4-8.** (A) Schématický nákres cesty, kterou se sacharosa z fotosyntetických buněk asimilačního parenchymu dostává do sítkovice. (B) Poslední krok, jímž se z roztoku v buněčné stěně dostává do sítkovice, je aktivní kotransport s protony. Vysokou koncentraci protonů v buněčné stěně udržují protonové ATPasy v plazmatické membráně sítkovice, pro něž ATP dodávají sítkovicím průvodní buňky. Část sacharosy se může aktivně akumulovat i v průvodních buňkách a odtud se do sítkovic dostává difúzí četnými plasmodesmaty (tato cesta není ve schématu zakreslena).