



**Biodekontaminační technologie III.
Oxidativní stres**

Petr Soudek



ROSTLINY VE STRESU

DEFINICE STRESU



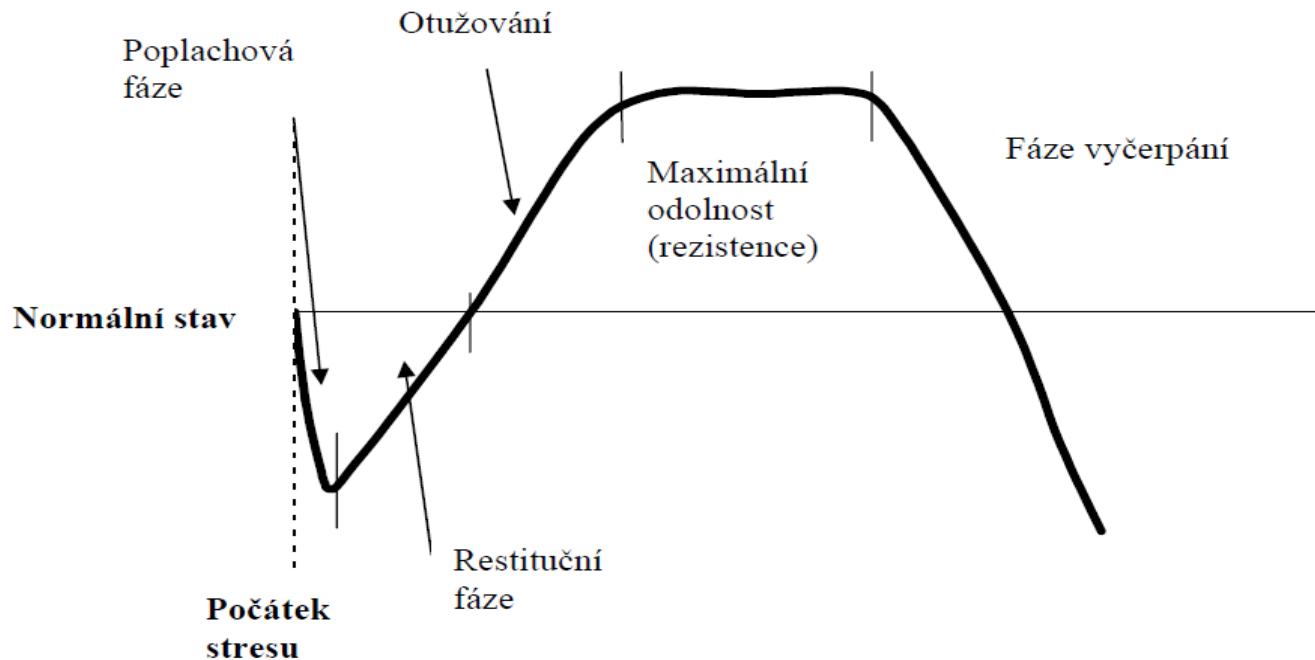
- **Stresové faktory (stresory)** – nepříznivé vlivy vnějšího prostředí
- **Stres** – obvykle se používá jako souhrnné označení stavu, ve kterém se rostlina nachází pod vlivem stresorů. Je to odchylka od optimálních podmínek.
- Problematika stresu je u rostlin komplikovanější než u živočichů – důvodem je přisedlost života (neumožňuje únik) a velkou mezidruhovou variabilitou a heterogenitou vnitřního prostředí (buněk, pletiv). Je proto těžké jasně stanovit, které podmínky už jsou stresové.
- **Adaptační schopnosti** – geneticky vázané předpoklady odpovědi na působení stresového faktoru, vznikají na základě přirozeného výběru po mnoho generací a projevují se na všech úrovních života rostliny:
 - délka, průběh a regulace ontogeneze
 - vnější stavba (habitus)
 - vnitřní struktury
 - metabolismus
- **Aklimace** – přechodné zvýšení odolnosti získané pod vlivem stresoru. např.: odpověď na teplotní šok, syntéza fytochelatinů





STRESOVÁ REAKCE

1. **Poplachová fáze** – narušení buněčných struktur a funkcí bezprostředně po začátku působení stresového faktoru
2. **Restituční fáze** – mobilizace kompenzačních mechanismů (do této fáze přechází stresová reakce v případě, že intenzita stresu nepřekračuje letální úroveň)
3. **Fáze rezistence** – zvýšení odolnosti rostliny vůči působícím faktorům
4. **Fáze vyčerpání** – může nastoupit při dlouhodobém a intenzivním působení stresového faktoru



OBRANNÉ MECHANISMY U ROSTLIN



Ústav experimentální
botaniky AV ČR, v. v. i.

- **Únik před stresem (stress avoidance)** – většinou se jedná o vyvinutí **ochranných struktur**, které brání průniku stresového faktoru do vnitřního prostředí rostliny (např. tlustá kutikula na listech, výrazná impregnace buněčných stěn, rezervoáry vody a snadno rozložitelných organických látek tlumících jejich nedostatek.) Tento způsob ochrany je **pasivní** a **dlouhodobý**. Další možností úniku před stresem je vhodné **načasování životních cyklů**.
- **Tolerance vůči stresu (stress tolerance)** – mechanismy aktivní odolnosti, které omezují negativní dopad stresorů až po jejich proniknutí k plazmatické membráně buněk a do symplastu. V takovém případě dochází ke spuštění řetězce změn – tzv. **stresová reakce**.

ÚNIK PŘED STRESEM

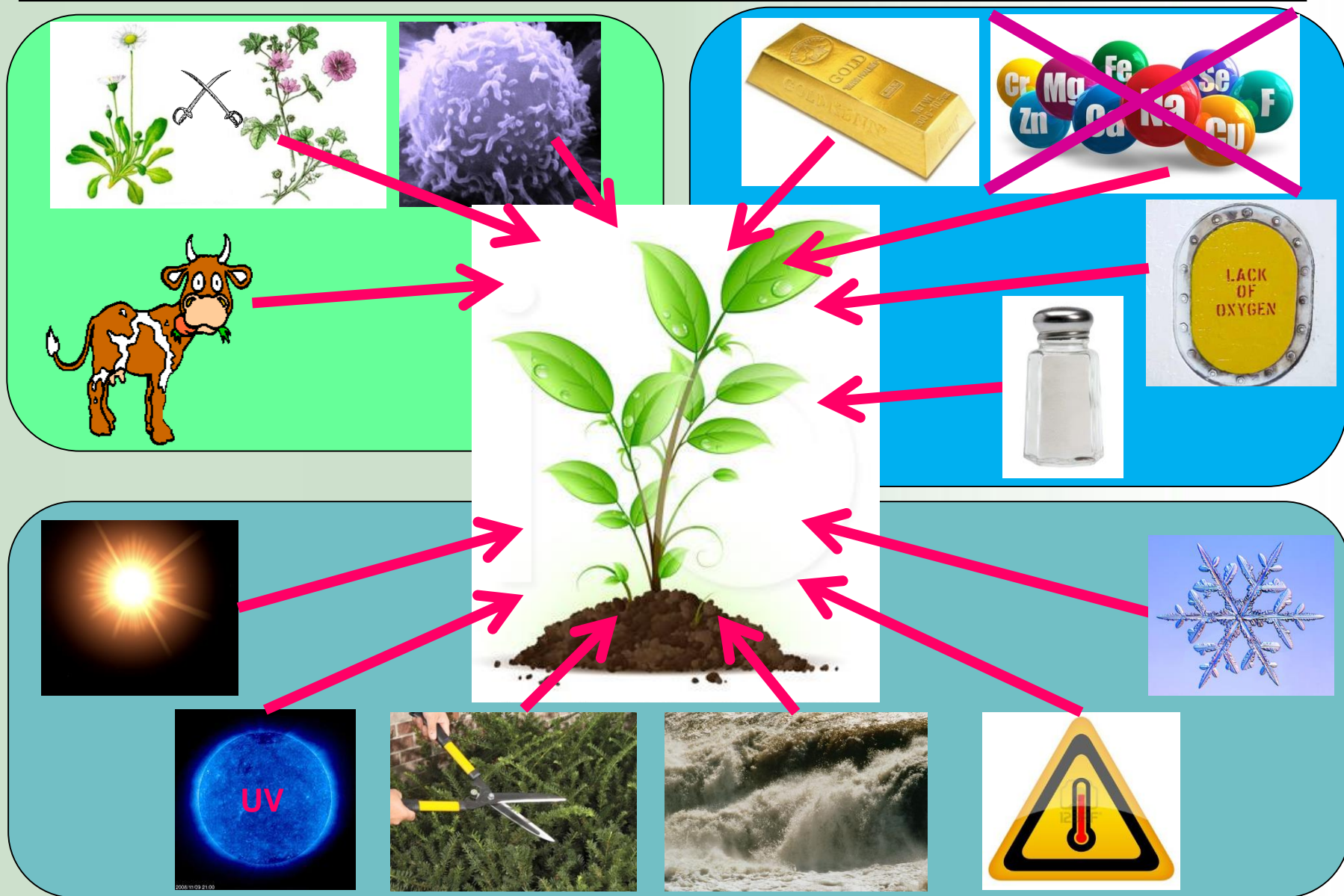
- preventivní mechanismy umožňující snížení vlivů externích stresových faktorů
- jedná se o nejrůznější adaptační mechanismy na:
 - anatomické (pohyb a zkroucení listů, uložení stomat ve specializovaných útvarech)
 - fyziologické (C₄ a CAM metabolismus)
 - molekulární úrovni (změny ve fotosyntetickém aparátu)

Preventivní mechanismus	Lokalizace	ROS
Anatomické adaptace	listová struktura, epidermis	O ₂ ^{•-} , H ₂ O ₂ , ¹ O ₂
C ₄ nebo CAM metabolismus	chloroplasty, cytosol, vakuoly	O ₂ ^{•-} , H ₂ O ₂
Pohyb chloroplastů	cytosol	O ₂ ^{•-} , H ₂ O ₂ , ¹ O ₂
Snížení fotosyntézy	chloroplasty	O ₂ ^{•-} , H ₂ O ₂
Modulace antény a fotosystému	chloroplasty	O ₂ ^{•-} , ¹ O ₂
Alternativní oxidasy	chloroplasty, mitochondrie	O ₂ ^{•-}

STRESOVÉ FAKTORY



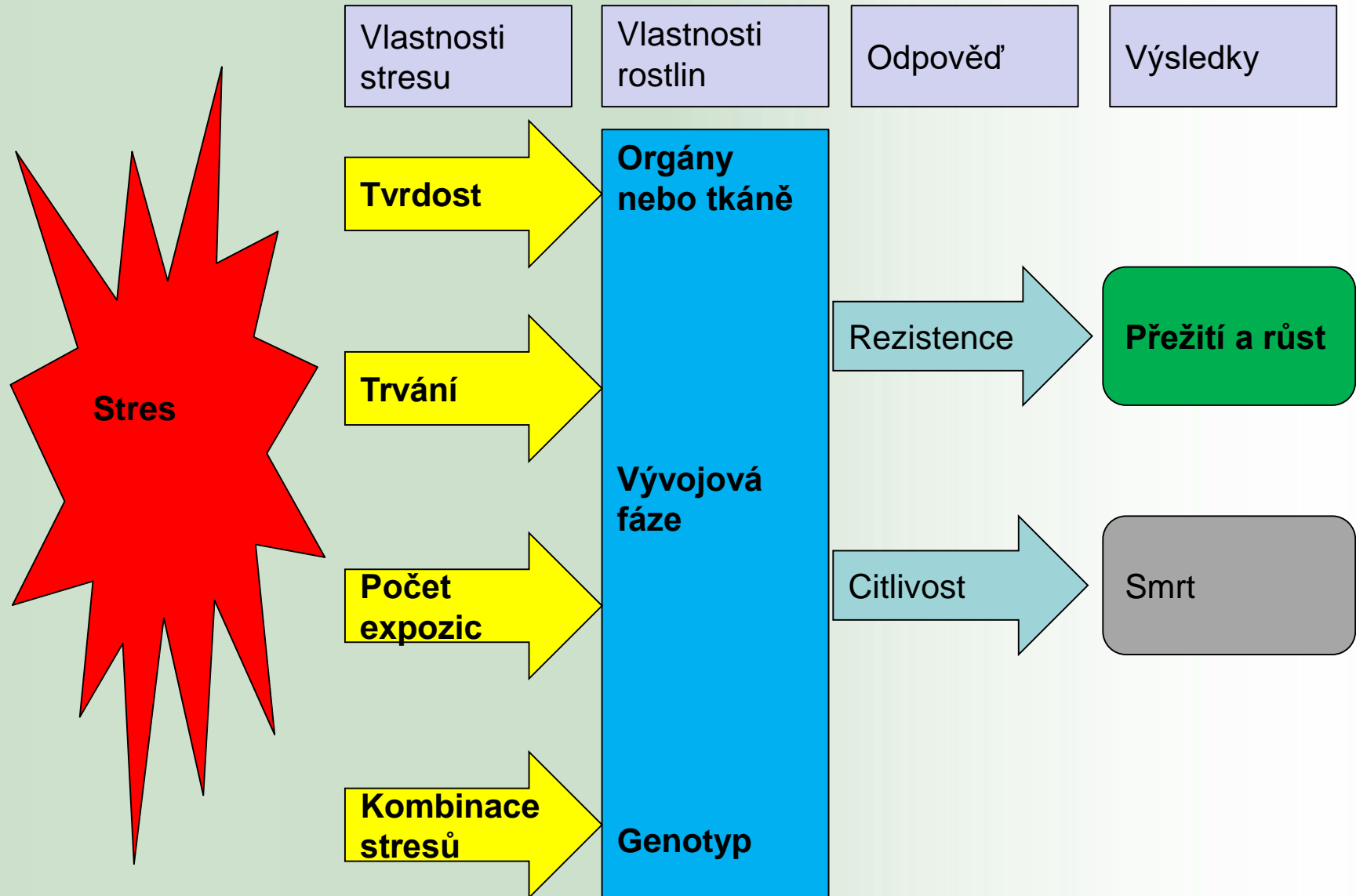
Ústav experimentální
botaniky AV ČR, v. v. i.



VÝSLEDEK PŮSOBNÍ STRESOVÝCH FAKTORŮ



Ústav experimentální
botaniky AV ČR, v. v. i.



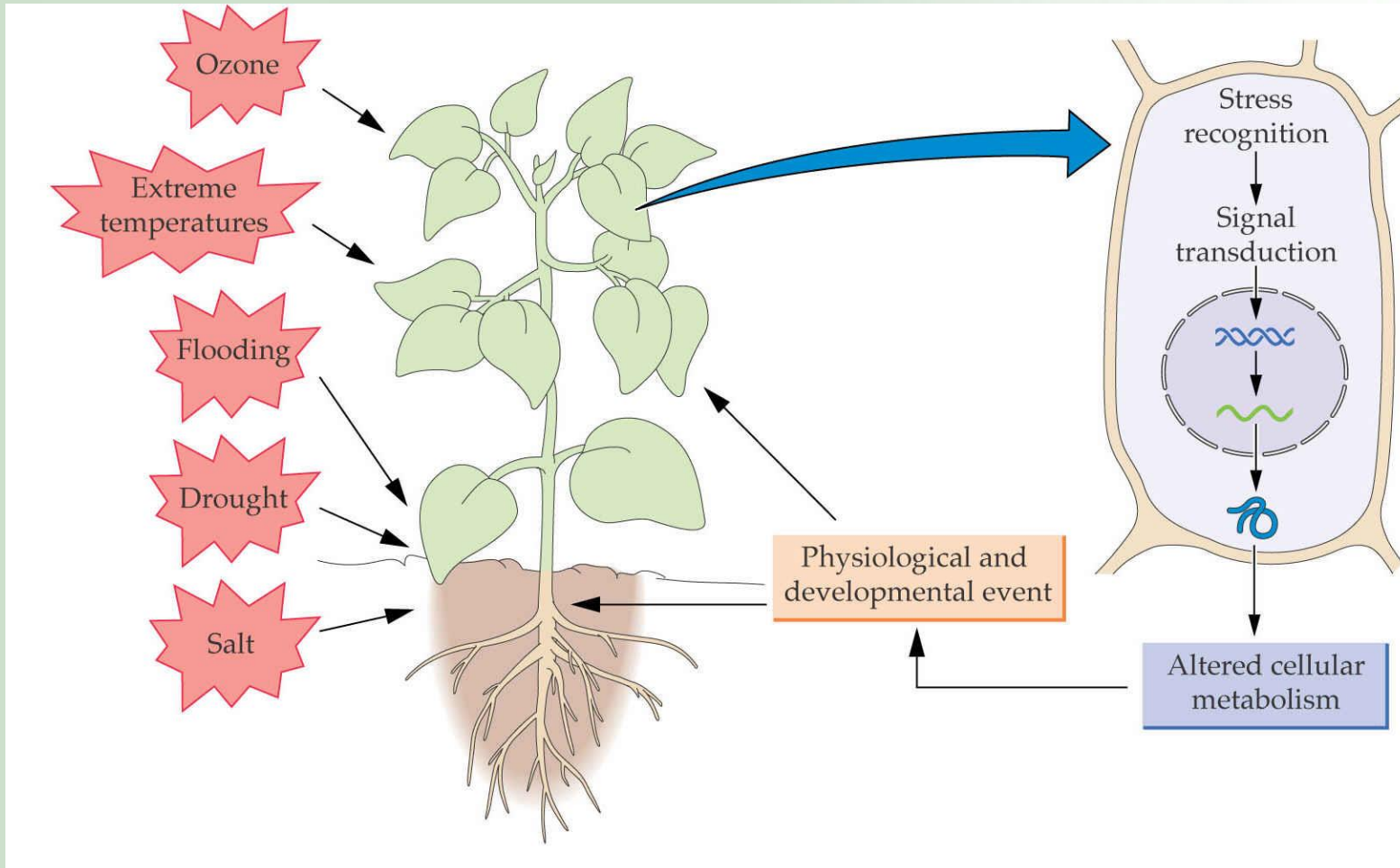
FYZIOLOGICKÉ A BIOCHEMICKÉ PORUCHY V ROSTLINÁCH



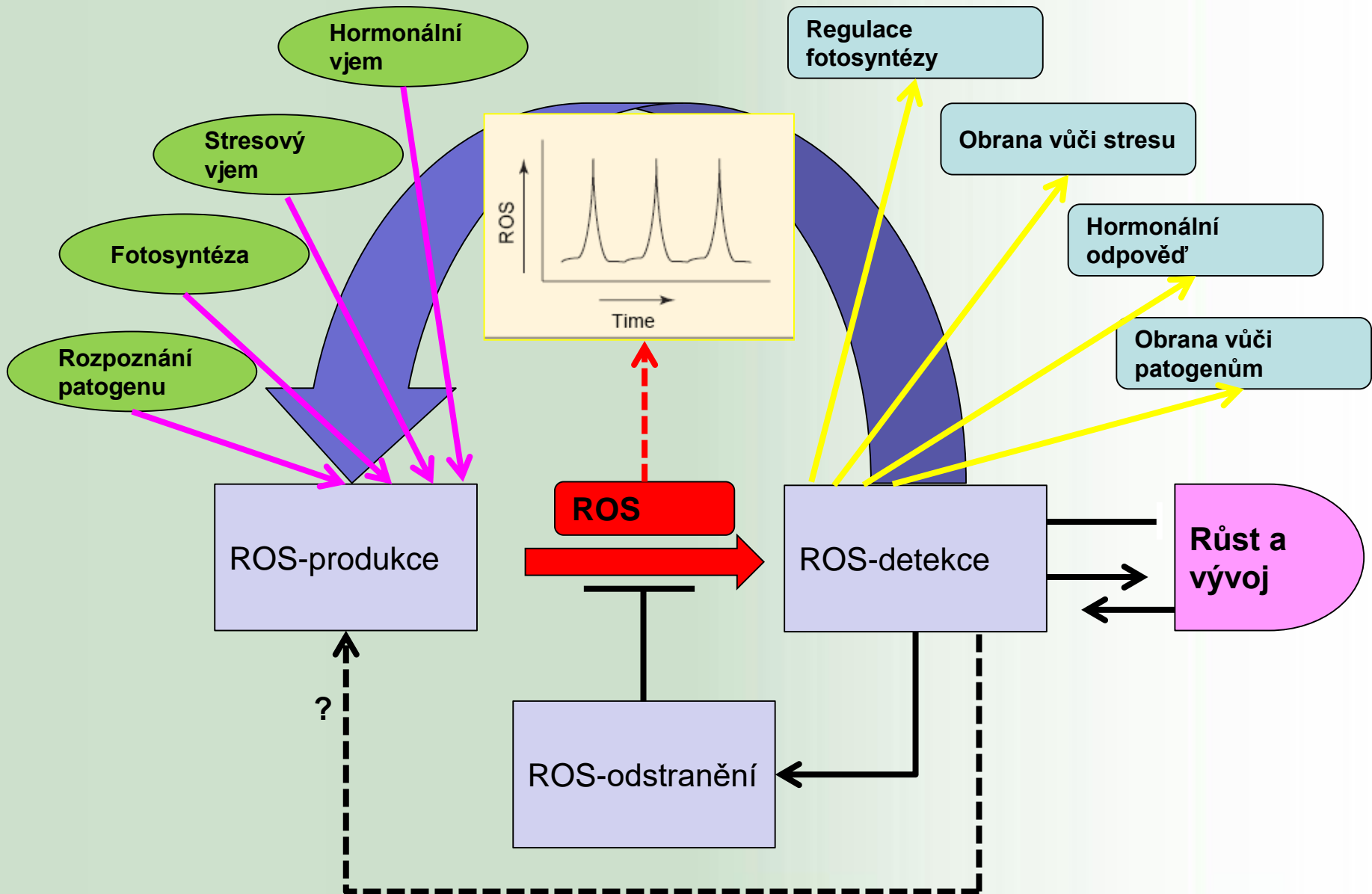
Ústav experimentální
botaniky AV ČR, v. v. i.

Environmental factor	Primary effects	Secondary effects
Water deficit	Water potential (Ψ_p) reduction Cellular dehydration Hydraulic resistance	Reduced cell/leaf expansion Reduced cellular and metabolic activities Stomatal closure Photosynthetic inhibition Leaf abscission Altered carbon partitioning Cytorrhysis Cavitation Membrane and protein destabilization ROS production Ion cytotoxicity Cell death
Salinity	Water potential (Ψ_p) reduction Cellular dehydration Ion cytotoxicity	Same as for water deficit (see above)
Flooding and soil compaction	Hypoxia Anoxia	Reduced respiration Fermentative metabolism Inadequate ATP production Production of toxins by anaerobic microbes ROS production Stomatal closure
High Temperature	Membrane and protein destabilization	Photosynthetic and respiratory inhibition ROS production Cell death
Chilling	Membrane destabilization	Membrane dysfunction
Freezing	Water potential (Ψ_p) reduction Cellular dehydration Symplastic ice crystal formation	Same as for water deficit (see above) Physical destruction
Trace element toxicity	Disturbed cofactor binding to proteins and DNA ROS production	Disruption of metabolism
High light intensity	Photoinhibition ROS production	Inhibition of PSII repair Reduced CO ₂ fixation

MECHANISMUS PŮSOBENÍ STRESOVÝCH FAKTORŮ

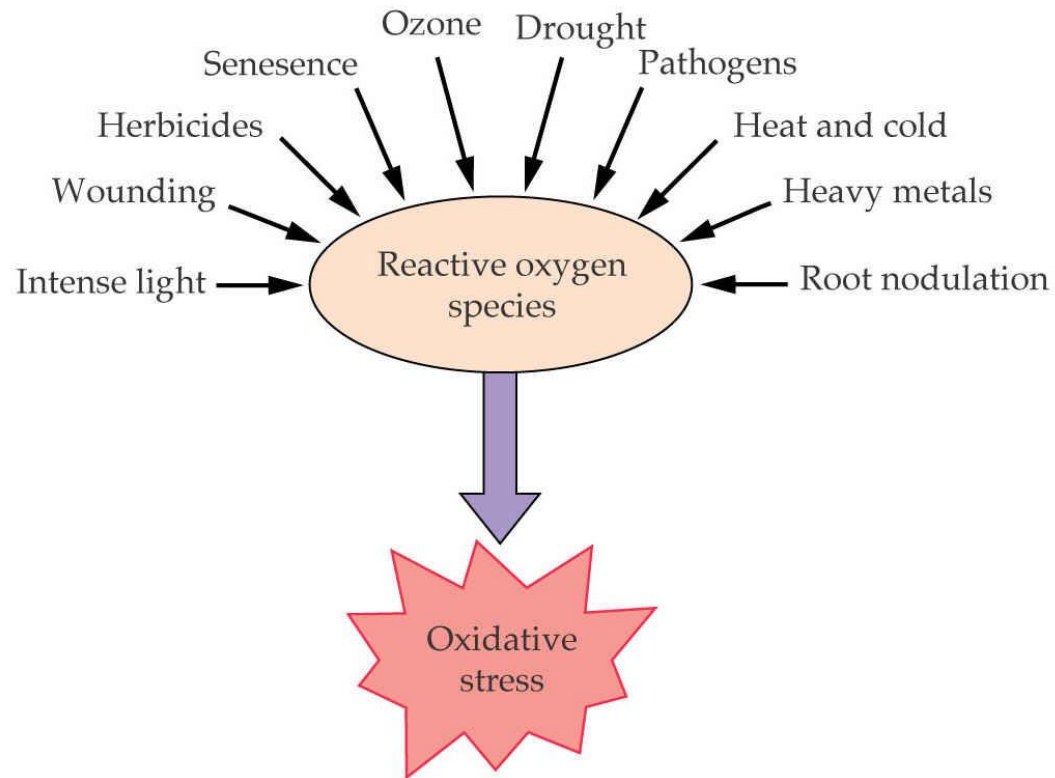


STRESOVÁ ODPOVĚĎ



OXIDATIVNÍ STRES

- Oxidativní stres vzniká v podmínkách, které navozují vznik **aktivních forem kyslíku** (radikálů, ROS), které poškozují buňky



AKTIVNÍ FORMY KYSLÍKU



$2p\pi^*$	$\uparrow \uparrow$	$\downarrow \uparrow \uparrow$	$\downarrow \uparrow \quad$	$\downarrow \uparrow \downarrow \uparrow$
$2p\pi$	$\downarrow \uparrow \downarrow \uparrow$	$\downarrow \uparrow \downarrow \uparrow$	$\downarrow \uparrow \downarrow \uparrow$	$\downarrow \uparrow \downarrow \uparrow$
$2p\sigma$	$\downarrow \uparrow$	$\downarrow \uparrow$	$\downarrow \uparrow$	$\downarrow \uparrow$
$2s\sigma^*$	$\downarrow \uparrow$	$\downarrow \uparrow$	$\downarrow \uparrow$	$\downarrow \uparrow$
$2s\sigma$	$\downarrow \uparrow$	$\downarrow \uparrow$	$\downarrow \uparrow$	$\downarrow \uparrow$
	O_2	O_2^-	1O_2	O_2^{2-}

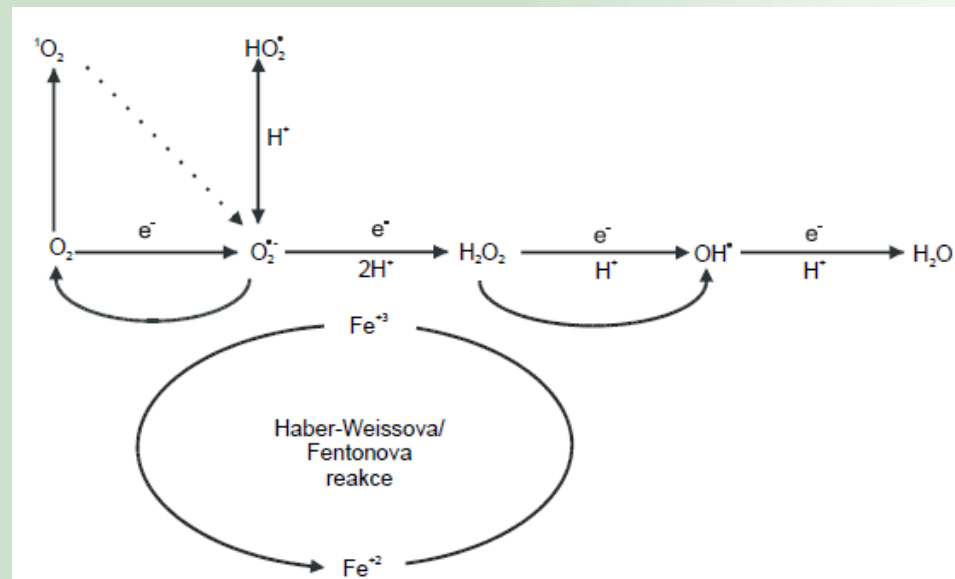
Tabulka I

Značení a molekulární struktury aktivních forem kyslíku v rostlinách

Sloučenina	Zkrácené značení	Struktura
Singletový kyslík	1O_2	O-O:
Superoxidový anion-radikál	$O_2^{\bullet -}$	$[\ddot{O} \equiv \ddot{O}]^-$
Hydroxylový radikál	OH^\bullet	$\ddot{O} - H$
Hydroxylový ion	OH^-	$\ddot{O} - H$
Perhydroxylový radikál	O_2H^\bullet	$\ddot{O} \equiv \ddot{O} - H$
Peroxid vodíku	H_2O_2	H-O-O-H

VZNIK ROS

- ROS se formují během redoxních reakcí a během **nedokonalé redukce kyslíku** nebo **oxidace vody** v mitochondriálním nebo chloroplastovém elektronovém řetězci
- Vznik **singletního kyslíku** ($^1\text{O}_2$) dále stimuluje produkci dalších ROS (peroxid, superoxidový aniont, hydroxylový a perhydroxylový radikál).
- **Superoxidové anionty** vznikají také v chloroplastech, když jsou elektrony přeneseny na kyslík přímo z fotosystému I.
- ROS (zejména hydroxylový radikál) mají silně destruktivní účinky na lipidy, nukleové kyseliny a proteiny.
- Na druhou stranu ROS jako superoxidový aniont a peroxid jsou **nezbytné pro lignifikaci** a slouží také jako signály v obranné reakci při infekci



ZDROJE A ÚČINKY ROS



Ústav experimentální
botaniky AV ČR, v. v. i.

Forma kyslíku	Zdroj	Biologický efekt
O_2	atmosferický kyslík, PSII, různé enzymy (superoxiddismutasa, katalasa)	inhibice fotosyntézy (preference oxygenasové reakce ribulosa-1,5-bisfosfátcarboxylasy/oxygenasy), náhodná produkce volných radikálů
$O_2^{\cdot-}$	osvětlené chloroplasty, PSII a PSI, mitochondrie v přítomnosti NADH, Fe-S proteiny, cytochrom P450, elektronový transportní řetězec v endoplasmatickém retikulu, herbicidy (paraquat a nitrofen), enzymové reakce: xanthinoxidasa, NAD(P)H oxidasa, aldehydoxidasa, urikáza (EC 1.7.3.3).	peroxidace lipidů, inaktivace enzymů, depolymerizace polysacharidů, reakce s H_2O_2 za tvorby OH^{\cdot} , schopnost oxidovat síru, askorbát a NADPH, redukovat cytochrom c a ionty kovů
H_2O_2	glykolát oxidasa v glyoxysomech, osvětlené chloroplasty - PSII, mitochondrie v přítomnosti NADH, β -oxidace mastných kyselin, Fe-S proteiny a enzymové reakce (SOD, glykolát oxidasa, aminooxidasa, oxalát oxidasa (EC 1.2.3.4), peroxidasy...)	inhibice fixace CO_2 , inaktivace enzymů Calvinova cyklu, oxidace sulfhydrylů a flavonolů, substrát oxidační reakce
OH^{\cdot}	Haberova-Weissova reakce, Fentonova reakce	velmi silné oxidační činidlo, poškození DNA, peroxidace lipidů, degradace proteinů, produkce C_2H_4
1O_2	excitované chlorofylové molekuly v tripletovém stavu, znečištění vzduchu (NO_2 , O_3 , atd.)	mutageneze, peroxidace lipidů, fotooxidace aminokyselin

ENZYMOVÁ PRODUKCE ROS



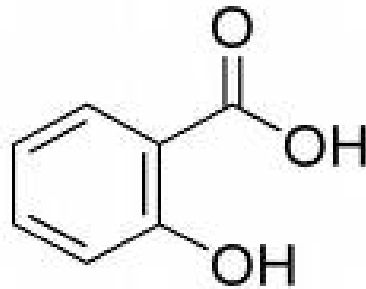
Ústav experimentální
botaniky AV ČR, v. v. i.

Enzym	Produkce ROS	Funkce
dihydroorotátdehydrogenasa	tvorba $O_2^{\cdot-}$	synthéza pyrimidinových nukleotidů
tryptofandioxygenasa	tvorba $O_2^{\cdot-}$	metabolismus tryptofanu
xanthinoxidasa	tvorba $O_2^{\cdot-}$	oxidace xanthinu na kys. močovou, metabolismus purinů
aldehydroxidasa	tvorba $O_2^{\cdot-}$	katalyzuje oxidaci aldehydu
lipoxygenasa	iniciace řetězové reakce peroxidace lipidů	peroxidace polynenasycených mastných kyselin
oxalátoxidasa	H_2O_2	katalyzuje oxidaci oxalátu
aminoxidasa	H_2O_2	oxidace biogenních aminů na aldehyd
prostaglandinsynthasa		synthéza prostaglandinů
guanylatcyklasa		Synthéza cGMP z guanosin trifosfátu (GTP)
glukosaoxidasa	redukují molekulární kyslík přímo bez tvorby $O_2^{\cdot-}$	katalyzuje oxidaci β -D-glukosy na D- glukono-1,5-lakton za produkce H_2O_2
D- a L-aminokyselinoxidasa		oxidační deaminace

REAKCE BUNĚK NA ROS



- Reakci spouští samotný ROS
- Nárůst cytosolické **koncentrace Ca^{2+}** funguje jako druhý posel v dráze, které se účastní rostlinné hormony
- Ozón zvyšuje množství H_2O_2 , který stimuluje produkci **kyseliny salicylové** /hormon/. To vede ke zvýšení transkripce genů kódujících molekuly obranných sekundárních metabolitů, molekuly fungující jako bariéry (ligniny, kalóza, extenziny) a proteiny účastníci se obrany proti patogenům.
- Nadbytek ozónu indukuje také produkci **etylénu** (zvyšuje transkripci genů kódujících ACC syntázu a ACC oxidázu)



kys. salicylová

SPOLEČNÉ MECHANIZMY STRESOVÝCH REAKCÍ



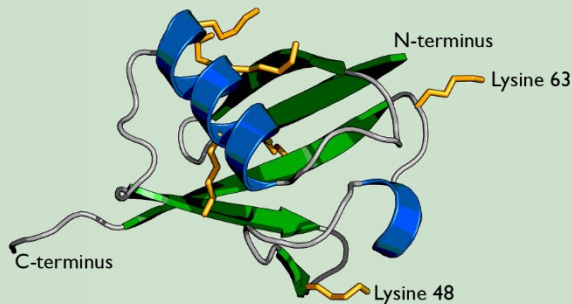
Ústav experimentální
botaniky AV ČR, v. v. i.

- Tvorba stresových proteinů
- Tvorba a odstraňování aktivních forem kyslíku
- Tvorba stresových fytohormonů (ABA, etylen, kys. jasmonová, metyljasmonát, polyamin)
- Tvorba osmoregulačních sloučenin (cukry, polyalkoholy, jednoduché dusíkaté látky).

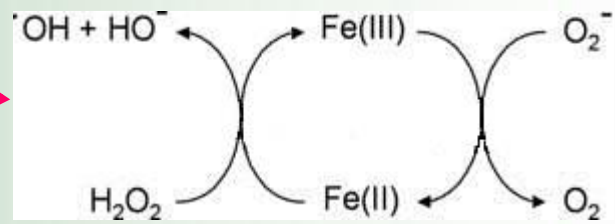
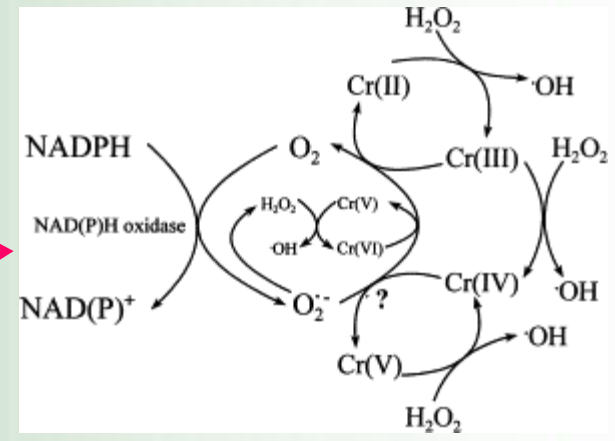
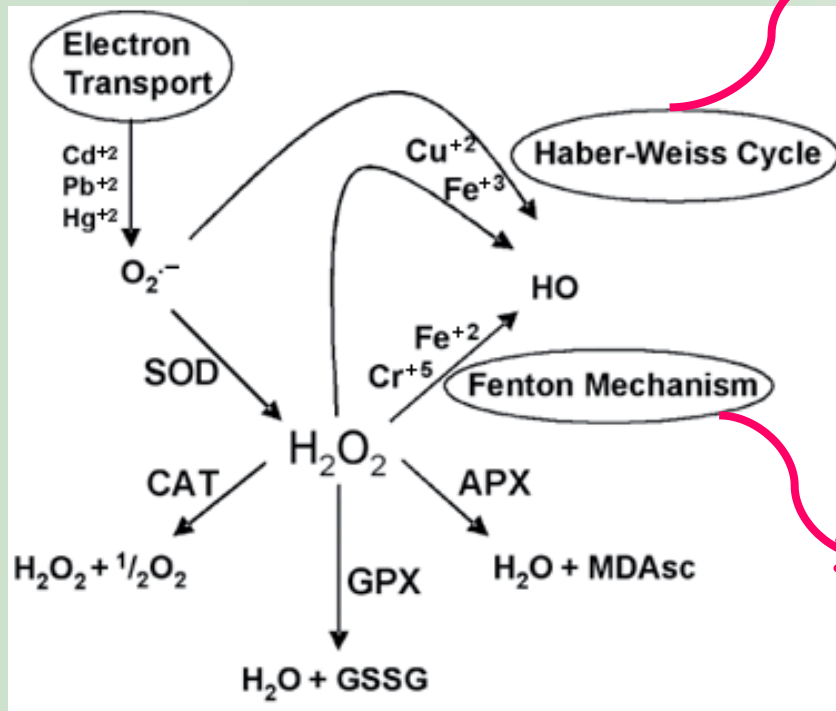
STRESOVÉ PROTEINY



- Většinou jde o konstitutivní proteiny vyskytující se ve všech buňkách. Za stresu se jejich množství mnohonásobně zvyšuje.
- **Chaperony** - řídí změny konformace proteinů při transportu přes membrány. Upravují konformaci proteinů při jejich mírném poškození.
- **Ubikvitin** - Označí proteiny při jejich nevratném poškození
- **Proteázy** – rozloží ubikvitinem označené proteiny na aminokyseliny
- Druhy stresových proteinů
 - Proteiny indukované zvýšenou teplotou (heat-shock proteins, HSP)
 - Proteiny indukované chladem (cold-induced proteins)
 - Proteiny indukované dehydratací (dehydration-induced proteins), dehydriny
 - Proteiny indukované sníženou koncentrací kyslíku (anaerobic stress proteins, ASP)
 - Proteiny indukované patogeny (pathogenesis-related proteins, PRP)



INDUKCE ROS TĚŽKÝMI KOVY





ROS V BUŇCE

REACTIVE OXYGEN SPECIES - ROS

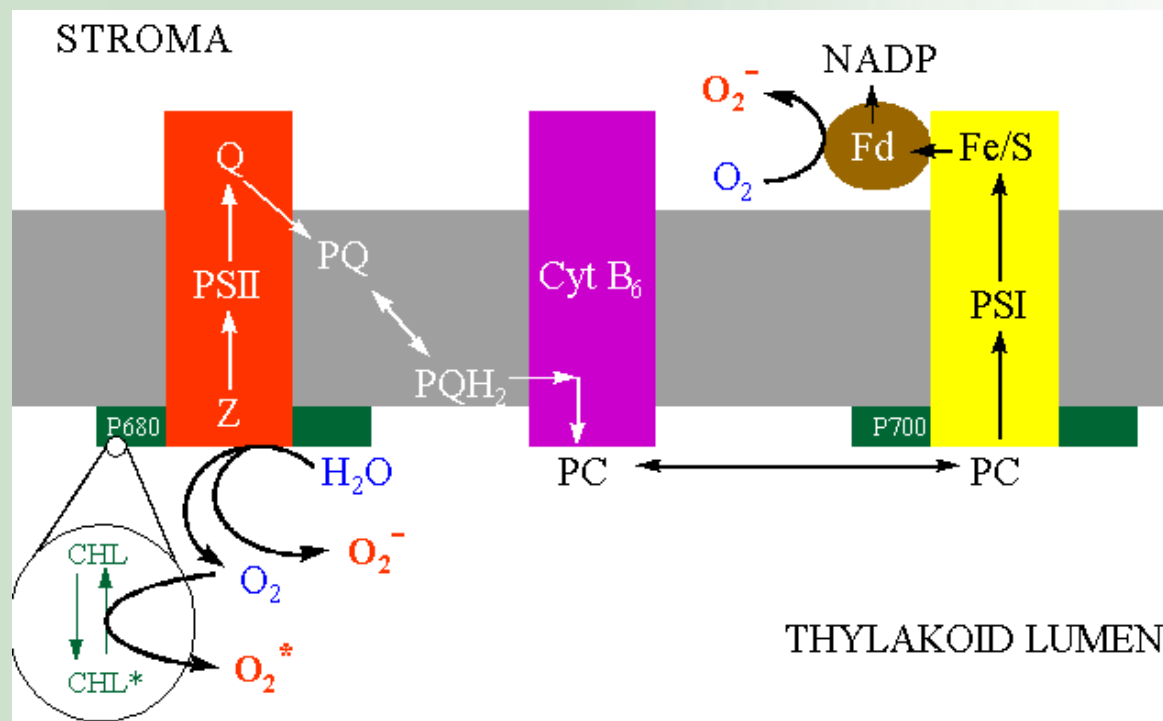


Ústav experimentální
botaniky AV ČR, v. v. i.

Mechanismus	Lokalizace	ROS
Fotosyntetický elektronový transportní řetězec	Chloroplast	$O_2^{\cdot-}$
Respirační elektronový transportní řetězec	Mitochondrie	$O_2^{\cdot-}$
Glykolátóxidasa	Peroxisomy	H_2O_2
Excitovaný chlorofyl	Chloroplast	1O_2
NADPH-oxidasa	Plazmatická membrána	$O_2^{\cdot-}$
β -oxidace mastných kyselin	Peroxisomy	H_2O_2
Oxalátóxidasa	Apoplast	H_2O_2
Xanthinoxidasa	Peroxisomy	$O_2^{\cdot-}$
Peroxidasy (Mn, NADH)	Buněčná stěna	$H_2O_2, O_2^{\cdot-}$
Aminoxidasa	Apoplast	H_2O_2

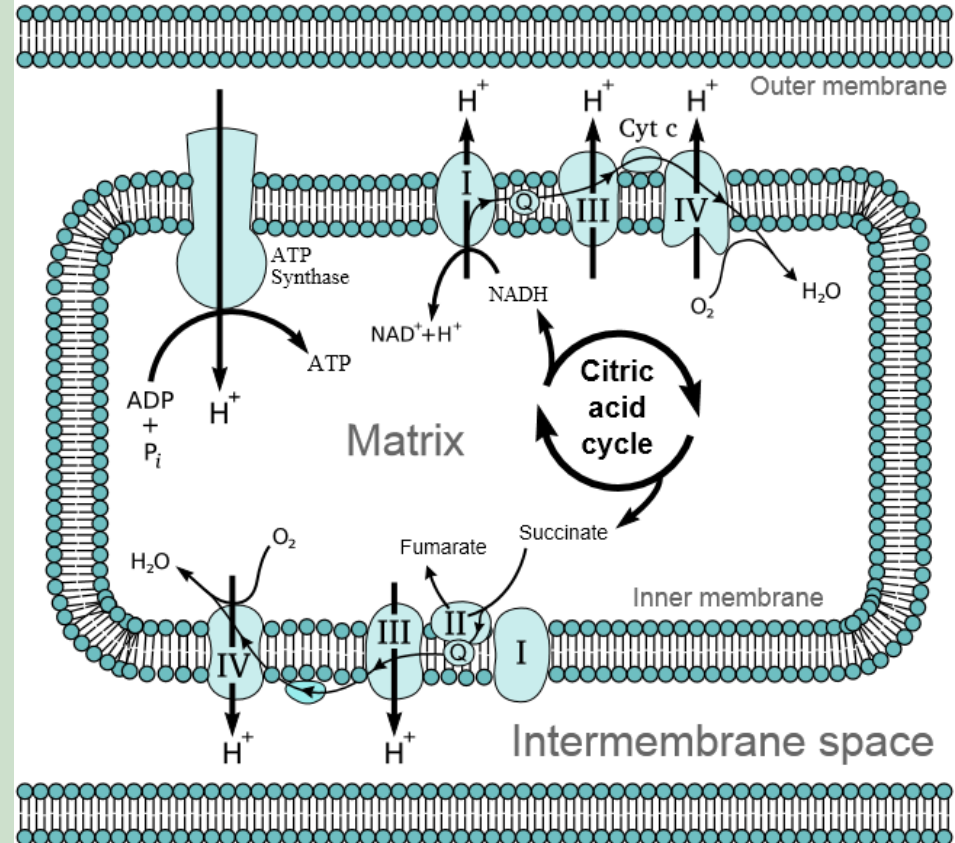
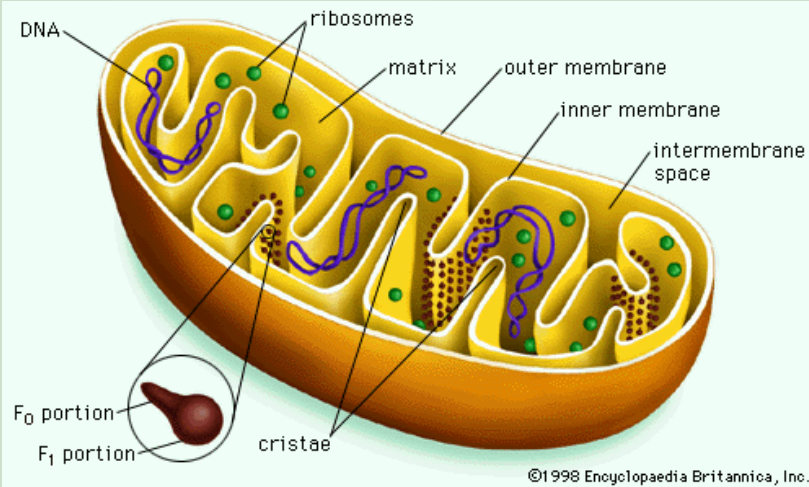
TVORBA ROS V CHLOROPLASTECH

- **Mehlerova reakce** v chloroplastech (fotoredukce kyslíku ve fotosystému I). Primárním produktem je **superoxid**, z něhož mohou vzniknout nebezpečnější hydroxylové radikály a peroxid vodíku. Snížení rychlosti sekundárních procesů fotosyntézy (fixace CO₂) ve stresu vede ke zvýšení tvorby ROS a k poškození buňky.
- **Fotoredukce kyslíku** je možná i ve fotosystému II (možná pozitivní funkce – **disipace excitační energie** chrání PS II před fotoinhibičním poškozením)
- Tvorba **singletového kyslíku** přenosem excitační energie z chlorofylu na kyslík v základním stavu



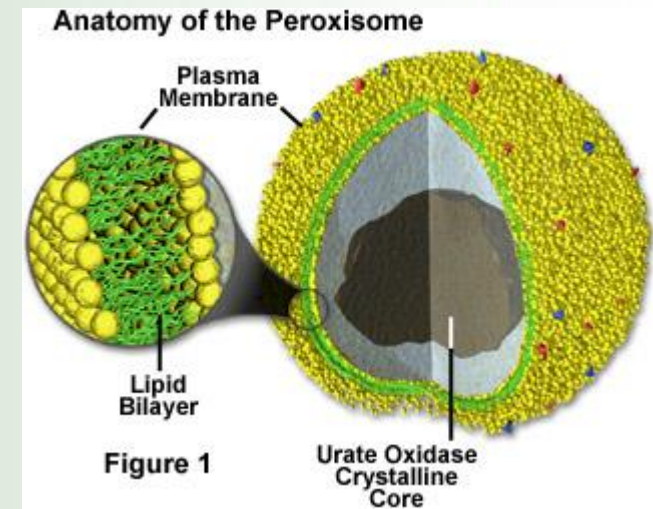
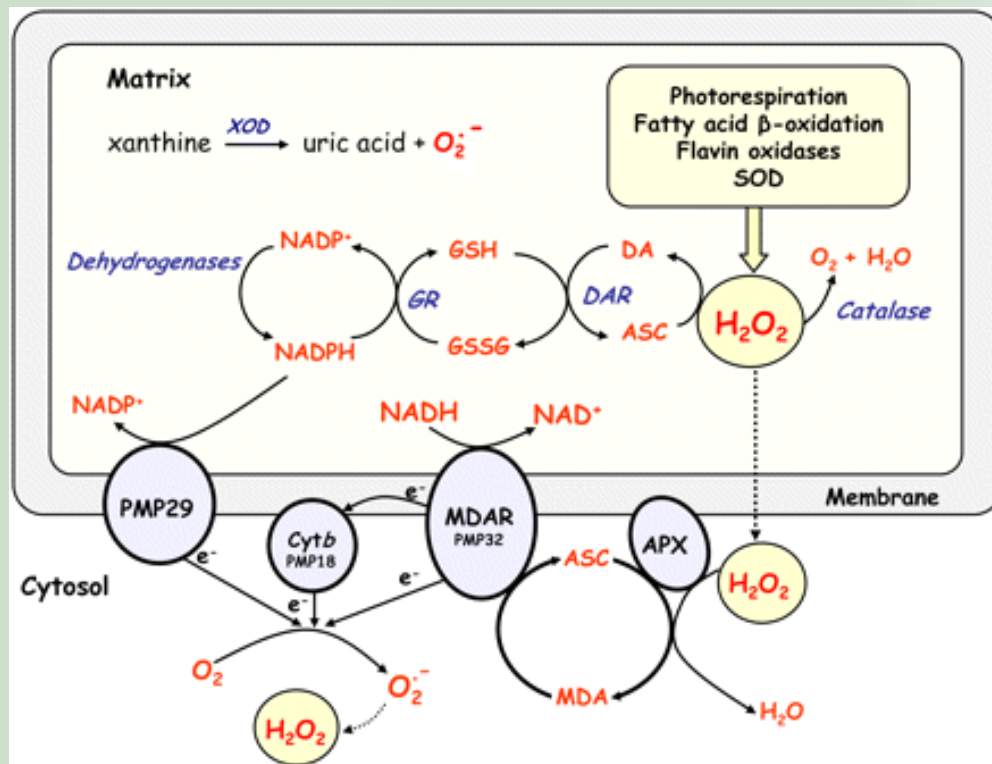
TVORBA ROS V MITOCHONDRÍÍCH

- NAD(P)H dehydrogenasy a Fe-S proteiny místem produkce ROS
- Tok elektronů přes ubiquinon (Q), blokuje antimycin A (antibiotikum)



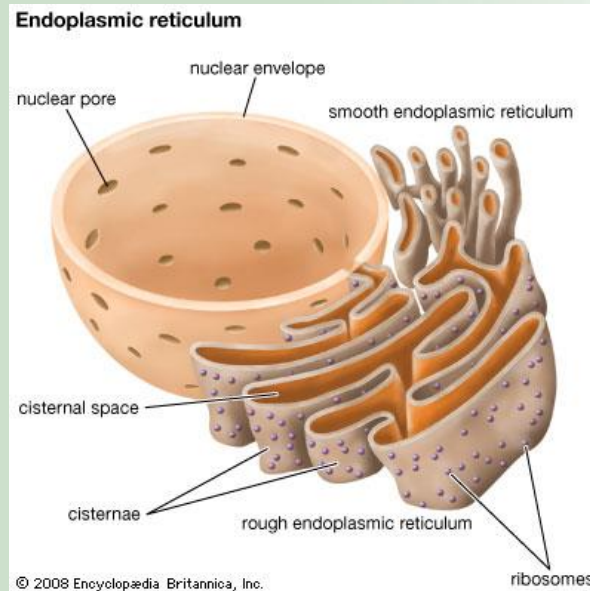
TVORBA ROS V PEROXIZÓMECH

- Fotorespirace
- β -oxidace mastných kyselin
- Glyoxylátový cyklus
- Metabolismus ureidů
- Metabolismus aktivních forem kyslíku



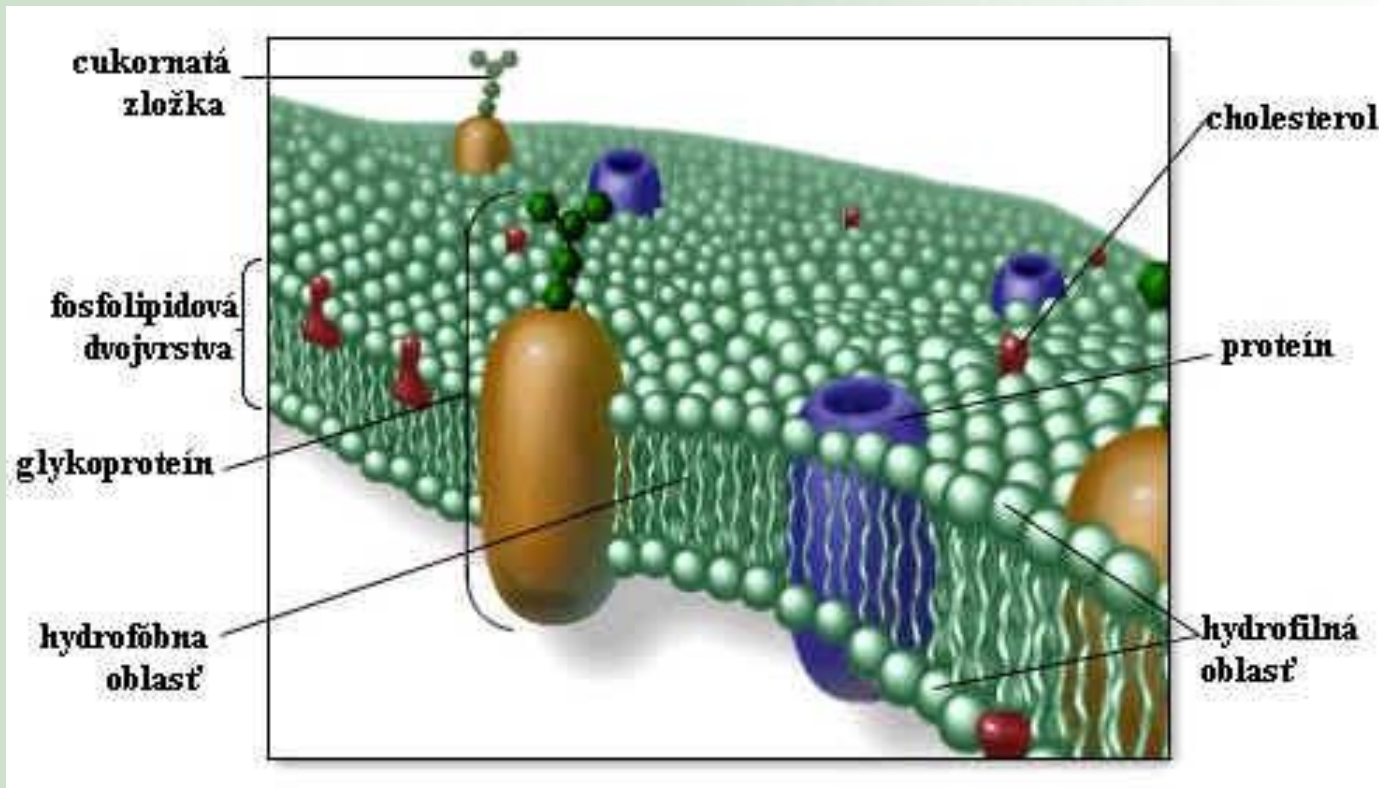
TVORBA ROS V ENDOPLAZMATICKÉM RETIKULU

- Z reakcí probíhají např.:
 - Oxidace
 - Hydroxylace
 - Dealkylace
 - Deaminace
 - Dehalogenace
- Základním předpokladem reakcí je **aktivace kyslíku**
- Superoxid produkován NAD(P)H-dependentním elektronovým transportem
- Účast **cytochromu P450** (komplex P_{450} -ROOH se může rozkládat na P_{450} -RH a superoxid)



TVORBA ROS V PLAZMATICKÉ MEMBRÁNĚ

- NADPH-oxidasa - vícesložkový komplex obsahující cytochrom b_{558} (obsahuje FAD a dva hemy)
- Tok elektronů jde z NADPH cestou přes FAD a hemu na kyslík
- reakce $\text{NADPH} + 2 \text{O}_2 = 2 \text{O}_2^{\cdot -} + \text{NADP}^+ + \text{H}^+$
- Superoxid se uvolňuje na vnější povrch a přechází na H_2O_2



TVORBA ROS V BUNĚČNÉ STĚNĚ

- Tvorba superoxidu peroxidasami za spotřeby NADH
- Závislé na pH
- reakce $\text{Fe}^{2+}\text{-O-O} + \text{RH}_2 = \text{Fe}^{3+} + \text{R}^\bullet + \text{H}_2\text{O}_2$
- Tvorba fenylpropanoidních prekurzorů ligninu a jejich následné zesíťování

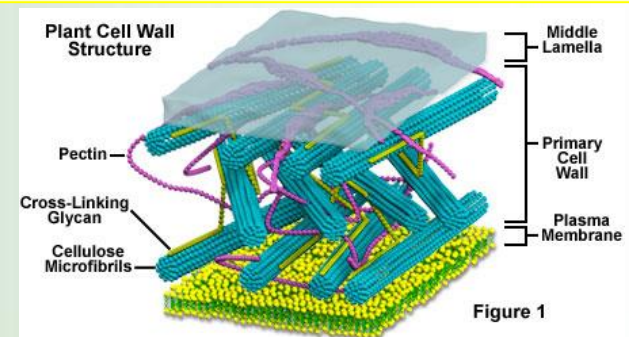
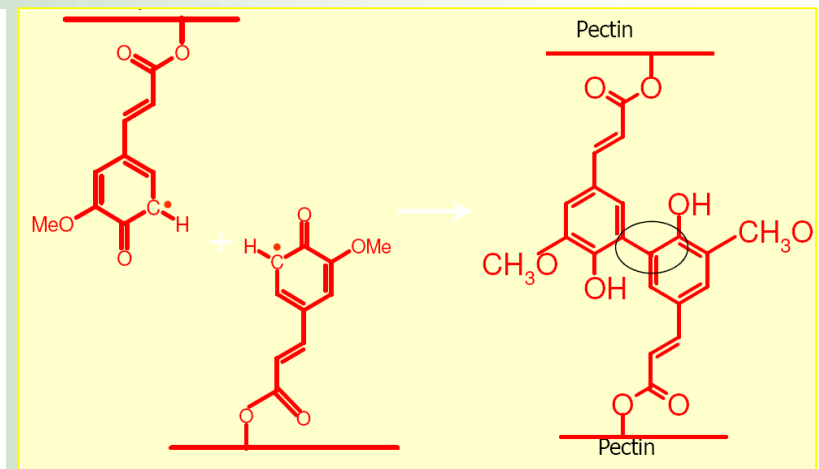
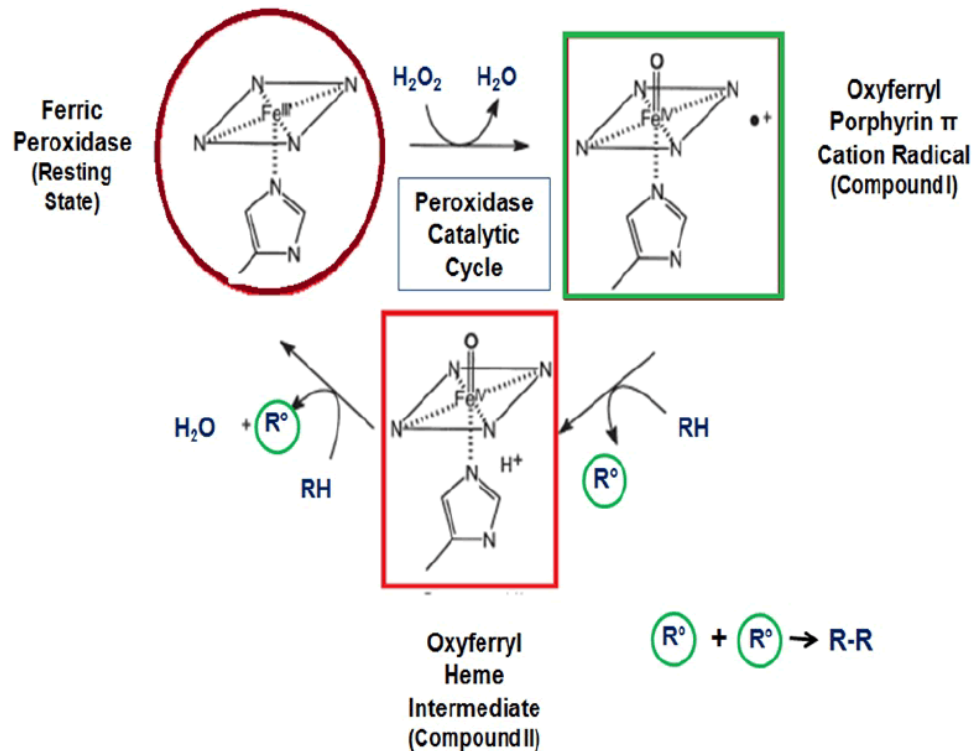
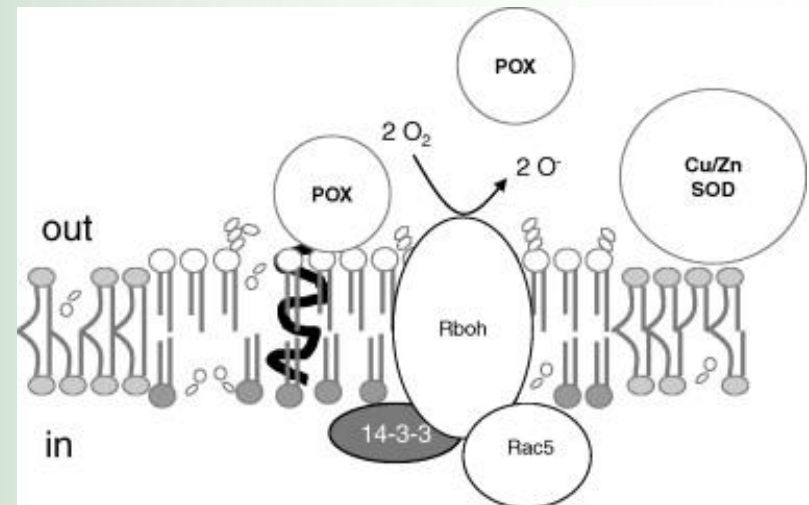
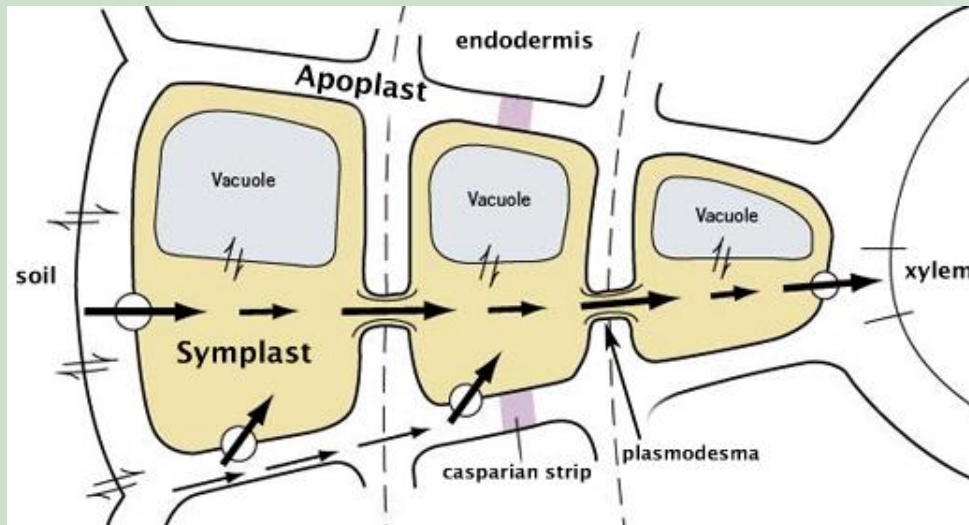


Figure 1



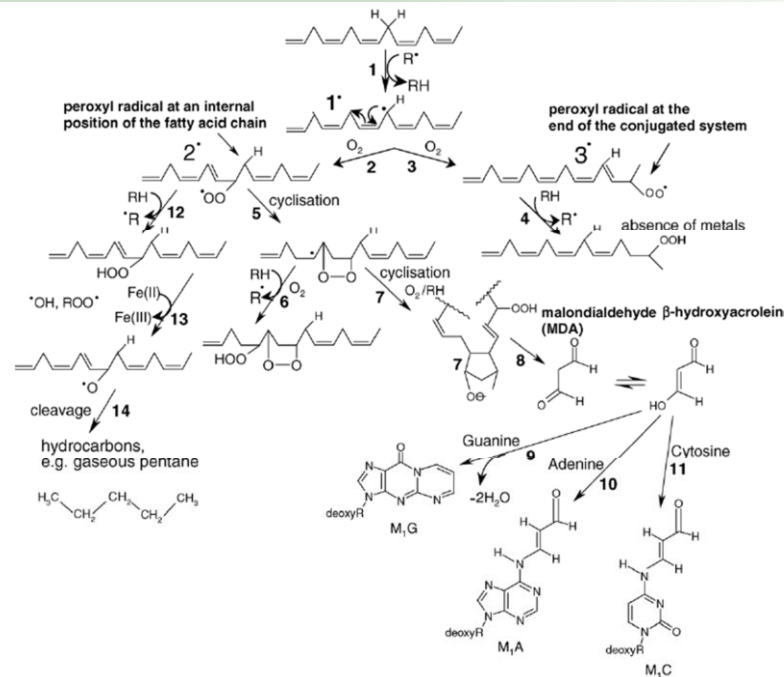
TVORBA ROS V APOPLASTU

- Zdrojem ROS oxalát oxidasa a aminoxidasa
- Vzniklý H_2O_2 možné využít pro **lignifikaci** a zesílení buněčné stěny



OXIDATIVNÍ POŠKOZENÍ LIPIDŮ

- Vysoce nenasycené mastné kyseliny ve fosfolipidech jsou velmi snadno oxidovány působením ROS (především $\cdot\text{OH}$)
- Vlastní proces lipidní fáze - 3 kroky – iniciace, propagace a terminace
- Po vzniku peroxylového radikálu dochází cyklizačními reakcemi k tvorbě endoperoxidů a ke vzniku finálního produktu – malondialdehydu (MDA)
- Vedle toho vznikají také další reaktivní aldehydy – 4-hydroxy-2-nonenal (HNE) a akrolein
- MDA je účinný mutagen, HNE moduluje aktivitu řady signálních drah



OXIDATIVNÍ POŠKOZENÍ PROTEINŮ



Ústav experimentální
botaniky AV ČR, v. v. i.

- Oxidativní poškození proteinů zahrnuje:
 - místně specifické modifikace aminokyselin
 - fragmentaci peptidových řetězců
 - hromadění produktů zesíťovacích reakcí
 - změnu elektrického náboje
 - zvýšení citlivosti na proteolýzu
- Aminokyseliny v peptidech se liší v odolnosti vůči poškození a různé formy aktivního kyslíku se liší ve své potenciální reaktivitě.
- Primární, sekundární a terciární struktura proteinů mění relativní odolnost některých aminokyselin.
- Aminokyseliny Pro, Tyr, His, Arg, Lys, Met a Cys jsou velmi citlivé, především ty AMK obsahující **síru a thiolové skupiny**.
- Jiné formy poškození proteinů volnými radikály jsou ireverzibilní:
 - oxidace **železo-síra center** peroxidem ničí enzymatickou funkci
 - mnoho AMK prodělá **specifickou ireverzibilní modifikaci** když je protein oxidován (tryptofan je snadno zesíťován do formy bityrosinu)

OXIDATIVNÍ POŠKOZENÍ DNA



- Aktivní kyslík a faktory generující **volné kyslíkové radikály** jako jsou třeba ionizující záření, indukují množství poškození DNA které zahrnují delece, mutace a jiné smrtelné genetické efekty.
- Poškození DNA ukázalo, že **cukr i báze jsou náchylné k oxidaci** zahrnující:
 - základní degradaci
 - poškození jednoho vlákna
 - cross-linking s proteiny
- Degradace báze má za následek produkci řady produktů včetně:
 - 8-hydroxyguaninu
 - hydroxymethyl močoviny
 - močoviny
 - thymin glycolu
 - thyminu a adeninu s otevřeným kruhem
 - nasycených produktů



KATABOLISMUS ROS

STIMULACE OBRANNÝCH SYSTÉMŮ



Ústav experimentální
botaniky AV ČR, v. v. i.

Antioxidant nebo enzym	Stresové podmínky stimulující zvýšenou koncentraci nebo aktivitu antioxidantů a enzymů
Peroxidázy	Chlad, vysoké CO ₂ , vysoká intenzita světla, ozón, sucho
Glutathion	Chlad, sucho, gama záření, vysoká teplota, vysoké CO ₂ , ozón
Polyaminy	Nedostatek K, P, Ca, Mg a dalších prvků Sucho, vysoká teplota, ozón
Superoxiddismutáza	Chlad, vysoké CO ₂ , vysoké světlo, nadbytek O ₂ , ozón

ANTIOXIDAČNÍ ENZYMY

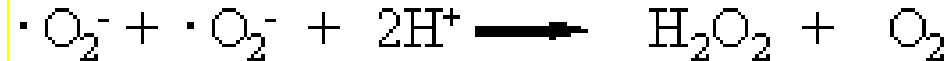
Enzym	Lokalizace	ROS
Askorbát peroxidasa	cytosol, stroma plastidů, membrána plastidů, mitochondrie, peroxisomy, apoplast, kořenové hlízky	H_2O_2
Katalasa	peroxisomy	H_2O_2
Glutathion peroxidasa	cytosol	H_2O_2 , ROOH
Peroxidasy	buněčná stěna, cytosol, vakuoly	H_2O_2
Superoxid dismutasa	cytosol, peroxisomy, plastidy, kořenové hlízky, mitochondrie, apoplast	$\text{O}_2^{\cdot-}$
Thioredoxin peroxidasa	plastidy, cytosol, mitochondrie	H_2O_2



SUPEROXID DISMUTASA

- SOD katalyzuje přeměnu superoxidu na peroxid vodíku a kyslíku:

Superoxide Dismutase



Mn-SOD: mitochondria

Fe-SOD: chloroplast

CuZn-SOD: chloroplast

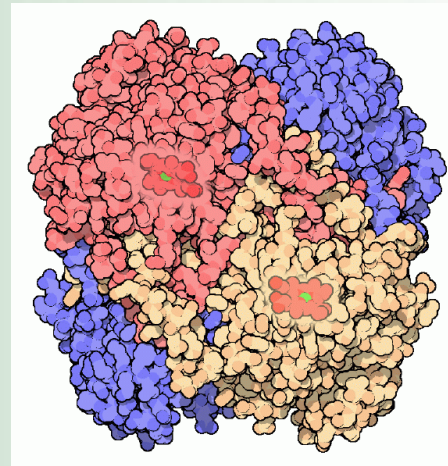
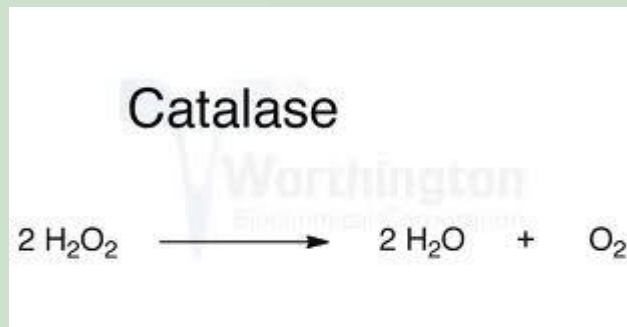
CuZn-SOD: cytosol

- Mn-SOD** se nachází v mitochondriích eukaryotických buněk
- Některé **Cu/Zn-SOD** izoenzymy se nacházejí v cytosolu, jiné v chloroplastech vyšších rostlin
- Fe-SOD** izoenzymy nejsou často přítomny v rostlinách, pokud jsou detekovány, pak v chloroplastech
- Nedávno popsána **Ni-SOD** ve *Streptomyces*



KATALASA

- Kataláza je tetramerní enzym obsahující hem
- Katalyzuje **rozklad peroxidu vodíku** na vodu a kyslík
- Jedná se o jeden z nejučinnějších enzymů vůbec – 1 molekula enzymu je schopna za minutu přeměnit až 6 mil. molekul H_2O_2
- Enzym se nachází ve všech aerobních eukaryotech
- Důležitý při odstraňování peroxidu vodíku vytvořeného v peroxisomech (microbodies):
 - oxidázami zapojenými do β -oxidace mastných kyselin
 - v glyoxalátovém cyklu (fotorespirace)
 - v purinovém katabolismu.

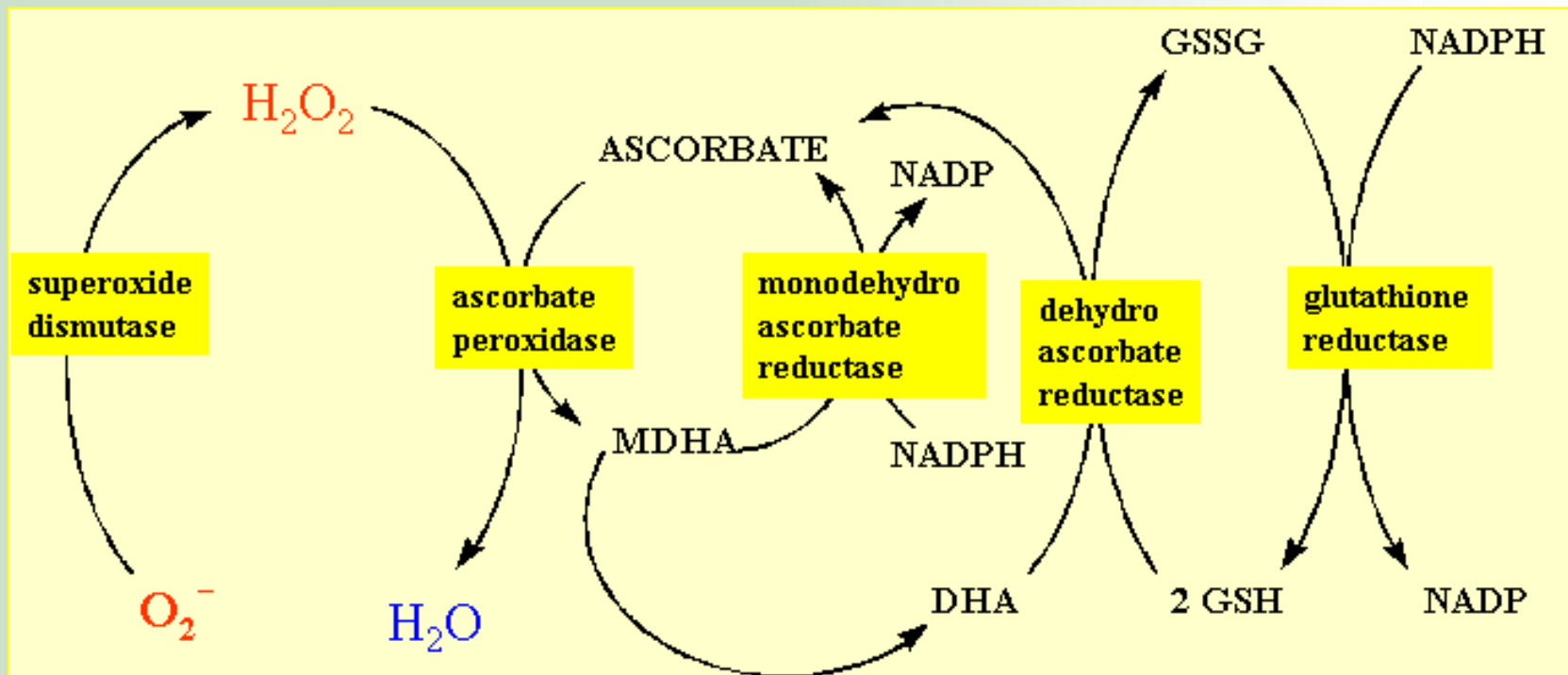


ENZYMY ASKORBÁT- GLUTATHIONOVÉHO CYKLU



Ústav experimentální
botaniky AV ČR, v. v. i.

- Foyerův-Halliwellův-Asadův cyklus
- Používá **neenzymové antioxidanty** askorbát a glutathion
- Probíhá v chloroplastech, peroxisomech, cytosolu a mitochondriích



GLUTATHIONPEROXIDASA

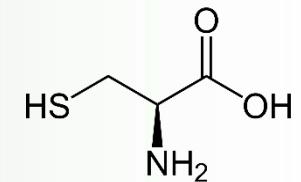
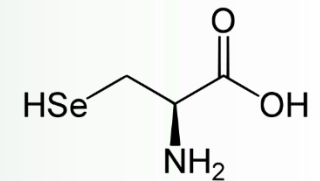
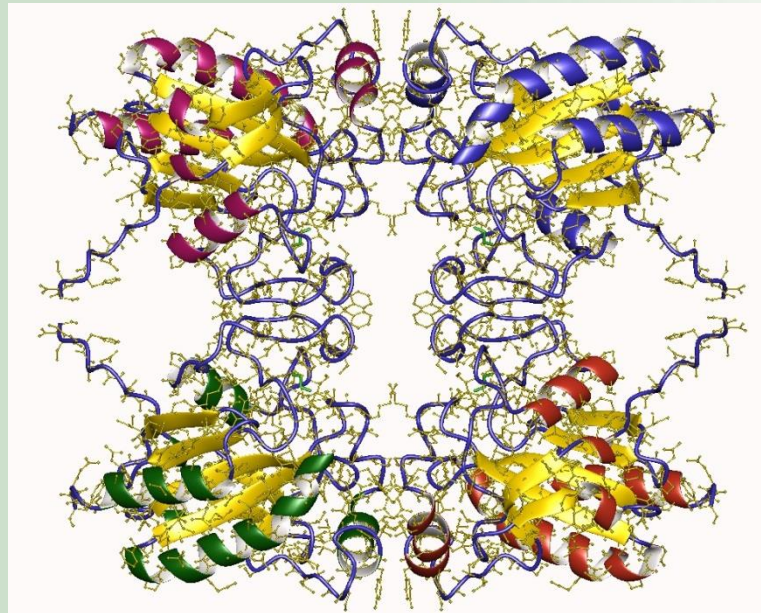
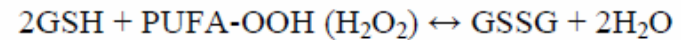


Ústav experimentální
botaniky AV ČR, v. v. i.

- **zamezení peroxidace** membránových lipidů
- katalyzují redukci **peroxidu vodíku**, **organických peroxidů** a **peroxidů lipidů** s využitím glutathionu jako redukčního činidla
- fosfolipidhydroperoxidglutathionperoxidasa – podíl na zamezení poškození membránových struktur
- lokalizace v cytosolu a také v také v chloroplastech

Fosfolipidhydroperoxid-
glutathionperoxidasa

1.11.1.9

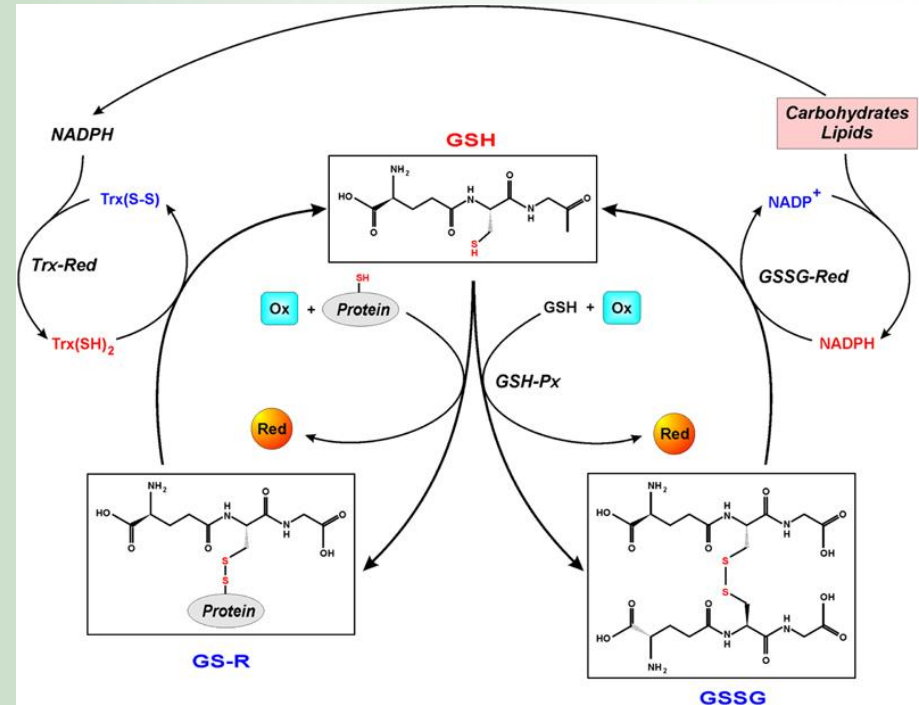


ANTIOXIDANTY

Antioxidant	Lokalizace	ROS
askorbát (vitamin C)	apoplast, cytosol, plastid, mitochondrie, peroxisom	H_2O_2 , $\text{O}_2^{\cdot-}$
β -karoten	plastid	$^1\text{O}_2$
redukováný glutathion	cytosol, apoplast, mitochondrie, plastid, peroxisom	H_2O_2
polyaminy (putrescin)	cytosol, mitochondrie, jádro, plastid	$^1\text{O}_2$
α -tokoferol (vitamin E)	buněčné membrány	ROOH , $^1\text{O}_2$
zeaxanthin	chloroplast	$^1\text{O}_2$
cukry (fruktan)	vakuola	OH^{\cdot} , OOH^{\cdot}

GLUTATHION

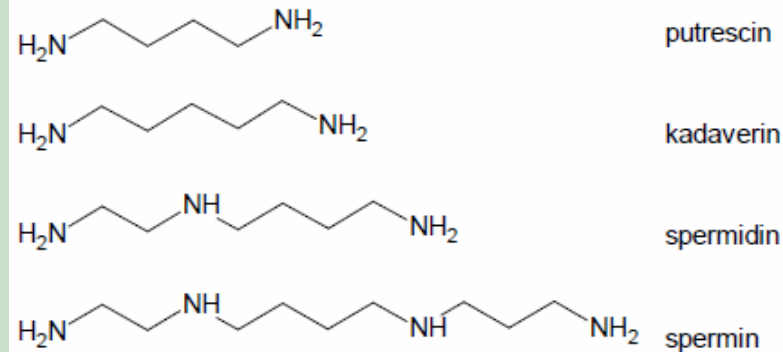
- Glutathion (GSH) je tripeptid (Glu-Cys-Gly)
- Antioxidační funkce je usnadněna sulfhydrylovou skupinou cysteinu
- Při oxidaci síra tvoří **thiyl radikál**, který reaguje s druhým oxidovaným glutathionem a tvoří sulfidovou vazbu (GSSG).
- Zabraňuje **peroxidaci lipidů**
- Jednou z hlavních funkcí je zabránění oxidace SH skupin enzymů, která by způsobila inaktivaci



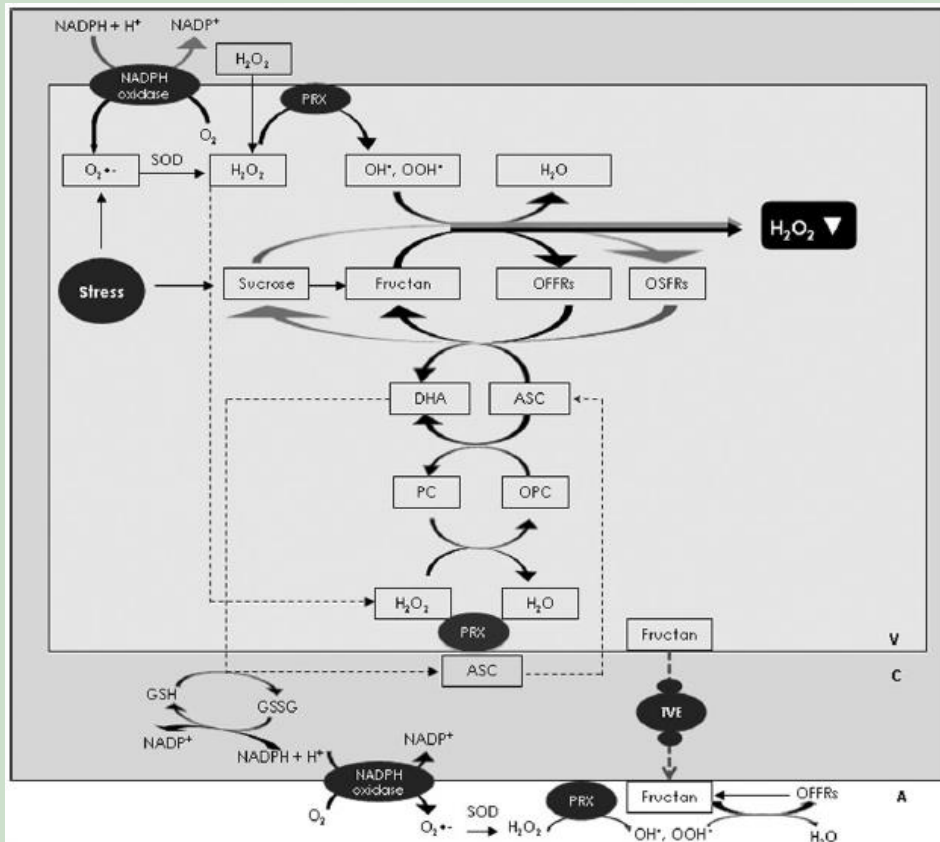
POLYAMINY



- lokalizovány zejména v cytoplasmě, ve vakuolách, mitochondriích a chloroplastech
- hrají důležitou roli v řadě vývojových procesů jako jsou růst kořenů, somatická embryogeneze, iniciace kvetení nebo vývoj květů a plodů
- rychle akumulují v rostlinách jako odezva na biotický a abiotický stres
- **konjugáty PA s kyselinou hydroxyskořicovou** jsou důležité pro jejich antioxidační aktivitu a schopnost vázat se na reaktivní formy kyslíku



- **Fruktan** - polymer fruktosy
- Rostliny ukládají zásobní energii jako fruktany □ jsou schopny prospívat i při nízkých teplotách
- Vážou se na membrány, a tím pomáhají udržovat buňky neporušené.

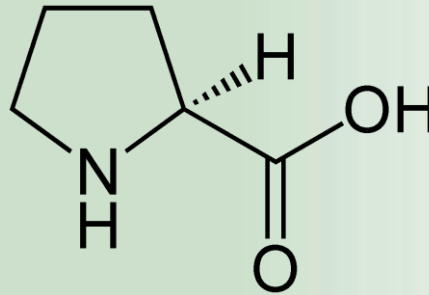


OFFRs – oxidované volné radikály fruktanu

OSFRs – oxidované volné radikály sacharosu

PROLIN

- Prolin hraje důležitou roli v rostlinách. Chrání rostliny před různými stresy a také pomáhá rostlinám rychleji se zotavit ze stresu.
- Exogenní aplikace prolinu na rostliny vystavené stresu vede ke zvýšení jejich růstu a zlepšení dalších fyziologických vlastností rostlin.
- Exogenní prolin schopen snížit ROS generovaný v rostlinách za různých biotických a abiotických stresů.
- Exogenní aplikace prolinu ovlivňuje vztahy mezi rostlinami a vodou udržováním turgidity buněk pod stresem a také zvyšuje rychlost fotosyntézy.
- Exogenní aplikace prolinu na rostliny chrání před škodlivým zářením, jako je např. UV-B.
- Nízké koncentrace exogenního prolinu chrání rostliny před salinitou, suchem a teplotním stresem.





ANORGANICKÉ LÁTKY