

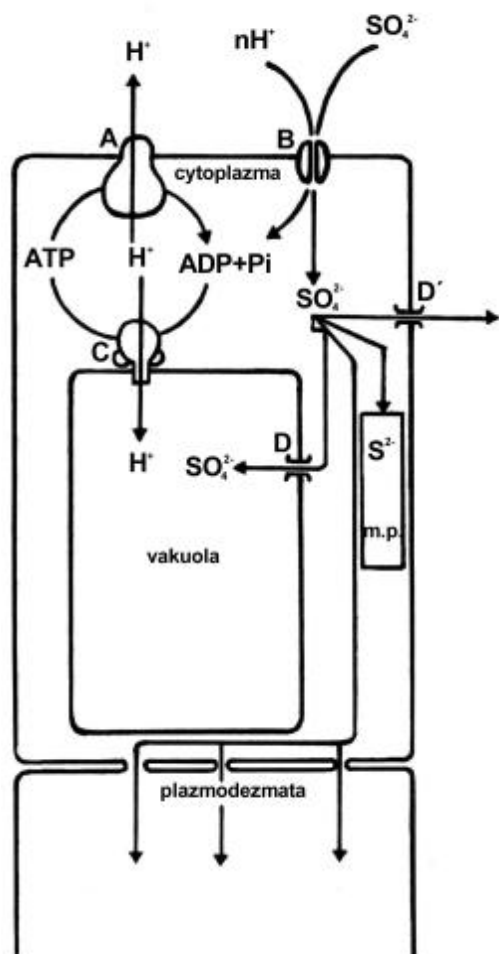
### 2.3.3 Příjem síry rostlinou

Kořeny je síra přijímána převážně ve formě aniontu  $\text{SO}_4^{2-}$ , jen nepatrné množství síry může být přijímáno ve formě nízkomolekulárních organických látek, např. cysteinu nebo methioninu (HOLOBRADÁ, 1985; MATULA, 1999a). Příjem síranů není pravděpodobně příliš citlivý na hodnotu pH. Nejvyšší intenzita příjmu je např. u fazole při pH 6,5 (HENDRIX *cit.* MENGEL, KIRKBY, 1978) a u ječmene při pH 4,0 (RICHTER *et al.*, 1997a). Interakce antagonistického charakteru byly zjištěny pouze u selenanu ( $\text{SeO}_4^{2-}$ ) (LEGGETT, EPSTEIN *cit.* MENGEL, KIRKBY, 1978; SEVERSON *et al.*, 1991; PROCHÁZKA *et al.*, 1998), které však nemají praktický význam. Na půdách s obsahem přístupné síry zvyšuje podle LOCHA (1993) aplikace dusíku u ozimé pšenice její příjem. Z pokusů DELGADA A AMACHERA (1997) vyplývá, že příjem síry pšenicí je dvoufázový a závisí především na její koncentraci v půdním roztoku a na celkovém povrchu kořenů. Kořeny rostlin jsou přitom velmi tolerantní k vysoké koncentraci síranu v půdním roztoku, až do extrémní koncentrace  $1600 \text{ mg.l}^{-1}$ , aniž by došlo k jejich poškození (MATULA, 1999a).

Vlastní příjem je aktivní, na energii závisící proces, řízen elektrochemickým gradientem protonů (ANSARI, BOWLING *cit.* MENGEL, KIRKBY, 1978; CLARKSON *et al.*, 1993; CRAM *cit.* HELL, RENNENBERG 1998). Tento gradient je generován permeázou přes symport proton/sulfát ( $3 \text{ H}^+ : 1 \text{ SO}_4^{2-}$ ) (obr. 2.14). Permeáza působí jako bílkovinný přenašeč a je lokalizovaná v cytoplazmatické membráně nebo na jejím povrchu (SMITH *cit.* DUKE, REISENAUER, 1986). V současnosti byly objeveny různé geny přenašečů sulfátů (HAWKESFORD *et al. cit.* HELL, RENNENBERG, 1998).

Obr. 2.14 **Hypotetické schéma přenosu sulfátů do kořenné buňky** (CLARKSON *et al.*, 1993)

Mechanismus závisí na hybné síle protonu vytvořené ATPázou (A) v plazmalemmě (PM). Protony jsou přenášeny společně se sulfáty permeázou (B). Malá zásoba cytoplazmatických sulfátů může být vyčerpána difúzí do vakuoly (D), jejíž řídicí silou je vnitřní pozitivní membránový potenciál vytvářený protonovou pumpou (C) tonoplastu (TP). Zásoba síranů v cytoplazmě může být odváděna také symplastickým transportem přes plazmodezmata a transportem do metabolizovaných poolů (m.p.). Odtok sulfátů přes plazmalemu probíhá zatím neznámým mechanismem D'.



Předpokládané fáze:

1. Transport přes B bude depolarizovat membránový potenciál
2. Protony vstupující přes B budou okyselovat cytoplazmu
3. Okyselení cytoplazmy bude stimulovat aktivitu A

Důležitým regulačním mechanismem příjmu sulfátů je zpětná vazba mezi jejich koncentrací v protoplastu kořenových buněk a intenzitou příjmu. PERSSON (*cit.* MARSCHNER 1995) upozorňuje na rostoucí počet specifických vazebných míst pro sírany na plazmalemě kořenových buněk u rostlin pšenice deficitních sírou a také HAWKESFORD A BELCHER (*cit.* MARCHNER 1995) popisuje nárůst polypeptidů pro tvorbu sulfátové permeázy v plazmalemě kořenových buněk s nedostatkem sulfátů. Signálem pro zpětnou vazbu regulující příjem sulfátů mohou být sulfáty uložené ve vakuolách (CRAM *cit.* MARSCHNER 1995) nebo organické sírné sloučeniny jako glutathion a cystein (CLARKSON *et al.*, 1993; HERSCHBACH *et al. cit.* HELL, RENNENBERG, 1998; RENNENBERG *et al. cit.* HELL, RENNENBERG, 1998). Další výzkumy jsou směřovány k vlivu dusíkaté výživy na příjem a transport sulfátů (KREUZWIESER *et al. cit.* HELL, RENNENBERG, 1998).

Sulfáty přijaté kořeny jsou dále alokovány do nadzemních částí, což je reprezentováno radiálním pohybem sulfátů symplastem kořene, sycením xylému a jejich transportem s transpiračním tokem. Rozhodující fází alokace sulfátů je přechod přes parenchymatické buňky xylému při jeho plnění a je přímo závislý na intenzitě jejich příjmu. Sycení xylému může být regulováno glutathionem nebo cysteinem a je také popisována výměna sulfátů mezi xylémem a floémem (SMITH *cit.* DUKE, REISENAUER, 1986; HELL, RENNENBERG, 1998).

Mimo kořenové výživy jsou rostliny schopny přijímat síru také v plynné podobě jako oxid siřičitý, což dokazují již pokusy FRIEDA (*cit.* ZELENÝ, ZELENÁ, 1996) s  $\text{SO}_2$  značeným  $^{35}\text{S}$ , a částečně také jako  $\text{H}_2\text{S}$  (MARSCHNER, 1995). Příjmem oxidu siřičitého jsou rostliny schopny pokrýt do 30 % své celkové potřeby síry (VANĚK *et al.*, 1998). Krátkodobé vystavení rostlin vysokým koncentracím ( $50 \text{ mg SO}_2 \cdot \text{m}^{-3}$ ) způsobuje depresi čisté fotosyntézy (KELLER *cit.* MARSCHNER, 1995) a dochází až k intervenálním chlorózám a nekrózám (NOGGLE *et al.*, 1986). Naproti tomu dlouhodobá expozice (např. tabáku) nízkým koncentracím  $\text{SO}_2$  ( $1,5 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$ ) má podobný vliv na růst jako při dodávce síranů kořeny (FALLER *cit.* MENGEL, KIRKBY, 1978). Na půdách s nedostatkem síry byla rostlinami ovesa a řepky přijata téměř polovina celkové síry z atmosféry (SIMÁN, JANSSON *cit.* MARSCHNER, 1995). Příjem  $\text{H}_2\text{S}$  listy úzce souvisí s mechanismem otevírání a zavírání průduchů. Již 4 nebo 5-ti hodinová expozice koncentraci 10 ppm  $\text{H}_2\text{S}$  v ovzduší může podle NOGGLEHO *et al.* (1986) zapříčinit snížení výnosu zemědělských plodin.

Nadzemní části rostlin jsou schopny přijímat také síru ve formě foliárně aplikovaných kapalných hnojiv. Přehled vybraných druhů hnojiv je uveden v kapitole 2.3.2.3. Této problematice se v poslední době věnují SCHNUG *et al.* (1998), kteří popisují nízkou výnosovou reakci na foliární aplikaci síranové síry v porovnání se sírou elementární. Tento výsledek je dáván do souvislosti s fyziologickým mechanismem chránícím rostlinu před nadměrným příjmem síranů, tzn. jejich zadržování ve vakuolách (BELL *et al. cit.* PEDERSEN *et al.*, 1998), jehož původ sahá až do ranných etap evoluce Země, kdy byla atmosféra charakterizována vysokým obsahem síry z tehdejší rozsáhlé vulkanické činnosti (NORDHOFF *cit.* PEDERSEN *et al.*, 1998).

Průchod elementární síry kutikulou je vzhledem k její cyklické struktuře S-8 (STUEDEL *cit.* PEDERSEN *et al.*, 1998) a nerozpustnosti ve vodě možný až po oxidaci na sírany (JOLIVET, 1993). Pozvolný průběh této konverze zajišťuje plynulý přísun síranů a tyto nejsou zadržovány ve vakuolách jako při nadměrném příjmu po jejich vlastní foliární aplikaci (SCHNUG *et al.*, 1998).

### 2.3.4 Úloha síry v metabolismu obilnin

#### 2.3.4.1 Asimilace síry

Vyšší rostliny a mikroorganismy využívají síru v jejím nejvyšším oxidačním čísle jako  $\text{SO}_4^{2-}$ . Vedle volných síranů, které se hromadí jako zásobní látka a mohou být dobrým ukazatelem výživného stavu rostliny (VANĚK, BALÍK, 2000), může být již tato oxidovaná forma síry vázána do organických sloučenin. Sulfátové transferázy mohou katalyzovat přímo sulfatizaci proteinů, lipidů nebo polysacharidů. Většina síry je však požadována v redukované formě  $\text{S}^{2-}$ . Při fotosyntetické redukci sulfátu dochází k transferu 8 elektronů a spotřebovaná energie dosahuje při anaerobních podmínkách téměř dvojnásobku než při redukci  $\text{NO}_3^-$  nebo  $\text{CO}_2$  (HELL, RENNENBERG, 1998). Na rozdíl od asimilace  $\text{NO}_3^-$  je však možná její zpětná reoxidace na síran (SEKIYA *et al. cit.* MARSCHNER 1995).

Podle THOMPSONA *et al.* (1986) lze vlastní asimilaci síry rozdělit do tří etap: 1. aktivace sulfátů, 2. redukce aktivovaných sulfátů a 3. zabudování redukované síry do cysteinu.

**Aktivace sulfátového iontu** pomocí adenosin trifosfátu (ATP) je základní podmínkou pro následnou redukci, popř. sulfatizaci. Tato reakce (obr. 2.15 a 2.16) je katalyzována enzymem ATP-sulfurylázou a substitucí dvou fosfátových skupin ATP sulfurylovou skupinou je při ní tvořen adenosin-5'-fosfosulfát (APS) a pyrofosfát (SCHMIDT *cit.* MARSCHNER 1995; HELL, RENNENBERG, 1998). Rozštěpením pyrofosfátu pyrofosfatázou a následnou sekundární fosforylací APS vzniká adenosin-3'-



Významná je také regulace zúčastněných enzymů výživou rostliny, konkrétně ATP-sulfurylázy (BARNEY *et al. cit.* HELL, RENNENBERG, 1998) a sulfireduktázy (SCHWENN *et al. cit.* HELL, RENNENBERG, 1998). Aktivita APS-sulfotransferázy je společně regulována dodávkou síranů a nitrátů (BRUNOLD, 1993) a také spotřebou redukované síry, zejména při působení vnějšího stresu (RENNENBERG, BRUNOLD *cit.* HELL, RENNENBERG, 1998).

#### 2.3.4.2 Metabolické funkce síry

Redukovaná síra vstupuje do buněčného metabolismu téměř výhradně ve formě **cysteinu** a teprve až následnou syntézou vzniká další sírná aminokyselina, esenciální pro monogastry, **methionin**. Obě aminokyseliny jsou prekursory dalších sírných sloučenin, jako jsou proteiny, koenzym A, biotin, mastné kyseliny, thiamin a široké spektrum sekundárních metabolitů (HELL, RENNENBERG, 1998).

Kolem 2 % organické redukované síry je v rostlině přítomno ve vodorozpustné thiolové frakci (-SH) a při běžných podmínkách tvoří více než 90 % této frakce tripeptid glutathion (DE KOK, STULEN, 1993). **Glutathion** ( $\gamma$ -glutamyl-cysteinylglycin) se účastní širokého spektra buněčných pochodů rostlin. Detailní pohled na metabolismus glutathionu a jeho funkce poskytuje BERGMANN A RENNENBERG (1993) a RENNENBERG (*cit.* HELL, RENNENBERG, 1998).

Syntéza glutathionu v rostlinách probíhá ve dvou na ATP závislých stupních. V prvním stupni je vytvářen  $\gamma$ -glutamylcystein z glutamátu a cysteinu a v druhém stupni je zabudován glycin (HELL, BERGMANN *cit.* MARSCHNER, 1995). U leguminóz je ve druhém stupni využito místo glycinu alanin a je formován strukturní homolog homoglutathion ( $\gamma$ -glutamyl-cysteinyl- $\beta$ -alanin), popř. u *Poaceae* je zabudován serin a vzniká hydroxymethylglutathion ( $\gamma$ -glutamyl-cysteinylserin) (HELL, RENNENBERG, 1998). Enzymy syntetizující glutathion a jeho homology jsou podle BERGMANNA A RENNENBERGA (1993) lokalizovány v chloroplastech a cytosolu.

Glutathion je snadno rozpustný ve vodě a je důležitým rostlinným antioxidantem, kde zejména spolu s askorbátem hraje klíčovou roli při detoxifikaci kyslíkových radikálů a  $H_2O_2$  (MARSCHNER, 1995; RENNENBERG, BRUNOLD *cit.* HELL, RENNENBERG, 1998).

Glutathion je také prekursorem **fytochelatinů**, rostlinných detoxifikátorů, jejichž syntéza je indukována přítomností těžkých kovů, zejména kadmia (GRILL *et al. cit.* SCHNUG, HANEKLAUS, 1994; TUCKENDORF, RAUSER *cit.* MARSCHNER, 1995). Tento detoxikační efekt popisují u rostlin pšenice MCMAHON A ANDERSON (1998).

Další důležitou skupinou thiolů vyšších rostlin jsou **thioredoxiny**. Jedná se o nízkomolekulární proteiny, které tvoří redoxaktivní, intermolekulární disulfidické můstky. Rostlinné buňky mají dva odlišné systémy jejich redukce, v chloroplastech systém ferredoxin/thioredoxin a v cytoplazmě systém NADP/thioredoxin (SCHÜRMAN, 1993). Thioredoxiny slouží v chloroplastech jako regulátory proteinů metabolismu uhlíku, v redukované formě aktivují fruktóza-1,6-bisfosfatázu a některé enzymy Calvinova cyklu (MARSCHNER, 1995).

Redukovaná síra tvoří stavební strukturu některých koenzymů a prostetických skupin jako je ferredoxin, biotin (vitamín H) a thiamin pyrofosfát (vitamín B<sub>1</sub>). Jako součást proteinů ovlivňuje také jejich strukturu a funkci. Tvorba reversibilních disulfidických můstků mezi dvěma sousedními zbytky cysteinu v polypeptidickém řetězci je důležitá pro terciální strukturu, a tím i funkci proteinových enzymů (THOMPSON *et al.*, 1986; HELL, RENNENBERG, 1998).

Během dehydratace rostlin se počet disulfidických můstků zvyšuje na úkor ztráty -SH skupin, což je spojeno s agregací a denaturací proteinů (TOMATI, GALI *cit.* MARSCHNER, 1995). Ochrana SH-skupin v proteinech je velice důležitá pro zajištění odolnosti proti suchu a horku či poškození mrazem (LEVITT *cit.* MARSCHNER, 1995).

Významnou skupinu sloučenin síry tvoří také produkty jejího sekundárního metabolismu, z nichž nejvýznamnější jsou alliiny a glukosinoláty (SCHNUG, 1993b).

**Alliiny** tvoří 80 % celkové síry rostlin rodu *Allium* a při poškození pletiv jsou štěpeny alliinázou za vzniku volatilních sulfidů (SENDL *cit.* HELL, RENNENBERG, 1998).

**Glukosinoláty** jsou charakteristické zejména pro *Brassicaceae* (SCHNUG, 1993b) a jsou rozlišovány na glukosinoláty alifatické odvozené z methioninu a glukosinoláty indolové vycházející z tryptofanu (HELL, RENNENBERG, 1998). Při jejich hydrolýze katalyzované myrosinázou vzniká glukóza, sulfát a těkavé látky (např. isothiokyanatany u *Brassica napus*) (CHAPPLE *et al. cit.* HELL, RENNENBERG, 1998).

Do skupiny produktů sírného metabolismu lze v neposlední řadě zařadit také fytoalexiny s antimikrobiálním účinkem a aktuální je také otázka antikarcinogenního působení sulforafanu, fenethyl isothiokyanatanu, diallylsulfidů, popř. dithiothionů a dalších (HELL, RENNEBERG, 1998).

#### 2.3.4.3 Výživný stav rostlin sírou

Při optimálním růstu a vývoji rostlin se celkový obsah síry v sušině pohybuje mezi 0,1 až 0,5 % v závislosti na rostlinném druhu (MARSCHNER, 1995; MATULA, 1999a; FECENKO, LOŽEK, 2000). HANEKLAUS *et al.* (1995a) udávají poměr její koncentrace ve fotosynteticky aktivních pletivech obilnin, cukrovky, cibule a řepky 1:1,5:2:3.

Kritická hodnota pro celkový obsah síry v sušině obilnin spojená s vizuálními symptomy deficitu je podle SCHNUGA A HANEKLAUSOVÉ (1998) 0,12 %. MATULA (1999a) uvádí pro mladé listy pšenice ozimé optimální koncentraci 0,2 % síry v sušině a stejná hodnota je uváděna jako hraniční pro pšenice Anglie na počátku kvetení (MCGRATH, ZHAO, 1996). Naopak nejvyšších výnosů lze podle FLOHROVÉ (2000) a také BLOEMA *et al.* (2000) dosáhnout, pokud její celkový obsah činí nejméně 0,4 % v sušině.

Pro diagnostiku výživného stavu rostlin sírou lze kromě celkového obsahu síry v rostlinách využít také obsah síranů, podíl síranů na celkové síře, poměr síry k dusíku, popř. některé další indikátory.

Podle řady starších prací (SPENCER, FRENEY, 1980; FRENEY *et al.*, 1982; MAYNARD *et al.*, 1983; SCOTT, 1985) je nejvhodnějším diagnostickým kritériem obsah síranové síry, která je uváděna jako hlavní transportní a zásobní forma síry v rostlinách. Tuto funkci splňuje také glutathion, a proto se jeho využitím jako diagnostického parametru zabývali ZHAO *et al.* (*cit.* SCHNUG, HANEKLAUS, 1998). Nevýhodou těchto ukazatelů je zejména jejich možné ovlivnění krátkodobými fyziologickými změnami a naopak výhodou lze spatřovat v rychlosti jejich stanovení (SCHNUG, HANEKLAUS, 1998), kdy se vzorek nemineralizuje, ale pouze extrahuje vodou (MATULA, 2001b). Využití obsahu síranů jako diagnostického kritéria předpokládá jejich citlivou reakci na úroveň výživy sírou podobně jako u nitrátů při dusíkaté výživě. Podle MATULY (2001b) se však tato paralela u plodin náročnějších na síru zcela nepotvrzuje, protože hladina síranů je zde podstatně vyšší a značná část může být inaktivována ve vakuolách.

Často používaným kritériem výživného stavu rostlin sírou je také poměr síry k dusíku, který je méně závislý na fenofázi porostu. Zastoupení síry v bílkovinách je poměrně stabilní, na 1 atom síry připadá 34-36 atomů dusíku. V hmotnostním vyjádření se poměr N:S pohybuje v rozmezí 14,87-15,75:1 a hodnoty nad 20:1 jsou považovány za indikátory deficitní výživy plodin sírou (MATULA, 1999a, 2001b). Jako optimální poměr N:S pro pšenici uvádí MATULA (1999a) hodnotu 15,1 a hranici deficitu je podle MCGRATHA *et al.* (1993) poměr 17:1. Vzhledem k tomu, že pro zjišťování poměru N:S se neanalyzují pouze bílkoviny rostlin, ale stanovuje se celkový obsah dusíku a síry, může dojít u některých rostlin k podobnému zkreslení jako u indikace pomocí síranů (viz výše).

Jako další kritérium pro posuzování úrovně sírné výživy rostlin lze využít obsah síry extrahované z rostlin pomocí směsi kyselin dle SINCLAIRA (1974). Na více než 500 vzorcích rostlin z provozních ploch řepky a obilnin zjistil SCHNUG (1988) velice těsnou korelaci mezi obsahem síry rozpustné v Sinclairově roztoku a obsahem celkové síry ( $r = 0,915$ ). Síra vyluhovaná tímto roztokem je snadno stanovitelná metodou ICP-AES a může být alternativou pro metody stanovení celkové síry.

Vývojem univerzálnějšího diagnostického kritéria pro řepku a pšenici s nižší závislostí na fenofázi rostlin se zabývají v současnosti BLAKE-KALFF *et al.* (2000, 2001). Podstata jejich návrhu spočívá ve funkci síranů při acidobazické regulaci rostliny, kdy při vyšší intenzitě výživy rostlin sírou přebírají sírany funkci jablečnanu. Kritériem úrovně výživného stavu sírou je potom poměr jablečnan : síran zjištěný podle jejich peaků z iontového chromatografu. Poměr  $\leq 1$  indukuje dostatečnou úroveň výživy sírou a poměr  $> 1$  deficit.

Při nedostatku síry je podobně jako u dusíku potlačován více růst nadzemních částí než kořenů (EDELBAUER *cit.* MARSCHNER, 1995), klesá hydraulická vodivost v kořenech, zmenšují se průduchové štěrby a klesá hodnota čisté fotosyntézy (KARMOKER *et al. cit.* MARSCHNER, 1995). Charakteristickým rysem deficitu síry je náhlý pokles obsahu chlorofylu (DIETZ *cit.* MARSCHNER, 1995) a syntézy proteinů, včetně enzymů (např. nitrátoreduktázy), což vede k hromadění nebilkovinových organických dusíkatých látek a nitrátů (DUKE, REISENAUER, 1986; MARSCHNER, 1995; RICHTER *et al.*, 1997a; VANĚK *et al.*, 1998; MATULA, 1999a). U rostlin deficitních sírou neklesá pouze obsah proteinů, ale také obsah síry v proteinech, tzn. že jsou syntetizovány proteiny s vyšším podílem argininu, aspartátu (WRIGLEY *et al. cit.* MARSCHNER, 1995) a glutaminu (MORTENSEN, ERIKSEN, 1994) oproti

methioninu a cysteinu (MORTENSEN *et al.*, 1992). V zrna deficitní pšenice je redukován obsah albuminů a část gliadinové frakce (LEHANE, 1981).

**Obr. 2.17 Vizuální symptomy nedostatku síry u pšenice ozimé**

- a, b - zakrnělý růst a žloutnutí mladých listů rostlin pšenice ozimé ([www.pb.fal.de](http://www.pb.fal.de))  
c - žloutnutí špiček mladších listů (MATULA, 1999a)  
d - redukce počtu zrn v klase ([www.pb.fal.de](http://www.pb.fal.de))



Typickým vizuálním příznakem nedostatku síry na rostlinách je žloutnutí listů, které začíná od vrcholu a při trvalejším nedostatku přechází i na spodní listy. Symptomy deficiencie síry jsou podobné jako u dusíku, ovšem počáteční příznaky jsou vždy lokalizovány na vrcholové části rostlin – viz obr. 2.17c (DUKE, REISENAUER, 1986; RICHTER *et al.*, 1997a; VANĚK *et al.*, 1998; MATULA, 1999a; VANĚK, BALÍK, 2000). U obilnin jsou symptomy nedostatku méně specifické než u dvouděložných plodin. V raných růstových fázích zůstávají rostliny menší, zakrnělé, vykazují světlejší zbarvení, viz obr. 2.17a,b, (VOSS *cit.* SCHNUG, HANEKLAUS, 1998) a později bývá pozorována všeobecná chloróza charakterizovaná světlými proužky mezi žilnatinou (BLOEM *et al.*, 1995). U obilnin je podle GEISLERA (*cit.* SCHNUG, HANEKLAUS, 1998) morfogenetický vliv síry úzce spjat s dusíkem. Nedostatek síry může snižovat využití dusíku (TANDON, 1992; SCHNUG, 1993a) a deficitní rostliny vykazují méně odnoží (RASMUSSEN *et al.*, 1977) a redukován počet zrn v klase - viz obr. 2.17d (HANEKLAUS *et al.*, 1995b). První příznaky deficiencie síry na pšenici byly podle PEDERSENA (*cit.* SCHNUG, 1991) pozorovány v roce 1989.

---

autor textu: Ing. Pavel Ryant, Ph.D.