

Univerzita Hradec Králové

Přírodovědecká fakulta

Katedra biologie

Vliv UV-B záření na hospodářsky významné rostliny

Bakalářská práce

Autor: Tereza Hurdálková
Studijní program: B 1501 Biologie
Studijní obor: Systematická biologie a ekologie
Vedoucí práce: RNDr. Zuzana Kovalíková, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že jsem v seznamu použité literatury uvedla všechny prameny, z kterých jsem vycházela.

V Hradci Králové dne

Tereza Hurdálková

PODĚKOVÁNÍ

Chtěla bych poděkovat RNDr. Zuzaně Kovalíkové, Ph.D. za poskytnutí velkého množství literárních zdrojů a za odborné rady a konzultace, které vedly ke zdárnému dokončení mé bakalářské práce.

ANOTACE

Hurdálková T. (2019): Vliv UV-B záření na hospodářsky významné rostliny, Hradec Králové. Bakalářská práce na Přírodovědecké fakultě Univerzity Hradec Králové. Vedoucí bakalářské práce Zuzana Kovalíková. 54 s.

Bakalářská práce se zabývá vlivem UV-B záření na rostliny. Cílem práce bylo zpracovat rešerši z dostupných zdrojů o UV-B záření jako environmentálním faktoru, který kvůli své vysoké energii ovlivňuje anatomické, morfologické, fyziologické i biochemické procesy v rostlinách, a spolu s dalšími faktory způsobuje jejich stres.

Vliv zvýšeného UV-B záření se začal podrobněji studovat po roce 1980, kdy došlo k objevu ozonových děr, v důsledku kterých, se zvýšil dopad UV-B záření na povrch země. Existuje mnoho studií, které se touto problematikou zabývají, v jejichž závěrech je uvedeno velké množství negativních dopadů UV-B na jednotlivé struktury a procesy rostlin. Avšak tyto studie jsou většinou prováděny v podmínkách příliš vysoké hladiny UV-B, která v přírodním prostředí nikdy nemůže nastat. Navíc mají rostliny spoustu adaptačních mechanismů, kterými poškození z ozáření UV-B dokáží eliminovat. Proto se v poslední době výzkum vlivu UV-B záření zaměřuje spíše na regulační mechanismy, vyvolané nízkými, chronickými dávkami a zprostředkované UVR8 fotoreceptorem. Středem zájmu je v tomto ohledu studium zvýšené akumulace sekundárních metabolitů s antioxidačními účinky, které jsou prospěšné nejen jako ochrana rostlin proti UV-B záření, ale po podrobnější studii by mohly být využity ve farmacii nebo nutraceutikách.

Klíčová slova

UV-B, stres, ROS, antioxidanty, hospodářské rostliny

ANNOTATION

Hurdálková T. (2019): Influence of UV-B radiation on economically significant plants, Hradec Králové. Bachelor thesis at Faculty of Science University of Hradec Králové. Thesis Supervisor Zuzana Kovalíková. 54 p.

Bachelor thesis is focused on the influence of UV-B radiation on plants. The aim of this work was write a search from existing literature based on UV-B radiation as an environmental factor, which due to its high energy affects anatomical, morphological, physiological and biochemical processes in plants.

After 1980, the effect of increased UV-B radiation began to be studied more in detail, due to formation of ozone layer. Reduces in ozone layer allows UV-B radiation to reach the earth surface in large quantities. There are many studies that deal with this issue. Concludes of these works usually contain large number of negative effects of UV-B on plant structures and processes. However, these studies are mostly conducted under conditions, which can never occur in the realistic environment. In addition, plants have a lot of adaptation mechanisms to eliminate damage from UV-B irradiation. Therefore, recent research of the influence of UV-B radiation has focused on the regulatory mechanisms induced by low, chronic doses and mediated by the UVR8 photoreceptor.

The great attention is paid to the study of increasing accumulation of secondary metabolites. These metabolites usually play an important role in defence against UV-B or acts as antioxidants of reactive oxygen species. Scientists are still trying to find a way, how to use these antioxidants in pharmacy or nutraceuticals.

Key words

UV-B, stress, ROS, antioxidant, crops

Obsah

Úvod a cíl práce	7
1 Stres ve fyziologii rostlin.....	9
2 UV-záření	11
2.1 UV-B záření	11
2.2 Vnímání signálu UV-B záření.....	12
3 UV-B stres	14
3.1 Vliv UV-B záření na biomolekuly.....	16
3.1.1 DNA.....	16
3.1.2 Aminokyseliny.....	17
3.1.3 Proteiny	17
3.1.4 Lipidy.....	18
3.1.5 Regulátory rostlinného růstu.....	19
3.2 Vliv UV-B záření na morfologii rostlin.....	19
3.3 Vliv UV-B záření na fyziologii rostlin.....	22
3.3.1 Vliv na fotosyntézu	22
3.3.2 Oxidační stres a reaktivní formy kyslíku (ROS).....	25
Lokalizace vzniku ROS.....	28
Mechanismus vzniku reaktivních forem kyslíku.....	29
Účinky jednotlivých ROS.....	30
Mechanismy vychytávání ROS	32
Antioxidační látky.....	33
3.4 Ochrana rostlin vůči UV-B.....	36
3.5 Vliv UV-B záření na hospodářsky významné plodiny.....	38
Závěr	42
Seznam použité literatury	44
Přílohy	49

Úvod a cíl práce

Rostliny jsou nepohyblivé autotrofní organismy. Jejich růst a vývoj je kromě dalších environmentálních faktorů, závislí na množství a kvalitě elektromagnetického záření, které jim poskytuje energii pro tvorbu asimilátů. Elektromagnetické záření se skládá z viditelného světla, infračerveného záření a ultrafialového záření. Bakalářská práce je zaměřena na ultrafialové záření typu B a popisuje jeho vliv na rostliny. Vliv UV-B záření na rostliny se začal studovat přibližně v 80. letech 20. století. V této době vědci zjistili, že se následkem vypouštění oxidu dusíku a freonů, degraduje ozonová vrstva ve stratosféře. Ozonová vrstva je ve výšce asi 30 km nad zemí a její úlohou je zmírnit UV záření, které na planetu dopadá. UV-B záření je zachycováno ozonovou vrstvou jenom z části, určité množství tedy proniká na zemský povrch. Zde kvůli své vysoké energii negativně působí na biomolekuly nebo celé buňky a způsobuje změny v jejich struktuře. Vědci se v důsledku vzniku ozonových děr snaží zjistit, jaké následky má zvýšené UV-B záření na rostliny. Často je výzkum zaměřen na zemědělsky významné plodiny, jejichž případné poškození UV-B zářením, by mohlo mít negativní dopad na celkovou produktivitu a kvalitu.

Výzkumy nejčastěji hodnotí efekt UV-B záření na vizuální symptomy, ultrastrukturu a anatomii listů, fotosyntetické pigmenty, UV-B absorbující složky, fotosyntézu, růst a vývoj a výtěžek rostlin. Tyto studie se od sebe liší v dávce UV-B, délce ozáření, vývojové fázi rostlin, druhu rostlin, lokalizaci a experimentálních podmínkách. Studie se provádí v kontrolovaných podmínkách v růstových komorách, sklenících, otevřených komorách nebo přímo v polních podmínkách. Dávky se liší od 0 kJ m^{-2} – 49 kJ m^{-2} za den a délka trvání expozice je od několika dní po celou vegetační sezónu. Studovaná stadia zahrnují sazeničky, vegetativní stádium, reproduktivní stádium i dospělé (maturity) stádium.

V posledních letech jsou v zájmu výzkumu sekundární metabolity rostlin, které se hromadí v rostlinných tkáních po ozáření UV-B. K těmto metabolitům patří i flavonoidy a tokoferoly, které mají antioxidační účinky. Vědci se proto snaží zjistit, zda je vyšší akumulace těchto látek v rostlinách aklimatizujících se na stres z ozáření, z nutričních a farmaceutických hledisek pro člověka přínosná.

Cílem této práce bylo sepsat literární rešerši o vlivu UV-B záření na rostliny. První kapitoly se věnují popisu, jak se rostliny dostanou do stresu a jaké si vyvinuly adaptace, které jim pomáhají se na stres aklimatizovat. Následně je řešeno UV-B záření jako environmentální faktor, který vyvolává změny v rostlině na morfologické, anatomické, buněčné i molekulární úrovni. Podrobněji je sepsán vliv UV-B záření na fyziologii rostlin, především na fotosyntézu a vznik reaktivních forem kyslíku, které způsobují oxidativní stres. S tím

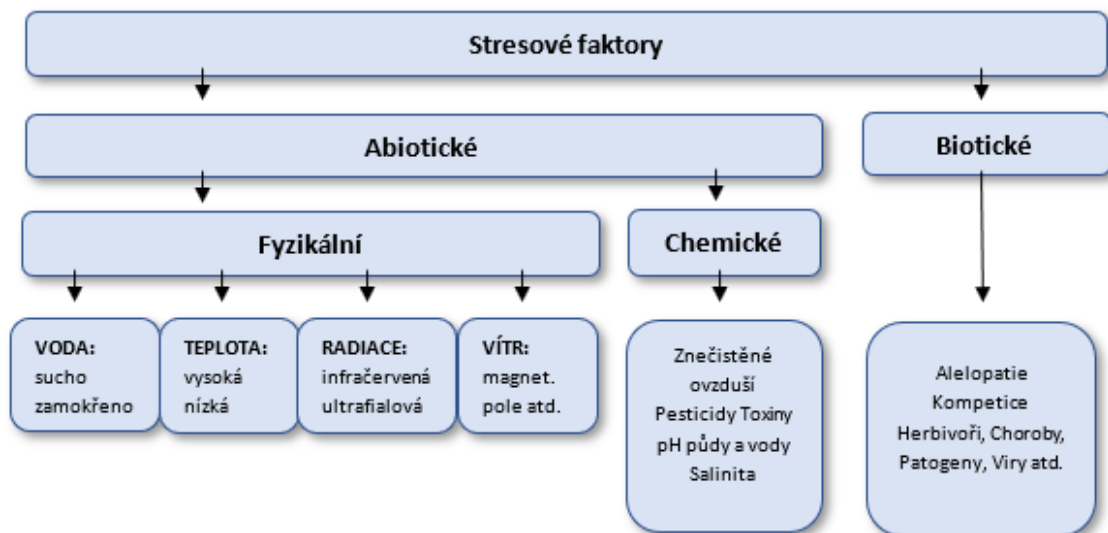
souvisí i výpis vybraných antioxidačních látek, které proti oxidativnímu stresu bojují. V neposlední řadě je uveden způsob obrany rostlin proti nadměrnému ozáření UV-B. V poslední kapitole se bakalářská práce věnuje vlivu UV-B záření na hospodářsky významné rostliny z hlediska negativní i pozitivní stránky.

1 Stres ve fyziologii rostlin

Pokud je rostlina dlouhodobě vystavena extrémním faktorům, může se dostat do stavu tzv. stresu. Existuje mnoho definic pro pojem stres. Z biologického hlediska se stres definuje jako abiotický a biotický faktor, který zabraňuje rostlině v její normální funkci (SLOVÁKOVÁ et MISTRİK 2007). Může mít konstruktivní nebo destruktivní efekt a může působit vratně nebo nevratně. Eustres, neboli dobrý, konstruktivní stres působí na rostlinný vývoj pozitivně a stojí za aklimatizací rostliny na nové prostředí. Pokud je však rostlina vystavena dlouhodobě negativním podmínkám, které na rostlinu působí destruktivně, nastává tzv. distres. Ten má za následek redukci růstu a reprodukce, ale v hraničním případě může způsobit i smrt celého organismu (SLOVÁKOVÁ et MISTRİK 2007). Rovnováha mezi eustresem a distresem nezáleží pouze na jednom faktoru, ale roli hrají i ostatní faktory, které v daný čas na rostlinu působí (HIDEĞ 2013).

Rostliny, které nemohou opustit stresové prostředí, si během evoluce vyvinuly soubor adaptací na měnící se podmínky okolí. Aby se rostlina mohla adaptovat, musí u ní dojít ke třem za sebou jdoucím operacím: vnímání stresu, přenos stresových signálů a výsledná reakce. Pokud dojde k těmto třem procesům, je rostlina schopna zareagovat vyvoláním specifických změn na různých úrovních, a tak se adaptovat. Tyto adaptační změny se projeví v morfologické struktuře, ve fyziologii – modifikací biochemických procesů a expresí stresově-specifických genů (SLOVÁKOVÁ et MISTRİK 2007).

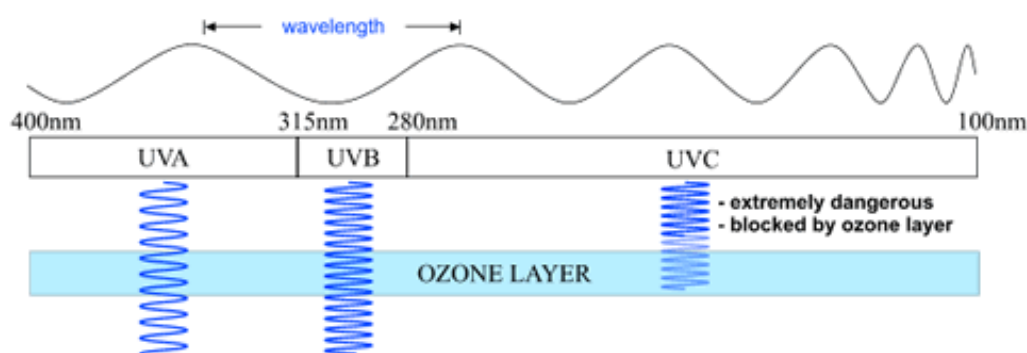
Dle původu můžeme stresové faktory dělit na abiotické a biotické (Obr. 1). Mezi biotické faktory řadíme například živočišné škůdce (hmyz, býložravci), patogeny (bakterie, houby, viry), nebo kompetici (vnitrodruhová, mezidruhová). Abiotický stres vychází z prostředí a může být fyzikální nebo chemický. Abiotické faktory ovlivňující rostlinu jsou například teplota, množství přijaté vody, vítr, chemizmus půdy nebo záření (SLOVÁKOVÁ et MISTRİK 2007).



Obr. 1: Rozdělení stresových faktorů

2 UV-záření

Ultrafialové záření se v elektromagnetickém spektru nachází mezi rentgenovým zářením a viditelným světlem. Můžeme ho dále, dle vlnové délky, rozdělit na typy UV-A, UV-B a UV-C (viz obr. 2.) Nejkratší vlnovou délku má UV-C záření (100–200 nm), které je extrémně nebezpečné pro živé organismy, ale je kompletně pohlceno atmosférickým kyslíkem a ozonem (MADRONICH et al. 1998). HEIJDE et ULM (2012) uvádí, že absorpční koeficient ozonu rapidně klesá s vlnovými délkami většími než 280 nm a dosahuje nuly při vlnové délce 300 nm, proto je UV-B záření o vlnové délce 280–320 nm částečně pohlcováno stratosférickým ozónem a částečně dopadá na zemský povrch. UV-A záření o nejdelší vlnové délce (320–400 nm) není pohlcováno ozonovou vrstvou a představuje 6,3 % slunečního záření, které dopadá na zemský povrch (HOLLOSY 2002).



Obr. 2: Typy UV záření a jejich prostupnost ozonem (zdroj: www.arpansa.gov.au)

2.1 UV-B záření

UV-B záření představuje méně než 0,5 % celkové sluneční energie dopadající na zemský povrch. Od roku 1980 se UV-B záření dosahující zemského povrchu zvýšilo o 6–14 % a to především kvůli vypouštění chlorofluorokarbonů a oxidů dusíku do stratosféry. Tyto chemické látky začaly měnit chemismus ozonové vrstvy, a ta se postupně ztenčovala. Na některých místech dokonce došlo ke vzniku ozonových děr (WANG et al. 2010). Je všeobecně známo, že UV-B záření na zemském povrchu ovlivňuje mnoho chemických a biologických dějů. U lidí způsobuje například rakovinu kůže nebo oční problémy (HEIJDE et ULM 2012). Na rozdíl od lidí, jsou rostliny světlu vystavené po celou dobu své existence, protože je pro ně životně důležité. Sluneční záření je pro rostliny nejen zdrojem tepla, ale také zdrojem energie potřebné pro fotosyntézu (SLOVÁKOVÁ et MISTRÍK 2007). UV-B záření má vysokou energii, která je schopna narušovat nebo rozkládat důležité

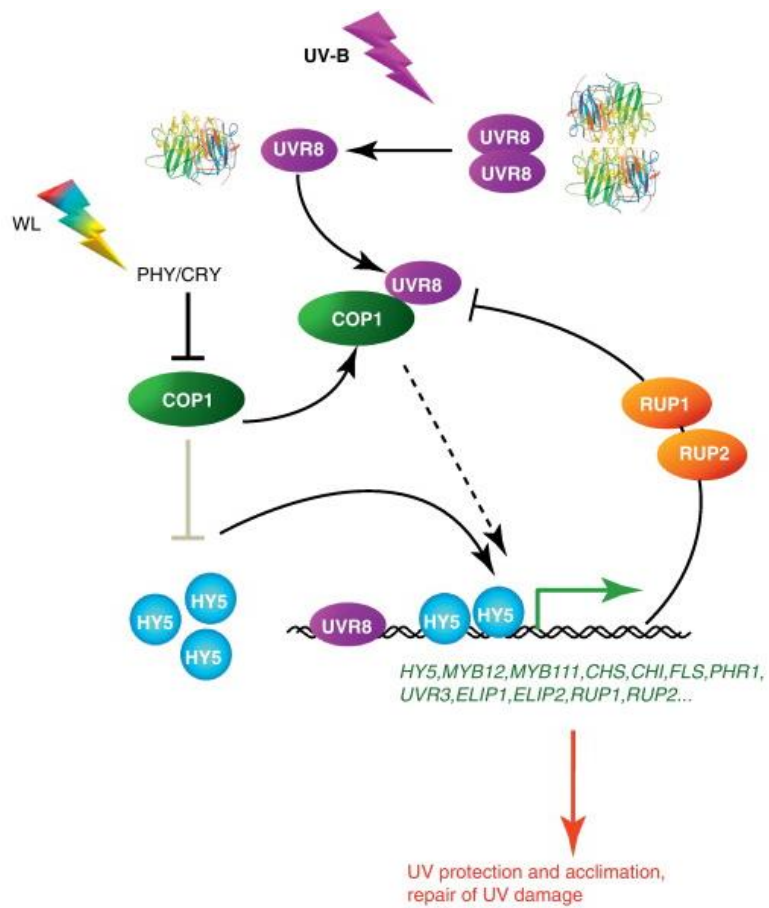
organické látky a struktury v organismech jako jsou bílkoviny, lipidy, membrány nebo DNA. Ovlivňuje rostlinný vývoj, růst rostlinných orgánů i změny ve fotosyntéze. Způsobuje tvorbu reaktivních forem kyslíků (ROS) a vyvolává oxidační a UV-B stres (BROWN et al. 2005). Avšak HIDEG (2013) ve své publikaci uvádí, že produkty ROS, změny v DNA a poškození membrán, hrají důležitou roli i ve zprostředkování ochrany proti UV-B záření.

2.2 Vnímání signálu UV-B záření

UVR8 (UV RESISTANCE LOCUS 8)

Rostliny zachycují záření přinejmenším pěti typy senzoričkových fotoreceptorů, které umožňují přesně vnímat světelné prostředí a vyvolat reakce, které optimalizují fotosyntézu a zabraňují poškození. Modré světlo detekují kryptochromy, fototropiny a zeaxantiny, a červené světlo je zachytáváno fytochromy (HEIJDE et ULM 2012). V posledních deseti letech je středem pozornosti fotoreceptor UVR8, který zachytává UV-B záření a je zodpovědný za fotomorfologickou odpověď (RIZZINI et al. 2011).

UVR8 fotoreceptor byl nalezen v pletivu mutantní rostliny rodu huseníček (*Arabidopsis*), která byla přecitlivělá na světlo (KATARIA 2014). UVR8 je unikátní tím, že používá k absorpci světla specifické tryptofany namísto chromoforů (ULM et JENKINS 2015). V neaktivním stavu je protein UVR8 přítomný v rostlinách jako homodimer a během několika sekund po ozáření UV-B monomerizuje. V cytoplazmě se spojí s E3 ubikvitin ligázou COP1 a proniká do jádra buňky. V jádře se akumuluje a poté zprostředkovává aktivaci genové exprese transkripčního faktoru HY5 (HEIJDE et ULM 2012). Výsledkem je exprese souboru genů, které brání potencionálnímu poškození způsobené UV-B zářením, včetně genů kódujících enzymy biosyntézy flavonoidů, enzymů pro opravu DNA a také proteinů podílejících se na zmírnění oxidačního stresu (KATARIA 2014). Proteiny RUP1 a RUP2, které jsou také indukované signalizací UVR8, narušují interakci UVR8 – COP1 a podporují re-dimerizaci UVR8. Celý proces je znázorněn na obr. 2 (HEIJDE et ULM 2012). UVR8 byl identifikován ve všech rostlinách, u kterých jsou k dispozici sekvenční informace, včetně jednobuněčných zelených řas. Zdá se, že je to evolučně starý mechanismus, který souvisí s úlohou fotosyntetických organismů. UVR8 mohl být skutečně důležitý na počátku vývoje fotosyntetických organismů, které se potřebovaly vyrovnat s vysokými dávkami UV-B (ULM et JENKINS 2015).



Obr. 3: Model signalizace zprostředkované UVR8; (HEIJDE et ULM 2002)

3 UV-B stres

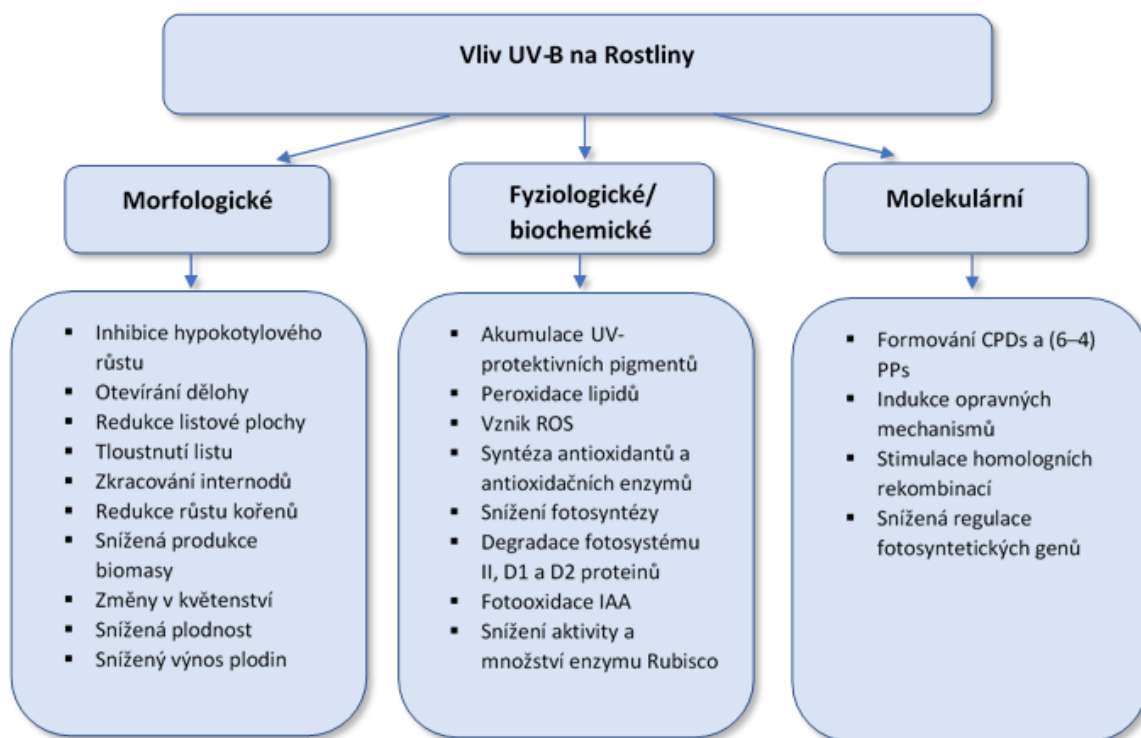
Světlo zahrnující UV-B záření je jeden z nejvýznamnějších environmentálních faktorů, který kontroluje rostlinný růst a vývoj (JORDAN 2002). Rostliny jsou schopny rozpoznat délku trvání světla, jeho intenzitu, vlnovou délku nebo směr, což je důležité pro fotoperiodicitu, fototropismus a fotomorfologii. Fotomorfologie je termín, který se často používá k popisu světlem indukovaných, signalizačních kaskád, které spouštějí široký rozsah odpovědí na molekulární, buněčné a organizační úrovni. Fotomorfologie se také používá k prozkoumání morfologických odpovědí rostlin, pěstovaných v různých podmínkách UV-B záření (ROBSON et al. 2015).

Rostliny, které jsou neustále vystaveny slunečnímu záření, si vytvořily mechanismy, které jim pomáhají předcházet nebo bojovat se stresem z nadměrného slunečního ozáření. Mechanismy odolnosti stresu dělíme do dvou kategorií. První mechanismus se snaží, aby rostlina byla co nejméně vystavena stresu („avoidance mechanismus“). Mezi tento způsob obrany patří mechanická bariéra rostlin, jako je silná kutikula na listech, rezervoáry vody, impregnace buněčných stěn nebo vznik řady organických látek. Má převážně dlouhodobý a pasivní charakter. Druhou skupinou obranných mechanismů je tzv. aktivní obrana, která snižuje negativní dopad stresorů teprve, až po jejich proniknutí do buňky. Průběh následné stresové reakce závisí na mnoha faktorech jako například intenzita a délka působení stresového faktoru nebo na vitalitě, genotypu a adaptačních schopnostech rostliny (PITERKOVÁ et al. 2005).

Reakce rostlin na UV-B záření se liší při vysokých a nízkých dávkách. Nízká hladina UV-B záření vyvolává obranné fotomorfogenetické reakce, charakteristické inhibicí růstu hypokotylu, expanzí růstu kotyledonu, otevřením průduch a regulací expresi genů, zodpovědných za ochranu proti UV-B (KATARIA 2014). Jedna z hlavních reakcí, která řídí ochranu před UV-B zářením, je biosyntéza UV absorbujících látek jako jsou sekundární metabolity, především fenolické látky, flavonoidy a estery hydroxyskořicových kyselin, které se akumulují ve vakuolách epidermálních buněk, a snižují pronikání UV-B záření do hlubších vrstev pletiv (HANNS et STAIGER 2003). Tyto reakce jsou zprostředkovány výše charakterizovaným fotoreceptorem (UVR8) a jsou nutné pro aklimatizaci rostlin na UV-B stres (KATARIA 2014).

Vysoké hladiny UV-B záření vyvolávají vznik ROS a hormonů (kyselina salicylová a kyselina jasmonová), poškození DNA a zhoršení buněčných procesů. Tyto typy odpovědí jsou zprostředkovány signálními cestami, které nejsou specifické pro UV-B, protože mnoho z odpovědných genů může být regulováno i jinými stresy, jako je obrana proti

patogenům nebo zranění rostliny. Reaktivní formy kyslíku, vzniklé při vysokých dávkách ozáření, vyvolávají oxidaci lipidů a proteinů, poškození DNA a zvýšenou peroxidaci lipidů. Dále způsobují produkci některých antioxidantů (kyseliny askorbové a α -tokoferolu) a antioxidantních enzymů, jako jsou superoxid dismutáza, askorbát peroxidáza, glutathion reductáza a guaiacol peroxidáza (obr. 4). Ukázalo se, že obě dráhy jsou na sobě nezávislé, ale obě jsou důležité pro rostliny, aby dosáhly plné UV-B tolerance (KATARIA 2014).

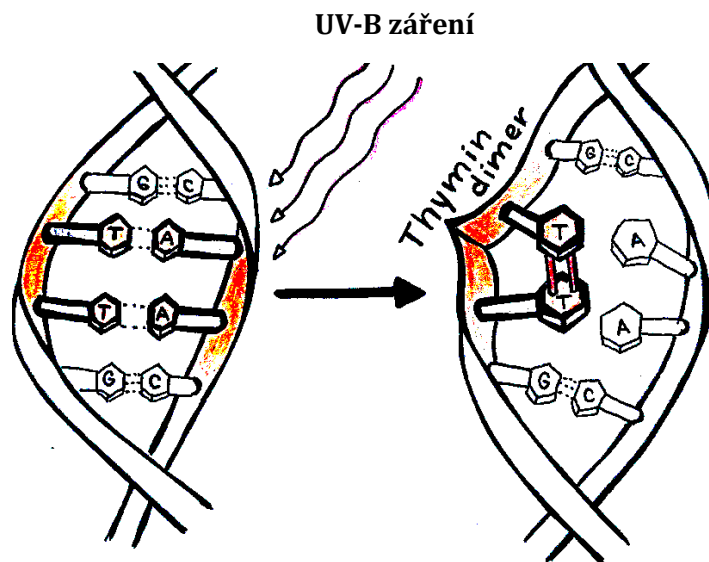


Obr. 4: UV-B indukované morfologické, fyziologické, biochemické a molekulární změny v rostlinách; převzato a upraveno dle Kataria (2014).

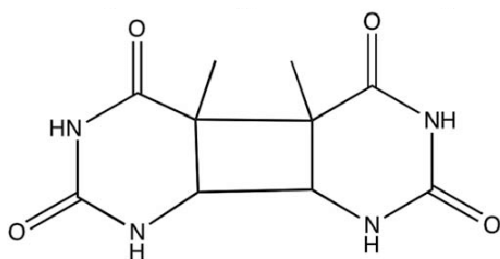
3.1 Vliv UV-B záření na biomolekuly

3.1.1 DNA

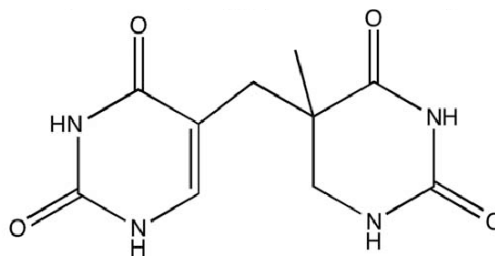
Vysoké hladiny UV-B záření ovlivňují buněčné struktury. Jedním z hlavních cílů UV-B záření v buňce je deoxyribonukleová kyselina. Absorpce UV-B záření vyvolává přerušování řetězce DNA, delecí nebo insercí párových bází, ale především fototransformaci (MACKERNESS 2000). Fototransformace způsobuje vznik dimerů, jako jsou cyklobutanové pyrimidinové dimery a pyrimidin (6-4) pyrimidinové dimery (6-4 PP). Cyklobutanové pyrimidinové dimery jsou změny na molekulární úrovni thyminových nebo cytosinových bází v DNA (viz. obr. 5 a 6). Pyrimidin (6-4) pyrimidinové dimery vznikají spojením dvou thyminových bází přes C6 jedné thyminové báze a C4 další thyminové báze, jak je znázorněno na obrázku 7. Polymerázy nejsou tyto fotoprodukty schopny číst, a proto zásadně ovlivňují proces replikace a transkripce, a tím i život celého organismu (SLOVÁKOVÁ et MISTRÍK 2007). Rostliny se musí vyrovnávat s tímto problémem opravnými mechanismy, jako jsou vyřezávání, rekombinace genů nebo fotoreaktivace. Fotoreaktivace je proces, který umožňuje zpětnou monomerizaci pyrimidinových dimerů. Tento proces je enzymatický a využívá energii UV-A a modrého světla k narušení vazeb mezi cyklobutanovými kruhy, čímž obnovuje porušené báze (HOLLOSY 2002).



Obr. 5: Vznik Thymin dimeru po ozáření UV-B.



Obr. 6: Cyklobutan pyrimidin dimer (CPD);
(CHATTERJEE et WALKER 2017).



Obr. 7: Pyrimidine 6-4 pyrimidin dimer (6-4 PP);
(CHATTERJEE et WALKER 2017).

3.1.2 Aminokyseliny

Další strukturou podléhající změně při absorpci UV-B záření jsou aminokyseliny. Nejvíce podléhají aminokyseliny s aromatickými jádry, mezi které patří fenylalanin, tryptofan a tyrosin. Tyrosin podléhá fotooxidaci, při které vzniká 4,4 dihydroxyfenylalanin a dityrosin. Tryptofan může být excitován buď přímo UV zářením, nebo energií převzatou od sousedních aminokyselin – tyrosinu nebo fenylalaninu. Tyto fotochemické změny tryptofanu mohou způsobit vznik N-formyl kinureninu, který po absorpci UV-A záření může reagovat s nukleovými kyselinami. Další aminokyseliny, které podléhají změnám při ozáření UV-B jsou histidin, cystein a cystin. Cystein je velmi chudým absorbentem UV-B záření, ale podléhá UV-indukované fotolýze při vysoké kvantové účinnosti. Disulfidová skupina cystinu může být UV-B zářením spojena do reaktivní sulfhydrylové skupiny. Disulfidové můstky jsou důležité pro terciální strukturu mnoha proteinů a vliv UV-B na tyto vazby může velmi silně ovlivňovat proteinovou strukturu a funkci (HOLLOSY 2002).

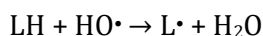
3.1.3 Proteiny

UV-B záření nepůsobí destruktivně pouze u aminokyselin, ale působí změny i v celých proteinech a enzymech. Jak již bylo zmíněno, proteiny podléhají destrukci přímo při UV fotolýze aromatických aminokyselin nebo vznikem reaktivní sulfhydrylové skupiny u cystinu. Je ale také potřeba zmínit, že UV záření může být absorbováno i proteinovým matrixem, a prostřednictvím migrační energie může působit škody daleko od centra absorpce. HOLLOSY (2002) ve své publikaci uvádí, že dalšími cíli UV-B záření mohou být proteinové komponenty rostlinného cytoskeletu, citlivý může být i tubulin, pokud bude obsahovat velké množství aromatických aminokyselin, nebo buněčný cyklus. UV záření totiž zpožďuje proces buněčného cyklu ve fázích S, G1 a G2 (HOLLOSY 2002).

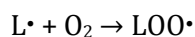
3.1.4 Lipidy

Lipidy, a to především fosfolipidy a glykolipidy jsou hlavními komponenty membrány rostlinné buňky. Tyto membránové lipidy jsou tvořeny polynenasycenými mastnými kyselinami, které při ozáření UV-B za přítomnosti kyslíku podléhají lipoperoxidaci. Peroxidace membránových lipidů je destruktivní proces, který vede k porušení fosfolipidů membrán, vzniku sekundárních metabolitů, které narušují strukturu dalších biomolekul, nebo vzniku velmi reaktivních látek jako jsou 4-hydroxy-2-alkenaly a hydroxyaldehydy, které umocňují míru oxidativního stresu v organismu. Dále vznikají 4-hydroxy-2-nonenaly (HNE) nebo 4-hydroxy-2-hexenaly (HHE). V dnešní době jsou nejvíce prostudované toxické malondialdehydy (MDA), které deaktivují proteiny membrán a narušují tak její fluiditu. V důsledku toho se zvyšuje propustnost pro ionty, mění se membránový potenciál a dochází k lýze buněk. Dále může hydrogenová peroxidace deaktivovat enzymy, a to zejména některé ze světlem aktivovaných enzymů Calvinova cyklu. Hydroxylové radikály, které při lipoperoxidaci vznikají, mohou denaturovat proteiny a reagovat s bázemi v DNA, což působí mutace (HOLLOSY 2002).

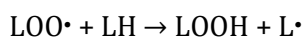
Neenzymová lipoperoxidace je radikálová řetězová reakce, která probíhá ve třech fázích. První fáze se nazývá **iniciace**. Mezi hlavní iniciátory patří ROS, které působí u mastných kyselin na jednu jednoduchou vazbu mezi dvěma dvojnými (konjugovaný dien). Takto dochází ke vzniku radikálu mastné kyseliny.



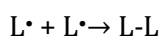
Ve druhé fázi, která se nazývá **propagace**, dochází k reakci mezi velmi nestabilním radikálem mastné kyseliny a kyslíkem, za vzniku peroxylového radikálu.

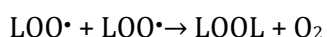
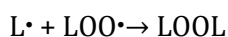


Vzniklý peroxylový radikál atakuje další mastnou kyseliny, ze které se stává nový radikál a peroxylový radikál se přemění na lipidový hydroperoxid.

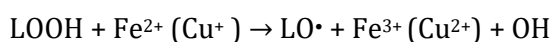


Radikálová řetězová reakce je ukončena ve třetí fázi, která se nazývá **terminace**. V terminaci dochází ke vzniku neradikálové molekuly tak, že se radikál setká s jiným radikálem nebo s molekulou antioxidantu. Řetězová reakce je úplně ukončena, až když se vytvoří stabilní dimerní produkt a propagační fáze se tímto zastaví.





V případě, že se primární produkty propagační fáze jako jsou hydroperoxydy a cyklické peroxydy mastných kyselin dostanou do kontaktu s prvky katalyzující Fentonovu reakci (Fe^{2+} či Cu^+), mění se na alkoxylové radikály $LO\cdot$ a vzniká hydroxidový aniont $OH\cdot$ a tato řetězová reakce probíhá od začátku (ABUJA et ALBERTINI 2001).



3.1.5 Regulátory rostlinného růstu

Je zřejmé, že stejně jako u ostatních složek slunečního spektra jsou účinky UV-B na fyziologii rostlin zprostředkovány hormony. Na jedné straně UV-B stimuluje biosyntézu nebo signalizaci stresových hormonů, jako jsou kyselina abscisová, kyselina jasmonová nebo kyselina salicylová, které vedou k ochraně před UV-B zářením. Na straně druhé, inhibuje hormonální dráhy giberelinů a auxinů, které poskytují morfologické změny. Ethylen může být buď up-regulován, pravděpodobně jako součást stresové reakce na vysoké hladiny UV-B, nebo down-regulován, pravděpodobně jako morfogen. Data o brasinosteroidech a strigolaktonech, ve vztahu k UV-B, jsou velmi vzácná, přesto byla popsána funkční asociace se složkami dráhy UVR8, což je také činí kandidáty pro interakci s fotomorfologickými procesy řízenými UV-B (Vanhaelewyn et al. 2016).

3.2 Vliv UV-B záření na morfologii rostlin

Změny v morfologii rostlin vlivem UV-B záření, které se v publikacích běžně uvádí, jsou: silnější listy, kratší řapíky, zvlnění listů, změna tvaru a délky listů, snížení velikosti stonků, zvýšené axilární větvení, změny v poměru kořen: výhonek a změny v květenství. Přesto je ale velmi složité z publikovaných článků sepsat konkrétní vliv UV-B záření na anatomii a morfologii rostlin, a to především kvůli variacím genotypu rostlin a experimentálním podmínkám. Mnoho UV studií je založeno na expozici rostlin pod konstantní, chronickou úrovní UV-B za řízených vnitřních podmínek, ačkoliv reálné, venkovní úrovně UV-B kolísají v závislosti na časových, sezónních a meteorologických faktorech, vývojových fázích rostlin nebo poloze listů (ROBSON et al. 2015).

JANSEN (2002) uvádí, že mezi morfologické změny rostlin patří zvětšení tloušťky listů, odbarvení listů nebo změny v poměru kořen:výhonek. ZHAO et al. (2003) ve své publikaci uvádí, že se vlivem vysoké dávky UV-B snižuje velikost listů, větvení a velikost stonku. Podle KAKANI et al. (2003) dochází k redukci plochy listů v důsledku destrukce

fotosyntetických pigmentů, ale aby se zvýšila fotosyntéza, dochází k navýšení počtu listů a ke zvýšenému větvení u dvouděložných rostlin. Většina energie je ztracena v opravných mechanismech, a proto dochází ke snížení kvetení a výnosů plodů.

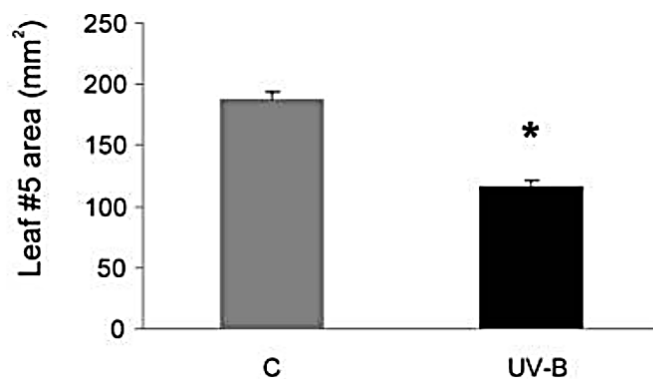
ZUK et al. (2003) zkoumali účinek UV-B na rostlinách *Avena fatua* a *Setaria viridis*. Zjistili, že rostliny, které byly ozářeny vysokou dávkou UV-B, mají rozdílný habitus, jsou menší, mají menší plochu listů a došlo ke kroucení listů. Kromě toho další morfologické změny zahrnují zpožděný vznik semenáčků, opožděné kvetení a zrání ovoce. UV-B vyvolává změny v metabolismu hormonů a uvolňuje buněčné stěny (PARIHAR 2015).

Z výzkumu na jednoděložné kukuřici (*Zea mays*) vyplývá, že UV-B záření ovlivňuje výslednou výšku rostliny. Tvar listu se nemění, ale zmenšuje se velikost listů, což je zdokumentováno na obr. 8. Bylo prokázáno, že zmenšení listů není kvůli menší velikosti zralých buněk, ale v důsledku snížení produkce buněk a velikosti dělicí zóny. Snížení velikosti listů je zprostředkováno transkripčními faktory rodiny GRF, z nichž některé jsou pravděpodobně regulovány miR396, které modifikují hladiny GA v růstové zóně. Po ozáření UV-B se snižuje hladina GA v dělivé zóně, což způsobuje redukcí v buněčné produkci a následné zmenšení dělivé zóny. Dalším důvodem redukce velikosti listů je, že přechod buněk z proliferace na expanzi nastává blíže k bázi listu (FINA et al. 2017).

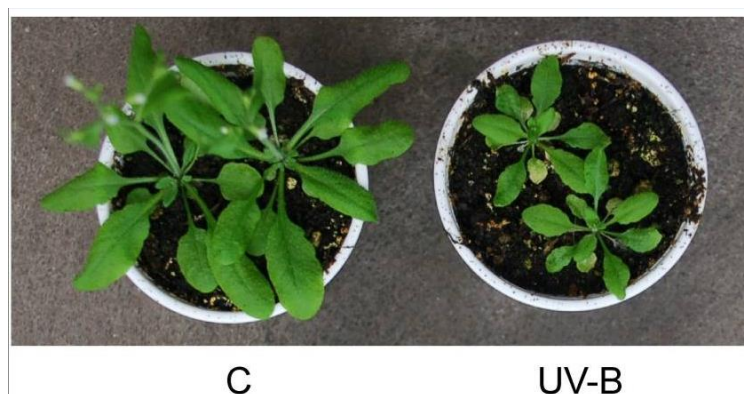


Obr. 8: Listy kukuřice (*Zea mays*), které byly pěstovány v přítomnosti (UV-B) nebo nepřítomnosti (kontroly) UV-B; (FINA et al. 2017).

Stejně tak výzkum na dvouděložné rostlině huseníčku (*Arabidopsis*) prokázal zmenšení plochy listů (obr. 9), zmenšení rostliny (obr. 10) a menší počet buněk v důsledku redukce produkce buněk v proliferační zóně (CASADEVAL et al. 2013).

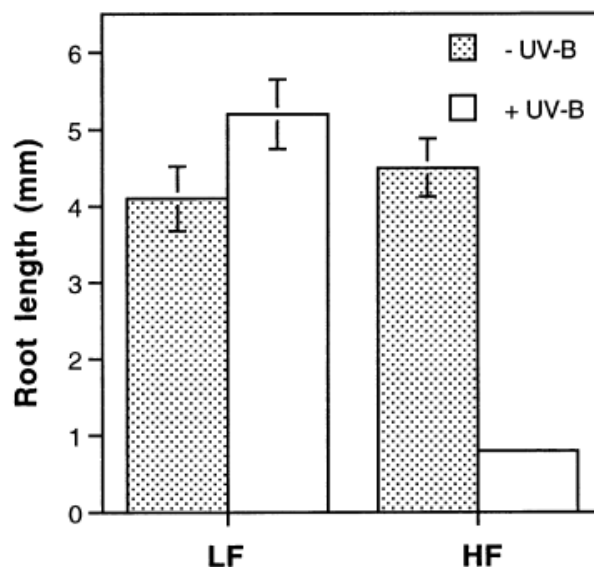


Obr. 9: Průměrná plocha plně expandovaných, pátých listů z rostlin ošetřených UV-B a kontrolních rostlin (C) *Arabidopsis*; (CASADEVAL et al. 2013).



Obr. 10: Rostliny ošetřené UV-B zářením po dobu 4 hodin (2 W m^{-2} ; vpravo) nebo udržované za podmínek kontroly (C) v nepřítomnosti UV-B záření 14 dní po setí, 15. den po ukončení stresu; (CASADEVAL et al. 2013).

KIM et al. (1998) testovali inhibici růstu kořene u Huseníčku rolního (*Arabidopsis thaliana*) při vyšších (HF) ($2.1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) a nižších (LF) ($0.22 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) dávkách UV-B. Zatímco velikost kořene při nižších dávkách nebyla ovlivněna, při vyšší dávce byla inhibice růstu velice jasně prokázána, což je vidět i na obrázku 11. Navíc v děloze a v horní části hypokotylu testované sazenice, byla vlivem vyšších dávek UV-B objevena zvýšená akumulace antokyanů, jako reakce na stres (KIM et al. 1998).



Obr. 11: Vliv UV-B na růst kořene; (KIM et al. 1998).

V současné době není známo, zda jsou morfologické změny zprostředkované UV-B na úrovni buněk, orgánů a organismu, podloženy UV-B specifickou signalizací nízkých dávek, generickými dráhami zprostředkovanými stresem nebo jsou spojeny s komplexními metabolickými změnami, ke kterým dochází během aklimatizace. Významného pokroku bylo ale dosaženo v objasnění molekulárních cest, které jsou základem mnoha UV-B reakcí. UV-B fotoreceptor UVR8 zprostředkovává aklimatické reakce na chronické UV-B dávky (vystavení mírným dávkám během několika dnů), zatímco akutní (náhlé a krátkodobé) vystavení vysokým UV-B dávkám, indukuje vícegenerované mitogenem aktivované protein kinázy (MAPK) a signalizační kaskády aktivované ROS (ROBSON et al. 2015).

3.3 Vliv UV-B záření na fyziologii rostlin

3.3.1 Vliv na fotosyntézu

Fotosyntetický aparát patří mezi hlavní cíle UV-B záření a jeho poškození přispívá k celkovému narušení celé rostliny. Míra poškození závisí na dávce UV-B, vyzařované rychlosti, podílu UV-B k fotosynteticky aktivnímu záření (PAR) a dalších spolupůsobících environmentálních faktorech (LIDON et al. 2012).

Bylo dokázáno, že vysoké hladiny UV-B ničí fotosyntetické pigmenty a inhibuje jejich stimulaci. To vede ke ztrátě fotosyntetické kapacity (KATARIA 2014). Výzkum MARWOODA et GREENBERGA (1996) dokazuje, že UV-B snižuje počet chlorofylu *a*. Je však zajímavé, že chlorofyl *b* zůstává téměř beze změny. Z toho vyplývá, že UV-B záření způsobuje selektivní

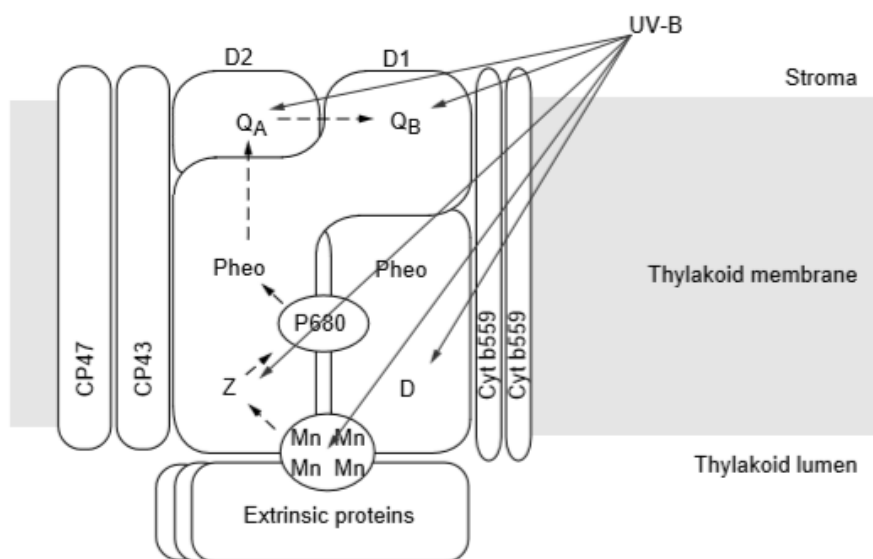
destrukci biosyntézy chlorofylu *a*, nebo degradaci jejich prekurzorů. Chlorofyl je chráněn před fotooxidativní destrukcí karotenoidy. Z výzkumu na ječmenu ale vyplývá, že UV-B redukuje i množství karotenoidů, a to může vést k dalšímu poškození chlorofylových pigmentů. Dále bylo poškození fotosyntetického aparátu zkoumáno na molekulární úrovni vědci CASOTIM et WALBOTEEM (2003), kteří zdokumentovali sníženou regulaci genů spojených s fotosyntézou, při zvýšeném UV-B ozáření kukuřice. Snížená regulace genů následně způsobuje redukcii v expresi a syntéze klíčových fotosyntetických proteinů, jako jsou Rubisco, chlorofyl *a/b* vázající protein (Lhbc) a D1 polypeptid, který je součástí fotosystému II.

Fotosystém II

Fotosystém II (PSII) (obr. 12) je považován za srdce fotosyntézy, protože zde probíhá počáteční přeměna sluneční energie. Je to multifunkční protein-pigmentový komplex, který se nachází na membráně tylakoidů všech fotosynteticky aktivních organismů. Při oxidativním poškození proteinů, lipidů a pigmentů, které UV-B způsobuje, dochází ke snížení funkce této membrány a ke změnám v organizaci membránových komplexů (KATARIA 2014).

Dalším cílovým komplexem, citlivým na UV-B záření je OEC (oxygen evolving complex). V současné době se tvrdí, že absorpce UV světla manganovým klastrem v OEC PSII způsobuje primární foto-poškození. Také zde po přebytku světla absorbovaného světlosběrnou anténou (LHC) dochází k inhibici procesu opravy PSII, prostřednictvím tvorby ROS z UV-B stresu. Reaktivními formy kyslíku jsou zodpovědné také za fotoinhibici, která vede ke snížení výkonu PSII (TAKAHASHI et al. 2010). Dalšími cíli UV-B záření u PSII jsou akceptory chinonových elektronů, donory tyrosinových elektronů a reakční centrum proteinu D1 a D2 (IHLE 1997). Podrobná studie struktury degradace proteinu ukazuje, že nejvíce citlivé na UV-B jsou polypeptidy D1 a D2. Studie s buňkami cyanobakterií *Synechocystis* ukázaly, že oprava pomocí *de novo* syntézy polypeptidů D1 a D2 neposkytuje dokonalou ochranu proti poškození UV-B (SASS et al. 1997). Akumulace poškozených reakčních center, snížení vývoje kyslíku a snížení variabilní fluorescence způsobuje inaktivaci PSII v důsledku poruchy opravy poškozeného reakčního centra. Někteří výzkumníci předpokládali, že primární příčinou UV-indukované inhibice funkce PSII je inaktivace transportu elektronů mezi Mn klastrem a redox-aktivními tyrosiny (tyr-Z, Tyr-D) na straně dárce, zatímco jiní prohlašovali, že to je akceptor chinonových elektronů (KATARIA 2014).

Například VASS et al. (1999), kteří prováděli výzkum na membráně tylakoidů špenátu zjistili, že primární poškození nastává na OEC a modifikace a/nebo inaktivace tyrosinu a komplexu chinonového akceptoru jsou následující události. Oproti tomu RODRIGUES et al. (2006) tvrdí, že QA je fotosenzibilizátor pro UV-B záření; absorpce UV-B tímto radikálem iniciuje reakce vedoucí k poškození PS II. Vzhledem k tomu, že primární chinon je navázán na D2 protein, může plastosemiquinon fotosenzibilizovaný UV-B zářením, dobře destruovat D₂ protein přímo a může následně inhibovat elektronový transport PSII. VAN RENSEN et al. (2007) zjistil, že účinnost PSII klesá jak s rostoucí dobou UV-B záření, tak se zvyšující se intenzitou UV-B v *Chenopodium album*. Došli k závěru, že poškození UV zářením vzniká nejprve na akceptorové straně PSII a později na straně dárce.



Obr. 12: Schematické znázornění fotosystému II (PSII), které indikuje, že fotosenzibilizátory se podílejí na jeho inaktivaci zprostředkované UV-B zářením. P680 je primární elektronový donor PSII. Z a D jsou redox aktivní tyrosiny umístěné na proteinech D1 a D2; Z obvykle slouží jako donor elektronů k P680. Elektronů vznikají z vody, jejíž štěpení je katalyzováno shlukem čtyř atomů manganu. Extrinsic proteiny se podílejí na stabilizaci této reakce. Na místě akceptoru slouží jako primární akceptor elektronů feofytin (Pheo). Plastochinony, QA a QB, jsou sekundárními akceptory elektronů. Fotosenzibilizátory, které absorbují UV-B a které hrají roli při inaktivaci PS II a/nebo degradaci D1-D2, jsou označeny šipkami; (JANSEN et al. 1998).

Cytochrom b6/f komplex

Součástí tylakoidní membrány je kromě PS II také Cytochromový b6/f komplex (Cyt b6f), který je klíčový integrální membránový komplex, zajišťující fotosyntetický transport elektronů. Cyt b6f obsahuje dvě místa, které váží chinin, na prvním dochází k oxidaci chininu a na druhém dochází k jeho redukci (SANG et al. 2010). HOPE (1993) předpokládá, že právě to je důvod, proč je Cyt b6f nejméně ovlivněn UV-B zářením. UV-B má dopad na snížení obsahu cytochromového komplexu z důvodu nízkého poměru chlorofylů *a/b*

v rostlinách ošetřených UV-B, což vede ke snížení transportní kapacity elektronů (EICHRON et al. 1993).

Fotosystém I

Fotosystém I (PSI), je na rozdíl od PS II, podobně jako Cyt b6f jen málo ovlivněný UV-B zářením. Při vysoké dávce UV-B dochází ke snížení amplitudy absorpčních změn při 700 nm, což odráží množství oxidovaného reakčního centra chlorofylu (P700) PS I (KATARIA 2014). Vysoké dávky UV-B způsobují nerovnoměrný vznik reaktantů a produktů mezi PSI a PSII. Experimenty s mikročipy DNA ukázaly významnou, sníženou regulaci mnoha genů, které kódují podjednotky PSI proteinu v buňkách cyanobakterie *Synechocystis* 6803, vystavených UV-B (HUANG et al. 2002). Ačkoli tento jev nebyl dostatečně prozkoumán, snížená regulace genů kódujících proteiny PSI může být aklimatizační odezva, která by mohla upravit poměr PSI / PSII narušený UV poškozením PSII center (LINDON et al. 2011).

Průduchy

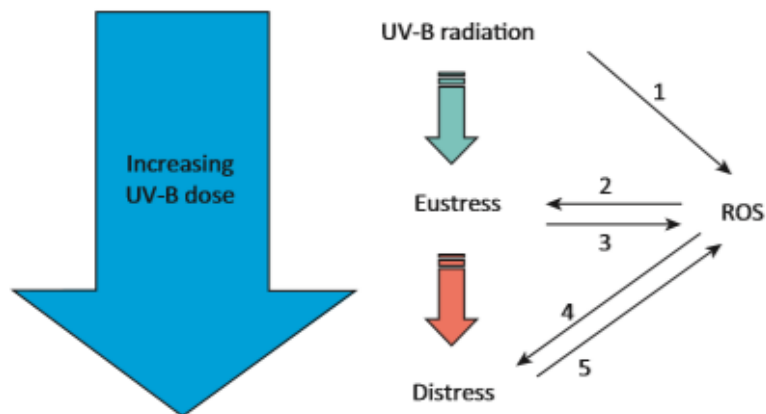
UV-B může také ovlivnit množství průduchů, jejich zavírání a vodivost, ve smyslu snížení asimilace oxidu uhličitého (CO₂). Vysoké dávky UV-B přímo ovlivňují průduchy působením na mechanismy svěřacích buněk (NOGUES et al. 1999).

Sekundární fáze fotosyntézy

Nejvíce zranitelný protein, nacházející se v listech, které jsou neustále vystavené světlu, a tedy i UV-B záření, je Rubisco (Ribulosa-1,5-bisfosfát karboxyláza/oxygenáza). Tento enzym katalyzuje zabudování oxidu uhličitého do cukru v Calvinově cyklu. Vysoké dávky UV-B záření způsobují jak snížení aktivity, tak snížení obsahu enzymu Rubisco. Rubisco je primární akční místo pro inhibici fotosystému vlivem UV-B záření. Obsahuje totiž ve své struktuře proteinu aromatické aminokyseliny, které jsou schopny absorbovat UV-B záření. Snížením činnosti Rubisca dochází ke snížené tvorbě asimilátů (KATARIA 2014).

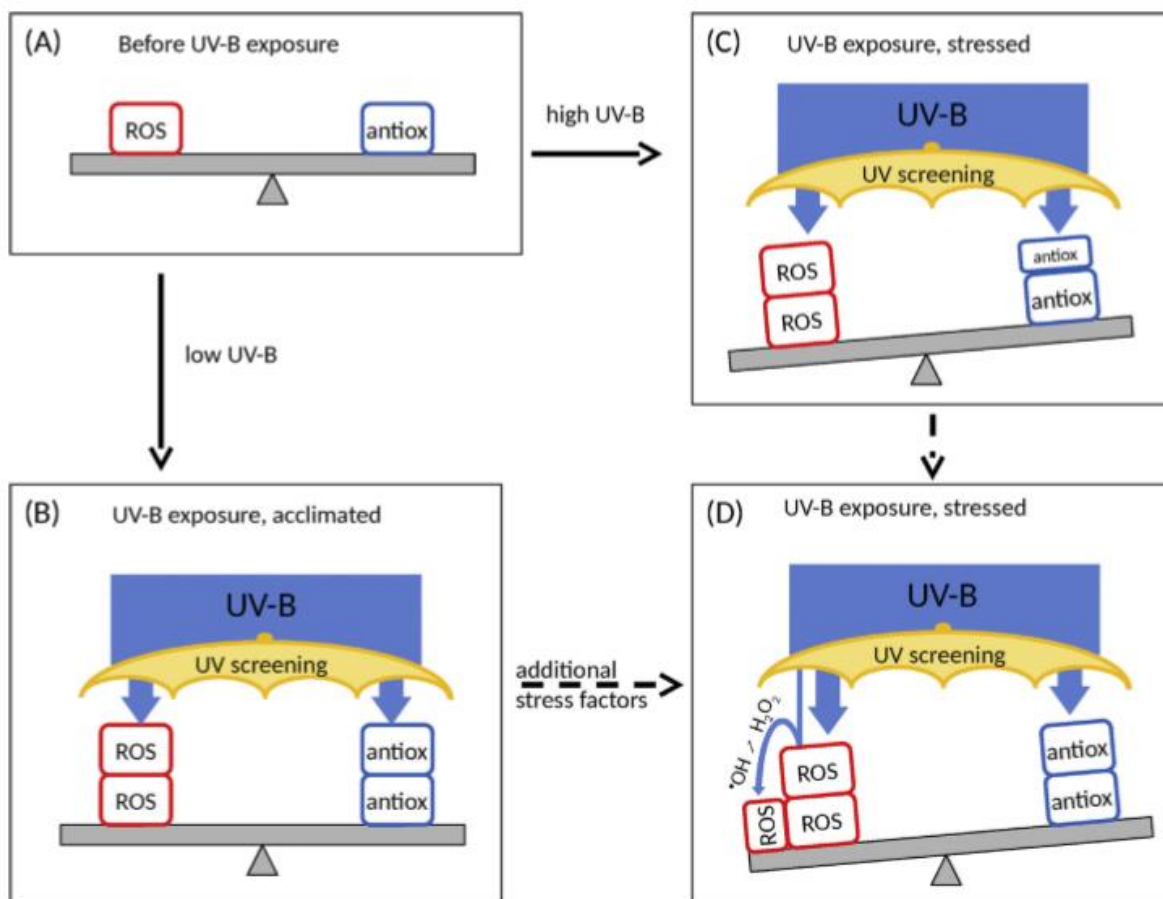
3.3.2 Oxidační stres a reaktivní formy kyslíku (ROS)

Existují důkazy, že UV-B expozice může přímo indukovat vznik reaktivních forem kyslíku (ROS) (1). Reaktivní formy kyslíku, které jsou během ozáření tvořeny, mohou způsobovat eustres a vést k UV-aklimatizaci (2) nebo způsobovat oxidativní poškození rostlin (4). Naopak ROS mohou být produkovány jako odpověď rostlin na vystavení UV-B, buď jako součást UV-aklimatizace indukci aktivity NADPH oxidázy (3) nebo jako výsledek metabolického narušení (distresu) (5) (obr. 13) (HIDEG et al. 2013).



Obr. 13: Důvod a důsledek vzniku ROS; (HIDEG et al. 2013).

Mezi ROS řadíme: singletový kyslík, superoxidový anion-radikál, hydroxylový radikál, hydroxylový ion, perhydroxylový radikál a peroxid vodíku, jejichž značení a molekulová struktura je popsána v tabulce 1 (SLOVÁKOVÁ et MISTRÍK 2007). Tyto ROS jsou běžným bioproduktem některých metabolických drah a jsou lokalizovány v různých buněčných strukturách. Pokud jsou fyziologické a environmentální podmínky stálé a na rostlinu nepůsobí žádný stres, tvorba ROS a jejich následná eliminace různými antioxidačními procesy je v rovnováze. Avšak tato rovnováha mezi tvorbou a eliminací může být environmentálními faktory narušena, a pokud míra stresového faktoru převyšuje nad přizpůsobením se rostliny, může nastat fyziologická nerovnováha, jejíž výsledkem je zvyšující se hladina ROS, a nastává tzv. oxidační vzplanutí („oxidative burst“) (obr. 14) (APEL et HIRT 2004).



Obr. 14: Rovnováha mezi produkcí ROS a aktivitou a kapacitou antioxidantů před (A) a během (B–D) ozáření UV-B; (CZÉGÉNY et al. 2016).

Tab. 1: Reaktivní formy kyslíku, jejich značení a molekulová struktura; (PITERKOVÁ et al. 2005)

Sloučenina	Zkrácené značení	Struktura
Singletový kyslík	$^1\text{O}_2$	O-O:
Superoxidový anion-radikál	$\text{O}_2^{\bullet-}$	$[\ddot{\text{O}}=\ddot{\text{O}}]^-$
Hydroxylový radikál	OH^\bullet	$\ddot{\text{O}}-\text{H} $
Hydroxylový ion	OH^-	$\ddot{\text{O}}-\text{H}$
Perhydroxylový radikál	$\text{O}_2\text{H}^\bullet$	$\ddot{\text{O}}=\ddot{\text{O}}-\text{H}$
Peroxid vodíku	H_2O_2	$\text{H}-\ddot{\text{O}}-\ddot{\text{O}}-\text{H}$

Lokalizace vzniku ROS

Chloroplasty

Za nejvýznamnější místa vzniku reaktivních forem kyslíku v rostlinách se považují chloroplasty (SLOVÁKOVÁ et MISTRÍK 2007). Chloroplasty obsahují asimilační pigmenty, ve kterých se z důvodu absorpce záření soustřeďuje velké množství energie. Současně je zde neustále produkován kyslík, který vzniká při fotolýze vody ve PSII (PITERKOVÁ et al. 2005).

Existují dva hlavní procesy, které způsobují vznik ROS při fotosyntéze (APEL et HIRT 2004). Prvním je přímá fotoredukce kyslíku na superoxidový radikál, která souvisí s PSI. Nedostatečná rychlost zpětné oxidace NADPH v Calvinově cyklu způsobí nízkou koncentraci NADP⁺ ve PSI, a to vede k redukci kyslíku ferodoxinem v Mahlerově reakci. Primární produkt Mahlerovy reakce je superoxidový radikál, z něhož mohou vzniknout reaktivnější hydroxylové radikály a peroxid vodíku (PITERKOVÁ et al. 2005).

Druhý mechanismus probíhá ve PSII, kde dochází k přenosu čtyř elektronů z molekuly vody na PSII a zároveň dochází k uvolnění kyslíku z fotolýzy vody. Pokud uniknou elektrony na molekulu kyslíku, nebo se uvolní částečně redukováný kyslík, dojde ke vzniku ROS (PITERKOVÁ et al. 2005).

Existují ale i další mechanismy, při kterých vznikají ROS. Například excitovaná energie ve fotoaktivovaném chlorofylu se za normálních podmínek přenáší do reakčního centra fotosystému. Avšak, při zhoršení podmínek, mezi které řadíme uzavřené průduchy, sucho, nedostatek živin, vliv xenofobik a polutantů se excitovaná energie nemůže využít v elektronovém transportním systému, a přenáší se na kyslík. Tím dochází k aktivaci tripletového kyslíku na reaktivní, singletový kyslík (PITERKOVÁ et al. 2005, SLOVÁKOVÁ et MISTRÍK 2007).

Vznik ROS je podmíněný i fotorespirací. Fotorespirace je způsobena karboxylačně–oxidační aktivitou enzymu Rubisco, který katalyzuje adici vodíku k ribulosa-1,5-bisfosfátu za vzniku fosfoglykolátu a fosfoglycerátu. Tyto glykoláty jsou pak odbourávány v peroxizómech za vzniku peroxidu vodíku (PITERKOVÁ et al. 2005).

Mitochondrie

PITERKOVÁ et al. (2005) uvádí, že mitochondriální transportní řetězec je hlavním místem produkce ROS. Mitochondrie v transportním elektronovém řetězci obsahují kromě komplexu I – V i alternativní oxidázu (AOX) a na každé straně vnitřní membrány dvě NAD(P)H dehydrogenázy. Superoxid a peroxid vodíku se tvoří na různých Fe-S proteinech,

a právě na NADH dehydrogenázách. Naproti tomu APEL et HIRT (2004) uvádí, že mitochondrie neprodukují větší množství ROS právě kvůli přítomnosti alternativní oxidázy (AOX), která katalyzuje čtyřmocnou redukci O_2 ubiquinonem. AOX je mitochondriální enzym, který přijímá elektrony z koenzymu Q a používá je přímo k redukci kyslíku na vodu. Obchází tak mitochondriální komplex III a IV. Důsledkem toho klesá produkce $O_2\cdot$ tvořícího se v komplexu III, ale spotřeba kyslíku mitochondriemi zůstává stejná (CHUA et al 2010). AOX soutěží s komplexem cytochromu bc_1 o elektron, a tak může přispět ke snížení produkce ROS v mitochondriích. Tento návrh je podpořen zjištěním, že peroxid vodíku indukuje expresi AOX a nadprodukce AOX v transgenických buněčných liniích snižuje produkci ROS, oproti tomu buňky se sníženými hladinami AOX akumulují pětikrát větší množství ROS.

Mikrotěliška

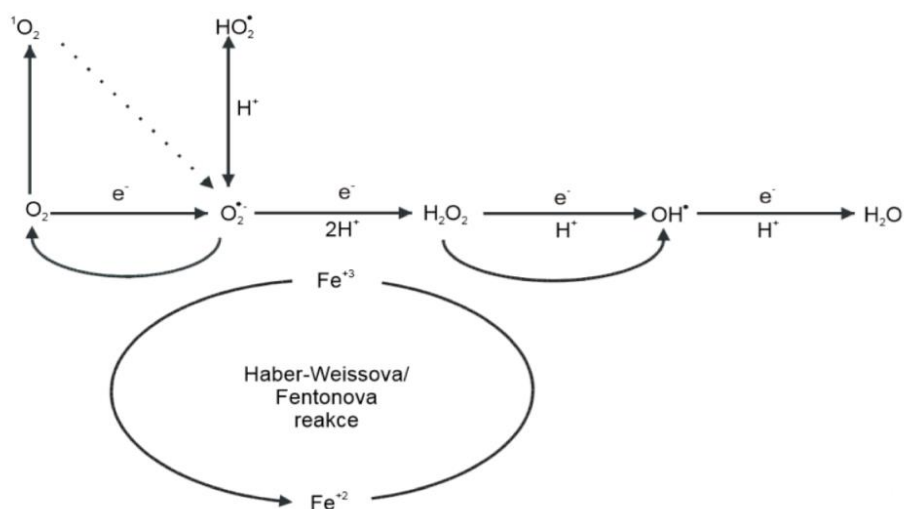
Mikrotěliška, mezi které řadíme peroxizómy a glyoxyzómy, jsou malé organely s jednoduchou membránou. Mezi metabolické procesy, které způsobují tvorbu peroxidu vodíku v různých typech peroxizómů, patří: fotorespirační glykolát oxidázová reakce, β -oxidace mastných kyselin, enzymové reakce flavin oxidáz a dismutace superoxidového radikálu. Při fotorespiraci glykolát oxidáza produkuje peroxid vodíku dvojelektronovými přenosy z glykolátu na kyslík. Superoxidový radikál se v peroxizomech uvolňuje na dvou místech. První místo je v matrix peroxizomu, kde dochází k oxidaci xanthinu a hypoxanthinu na kyselinu močovou, a druhé místo je membrána peroxizómů, která obsahuje malý transportní řetězec. Zde jsou za tvorbu superoxidu zodpovědné tři nedávno objevené integrální polypeptidy. Při stresových faktorech je superoxid produkován z membrány peroxizomu do cytosolu, kde rychle přechází na peroxid vodíku a kyslík (PITERKOVÁ et al. 2005).

Dalšími buněčnými strukturami, kde vznikají ROS, jsou endoplazmatické retikulum, cytoplazmatickou membránu, buněčná stěna nebo apoplast (SLOVÁKOVÁ et MISTRÍK 2007).

Mechanismus vzniku reaktivních forem kyslíku

Atmosférický kyslík v základním stavu je biradikální, jinými slovy obsahuje dva nepárové elektrony, které mají stejný spin (APEL et HIRT 2004). Aby mohla proběhnout aktivace, musel by se tripletový kyslík spojit s reaktantem, který má také dva nepárové elektrony s paralelním spinem, ale opačné orientace k tomu, který má molekulární kyslík. To je však velmi nepravděpodobné, a proto můžeme považovat kyslík za poměrně málo reaktivní (PITERKOVÁ et al. 2005). Aktivace kyslíku se ale může uskutečnit i jinými mechanismy. Prvním z nich je absorpce dostatečného množství energie na převrácení spinu jednoho

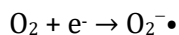
z elektronů. V tomto případě se změní základní tripletový stav kyslíku na velmi reaktivní singletový stav ($^1\text{O}_2$). Na vznik singletového kyslíku je potřeba energie o velikosti 22 kJ mol^{-1} , která vznikne přenosem excitační energie fotonů, pigmenty fotosyntetického reakčního centra. Druhý mechanismus aktivace kyslíku je jednoelektronová redukce na superoxid ($\text{O}_2^{\cdot-}$), peroxid vodíku (H_2O_2), hydroxylový radikál ($\text{OH}\cdot$) a vodu (SLOVÁKOVÁ et MISTRÍK 2007). V prvním kroku, kde se kyslík aktivuje na superoxid, je potřeba energie. Další kroky jednoelektronové redukce, jsou exotermní reakce a probíhají samovolně. Průběh aktivace ROS je znázorněn na obr. 15 (PITERKOVÁ et al. 2005).



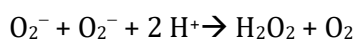
Obr. 15: Celková redukce molekulárního kyslíku na vodu vyžaduje čtyři elektrony a je vždy doprovázená postupnou jedno až tří elektronovou redukcí, kdy dochází ke tvorbě superoxidového radikálu ($\text{O}_2^{\cdot-}$), peroxidu vodíku (H_2O_2) a hydroxylového radikálu ($\text{OH}\cdot$); (PITERKOVÁ et al. 2005).

Účinky jednotlivých ROS

Superoxid vzniká redukcí molekuly kyslíku jedním elektronem.

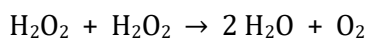


Je to krátce žijící a málo reaktivní forma kyslíku, která není schopna prostupovat přes buněčné membrány. Funguje jako oxidační i jako redukční činidlo. Oxiduje např. síru, askorbát, NADPH, některé aminokyseliny (histidin, methionin, tryptofan) a redukuje cytochrom c, chinony a komplexy přechodných kovů (SLOVÁKOVÁ et MISTRÍK 2007). Způsobuje peroxidaci lipidů, inaktivaci enzymů a depolymerizaci polysacharidů (PITERKOVÁ et al. 2005). Dismutací superoxidu vzniká peroxid vodíku a kyslík (SLOVÁKOVÁ et MISTRÍK 2007).



Protonovaná forma superoxidového radikálu je **perhydroxylový radikál** (O_2H). Oba tyto radikály jsou v buňce v rovnováze. Na rozdíl od superoxidu je ale perhydroxylový radikál více hydrofobní, a proto může prostupovat přes membrány. Při průchodu membránou odebírá protony z polynenasycených mastných kyselin a lipidových hydroperoxidů, čímž zahajuje oxidaci lipidů. V neutrálním, nebo mírně kyselém vodném rozpouštědle tento radikál v obou formách dismutuje na peroxid vodíku a kyslík (PITERKOVÁ et al. 2005).

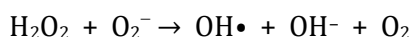
Druhá redukce kyslíku produkuje stabilní **peroxid vodíku** (H_2O_2). Peroxid vodíku velmi dobře difunduje přes buněčnou membránu, a proto může způsobit rozsáhlé poškození ve všech buněčných komponentech, nehledě na místě jeho vzniku. Peroxid vodíku v buňce může být katalyzován katalázami za vzniku vody (SLOVÁKOVÁ et MISTRÍK 2007).



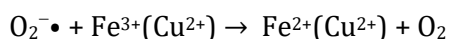
Dále je peroxid vodíku využíván enzymy, především peroxidázami jako substrát v oxidačních reakcích.

Vysoké koncentrace peroxidu vodíku jsou pro rostliny velmi nebezpečné. V nízkých koncentracích může fungovat jako difuzibilní signální molekula, která způsobuje aktivaci exprese genů. Peroxid vodíku tedy může fungovat jako zprostředkovatel indukce oxidačního stresu, ale i jako produkt již vzniklého stresu (SLOVÁKOVÁ et MISTRÍK 2007).

Ve třetí reakci jde o tříelektronovou redukci molekulárního kyslíku na **hydroxylový radikál** ($OH\cdot$). Hydroxylový radikál je nejreaktivnější forma kyslíku a vzniká v Haberově–Weissově (Fentonově) reakci peroxidu vodíku a superoxidu. Za normálních podmínek je ale tvorba hydroxylového radikálu pomalá a nízká (PITERKOVÁ et al. 2005).



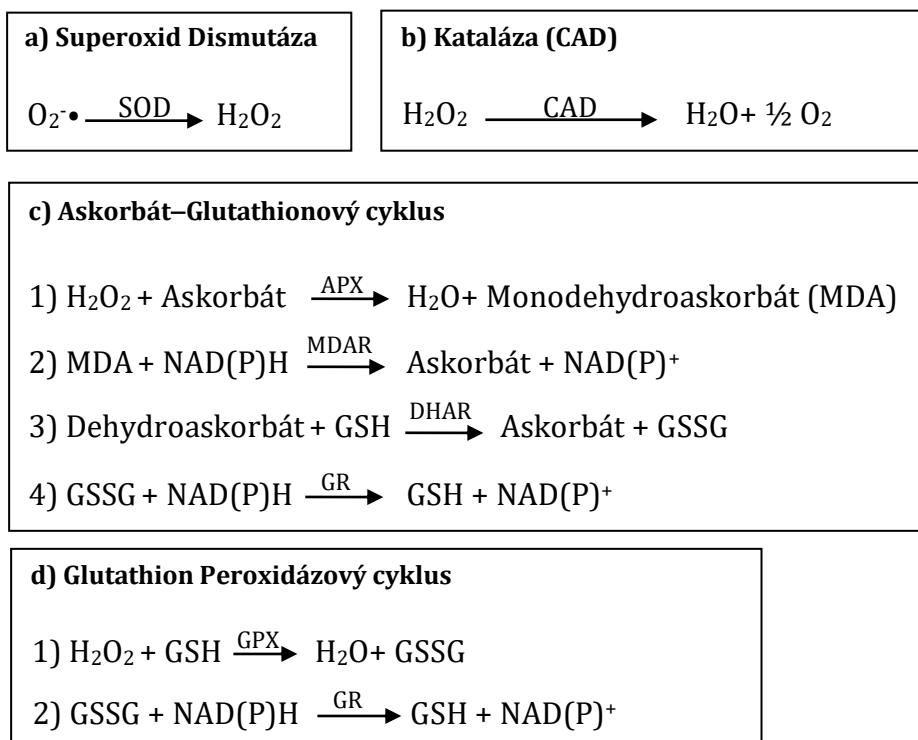
Velké množství se však může tvořit vlivem oxidace přechodných kovů, jako jsou dvojmocné železo Fe^{2+} a jednomocná měď Cu^+ . Po reakci je trojmocné železo redukováno superoxidem zpět na dvojmocné a tím je připravené pro další reakci. Železo zde figuruje jako katalyzátor. Lokalizace a dostupnost přechodných kovů s katalytickým účinkem ve Fentonově reakci jsou pravděpodobně hlavními faktory určujícími místo tvorby hydroxylového radikálu. Hydroxylový radikál je velmi silný oxidant, který způsobuje peroxidaci lipidů, degradaci proteinů a poškození DNA (PITERKOVÁ et al. 2005).



Mechanismy vychytávání ROS

Rostliny jsou schopny vychytávat a ničit ROS enzymatickou nebo neenzymatickou cestou. Neenzymatické antioxidanty zahrnují hlavní buněčné redoxní pufrы askorbát a glutathion (GSH), stejně tak tokoferol, flavonoidy, alkaloidy a karotenoidy (APEL et HIRT 2004). Za normálních podmínek, tyto antioxidační látky zabezpečují buněčnou ochranu před ROS. Jakmile ale vlivem dalších stresových faktorů přesáhnou ROS jejich kapacitu, vzniká sekundární oxidační stres (SLOVÁKOVÁ et MISTRÍK 2007). Reaktivní formy kyslíku oxidují GSH na oxidovaný glutathion (GSSH) a askorbát na monodehydroaskorbát (MDA) a dehydroaskorbát (DHA). Tyto oxidované látky jsou v askorbát-glutathionovém cyklu (AGC), který je zobrazen na obr. 16 c, redukovány reformováním GSH a askorbátu. Vysoký podíl redukováného askorbátu k oxidovanému a GSH je nezbytný pro vychytávání ROS v buňkách. Redukované stavy antioxidantů jsou udržovány pomocí glutathion reduktázy (GR), monodehydroaskorbát reduktázy (MDAR) a dehydroaskorbát reduktázy (DHAR), přičemž se jako redukční energie používá NADPH. Celková rovnováha mezi různými antioxidanty musí být přísně kontrolována. Význam této rovnováhy je patrný u buněk chloroplastu se zvýšenou biosyntézou GSH. Tyto buňky vykazují poškození oxidačním stresem, pravděpodobně v důsledku změn celkového redoxního stavu chloroplastů (APEL et HIRT 2004).

Enzymatické vychytávání ROS v rostlinách zahrnuje enzymy superoxid dismutázu (SOD), askorbát peroxidázu (APX), glutathione peroxidázu (GPX) a katalázu (CAT). SOD funguje jako první obranná linie proti ROS, který mění superoxid na peroxid vodíku (obr 16 a). Peroxid vodíku je následně pomocí APX, GPX a CAT detoxikován. Askorbát peroxidáza stejně jako glutathion peroxidáza a kataláza odbourává H_2O_2 na vodu (obr. 16 b, c, d). Na rozdíl od mnoha organismů, mají rostliny několik genů, které SOD a APX kódují. Různé izoformy jsou specificky zaměřeny na chloroplasty, mitochondrie, peroxizomy, cytosol nebo apoplast (APEL et HIRT 2004).



Obr. 16: Model enzymatického vychytávání ROS superoxid dismutázou (SOD), katalázou (CAT), askorbát-glutathionový cyklus a glutathion peroxidázový (GPX) cyklus. a) SOD přemění superoxid na peroxid vodíku. b) CAT přemění peroxid vodíku na vodu. c) Peroxid vodíku je také přeměněn na vodu v askorbát-peroxidázovém cyklu. Redukující složka v první reakci askorbát-glutathionového cyklu, která je katalyzována askorbát peroxidázou (APX) je askorbát, který je oxidován na monodehydroaskorbát (MDA). MDA reduktáza (MDAR) redukuje MDA na askorbát s pomocí NAD(P)H. Dehydroaskorbát (DHA) je produkován spontánně MDA a může být redukován na askorbát DHA reduktázou (DHAR) s pomocí GSH, který je oxidován na GSSG. Cyklus je zakončen glutathion reduktázou (GR), která mění GSSG zpátky na GSH za pomocí NAD(P)H. d) GPX cyklus mění peroxid vodíku na vodu za použití redukujících ekvivalentů z GSH. Oxidovaný GSSG je znovu přeměněn pomocí GR a NAD(P)H na GSH a NAD(P); (APEL et HIRT 2004).

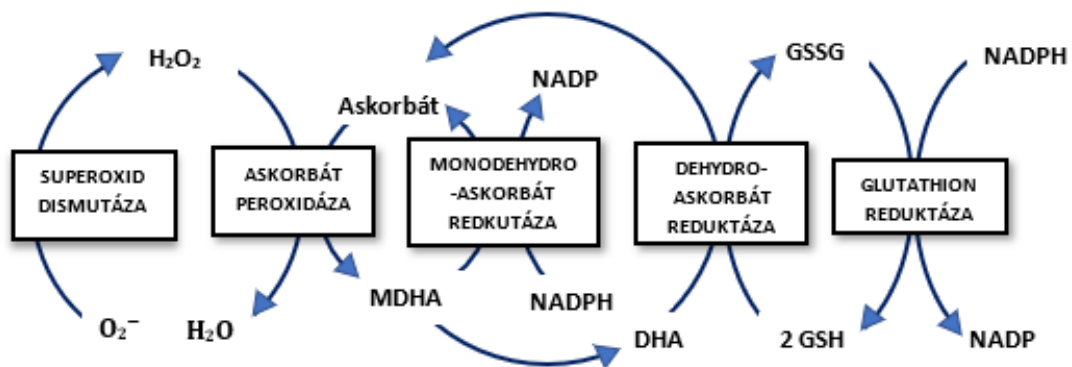
Antioxidační látky

Glutathion

Glutathion je hlavní intracelulární antioxidant, který se nachází ve všech buněčných komponentech v rostlinných pletivech. Je to hlavní zásobní forma síry a uplatňuje se při detoxikaci xenobiotik (SLOVÁKOVÁ et MISTRÍK 2007). Dále se podílí na regeneraci vitamínu E, který chrání membrány před oxidačním stresem. Může se vyskytovat v redukované formě jako thiol (GSH) nebo ve formě oxidované jako disulfid (GSSG). Aby byl účinný jako antioxidant, musí být ve své redukované formě. Dále slouží jako ochrana thiolových skupin (–SH) v bílkovinách, chrání DNA v buněčném jádře před oxidačním poškozením, nebo slouží jako koenzym důležitých antioxidačních a detoxikačních enzymů (glutathion reduktázy, glutathion peroxidázy) (NOCTOR et al. 2012).

Askorbát

L-askorbát neboli vitamín C je látka, která se vyskytuje v rostlinných buňkách, a to především v chloroplastech, cytosolu, vakuolách a extracelulárních prostorech. Vyskytuje se většinou v redukované formě, ve které má schopnost redukovat volné radikály. Má schopnost uvolnit elektrony v řadě enzymových a neenzymových reakcích, a proto je jedním z hlavních detoxikačních sloučenin ROS ve vodné fázi (PITERKOVÁ et al. 2005). Kyselina askorbová může přímo vychytávat superoxid, singletový kyslík nebo hydroxylové radikály a za pomoci APX redukuje peroxid vodíku na vodu. Peroxid vodíku se tak v chloroplastech rozptyluje spojením askorbátového a glutathionového redoxního cyklu, katalyzovaného enzymy jako askorbát peroxidáza nebo glutathion peroxidáza. Tento cyklus se nazývá Halliwell-Asadova cesta a je zobrazen na obrázku 17. Regenerace oxidované formy askorbátu na redukovanou formu probíhá pomocí enzymů uložených v chloroplastech (SLOVÁKOVÁ et MISTRÍK 2007). V neposlední řadě má schopnost regenerovat tokoferol z tokoferoxylového radikálu, čímž chrání membránu (PITERKOVÁ et al. 2005).



Obr. 17: Redoxní cyklus askorbátu v chloroplastech (Halliwell-Asadova cesta); (SLOVÁKOVÁ et MISTRÍK 2007).

Tokoferol

Tokoferoly, zvláště α -tokoferoly (vitamín E), je multifunkční antioxidant, který má schopnost odstraňovat volné radikály, lipidové peroxiradikály a singletový kyslík na buněčných membránách. Tato funkce je dána tím, že ve své struktuře obsahuje úplně substituovaný benzochinonový kruh a úplně redukovaný fytylový řetěz. Lokalizaci v buněčných membránách určuje jeho hydrofobní povaha. Jako antioxidant je schopný tlumit singletový kyslík a peroxidy (SLOVÁKOVÁ et MISTRÍK 2007).

Karotenoidy

Karotenoidy jsou C₄₀ izoprenoidy a tetraterpenoidy, které se nachází v plastidech fotosyntetických i nefotosyntetických pletiv. V chloroplastech slouží jako světloběrné pigmenty, které přenášejí excitovanou energii ze světla. Produktem excitace jsou různé formy aktivovaného kyslíku a tripletového chlorofylu, které jsou karotenoidy detoxikovány. Karotenoidy mohou chránit fotosystém čtyřmi způsoby. První je reakce s produkty peroxidace lipidů ukončením řetězové reakce, druhý způsob je vychytávání singletového kyslíku a rozptylování jeho energie ve formě tepla, třetí způsob je reakcí s tripletem nebo excitovanými molekulami chlorofylu zabraňují tvorbě singletového kyslíku a posledním způsobem je rozptýlení nadbytečné excitační energie v xantofylovém cyklu.

Fenoly

Zvýšení obsahu fenolů je adaptivní odezva na vysoké hladiny UV-B. Fenoly poskytují ochranu proti pronikání UV-B do listových tkání a fungují jako antioxidanty chránící buňky před reaktivními kyslíkovými druhy. Aktivace genů fenyylpropanoidové dráhy produkující fenolické sloučeniny je běžnou odpovědí na UV-B stres v rostlinách. Fenolické sloučeniny jsou produkovány z aromatických aminokyselin (fenylalanin a tyrosin) cestou fenyylpropanoidu. Tyto sloučeniny mohou zmírnit poškození indukované UV-B, ochranou fotosyntetické dráhy a buněčných složek. Mnoho studií ukázalo, že rostlinní mutanti se zvýšenou akumulací fenolických sloučenin a flavonoidů absorbujících UV-B, vykazují značnou toleranci k UV-B záření (RAI et AGRAWAL 2017).

Flavonoidy

Flavonoidy nazývané také jako bioflavonoidy nebo vitamín P, náleží mezi sekundární metabolity, jež se nachází v rostlinách ve velkém množství. Jedná se o biologicky významnou a chemicky různorodou skupinu sekundárních metabolitů, které lze rozdělit do podskupin, na anthokyanidiny, flavonoly, flavony, flavanoly, chalkony, dihydrochalkony a dihydroflavonoly (HARBORNE 1994). Dříve byly považovány za odpadní produkty, evoluční pozůstatky bez větších funkcí, nebo jako pouhé, toxické metabolity a produkty. V posledních deseti letech se ale začaly považovat za velmi zajímavé látky z hlediska jejich biologické aktivity. Mnoho flavonoidů vykazuje farmakologické účinky, které působí pozitivně na lidské zdraví, a proto se začali používat ve zdravotnictví (PAR et BOLWELL 2000).

Pro rostliny jsou flavonoidy velmi důležité z hlediska ochrany proti stresu, environmentálním faktorům, ale i jako atraktanty nebo odstrašující prostředky. Všeobecně hrají důležitou roli v rostlinné rezistenci (TREUTTER 2006).

Schopnost flavonoidů působit jako antioxidanty závisí na jejich molekulární struktuře. Pro jejich antioxidační schopnosti a schopnosti zachycovat volné radikály je důležitá pozice hydroxylových skupin a další vlastnosti v chemické struktuře. Silným antioxidantem je například kvercetin, nejhojnější dietetický flavonol, protože má všechny správné strukturní rysy pro zachycování volných radikálů (RAI et AGRAWAL 2017).

Flavonoidy, které souvisejí s obranou organismu, dělíme na dvě skupiny „preformed a induced.“ Indukované sloučeniny syntetizuje rostlina jako odpověď na fyzické zranění, infekci nebo stres. Mohou být konstitutivně syntetizovány, ale jejich biosyntéza je často zvýšena pod vlivem některého ze stresu. Nebo se mohou vyskytnout jako tzv. fytoalexiny pouze po infekci nebo stresu (SCHLÖSSER 1994).

Preformed flavonoidy jsou sloučeniny, které jsou syntetizovány během normálního vývoje rostlinné tkáně. Tyto preformované flavonoidy jsou často skladovány na strategicky důležitých místech, kde mohou hrát významnou roli při obraně. Příkladem toho je akumulace flavonoidů absorbujících UV záření v epidermálních buňkách (FEUCHT et al. 2004).

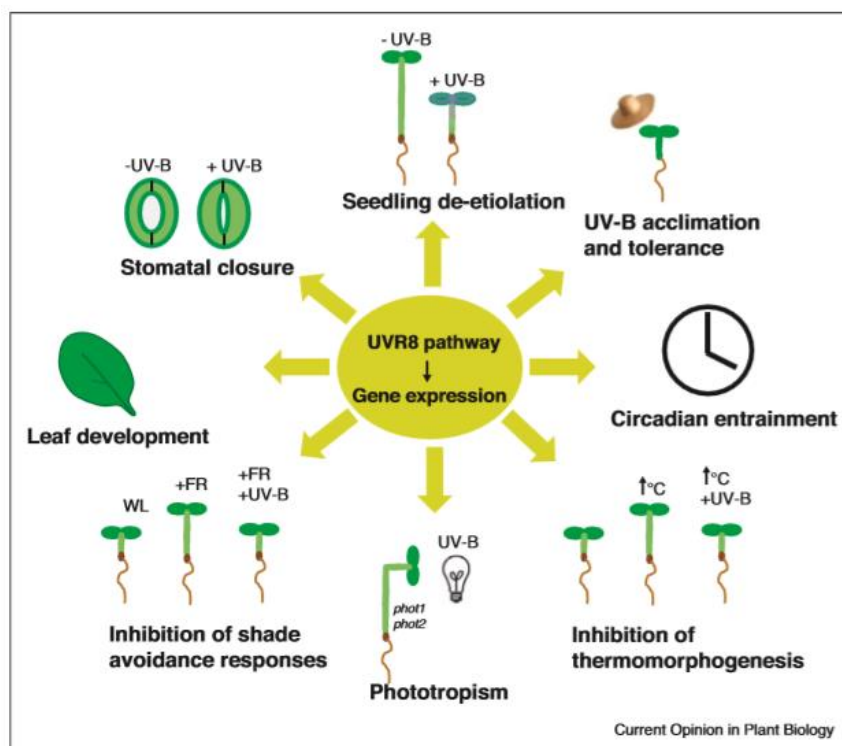
Důkaz o tom, že flavonoidy poskytují ochranu před UV-B zářením jsou uvedeny v publikacích od REUBER et al. (1996), SHIRLEY (1996) nebo ROZEMA et al. (1997). Epidermální flavonoidy, které absorbují UV záření, chrání vnitřní tkáně listů a stonků. Flavonoidy jsou potenciální vychytávači ROS, a tak chrání buňky rostlin před peroxidací membrány, nebo poskytují antioxidační ochranu při nadbytku světla. Kromě akumulace flavonoidů se rostliny aklimatizují na zvýšené UV-B i změnami v architektuře. JANSEN (2000) mezi tyto změny zahrnuje tloušťku listů, kroucení dělohy, inhibice prodlužování stonku, axilární větvení, změny v poměru kořen: výhonek a zvýšení počtu květů.

3.4 Ochrana rostlin vůči UV-B

Aby se snížil dopad vzniku ROS a opravily se škody způsobené UV-B zářením, vyvinuly si rostliny několik strategií. Protektivní mechanismus na buněčné úrovni zahrnuje akumulaci povrchových vosků, trichomů a také akumulaci fenolických sloučenin, které snižují pronikání UV-B do dalších vrstev buněk. Na biochemické úrovni jsou škody opravovány působením antioxidantů, jako jsou superoxid dismutáza, askorbát peroxidáza, glutathion

reduktáza a guaiacol peroxidáza. Ochranné reakce vznikající na cytologické úrovni zahrnují sadu opravných komplexů, mezi které patří fotoreaktivace, nebo opravy vyřezáváním a rekombinacemi DNA. Fotoreaktivace pomocí UV-A a modrého světla způsobuje monomerizaci dimerů fotolyázou, která pomocí světelné energie ruší vazby mezi cyklobutanovými kruhy, čímž se obnovuje základní integrita. Zatímco vyřezávání se provádí endonukleolytickým štěpením, kterým se uvolní nukleotidy poškozené UV-B zářením, a potom se řetězec resyntetizuje. Tyto protektivní odpovědi, ať už na buněčné nebo biochemické úrovni, jsou iniciovány pouze pod UV-B zářením (PARIHAL et al. 2015).

Za aklimatizaci a toleranci rostliny k UV-B záření je z velké části zodpovědný UVR8 fotoreceptor, který způsobuje inhibici hypokotylového růstu, akumulaci flavonoidů a antokyanů a změny v genové expresi a akumulaci proteinů. UV-B aklimatizace může být spojována s UVR8 aktivací genové exprese, která způsobuje biosyntézu flavonoidů, opravy DNA a ochranu proti oxidativnímu stresu a fotoinhibici. Dále ovlivňuje cirkadiální hodiny, fototropismus, inhibuje kroucení listů a otevírá průduchy. Kromě toho, UV-B signalizace zprostředkovaná UVR8 fotoreceptorem ovlivňuje obranné reakce, vývoj listů, toleranci solného stresu, termomorfoogenezi a signalizaci auxinu (viz. obr. 18) (YIN et ULM 2017).



Obr. 18: Vybrané fyziologické role zprostředkované UVR8 fotoreceptorem; (YIN et ULM 2017).

3.5 Vliv UV-B záření na hospodářsky významné plodiny

Jedním z hlavních zájmů při zkoumání vlivu UV-B záření na rostliny je potenciální vliv na globální zemědělství. Zvýšení úrovně UV-B záření vede ke škodlivým účinkům na fotosyntézu a produktivitu plodin v širokém geografickém rozsahu. Většina studií vlivu UV-B je tedy prováděna na ekonomicky významných plodinách. KAKANI et al. (2003) sepsali článek, kde zhodnotili 125 studií, které se zabývají vlivem UV-B záření na celkem 35 zemědělsky významných plodin.

Výzkumy vlivu UV-B záření na hospodářsky významné plodiny se zaměřuje jak na negativní, tak na pozitivní stránky působení. Za negativní stránky se považuje úbytek biomasy a celkového výnosu zemědělských plodin. Zatímco pozitivní stránka UV-B ozáření by mohla být v akumulaci sekundárních metabolitů, a to z hlediska využití těchto látek v potravinářství nebo farmakologii.

Vliv UV-B záření na růst a vývoj plodin řeší mnoho studií (příloha 2). Celkově UV-B záření snižuje rychlost prodlužování hlavní větve, a to způsobuje malý vzrůst rostliny. Bylo prokázáno, že snížená výška rostliny je způsobena zkrácením internodií, nikoliv snížením počtu nodů (LI et al. 1998). Další faktor, který ovlivňuje výšku rostliny je hladina fytohormonů, a to především kyselina indol-3-octová (IAA,) která hraje důležitou roli v prodlužování stonku. Několik studií ukázalo, že expozice UV-B záření způsobuje rozpad IAA, což následně ovlivní celkovou výšku rostliny (VANHAELEWYN et al. 2016). Dalším důležitým parametrem, který je ovlivněn UV-B zářením je plocha listů (příloha 2). Při většině experimentálních podmínek byla plocha listů snížena, a to z důvodů snížení počtu i velikosti listů. Snížení plochy bylo způsobeno snížením počtu buněk z důvodu redukce produkce i expanze listových buněk (ZHAO et al. 2003). Vědci se domnívají, že snížení plochy listů je považováno za ochranu rostlin proti zvýšenému UV-B záření. Snížení velikosti rostliny a počtu listů může ovlivnit množství asimilátů, což se projevuje na celkovém výnosu rostliny (KAKANI et al. 2003)

Dalším problémem je úbytek množství chlorofylu, který byl prokázán u většiny rostlin, které byly testované při nadměrném ozáření (příloha 3). Ačkoli se každá rostlina s UV-B zářením a udržením chlorofylu vypořádává jinak, u všech zkoumaných rostlin byl zaznamenán jeho úbytek při nejmenším o 10 % a u některých rostlin dosahoval až 70 %. Nejvíce jsou úbytkem obsahu chlorofylu poznamenány dvouděložné rostliny jako sója, fazole nebo hrách. U jednoděložných rostlin byl úbytek chlorofylu nanejvýš o 33 %, což může být způsobeno tím, že rovné listy s vertikální orientací jednoděložných jsou méně

vystaveny přímému záření než širší listy dvouděložných rostlin s horizontální orientací (KAKANI et al. 2003).

V příloze 4 je znázorněn efekt UV-B záření na fotosyntézu. Výzkumy ukázali, že snížení fotosyntézy bylo pozorováno především u rostlin testovaných při zvýšeném ozáření v růstových komorách nebo ve sklenících, na rozdíl od rostlin testovaných v polních podmínkách. Hlavním důvodem snížení fotosyntézy v růstových komorách a sklenících je nízká hladina PAR nebo nízký poměr PAR k UV-B. Fotosyntézu dále snižuje redukce obsahu a aktivity enzymu Rubisco, nebo zavírání průduchů (KAKANI et al. 2003).

Jedním z hlavních problémů, řešených ve studiích je vliv UV-B na biomasu. Do roku 2002 se provedlo nad 40 studií u 23 plodin. U 54 % plodin bylo zaznamenáno snížení biomasy, u 35 % rostlin nemělo UV-B záření na biomasu vliv a u 5 % rostlin UV-B záření dokonce zvýšilo biomasu (příloha 2). Všeobecně lze říci, že vliv zvýšeného UV-B záření na růst rostlin a akumulaci biomasy v polních podmínkách byl obvykle mnohem menší, než vliv UV-B v růstových komorách a sklenících (KAKANI et al. 2003).

Z hlediska zemědělství je nejdůležitější studie vlivu UV-B záření na výtěžek a kvalitu plodin. Zvýšené UV-B záření způsobuje změny v reprodukčních a květních orgánech, čím může ovlivnit celý reprodukční proces, a nakonec i finální podobu plodu. Několik studií ukazuje, že UV-B záření způsobuje inhibici klíčení pylu, avšak ještě ve větším množství inhibuje růst pylové láčky. Pylová láčka u plodin jako kukuřice, rýže a tabák byla snížena o 10-25 %, což je problém z hlediska oplodnění a schopnosti tvorby plodů. V příloze 1 je zaznamenán výnos plodů pod zvýšeným ozářením UV-B v podmínkách skleníku i na poli. Téměř polovina těchto studií ukazuje snížení výnosu, druhá polovina neukazuje žádný efekt na zvýšené UV-B záření a pár studií zaznamenalo zvýšení výnosu (KAKANI et al. 2003)

Finální výnos a množství biomasy ale závisí na všech parametrech ovlivněných UV-B zářením dohromady. Zvýšené UV-B záření ovlivnilo růst plodin, přímo prostřednictvím několika efektů prvního řádu, mezi které patří fotosyntéza (fotosystémy, tylakoidy a membránová integrita gran) a fotomorfologický systém (snížení vegetativního růstu, nadreprodukce ochranných látek). Primární efekty vedou k nesčetným sekundárním a terciálním vlivům, které vedou ke změně růstu a vývoje rostlin. Snížení obsahu chlorofylu, redukce fotosyntetické aktivity, snížená plocha listů i vznik a udržení plodů, to jsou faktory, které ovlivňují výnos a kvalitu plodin (KAKANI et al. 2003).

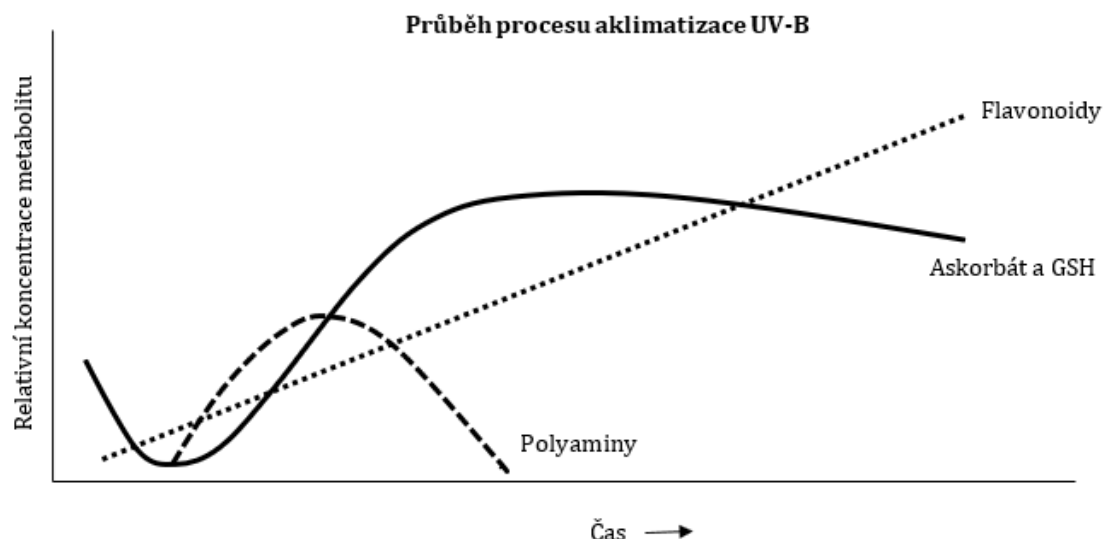
V posledních letech je často předmětem výzkumu vlivu UV-B záření, zvýšená akumulace sekundárních metabolitů. Sekundární metabolity, jako jsou fenoly a flavonoidy, se

většinou tvoří v epidermálních buňkách a zamezují průniku UV-B do hlubších vrstev listu (SLOVÁKOVÁ et MISTRÍK 2007). V zemědělsky významných plodinách, dochází dle výzkumů sepsaných v příloze 3, k nárůstu UV-B absorbujících látek o 10-300 %. Dále z výzkumu vyplývá, že zvýšení absorbujících látek v listech nastává, když rostliny rostou v prostředí, kde je relativně nízký poměr PAR/UV-B. Vysoká dávka PAR totiž umožňuje rostlinám kompenzovat některé účinky způsobené UV-B zářením (KAKANI et al. 2003).

Ošetření ultrafialovým zářením bylo navrženo jako kultivační opatření pro zvýšení hladin tokoferolů a flavonoidů v rostlinných plodinách, protože oba tyto metabolity mají žádoucí nutriční a farmakologické vlastnosti. To vyvolává otázku, zda plodiny aklimatizované na UV-B záření, mají pro člověka větší nutriční a farmaceutické přínosy (JANSEN et al. 2008).

JANSEN et al. (2008) sepsali z provedených výzkumů článek o užitku rostlin aklimatizovaných na UV-B záření z hlediska akumulace sekundárních metabolitů, jako antioxidantních látek užitečných v potravinářství a farmakologii. Tak jako u všech výzkumů týkajících se UV-B záření a jeho dopadu na rostliny, je studium akumulace sekundárních metabolitů pod UV-B zářením závislá na rostlinném druhu, vývojové fázi, velikosti stresu a experimentálních podmínkách. Na základě informací z provedených výzkumů bylo vytvořeno pět, nikoli se vzájemně vylučujících skupin metabolitů, v závislosti na jejich indukci UV-B zářením (obr. 19).

Do první skupiny patří látky, jejichž hladiny se zvyšují se zvyšující se hladinou UV-B záření, například flavonoidy. Ve druhé skupině jsou metabolity, jejichž hladiny jsou spojeny s vážným stresem vyvolaným UV-B zářením, jako nikotinamid a trigonellin. Třetí skupina zahrnuje metabolity, které se akumulují přechodně během UV-B aklimatizačního procesu (polyaminy a kyselina ferulová). Do čtvrté skupiny spadají metabolity s antioxidantními vlastnostmi, jejichž hladiny klesají při krátkodobém, náhlém působení UV-B, ale zvyšují se při aklimatizaci rostlin na dlouhodobé UV-B, například askorbát, glutation, tokoferoly a karotenoidy. Do poslední, páté skupiny patří metabolity, které dosahují nejvyšší hladiny při mírných dávkách UV-B a naopak, podstatně nižší hladiny při nízkých a vysokých UV-B dávkách (rutin, glycyrrhizin) (JANSEN et al. 2008).



Obr. 19: Model, ukazující změnu koncentrace metabolitů, která nastává v rostlinách během procesu UV-B aklimatizace. Hladiny askorbátu a glutathionu se při vystavení náhlému UV-B stresu nejprve snižují, přičemž rozsah tohoto poklesu závisí na závažnosti oxidačního stresu. Po počátečním poklesu se hladiny antioxidantů u rostlin aklimatizovaných na chronické UV-B podmínky zvyšují. Polyaminy se přechodně akumulují během časných fází aklimatizačního procesu, zatímco hladiny flavonoidů se postupně zvyšují během UV-B aklimatizace; (Jansen et al. 2008).

Je tedy zřejmé, že metabolické změny vyvolané stresem jsou velmi složité. Reakce jsou specifické pro jednotlivé druhy a závisí na vystavení stresu i na dalších parametrech prostředí. Jakékoli zvýšení akumulace nutričně žádoucího rostlinného metabolitu, by mělo být vnímáno v kontextu paralelně se měnících různých sloučenin. Proto je třeba zpochybnit platnost jakéhokoli závěru o potenciálních nutričních a farmaceutických výhodách, pokud je rostlinný materiál založen na měření jednoho metabolitu. Potravinové doplňky a nutraceutika nepodléhají tak přísným podmínkám a testům jako botanická léčiva, a proto při vystavení stresu působí s ohledem na nutriční nebo farmaceutickou účinnost nepředvídatelně. V současné době není potvrzené, zda mají UV-B aklimatizované rostliny nutriční nebo farmakologický přínos. Je tedy potřeba mnohem více a detailnějších studií, aby se tyto přínosy objasnily (JANSEN et al. 2008).

Závěr

Z provedených výzkumů a sepsaných článků na téma vliv UV-B záření na rostliny je zřejmé, že zvýšené ozáření rostlin v různých experimentálních podmínkách způsobuje morfologické, fyziologické i biochemické změny. Mezi změny v morfologii rostlin se řadí: redukce rostlinné výšky a listové plochy, zvýšené axilární větvení, kroucení listů, hnědnutí listů, chlorotické a nekrotické skvrny, zpožděný vznik semenáčků a květů nebo pozdější dozrávání plodů některých rostlin. Bylo prokázáno, že některé změny způsobené v morfologii rostlin jsou následkem změn metabolismů hormonů. Z výzkumů je také zřejmé, že jednoděložné rostliny jsou méně citlivé na UV-B záření než dvouděložné rostliny.

Fyziologické změny indukované větším ozářením UV-B jsou redukce fotosyntetické aktivity, zejména z důvodů destrukce chlorofylů a karotenoidů, degradace proteinů PSII, snížení aktivity enzymu Rubisco a změn v otevírání průduchů. Vysoké hladiny UV-B indukují vznik ROS, které způsobují oxidaci lipidů a proteinů, peroxidaci proteinů a poškození DNA.

Vlivem UV-B se v pletivech rostlin syntetizují a akumulují flavonoidy, fenoly a další sekundární metabolity, které slouží jako ochrana před zvýšeným ozářením a jako antioxidanty vychytávající ROS. Budoucím předmětem výzkumu bude objasnit, za jakých podmínek se bude moct využít UV-B záření ke zvýšení sekundárních metabolitů, které by mohli mít pozitivní účinek na lidské zdraví.

Na molekulární úrovni zvýšené hladiny UV-B způsobují sníženou regulaci fotosyntetických genů, stimulaci homologních rekombinací a fototransformací DNA, které vedou ke vzniku cyklobutanových pyrimidin dimerů a pyrimidin (6-4) pyrimidinových dimerů (6-4 PP).

Podle mnoha vědců je ale většina výzkumů vlivu UV-B záření na rostliny prováděna za velmi extrémních podmínek, které v přírodě nikdy nemůžou nastat. BALLARÉ et al. (2011) se domnívají, že stres vyvolaný UV-B je navzdory závažné environmentální situaci zmíněné v mnoha publikovaných studiích, vzácnou událostí. V průběhu posledního desetiletí se proto výzkum vlivu UV-B záření na rostliny setkal s velkým posunem paradigmatu. Dnes se více než stres způsobený vysokými dávkami UV-B a signalizace vyvolaná stresem, řeší regulační mechanismy, vyvolané velmi nízkými UV-B dávkami a zprostředkované pomocí fotoreceptoru UVR8 (JANSEN et BORNMAN 2012; JENKINS 2009).

Nedávné výzkumy při realistických experimentálních podmínkách prokázaly, že poškození ve spojení s UV-B v přirozeném prostředí je spíše výjimka. Díky Montreálskému protokolu,

ve kterém se téměř 200 států zaručilo, že nebude používat látky poškozující ozonovou vrstvu, se ozonová vrstva dostává postupně do původního stavu. Není potřeba mít tedy obavy z neúrody, nebo ztráty kvality plodin z důvodu zvýšeného UV-B záření, při pěstování plodin za běžných environmentálních podmínek, protože UV-B záření indukuje eustres, který vede k aklimatizaci rostliny, a distres je v podmínkách přírodního ozáření velmi pozoruhodným úkazem.

Na druhou stranu výzkumy v extrémních UV-B podmínkách pomohly vědcům pochopit některé fyziologické procesy, které při UV-aklimatizaci v rostlinách probíhají.

Seznam použité literatury

- ABUJA P. M. et ALBETINI R., 2001: Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clinica Chimica Acta*, 306: 1–17.
- APEL K. et HIRT H., 2004: Reactive Oxygen Species: Metabolism, Oxidative Stress, and Signal Transduction. *Annual Review of Plant Biology*, 55: 373–399.
- BALLARÉ C. L., CALDWELL M. M., FLINT S. D., ROBINSON S. A. et BORNMAN J. F., 2011: Effects of solar ultraviolet radiation on terrestrial ecosystems. Patterns, mechanisms, and interactions with climate change. *Photochemical and Photobiological Sciences*, 10: 226–241.
- BROWN B. A., CLOIX C., JIANG G. H., KAISERLI E., HERZYK P., KLIEBENSTEIN D. J. et JENKINS I., 2005: A specific UV-B-signaling component orchestrates plant UV protection, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102 (50): 18225–18230.
- CASADEVALL R., RODRIGUEZ R. E., DEBERNARDI J. M., PALATNIK J. F. et CASATI P., 2013: Repression of growth regulating factors by the MicroRNA369 inhibits cell proliferation by UV-B radiation in *Arabidopsis* Leaves. *The Plant Cell*, 25 (9): 3570–3583.
- CASATI P. et WALBOT V., 2003: Gene expression profiling in response to ultraviolet radiation in maize genotypes with varying flavonoid content. *Plant Physiology*, 123: 1739–1754.
- CHATTERJEE N. et WALKER G. C., 2017: Mechanisms of DNA Damage, Repair, and Mutagenesis. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 00: 00–00.
- CHUA Y. L., DUFOUR E., DASSA E. P., RUSTIN P., JACOBS H. T., TAYLOR C. T. et HAGEN T. 2010: Stabilization of Hypoxia-inducible Factor-1 Protein in Hypoxia Occurs Independently of Mitochondrial Reactive Oxygen Species Production. *The Journal of Biological Chemistry*, 285: 31277–31284.
- EICHHORN M., DOEHLER G. et AUGSTEN H., 1993: Impact of UV-B radiation on photosynthetic electron transport of *Wolffia arrhiza* (L.) Wimm. *Photosynthetica*, 29: 613–618.
- FINA J., CASADEVALL R., ABDELGAWAD H., PRINSEN E., MARKAKIS M. N., BEEMSTER G. T. S. et CASATI P., 2017: UV-B inhibits leaf growth through changes in growth regulating factors and gibberellin levels. *Plant Physiology*, 174: 1110–1126.
- FREUCHT W., TREUTTER D. et POLSTER J., 2004: Flavanol binding of nuclei from tree species. *Plant Cells Reports* 22: 430–436.
- HARBORNE J. B., 1994: Plant polyphenols and their role in plant defence mechanismus.– In: Brouillard R., Jay M., Scalbert A. [eds], *Polyphenols*, 94: 19–26.
- HEIJDE M. et ULM R., 2012: UV-B photoreceptor-mediated signalling in plants. *Trends in Plant Science*, 17: 230–237.
- HIDEG É., JANSEN M. A.K. et STRID Å., 2013: UV-B exposure, ROS, and stress: inseparable companions or loosely linked associates? *Trends in Plant Science*, 18 (2): 107–115.

- HOLLOSY F., 2002: Effects of ultraviolet radiation on plant cells. *Micron*, 33: 179–197.
- HOPE A. B., 1993: The chloroplast cytochrome b6 complex: a critical focus on function. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1143: 1-22.
- HUANG J., TANG X. X., LIU T. et LI Y.Q., 2002: Alteration of activated oxygen and antioxidant system in kelp during alginic acid decomposing bacteria infection. *Journal of Ocean University of Qingdao*, 32: 574–752.
- IHLE C., 1997: Degradation and release from the thylakoid membrane of Photosystem II subunits after UV-B irradiation of the liverwort *Conocephalum conisum*. *Photosynthesis Research*, 54: 73–78.
- JANSEN M. A. K., 2002: Ultraviolet-B radiation effects on plant: induction of morphogenic responses. *Plant Physiology*, 116: 423–429.
- JANSEN M. A. K. et BORNMAN J. F., 2012: UV-B radiation: from generic stressor to specific regulator. *Physiologia Plantarum*, 145: 501–504.
- JANSEN M. A. K., GABA V. et GREENBERG B. M., 1998: Higher plants and UV-B radiation: balancing damage, repair and acclimation. *Trends in Plant Science*, 3 (4): 131–135.
- JENKINS G. I., 2009: Signal transduction in responses to UV-B radiation. *Annual Review of Plant Biology*, 60: 407–431.
- JORDAN B. R., 2002: Molecular response of plant cells to UV-B stress. *Functional Plant Biology*, 29 (8): 909–916.
- KAKANI V. G., REDDY K. R., ZHAO D. et SAILAJA K., 2003: Field crop responses to ultraviolet-B radiation: a review. *Agricultural and Forest Meteorology*, 120: 191–218.
- KATARIA S., JAJOO A. et GURUPRASAD K. N., 2014: Impact of increasing Ultraviolet-B (UV-B) radiation on photosynthetic processes. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 137: 55-66.
- KIM B. C., TENNESSEN D. J. et LAST R. L., 1998: UV-B induced photomorphogenesis in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal*, 15 (5): 667–674.
- LI Y., YUE M. et WANG X. L., 1998: Effects of enhanced ultraviolet-B radiation on crop structure, growth and yield components of spring wheat under field conditions. *Field Crops Research*, 57: 253–263.
- LINDON F. J. C., REBOREDO F. H., LETÃO A. E., SILVA M. M. A., DUARTE M. P. et RAMALHO J. C., 2012: Impact of UV-B radiation on photosynthesis – an overview. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 24 (6): 546–556.
- LINDON F. J. C., TEIXEIRA M. et RAMALHO J. C., 2011: Decay of the chloroplast pool of ascorbate switches on the oxidative burst in UV-B-irradiated rice. *Journal of Agriculture and Crop Science*, 198 (2): 130–144.

- MACKERNES S. A. H., 2000: Plant responses to ultraviolet-B (UV-B: 280–320 nm) stress: What are the key regulators? *Plant Growth Regulation*, 32: 27–39.
- MADRONICH S., MCKENZIE R.L., BJÖRN L.O. et CALDWELL M. M., 1998: Changes in biologically active ultraviolet radiation reaching the Earth's surface. *Journal of photochemistry and photobiology B: Biology* 94: 5–19.
- MARWOOD C. A. et GREENBERG B. M., 1996: Effect of supplementary UVB radiation on chlorophyll systems during chloroplast development in *Spirodela oligarrhiza*. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 64: 664–670.
- NOCTOR G., MHAMDI A., CHAOUCH S., HAN Y., NEUKERMANS J., MARQUEZ-GARCIA B., QUEVAL G. et FOYER C., 2012: Glutathione in plants: an integrated overview. *Plant, Cell and Environment*, 35: 454–484.
- NOGUES S., ALLEN D. J., MORISON J. I. L. et BAKER N. R., 1999: Characterization of stomatal closure caused by ultraviolet-B radiation. *Plant Physiology*, 121: 489–496.
- PARIHAR P., SINGH S., SINGH R., SINGH V. P. et PRASAD S. M., 2015: Changing scenario in plant UV-B research: UV-B from a generic stressor to a specific regulator. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 153: 334–343.
- PARR A. J. et BOLWELL G. P., 2000: Phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80: 985–1012.
- PITERKOVÁ J., TOMÁNKOVÁ K., LUHOVÁ L., PETŘIVALSKÝ J. et PEČ P., 2005: Oxidativní stres: lokalizace tvorby aktivních forem kyslíku a jejich degradace v rostlinném organismu. *Chemické listy*, 99: 455–466.
- RAI K. et AGRAWAL S. B., 2017: Effect of UV-B radiation on morphological, physiological and biochemical aspects of plants: an overview. *Journal of Scientific Research*, 61: 87–113.
- REUBER S., BORNMAN J. F. et WEISSENBOCK G., 1996: Phenylpropanoid compounds in primary leaf tissues of rye (*secale cereale*). Light response of their metabolism and the possible role in UV-B protection. *Plant Physiology* 97:160–168.
- RIZZINI L. et al., 2011: Perception of UV-B by the Arabidopsis UVR8 protein. *Science*, 332: 103–106.
- ROBSON T. M., KLEM K., URBAN O. et JANSEN M. A. K., 2015: Re-interpreting plant morphological responses to UV-B radiation. *Plant, Cell and Environment*, 38: 856–866.
- RODRIGUES G. C., JANSEN M. A. K., VAN DEN NOORT M. E. et VAN RENSEN J. J. S., 2006: Evidence for the semireduced primary quinone electron acceptor of photosystem II being a photosensitizer for UV-B damage to the photosynthetic apparatus. *Plant Science*, 170: 283–290.
- ROZEMA J., VANDESTAAIJ J., BJÖRN L. O. et CALDWELL M., 1997: UV-B as an environmental factor in plant life: stress and regulation. *Tree*, 12: 22–28.

- SANG M., MA F., XIE J., CHEN B. X., WANG KE-BIN, QIN XIAO-CHUN, WANG WEN-DA, ZHAO J., LI L., ZHANG J. et KUANG T., 2010: High-light induced singlet oxygen formation in cytochrome b6F complex from *Bryopsis corticulans* as detected by EPR spectroscopy. *Biophysical Chemistry*, 164: 7–12.
- SASS L., SPTEA C., MATE Z., NAGY F. et VASS I., 1997: Repair of UV-B induced damage of photosystem II via *de novo* synthesis of the D1 and D2 reaction centre subunits in *Synechocystis* sp. PCC 6803, *Photosynthesis Research*, 54: 55–62.
- SCHLÖSSER E., 1994: Preformed phenols as resistance factors.– In: Geibel M., Treutter D., Freucht W. [eds], *International symposium on natural phenols in plant resistance*. *Acta Horticulturae*, 381: 615–630.
- SHIRLEY B. W., 1996: Flavonoid biosynthesis: new function for an old pathway. *Trends in Plant science*, 1: 377–382.
- SLOVÁKOVÁ L. et MISTRÍK I. 2007: *Fyziologické procesy rastlín v podmienkach stresu*. Univerzita Komenského v Bratislave. Vydavateľstve UK. ISBN 978-80-223-2322-2.
- TAKAHASHI S., MILWARD S. E., YAMORI W., EVANS J. R., HILLIER W. et BADGER M. R., 2010: The solar action spectrum of photosystem II damage. *Plant Physiology*, 153: 988–993.
- TREUTTER D., 2006: Significance of flavonoids in plant resistance: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 4: 147–157.
- ULM R. et JENKINS G., 2015: Q&A: How do plants sense and respond to UV-B radiation? *BMC Biology*, 13, 45.
- Vanhaelewyn L., Prinsen E., Van Der Straeten D. et Vandenbussche F., 2016: Hormone-controlled UV-B responses in plants. *Journal of Experimental Botany*, 67: 15.
- VAN RENDES J. J. S., VREDENBERG W. J. at RODRIGUES G. C., 2007: Time sequence of the damage to the acceptor and donor sides of photosystem II by UV-B radiation as evaluated by chlorophyll a fluorescence. *Photosynthesis Research*, 94: 291–297.
- VASS I., KIRILOVSKY D. et ETIENNE A. L., 1999: UV-B radiation-induced donor and akceptor side modification of photosystem II in the Cyanobacterium *Synechocystis* sp. *Biochemistry* 38, PCC 6803, 12786–12794.
- WANG S., XIE B., YIN L., DUAN L., LI Z., ENEJI A. E., TSUJI W. et TSUNEKAWA A., 2010: Increased UV-B radiation affects the viability, reactive oxygen species accumulation and antioxidant Enzyme Activities in Maize (*Zea mays* L.). *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 86: 110–116.
- YIN R. et ULM R., 2017: How plants cope with UV-B: from perception to response. *Current Opinion in Plant Biology*, 37: 42-44.
- ZHAO D., REDDY K.R., KAKANI V.G., REED J. et SULLIVAN J., 2003: Growth and physiological responses of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) to elevated carbon dioxide and ultraviolet-B radiation under controlled environment conditions. *Plant, Cell & Environment*, 26: 771–782.

ZUK-GOLASZEWSKA K., UPADHYAYA M. K. et GOLASZEWSKI J., 2003: The effect of UV-B radiation on plant growth and development. *Plant Soil and Environment*, 49 (3): 135–140.

Přílohy

Příloha 1: Vliv UV-B záření na ekonomický výtěžek plodin; převzato a upraveno dle KAKANI et al. (2003)

Plodina	UV-B _{BE} (kJ m ⁻² za den)	Simulující vyčerpání O ₃ (%)	PAR (μmol m ⁻² s ⁻¹)	Experiment. podmínky	Výnos
Bavlník	A+3,5; 13,2	?	A	F	↓
	A+11,5; 22	?	A	F	↓
Bob obecný	13,4-63,3	10	A	F	-
Brambory	130% A	?	A	F	-
Brukev řepka	?	15-32	?	?	-
Hrášek	?	15	A	F	↓
	Modulovaný	15	A	F	-
Ječmen	Modulovaný	15	A	F	-
	0; A	?	A	F	↓ (17-31)
	130% A	?	A	F	-
Keříčkové fazole	A; 92% A	?	?	GH	↑
	A; 92% A	4.V	~A	GH	CD
Kukuřice	7,38	?	700	GC	↓
	A+3,16	20	A	F	↓ (22-33)
Len setý	?	?	A	?	↑
	?	?	A	?	↓
Maniok jedlý	A+5,5	15	A	F	↓ (32)
Mungo fazole	A+10,08	15	A	F	↓ (76)
Oves	?	15	A	F	↓
	130% A	?	A	F	-
Píce	133; 166% A	?	A nebo ~A	F, GH	↑
	?	25	A	F	-
	130% A	?	A	F	-
Pšenice	8,8; 15,6	A;10	1400-1700 (MD)	GH	-
	A+13,4-63,3	10	A	F	↓ (43)
	A+2,5; 4,3; 5,3	12; 20; 25	~A	F	↑
	?	15	A	F	-
	A+ 5	20	A	F	CD
Rýže	130% A	?	A	F	-
	8,8; 15,6	A; 10	1400-1700 (MD)	GH	-
	3,8-6,5	27-38	A	F	-
	A+6,5	20	A	F	-
Sója	?	?	A	F	↓
	10,1	16	A; ~A	F, GH	CD (-41-46)
	132% A	16	A	F	-
	A+3; A+5	16; 25	A	F	↓ (-16-32)
	8,8; 15,6	A; 10	1400-1700 (MD)	GH	-
	13,6	25	1200 (MD)	GH	CD (0-37)
	2,5-9,3	4; 20,, 32; 35; 37	A	OTC	-

Hodnoty v závorce indikují procentuální změny. A: okolní prostředí; CD: závislí na kultivaru; F: pole; GC: růstová komora; GH: skleník; CE: řízené klimatizační komory; SC: sluneční komory; MD: poledne; OTC: otevřené komory; ?: nedostupné informace. ↓, ↑, - představují klesání, stoupání, neovlivnění parametru pod zvýšeným UV-B, respektive v porovnání s kontrolou.

Příloha 2: Vliv UV-B záření na výšku rostlin, plochu listů a biomasu v plodinách; převzato a upraveno dle KAKANI et al. (2003)

Plodina	UV-B _{BE} (kJ m ⁻² za den)	Simulující vyčerpání O ₃ (%)	PAR (μmol m ⁻² s ⁻¹)	Experiment. podmínky	Výška rostliny	Plocha listů	Biomasa
Bavlník	17,5	?	?	GC	?	↓ (49-90)	↓ (68-70)
	A+11,5; 22	?	A	F	↓	↓	↓
	8	A, 15	~A	SC	-	-	-
	15	30	~A	SC	↓ (44)	↓ (50)	↓ (49)
Bob obecný	13,4-63,3	10	A	F	↑ (35)	↑ (20)	↑ (14)
Hořčice	11,02	15	A	F	↓	↓	↓
Hrášek	?	15	A	F	↓	?	↓
	6,5	20	850-950	GH	↓ (30-38)	↓ (20-30)	↓ (25)
	2,3-9,2	A-45	850-950	GC	↓ (25)	↓ (30)	↓ (6-30)
	130% A	18	A	F	-	-	-
	32	?	500	GH	?	↓	↓
Ječmen	8,84; 13,56	5,25	800-1000	GC	-	-	-
	0; A	?	A	F	?	?	↓ (20-32)
	130% A	?	A	F	-	?	-
Keříčkové fazole	0,25-1,66	?	50; 100; 250	GC	↓ (0-12)	↓ (0-15)	↓ (11-32)
	A; 92% A	4-5	~A	GH	↓	↓	CD
Kukuřice	5,4	50	400	GC	↓ (12)	?	↓ (17)
	125% A	15	?	GC	↓	↓	↓
	75	?	700	GC	↓ (25)	↓ (42)	?
	130% A	?	~A	GH	↓	↓	↓
	A+18,7	?	A	F	-	↓ (14)	↓ (21)
	A+3,16	20	A	F	?	?	↓ (30)
Maniok jedlý	A+5,5	15	A	F	-	↓ (18)	-
Mungo fazole	A+10,08	15	A	F	↓ (20)	↓ (33)	↓ (60)
	11,02	15	A	F	↓ (18)	↓ (18)	↓ (15)
Oves	5,4	50	400	GC	↓ (35)	?	↓ (21)
	125% A	15	?	GC	-	-	-
	130% A	?	A	F	-	?	-
Podzemnice olejná	5,4	50	400	GC	↓ (22)	?	-
Pšenice	13,4-63,3	10	A	F	↑ (10)	↑ (12)	↑ (11)
	A+2,5; 4,3; 5,3	12; 20; 25	~A	F	↓ (7-16)	↓ (45)	↓ (37)
	130% A	?	A	F	-	-	-

Příloha 2 (pokračování)

Plodina	UV-B _{BE} (kJ m ⁻² za den)	Simulující vyčerpání O ₃ (%)	PAR (μmol m ⁻² s ⁻¹)	Experiment. podmínky	Výška rostliny	Plocha listů	Biomasa
Rýže	5,4	50	400	GC	↓ (9)	?	↓ (39)
	19	?	?	GH	↓	↓	↓
	10,3	5	~974	GH	↓ (7)	↓ (12)	↓ (5)
	0,8-22,1	?	A	F	-	?	-
	13	?	940	GH	↓ (-2-32)	↓ (-30-34)	↓ (-32-35)
	3,8-6,5	27-38	A	F	-	-	-
	A+6,5	20	940	GH	-	?	-
Slunečnice	125% A	15	?	GC	↓	↓	↓
	130% A	?	~A	GC	↓	↓	↓
Sója	136	25	1200	GH	↓ (19)	↓ (20)	↓ (17)
Vigna čínská	A+1,8	16	A	F	↑	↑	↑
	A+2,2	20	A	F	-	-	-
Žito	5,4	50	400	GC	↓ (26)	?	-
	125% A	15	?	GC	↓	↓	↓

Hodnoty v závorce indikují procentuální změny. A: okolní prostředí; CD: závislí na kultivaru; F: pole, GC: růstová komora; GH: skleník; CE: řízené klimatizační komory; SC: sluneční komory; MD: poledne; OTC: otevřené komory; ?: nedostupné informace. ↓, ↑, - představují klesání, stoupání, neovlivnění parametru pod zvýšeným UV-B, respektive v porovnání s kontrolou.

Příloha 3: Vliv UV-B záření a experimentálních podmínek na fotosyntetické pigmenty a UV-B absorbující složky u různých plodin; převzato a upraveno dle KAKANI et al. (2003)

Plodina	UV-B _{BE} (kJ m ⁻² za den)	Simulující vyčerpání O ₃ (%)	PAR (μmol m ⁻² s ⁻¹)	Experimentální podmínky	Pigmenty	UV-B absorbující složky
Brukev	6,3	6		CE	↓ (13-27)	↑ (15-21)
Čirok	7,1	20	A	F	↓ (23)	↑ (33)
Fazole	6,17			CE	↑ (20)	–
	0,25- 1,66	?	50, 100, 250	GC	↑ (13)	–
	4,7; 6,5; 7,2; 12,2	6-36	A	F	–	↑ (5-12)
	12			GH	–	↑
	10,08	15	A	F	↓ (42)	↑ (10)
	2,2; 4,2; 8,3				↓ (70)	↑ (15)
Hrášek	49		160-180	GC	↓ (30)	↑ (150-200)
	18			GH	↓	↑
	2,3; 4,6; 6,9; 9,2			CE		↑
	2,2; 9,9		850-950	CE		↑ (21)
	2,4		800-1200	GH	↓ (78)	↑ (15)
	1,38; 1,92	A, 15	A	F	–	↑ (6)
	2,5 x A		?	GC	↓ (35)	↑ (15-100)
		0; 9; 21; 36	480-500	GH	↓ (50)	
Ječmen	8,84; 13,56	5,25	200	GC	–	↑ (12)
	2,2; 4,2; 8,3				↓ (30)	↑ (60)
Kukuřice		20	A	F	↑ (50)	↑↓
	9		700	GC	↓ (25)	↑
	2,2; 4,2; 8,3				↓ (10)	–
Maniok jedlý	13,9	15	A	F	–	–
Mungo fazole	11,02	15	A	F	↓	↑ (11-24)
	10,8	15	A	F	–	↑ (24)
Pšenice	8,8; 15,7	A; 10		GH		↑
	49		160-180	GC	↓ (30)	↑ (150-200)
	3,17	15	A	F		↑↓
Rýže	2,4		800-1200	GH		↑ (60)
	3 UV-B lampy		800-1000	GH	↓ (10-15)	
	2,8; 3,9; 6,5	A; 27, 38	A	F	↓	–
	8,8; 15,7	A; 10		GH	↑↓	↑
Řepka olejka	4,3		400-700	GC	–	↑ (150)
	2,6		70	CE	–	↑ (80-120)
Sója	9,5	36	A	F		↑ (18)
	0; A		A	F		↑
	10,7; 14,1	15; 30	1300-1600	GH	↓	↑
	2,6		1400-1800	GH	↓ (10)	↑ (15)
		0; 9; 21; 36	450-500	GH	↓ (50)	
Tolice vojtěška	6,3	6		CE	↓ (13)	↓ (15-21)
Vigna čínská	12,2	20	A	F	↑↓ (5-40)	↑ (5-300)
Žito	2-6			GC	–	↓

Hodnoty v závorce indikují procentuální změny. A: okolní prostředí; CD: závislí na kultivaru; F: pole, GC: růstová komora; GH: skleník; CE: řízené klimatizační komory; MD: poledne; OTC: otevřené komory; ?: nedostupné informace. ↓, ↑, – představují klesání, stoupání, neovlivnění parametru pod zvýšeným UV-B, respektive v porovnání s kontrolou.

Příloha 4: Vliv UV-B záření na fotosyntézu v listech plodin; převzato a upraveno dle KAKANI et al. (2003)

Plodina	UV-B _{BE} (kJ m ⁻² za den)	Simulující vyčerpání O ₃ (%)	PAR (μmol m ⁻² s ⁻¹)	Experimentální podmínky	Fotosyntéza
Bavlník	8	~A	~A	SC	-
	15	30	~A	SC	↓(33-38)
Bob obecný	2,8; 6,0 (A)	?	A	OTC	-
Brukev řepka	2,6	?	70	GC	-
	32	?	>500	GH	↓
	11,2	?	?	?	↓
	34	?	200	GC	↓(40)
Fazol obecný	11,7	?	300	GC	↓
	0,25-1,66	?	50; 100; 250	GC	↓(3-22)
	11	15	A	F	↓(18)
	11,2	?	?	?	↓
Hrášek	~5,9	?	150	GC	↓(90)
	18	?	>800	GH	↓(17)
	40; 50	?	450	GH	↓(30)
	~7	?	150-350	GC	↓(10-90)
	32	?	500	GH	-
	2,3; 4,6; 6,3; 9,2	A; A; 22; 45	850-950	GC	-
	130% A	18	A	F	-
7,7	?	?	GH	-	
Ječmen	8,84; 13,56	5; 25	800-1000	GC	↓
Kukuřice	1; 2 Wm-2	?	200-250	GH	↓↑
	125% A	15	?	GC	↓
	140% A	20	A	F	-
	130% A	?	~A	GC	↓
Maniok jedlý	A+5,5	15	A	F	-
Mungo fazole	A+10,08	15	A	F	↓(45)
	A+11,02	15	A	F	↓(21)
Pšenice	9,6-17,9	20-45	~A	GH	-
	Modulovaný	20	A	F	-
	8,8; 15,6	A;10	1400-1700 (MD)	GC	-
	1; 2 Wm-2	?	200-250	GH	↓
Rýže	8,8; 15,6	A; 10	1400-1700 (MD)	GH	-
	8,8; 13,8	A; 25	1400-1700 (MD)	GH	↓
	140% A	20	A	F	↓
Slunečnice	125% A	15	?	GC	↓
	130% A	?	~A	GC	↓
	194 (16 h)	?	?	GH	-

Příloha 4 (pokračování)

Plodina	UV-B _{BE} (kJ m ⁻² za den)	Simulující vyčerpání O ₃ (%)	PAR (μmol m ⁻² s ⁻¹)	Experimentální podmínky	Fotosyntéza
Sója	3	25	1400	GH	↓
	A+0,7-1,2	?	A	F	-
	A+3; A+5	16; 25	A	F	-
	A+5,1	25	A	F	↓(14)
	8,8; 15,6	A; 10	1400-1700 (MD)	GH	-
	10,7-14,1	?	1300-1600 (MD)	GH	↓(6-21)
	2,5-9,3	20-37	A	F	-
Vigna čínská	1,8	?	250	GC	↓(60)
	0; 4,6; 7,6; 10,6	?	250	GH	-
Žito	0,28; 0,42	?	700	GC	↓(17-19)

Hodnoty v závorce indikují procentuální změny. A: okolní prostředí; CD: závislí na kultivaru; F: pole, GC: růstová komora; GH: skleník; CE: řízené klimatizační komory; SC: sluneční komory; MD: poledne; OTC: otevřené komory; ?: nedostupné informace. ↓, ↑, – představují klesání, stoupání, neovlivnění parametru pod zvýšeným UV-B, respektive v porovnání s kontrolou.