

## PEROXID VODÍKU V ŽIVOTĚ ROSTLIN

HANA HABÁNOVÁ<sup>a,b</sup> a MIROSLAV BERKA<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Ústav molekulární biologie a radiobiologie, Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, <sup>b</sup> Brno Ph.D. Talent *habanova.ha@gmail.com*

Došlo 18.12.17, přijato 24.1.18.

Klíčová slova: redoxní systém, signální molekula, semena, fytohormony

### Obsah

1. Úvod
2. Produkce a detoxikace ROS v rostlinných buňkách
  - 2.1. Produkce ROS
    - 2.1.1. Enzymová produkce H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>
    - 2.1.2. Organely podílející se na produkci H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>
  - 2.2. Detoxikace ROS
3. Redoxní signalizace rostlin
4. Role peroxidu vodíku v životě semen
  - 4.1. Produkce H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> u semen
  - 4.2. Vliv H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na klíčení semen
5. Závěr

### 1. Úvod

Zavedení kyslíku do atmosféry je obecně spjata s produkcí reaktivních forem kyslíku (ROS) jakožto potenciálního zdroje oxidačního stresu. Akumulace ROS je mnohdy spjata s působením biotického i abiotického stresu, což činí rostliny s přisedlým způsobem života náchylné k oxidačnímu poškození. Odhaduje se, že zhruba 1 % kyslíku u rostlin je využito pro tvorbu ROS s různou subcelulární lokalizací<sup>1</sup>, přičemž nejvýznamnější podíl ROS připadá na peroxid vodíku. U rostlin byl tedy vyvinut velmi sofistikovaný systém tvorby, detoxikace a signalizace H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, který v rostlinném organismu zastává celou řadu rozličných funkcí. Akumulace H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> vede k oxidačnímu poškození buněk a následně až k programované buněčné smrti. Při nízkých koncentracích však působí jako důležitá signální molekula účastnící se regulace vývoje daného organismu. Doposud bylo popsáno mnoho procesů, které jsou přímo či nepřímo regulovány pomocí H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, přičemž zatím nejucelenější koncept působení H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> je navržen u semen. Tento referát shrnuje ty nejdůležitější současné poznatky o metabolismu a účincích H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> jakožto molekuly s mimořádným významem pro růst a vývoj rostlin.

### 2. Produkce a detoxikace ROS v rostlinných buňkách

#### 2.1. Produkce ROS

Produkce ROS v buňkách probíhá nepřetržitě a v závislosti na podmínkách prostředí. Produkce může být aktivní (cílená) či k ní může docházet spontánně následkem intenzivního metabolismu. Zároveň může být řízena působením enzymů nebo k ní může docházet samovolným přenosem elektronů na kyslík. Zjednodušené schéma produkce a detoxikace H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> je uvedeno na obr. 1.

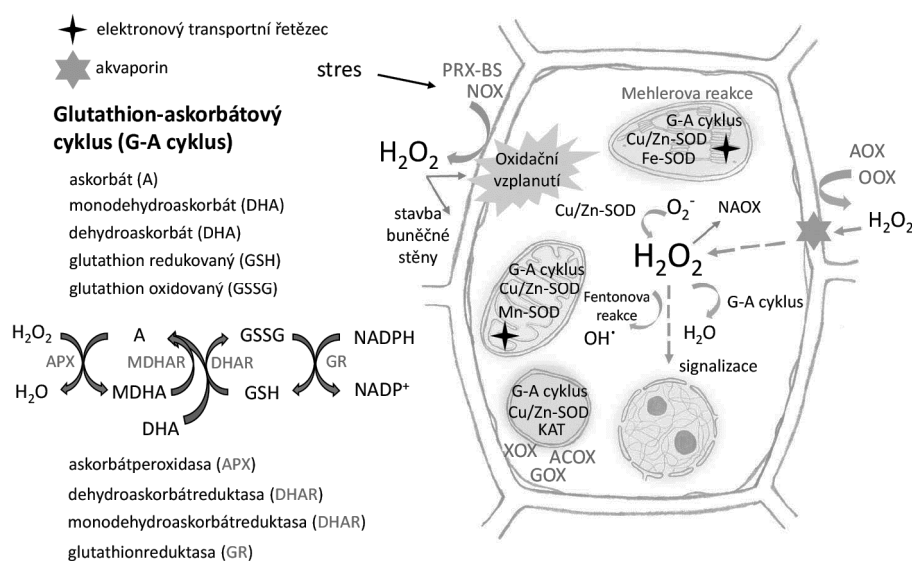
##### 2.1.1. Enzymová produkce H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Mezi klíčové enzymy produkce ROS patří NADPH-oxidasy, peroxidasy buněčné stěny, xantinoxidasy, lipoxygenasy, aminoxidasy, oxalát oxidasy, acyl-CoA-oxidasy, glykolát oxygenasy a superoxiddismutasy (SOD). Aktivita NADPH-oxidasy a peroxidasy buněčné stěny je často spojována s tzv. oxidačním vzplanutím, které je jednak chápáno jako jedna z hlavních odpovědí rostlinných buněk na biotický i abiotický stres, ale rovněž je zásadní pro normální průběh růstu, vývoje a stárnutí rostlinných buněk i celého organismu<sup>2,3</sup>. Lipoxygenasy katalyzují hyperoxidaci poly-nenasycených mastných kyselin, přičemž jejich hydroperoxyderiváty jsou degradovány za vzniku ROS a jiných volných radikálů<sup>4</sup>. K produkci ROS dochází i prostřednictvím oxalát oxidasy. Tyto přeměňují oxalát na oxid uhličitý a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Aminoxidasy katalyzují oxidativní štěpení polyaminů na aldehydy, což bývá doprovázeno uvolněním amoniaku a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Lokalizace všech těchto enzymů převládá v prostoru apoplastu.

Nejčastěji produkovanými ROS jsou superoxidový aniont (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Na rozdíl od O<sub>2</sub><sup>-</sup> vyniká H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> vyšší chemickou stabilitou a schopností procházet buněčnými membránami<sup>5</sup>. Z tohoto důvodu je O<sub>2</sub><sup>-</sup> přeměňován spontánně či působením SOD na H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, který je následně detoxikován. U rostlin rozlišujeme tři typy SOD podle využitých kofaktorových iontů (Fe, Mn, Cu) a rozdílné lokalizace v buňce<sup>6</sup>.

##### 2.1.2. Organely podílející se na produkci H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

ROS jsou sekundárně produkovány jako následek intenzivního metabolismu, tedy především ve chloroplastech, mitochondriích a v peroxizomech. U chloroplastů dochází k produkci O<sub>2</sub><sup>-</sup> hlavně během světelné fáze fotosyntézy, a to především ve fotosystému I. Při přesycení elektronového transportního řetězce (nadměrné ozáření) dochází tzv. Mehlerovou reakcí k přenosu části elektronů na O<sub>2</sub> za vzniku O<sub>2</sub><sup>-</sup>, který je následně přeměněn na H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (či hydroxylový radikál) pomocí SOD nebo spontánním procesem dismutace<sup>7</sup>.



Obr. 1. Zjednodušené schéma vzniku a detoxikace reaktivních forem kyslíku. aminooxidasa (AOX), oxalát oxidasa (OOX), peroxidasy buněčné stěny (PRX-BS), NADPH-oxidasa (NOX), acyl-CoA oxidasa (ACOX), glykolát oxygenasa, (GOX), xantinoxidasa (XOX), superoxid dismutasa (SOD), katalasa (KAT), nízkomolekulární antioxidanty (NAOX)

Hlavní procesy buněčné respirace u klíčících semen a nefotosyntetických pletiv se odehrávají v mitochondriích, kde jsou elektrony přenášeny z NADH a  $FADH_2$  na molekulární kyslík prostřednictvím čtyř membránových komplexů (I-IV). I během těchto procesů se však elektrony mohou uvolňovat z transportního řetězce (převážně v místech působení komplexu I a III) a redukovat molekulární kyslík za vzniku  $O_2^-$ , který pak může být následně přeměněn na  $H_2O_2$ . Odhaduje se, že 1–5 % kyslíku vstupujícího do dýchacího řetězce vede k produkci  $H_2O_2$  (cit.<sup>8</sup>).

Peroxisomy a glyoxyzomy jsou dalším významným místem produkce ROS. Zde jsou elektrony odebírány nejrozličnějším metabolitům a následně využity pro redukcí  $O_2$  na  $O_2^-$  či  $H_2O_2$  (cit.<sup>9</sup>). Typickým příkladem je peroxizomální  $\beta$ -oxidace mastných kyselin s dlouhým řetězcem. K produkci  $H_2O_2$  dochází prostřednictvím enzymu acyl-CoA-oxidasy. Intenzivní degradace mastných kyselin spojená s produkcí  $H_2O_2$  se rovněž odehrává v glyoxyzomech u klíčících semen. V peroxizomech dále probíhají jedny z klíčových reakcí fotorespirace (důsledek oxygenasové aktivity enzymu ribulosa-1,5-bisfosfát-karboxylasa/oxygenasa). Ve chloroplastech vzniklý glykolát je zde přeměněn na glyoxylát působením glykolát oxygenasy. Vedlejším produktem této reakce je  $H_2O_2$  (cit.<sup>10</sup>). Tvorba ROS v peroxizomech je dále uskutečňována prostřednictvím působení enzymů xantinoxidas, které katalyzují oxidaci hypoxantinu na xantin a dále na kyselinu močovou, což je provázáno produkcí  $O_2^-$ .

## 2.2. Detoxikace ROS

ROS jsou produkovány nejen v buňkách, na které působí stres, ale jejich produkce standardně doprovází průběh metabolismu i v optimálních podmínkách, kde se podílí na udržování redoxní rovnováhy. Pokud však na buňky působí stres, produkce ROS vzroste, stejně jako intenzita obranných mechanismů buněk. Akumulace  $H_2O_2$  zvyšuje pravděpodobnost vzniku hydroxylových radikálů Fentonovou reakcí, které způsobují vážný oxidační stres. Centrum detoxikačního systému tedy představují enzymy odstraňující  $H_2O_2$ . Hlavními antioxidačními enzymy podílejícími se na odbourání  $H_2O_2$  jsou enzymy glutathion-askorbátového cyklu v čele s askorbátperoxidasou (APX), dále katalasa (KAT) a glutathionperoxidasa (GPX). Významnou roli v detoxikaci  $H_2O_2$  hrají i neenzymové systémy, jako jsou např. tokoferoly, askorbát a flavonoidy<sup>11</sup>.

$H_2O_2$  produkovaný jako následek intenzivního metabolismu je přeměněn na vodu a molekulární kyslík působením KAT. U rostlin se obecně vyskytují tři funkčně konzervované typy KAT, které se liší svojí lokalizací v rostlinných orgánech. Například u tabáku se KAT třídy I účastní převážně detoxikace  $H_2O_2$  vzniklého při fotorespiraci, KAT třídy II je spojená především s vaskulárním systémem a KAT třídy III je exprimována převážně v květech a plodech<sup>12</sup>.

Peroxisomy představují další důležitou skupinu enzymů detoxikujících  $H_2O_2$ . V eukaryotních buňkách existuje několik typů peroxidas lišících se svojí specifitou a lokalizací. Mezi nejznámější peroxidasy patří APX a GPX. APX

využívá askorbát jako specifický donor elektronů, naopak GPX využívá pro redukci  $\text{H}_2\text{O}_2$  glutathion. APX je zásadní složkou glutathion-askorbátového cyklu, který vede k redukci  $\text{H}_2\text{O}_2$  na vodu. Principem tohoto cyklu je využití redukční kaskády začínající u NADPH, vedoucí přes glutathionin a končící redukcí monodehydroaskorbátu na askorbát využívaný APX (cit.<sup>13</sup>). Vzhledem ke své důležitosti je tento systém lokalizován na všech úrovních buněčné kompartmentace, kde dochází ke vzniku či výskytu  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

### 3. Redoxní signalizace rostlin

Původní koncept nahlížející na  $\text{H}_2\text{O}_2$  a na ostatní ROS pouze jako na toxické molekuly působící oxidační stres je již překonán. Vliv  $\text{H}_2\text{O}_2$  na růst a vývoj rostlinných buněk je dán především koncentrací, při které  $\text{H}_2\text{O}_2$  působí. Při vysokých koncentracích a akumulaci  $\text{H}_2\text{O}_2$  dochází k oxidačnímu poškození buněčných struktur (především lipidů, nukleových kyselin a proteinů). Naopak při nízkých koncentracích působí  $\text{H}_2\text{O}_2$  jako signální molekula a považuje se za klíčovou součást signálních kaskád vedoucích k adaptaci rostlin na neustále se měnící podmínky prostředí. Určité procesy je možné regulovat přímo prostřednictvím působení  $\text{H}_2\text{O}_2$ , jako příklad lze uvést selektivní oxidaci zásobních proteinů semen, což má za následek jejich mobilizaci. Součástí regulace standardního vývoje rostlin je však i regulace endogenní hladiny  $\text{H}_2\text{O}_2$ , a tím i udržování celkové redoxní rovnováhy.

Redoxní rovnováha je jedním z nejdůležitějších faktorů buněčného metabolismu a její narušení může cíleně ovlivnit mnohé buněčné procesy. Důležitými komponentami redoxní signalizace jsou aktivní formy kyslíku a dusíku, které spolu s antioxidačními enzymy a antioxidanty s nízkou molekulovou hmotností (např. kyselina askorbová, tokoferoly nebo glutathion) tvoří centrum buněčné signalizace integrující signály z vnitřního i vnějšího prostředí a zprostředkovávající kontrolu růstu rostlin, jejich vývoje a odpovědi na stres<sup>14</sup>. Mezi hlavní složky redoxní signalizace patří proteiny schopné reverzibilní oxidace/redukce v závislosti na redoxním stavu buňky. Takové proteiny mohou být modifikovány přímo nebo nepřímo skrze další molekuly, jako jsou například glutathion nebo proteiny thioredoxiny<sup>15</sup>. Je známa celá řada procesů, které jsou regulovány pomocí  $\text{H}_2\text{O}_2$  a redoxní signalizace. Za zmínku stojí především tzv. hypersenzitivní reakce, což byla první doložená informace o aktivní produkci a signalizaci  $\text{H}_2\text{O}_2$  (cit.<sup>16</sup>).  $\text{H}_2\text{O}_2$  vyprodukovaný během tzv. oxidačního vzplanutí v souvislosti s interakcí rostlinapatogen však může rovněž zprostředkovat např. i produkci fytoalexinů či zesíťování proteinů buněčné stěny, což vede k jejímu zpevnění<sup>17</sup>. Mezi další důležité procesy regulované pomocí  $\text{H}_2\text{O}_2$  patří např. regulace otevírání a zavírání průduchů v interakci s kyselinou abscisovou (ABA), regulace Calvinova cyklu, signalizace kyseliny salicylové, jasmonové a ethylenu jako odpověď na přítomnost patoge-

na a auxinem regulovaný gravitropismus kořene<sup>14</sup>. Zcela zásadní roli zastává  $\text{H}_2\text{O}_2$  u semen. I zde dochází k jeho produkci, detoxikaci i signalizaci, přičemž všechny tyto aspekty metabolismu  $\text{H}_2\text{O}_2$  se promítají do mnohých (více či méně popsaných) procesů, které přispívají k regulaci klíčení a založení klíčící rostliny. Z těchto důvodů jsou semena vhodným modelem pro detailnější porozumění významu  $\text{H}_2\text{O}_2$  u rostlin a bude jim věnována následující kapitola.

### 4. Role peroxidu vodíku v životě semen

Semena představují zcela zásadní fázi života rostlin sloužící nejen ke generativnímu způsobu množení a šíření jedinců v čase a ploše, ale zároveň zajišťují přežití rostliny v nepříznivých podmínkách prostředí. Klíčení semen je definováno jako třífázový proces začínající intenzivním příjmem vody suchým semenem a končící proražením semenných obalů kořenovým výrůstkem<sup>18</sup>. Průběh klíčení je regulován složitými mechanismy signalizace, které musí pružně reagovat na neustále se měnící podmínky prostředí, v opačném případě semeno či nově založená klíčící rostlina ztrácí vitalitu a následně odumírá. Existuje velké množství faktorů, které mohou ovlivnit klíčení, a  $\text{H}_2\text{O}_2$  je jedním z nich.  $\text{H}_2\text{O}_2$  je běžně produkovan suchými semeny, čímž se podílí na určení jejich vitality a celkového stavu. Současné poznatky rovněž naznačují, že i exogenní aplikace silně ovlivňuje klíčení, což z  $\text{H}_2\text{O}_2$  činí účinný a lehce dostupný regulátor klíčení s potenciálním využitím (nejen) v zemědělské praxi.

#### 4.1. Produkce $\text{H}_2\text{O}_2$ u semen

Semena většiny druhů mírného klimatického pásma prochází stádiem intenzivní dehydratace a v suchém stavu jsou schopny přežít od několika měsíců po desítky (v ojedinělých případech i stovky) let. Pomineme-li výrazný vliv druhově specifických vlastností semen, životaschopnost semen souvisí především s úrovní enzymové aktivity, která je definována především mírou hydratace semen a teplotou, při které jsou skladovány<sup>19</sup>. S úrovní enzymatické a metabolické aktivity u semen přímo úměrně souvisí i produkce ROS (cit.<sup>20</sup>). Mnohé studie však zároveň naznačují, že intenzita produkce  $\text{H}_2\text{O}_2$  a náchylnost na oxidační poškození se liší mezi rostlinnými druhy, přičemž např. u semen řepky (*Brassica napus*) nedochází k akumulaci  $\text{H}_2\text{O}_2$  vlivem stárnutí<sup>21</sup>.  $\text{H}_2\text{O}_2$  je jako produkt metabolismu tvořen suchými i bobtnajícími semeny, přičemž u bobtnajících semen je tato produkce vzhledem k rychlé mobilizaci zásob a respiračním procesům (heterotrofní metabolismus) velmi intenzivní a buňkám embrya i ostatních semenných struktur tak hrozí oxidační poškození<sup>22</sup>. Z tohoto důvodu je již v suchém semeni přítomna enzymatická i neenzymatická mašinerie detoxikující ROS<sup>23</sup>.

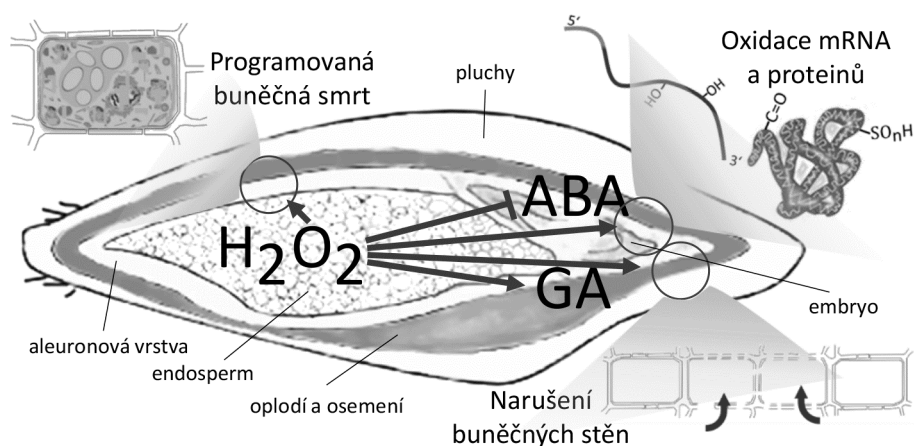
4.2. Vliv  $H_2O_2$  na klíčení semen

Bobtnající semeno je tedy vystaveno působení  $H_2O_2$ , který z velké části určuje další průběh klíčení. Obecně lze říci, že úspěšné klíčení semen souvisí s rychlostí příjmu vody a s tím spojenou rychlou reaktivací metabolismu a reparačních procesů. Klíčení je však mnohdy značně omezeno přítomností mechanické a fyziologické bariéry, přičemž rychlost klíčení může být částečně definována intenzitou těchto bariér. Mezi mechanické bariéry se řadí především semenné obaly a zásobní pletiva semen, které musí být v průběhu bobtnání dostatečně narušeny, aby mohlo dojít k jejich proražení embryotickým výrůstkem. Fyziologické bariéry jsou naopak definovány látkami inhibiční povahy a obsahem jednotlivých fytohormonů, přičemž zásadním vnitřním faktorem rozhodujícím o zahájení klíčení je především vzájemný poměr mezi ABA (inhibitor klíčení) a gibbereliny (GA; stimulanty klíčení)<sup>18</sup>. Pokud se v semeni akumuluje velké množství  $H_2O_2$  nebo pokud na bobtnající semeno působí další stresový faktor z prostředí, klíčení bude ještě více zpomaleno a buněčné struktury semene budou poškozeny oxidačním stresem, což může vést až k zániku daného jedince. Avšak při dosažení optimální koncentrace může  $H_2O_2$  v tomto ohledu působit pozitivně ve prospěch klíčení<sup>24</sup>.

V minulosti již bylo publikováno množství prací zabývajících se efektem  $H_2O_2$  na klíčení. Dokonce byly navrženy postupy pro využití exogenní aplikace  $H_2O_2$  během předset'ového ošetření semen za účelem dosažení rychlého a uniformního klíčení (tzv. předklíčování)<sup>25</sup>. Avšak principy působení  $H_2O_2$  u klíčících semen nebyly doposud uspokojivě vysvětleny. Obecně se uvažují dvě základní teorie o působení  $H_2O_2$ . (i) První teorie předpokládá čistě mechanické působení prostřednictvím narušení buněčných stěn

u semenných obalů a následného rychlejšího příjmu vody. Například Zhang a spol.<sup>26</sup> pozorovali pozitivní efekt ROS na oslabení semenných obalů u salátu (*Lactuca sativa*) v průběhu klíčení. (ii) Druhá teorie uvažuje o  $H_2O_2$  jako o signální molekule zprostředkující nejen aktivaci mobilizace zásobních látek, ale i přenos signálu a interakci s mnohými důležitými regulačními systémy řídicí průběh klíčení<sup>23</sup>. Teoretický model působení  $H_2O_2$  na klíčení semen je uveden na obr. 2.

$H_2O_2$  může působit na mnohých úrovních buněčné signalizace. Důležitým aspektem jeho působení u klíčících semen je selektivní oxidace mRNA a proteinů. Například oxidace zásobních proteinů vede k jejich cílené degradaci. Známá je rovněž interakce  $H_2O_2$  s řadou fytohormonů. Některé studie např. popsaly aktivaci signalizace a syntézy GA prostřednictvím působení  $H_2O_2$  (cit.<sup>27</sup>). Dále např. Lariguet a spol.<sup>28</sup> pozorovali u semen *Arabidopsis thaliana* zvýšenou produkci ROS po aplikaci GA, zatímco při aplikaci ABA docházelo k jejich poklesu, a to i u semen dalších rostlinných druhů jako je slunečnice (*Helianthus annuus*), ječmen (*Hordeum vulgare*) a rýže (*Oryza sativa*)<sup>23</sup>. Některé studie rovněž popisují možné interakce s dalšími fytohormony. Barba-Espín a spol.<sup>29</sup> uvádí, že u klíčících semen tvoří  $H_2O_2$  řídicí centrum regulující interakce mezi fytohormony, přičemž tato regulace je zprostředkována pomocí tzv. proteinových kinas aktivovaných mitogenem (MAPK). Zároveň také uvádí, že exogenní aplikace  $H_2O_2$  na semena hrachu má za následek pokles hladiny ABA a současně zvýšení hladiny fytohormonu ethylenu, který pravděpodobně pomáhá stimulovat klíčení. Jako další možné přenašeče signálů mezi fytohormony a  $H_2O_2$  byly navrženy i další typy kinas<sup>30,31</sup>. Do jednotného konceptu spolupůsobení fytohormonů a dalších signálních molekul, včetně  $H_2O_2$ , byly zahrnuty i rostlinné hormony cytokiny



Obr. 2. Teoretický model stimulačního účinku  $H_2O_2$  na průběh klíčení semen obilnin.  $H_2O_2$  moduluje hladiny fytohormonů gibberelinů (GA) a kyseliny abscisové (ABA). Jeho působení také narušuje buněčné stěny semenných obalů, což urychluje příjem vody obilnkou a usnadňuje uvolnění embrya.  $H_2O_2$  rovněž způsobuje selektivní oxidaci mRNA a proteinů. V interakci s GA reguluje programovanou buněčnou smrt buněk aleuronové vrstvy u klíčících obilí

a auxiny, avšak jejich role v regulaci klíčení je stále předmětem rozsáhlých diskusí<sup>23</sup>.

Důležitým aspektem působení H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> u semen typu obilky je rovněž aktivace PBS živých buněk aleuronové vrstvy. Hlavní funkcí těchto buněk je produkce hydrolytických enzymů nutných pro mobilizaci zásobních složek endospermu. Poté, co svoji funkci splní, podrobí se PBS. Zde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> působí v interakci s GA, přičemž semena ošetřená exogenní aplikací GA mají prokazatelně sníženou schopnost detoxifikace ROS (cit.<sup>32</sup>). Naopak přítomnost oxidu dusnatého, který v tomto směru působí jako antioxidant, může PBS zpomalit<sup>33</sup>.

## 5. Závěr

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> je beze sporu důležitou signální molekulou regulující mnoho vývojových procesů napříč všemi fázemi života rostlin. Nabízí se však otázka – může být považován za fytohormon? Stejně jako mnohé další signální molekuly je H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> syntetizován rostlinnými buňkami. Avšak na rozdíl od některých dalších známých signálních molekul, jako je např. inositol-3-fosfát či ionty Ca<sup>2+</sup>, se jedná o látku, která může být transportována napříč rostlinnými buňkami a vyvolává růstové odpovědi (i po exogenní aplikaci). To všechno jsou vlastnosti fytohormonům vlastní<sup>34</sup>. Látka hormonální povahy však musí splňovat ještě další dva základní požadavky: (I) být vnímána rostlinou pomocí receptorů (nM) a (II) působit při velmi nízkých koncentracích. Zde však již narážíme na nedostatek podložených informací o působení H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a naše závěry tak mohou být pouze spekulativního charakteru.

(I) Obecně platí, že každý signál, který má způsobit nějakou specifickou odezvu, musí být nejdříve přijat a vyhodnocen. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> může působit přímo, přičemž příkladem je selektivní oxidace některých biomolekul. Percepce signálu H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> konkrétními receptory však doposud nebyla uspokojivě popsána. Wrzaczek a spol.<sup>35</sup> uvedli, že H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (jakožto látka schopná procházet buněčnými membránami) může předávat signální informaci jak v extracelulárním prostoru, tak v prostoru intracelulárním. Vně buňky může H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> stimulovat K<sup>+</sup> a Ca<sup>2+</sup> kanály a zároveň může interagovat s membránovými receptorovými kinasami. Naopak percepce H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uvnitř buňky zůstává neznámá. Jednou z možností vysvětlení intracelulární percepce H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> je přijetí úvahy, že jako receptor lze chápat celkový redox systém. Percepce signálu by tedy nezajišťoval jeden specifický receptor, ale celé spektrum molekul, přičemž by se nejednalo o výjimečný případ. Rozsáhlý receptorový systém je uplatňován např. pro percepce ABA (cit.<sup>36</sup>).

(II) Informace o efektivní koncentraci H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> se značně rozcházejí. Mnohé zdroje uvádějí pozitivní efekt exogenní aplikace na indukci tolerance rostlin vůči rozličným stresům, jako je např. vysoká salinita, sucho, extrémní teploty či akumulace těžkých kovů. Efektivní koncentrace exogenně aplikovaného H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> se pohybují řádově mezi μM a mM (cit.<sup>37</sup>). Existují však i publikace popisující efekt H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> při nanomolární koncentraci<sup>38</sup>. V případě ošetření semen se

obecně aplikují vyšší koncentrace (většinou mM) v závislosti na jejich velikosti, anatomii a fyziologii<sup>25,39</sup>.

V obou výše uvedených případech se H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> poněkud vymyká tradičnímu pojetí fytohormonů. Pro další úvahy o jeho klasifikaci se můžeme inspirovat jinou signální molekulou anorganické povahy – NO. Svými signálními vlastnostmi, působením při stresových odpovědích a mnohými interakcemi s dalšími signálními či hormonálními látkami u rostlin se nápaditě podobá H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Obě tyto látky dokonce často působí ve vzájemné interakci. Avšak i v případě NO je klasifikace poněkud nejasná. Některé zdroje uvádějí NO jako fytohormon<sup>40</sup>, jiné<sup>41</sup> vzhledem k jistému odchýlení od klasického konceptu hormonů využívají výraz „netradiční regulátor růstu“. Uvážíme-li tedy všechny dosavadní poznatky a výše uvedené aspekty působení H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, zjistíme, že H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> nelze klasifikovat ani jako klasickou signální látku, ani jako fytohormon. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> stojí na rozhraní mezi těmito úrovněmi buněčné signalizace a pouze výsledky budoucích vědeckých studií mohou napomoci k jeho přesnější klasifikaci.

*Tato práce vznikla za podpory projektu IP 15/2017 pod záštitou Interní grantové agentury Agronomické fakulty Mendelovy univerzity v Brně.*

## Seznam zkratk

ROS	reaktivní formy kyslíku
KAT	katalasa
SOD	superoxiddismutasa
APX	askorbátperoxidasa
GPX	glutathionperoxidasa
GA	gibereliny
ABA	abscisová kyselina
PBS	programovaná buněčná smrt (apoptosa)

## LITERATURA

1. Quan L. J., Zhang B., Shi W. W., Li H. Y.: *J. Integr. Plant Biol.* 50, 2 (2008).
2. Torres M. A., Dangl J. L.: *Curr. Opin. Plant Biol.* 8, 397 (2005).
3. Neill S. J., Desikan R., Clarke A., Hurst R. D., Hancock J. T.: *J. Exp. Bot.* 50, 1237 (2002).
4. Montillet J., Chamnongpol S., Rustérucci C., Dat J., Cotte B., Agnel J. P., Battesti C., Inzé D., Breusegem F., Triantaphylides C.: *Plant Physiol.* 138, 1516 (2005).
5. Petrov V. D., Van Breusegem F.: *AoB Plants* 2012, pls014 (2012).
6. Alscher R. G., Erturk N., Heath L. S.: *J. Exp. Bot.* 53, 1331 (2002).
7. Makino A., Miyake C., Yokota A.: *Plant Cell Physiol.* 43, 1017 (2002).
8. Moller I. M.: *Annu. Rev. Plant Biol.* 52, 561 (2001).
9. Schrader M., Fahimi H. D.: *Biochim. Biophys. Acta, Mol. Cell Res.* 1763, 1755 (2006).

10. Corpas F. J.: *Plant Biol.* 17, 1099 (2015).
11. Foyer C. H., Noctor G.: *Antiox. Redox Signal.* 18, 2087 (2013).
12. Mhamdi A., Queval G., Chaouch S., Vanderauwera S., Van Breusegem F., Noctor G.: *J. Exp. Bot.* 61, 4197 (2010).
13. Potters G., De Gara L., Asard H., Horemans N.: *Plant Physiol. Biochem.* 40, 537 (2002).
14. Černý M., Novák J., Habánová H., Černá H., Brzobohatý B.: *Biochim. Biophys. Acta, Proteins Proteomics* 1864, 1003 (2016).
15. Rouhier N., Lemaire S. D., Jacquot J. P.: *Annu. Rev. Plant Biol.* 59, 143 (2008).
16. Doke N.: *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 23, 345 (1983).
17. O'Brien J. A., Daudi A., Butt V. S., Bolwell G. P.: *Planta* 236, 765 (2012).
18. Bewley J. D., Bradford K., Hilhorst H.: *Seeds: physiology of development, germination and dormancy.* Springer Verlag, New York 2013.
19. Kalembe E. M., Suszk J., Ratajczak E.: *Funct. Plant Biol.* 42, 630 (2015).
20. El-Maarouf-Bouteau H., Bailly C.: *Plant. Signal. Behav.* 3, 175 (2008).
21. Yin X., He D., Gupta R., Yang P.: *Front. Plant Sci.* 6 (2015).
22. Wojtyła L., Lechowska K., Kubala S., Garnczarska M.: *Front. Plant Sci.* 7 (2016).
23. Wojtyła L., Garnczarska M., Zalewski T., Bednarski W., Ratajczak L., Jurga S.: *J. Plant Physiol.* 163, 1907 (2006).
24. Bailly C., El-Maarouf-Bouteau H., Corbineau F.: *C. R. Biol.* 331, 806 (2008).
25. Gondim F. A., Gomes-Filho E., Lacerda C. F., Prisco J. T., Azevedo Neto A. D., Marques E. C.: *Braz. J. Plant Physiol.* 22, 103 (2010).
26. Zhang Y., Chen B., Xu Z., Shi Z., Chen S., Huang X., Chen J., Wang X.: *J. Exp. Bot.* 65, 3189 (2014).
27. Bahin E., Bailly C., Sotta B., Kranner I., Corbineau F., Leymarie J.: *Plant, Cell Environ.* 34, 980 (2011).
28. Lariguet P., Ranocha P., De Meyer M., Barbier O., Penel C., Dunand, C.: *Planta* 238, 381 (2013).
29. Barba-Espín G., Diaz-Vivancoz P., Job D., Belghazi M., Job C., Hernández J. A.: *Plant, Cell Environ.* 34, 1907 (2011).
30. Zhang D., Chen L., Li D., Lv B., Chen Y., Chen J., Liang J.: *PLoS One* 9, 97120 (2014).
31. Nakashima K. a 11 spoluautorů: *Plant Cell Physiol.* 50, 1345 (2009).
32. Fath A., Bethke P., Beligni V., Jones R.: *J. Exp. Bot.* 53, 1273 (2002).
33. Wang Y., Loake G. J., Chu C.: *Front. Plant Sci.* 4, Article Number 314 (2013).
34. Davies P. J.: *The plant hormones: their nature, occurrence, and functions.* Springer, Netherlands 2010.
35. Wrzaczek M., Brosché M., Kangasjärvi J.: *Curr. Opin. Plant Biol.* 16, 575 (2013).
36. Wang X. F., Zhang D. P.: *Ann. Bot.* 101, 311 (2007).
37. Hossain M. A., Bhattacharjee S., Armin S. M., Qian P., Xin W., Li H. Y., Burritt D. J., Fujita M., Tran L. S. P.: *Front. Plant Sci.* 6, 420 (2015).
38. Li J. T., Qiu Z. B., Zhang X. W., Wang L. S.: *Acta Physiol. Plant.* 33, 835 (2011).
39. He L., Gao Z.: *Afr. J. Biotechnol.* 8, 22 (2009).
40. Santner A., Estelle M.: *Nature* 459, 1071 (2009).
41. Beligni M. V., Lamattina L.: *Trends Plant Sci.* 6, 508 (2001).

**H. Habánová<sup>a,b</sup> and M. Berka<sup>a</sup>** (<sup>a</sup>*Department of Molecular Biology and Radiobiology, Mendel University in Brno,* <sup>b</sup>*Brno Ph.D. Talent*): **Hydrogen Peroxide in Plant's Life**

This review summarizes the current knowledge about different aspects of hydrogen peroxide roles in plant's life. It focuses on its metabolism and effects on plant cells. The effect of hydrogen peroxide is concentration-dependent. At high concentrations, hydrogen peroxide serves as a toxic molecule which may cause oxidative damage to cellular structures and biomolecules. In contrast, it is an important signaling molecule that acts at low concentrations and facilitates information flow in plant cells. Hydrogen peroxide also interacts with multiple signaling pathways, including those of phytohormones. The most comprehensive insight into the complexity of hydrogen peroxide effects was recently described in the seed germination process and it is presented here in more detail. Although hydrogen peroxide participates in regulation of multiple developmental processes, it is not considered to be a phytohormone. The reasons are discussed in the final part of this review.

**Keywords:** redox system, signaling molecule, seeds, phytohormones