

významným „vedlejší“ využitím lesa bylo hrabání listů, provozované k získání podestýlky pro domácí zvířata – náhradou za slámu. Podestýlka smíchaná s exkrementy byla potom vynášena na pole jako hnojivo. Hrabání listů mělo význam v regionech s nedostatkem polí. Travaření (v podstatě kosení bylinného patra v lesích) bylo další důležitou formou využití lesa. Existovaly dvě varianty – buď byly koseny menší louky přímo v lese, nebo se kosilo v otevřených lesních porostech. Stejně jako lesní pastva bývalo travaření zakázáno v prvních letech po těžbě dřeva, aby nebránilo regeneraci stromů: to je další důkaz toho, že obnova lesa nebyla lidem vůbec lhostejná, za nejlepší řešení ovšem naši předci považovali přirozenou obnovu – stejně jako ochránci přírody dnes.

Všechny netěžební způsoby využití lesa můžeme chápat jako součást „agrolesnictví“. Tento novodobý termín vyjadřuje kombinaci lesnického a zemědělského využití stejného pozemku, a to buď prostorově, nebo časově. Přestože agrolesnictví bývalo dříve spojováno spíše s tropickými zeměmi, novější výzkumy poukázaly na jeho bohatou historii i ve střední Evropě

(Křčmářová 2019). Třeba již zmíněný Stablní katastr zaznamenával existenci nebo absenci travaření, hrabání steliva a lesní pastvy v každém katastrálním území v první polovině 19. století. Mapové vyobrazení (obr. 5) přesvědčivě ukazuje, že agrolesnické využití lesní půdy bylo naprosto běžnou záležitostí téměř ve všech moravských a slezských obcích. To jistě neznamenalo, že v každém lese se páslo nebo hrabalo, jelikož o rozsahu agrolesnického využití uvnitř katastrálních území Stablní katastr nemluví. Následky agrolesnického využití lesa (konkrétně hrabání steliva) se však projevují i v dnešní vegetaci. Náš výzkum provedený na základě analýzy přibližně 2 500 vegetačních snímků po celé Moravě ukázal, že současnou druhovou bohatost lesů historické hrabání sice neovlivňuje, ale existují signifikantní rozdíly v diverzitě v rámci jednotlivých lesních typů. Třeba v dubových lesích, kde se v 19. století hrabalo, pozorujeme dnes menší druhovou bohatost než v ostatních doubravách (Vild a kol. 2018). Tak se vliv hrabání jeví pouze na základě časové a prostorové specifické studie – abychom takovou jednotlivost mohli pochopit a interpretovat náležitým a odpovídajícím

způsobem v rámci komplexního lesního ekosystému, musíme ji zkoumat s ohledem na fungování celku.

### Závěrem

Minimálně od středověku působí člověk v lesních ekosystémech jako určující prvek. Jeho aktivity, které zahrnovaly mnohem více než jen těžbu stromů, zásadně ovlivnily strukturu a druhové složení lesů. Neznamená to, že přírodní procesy přestaly fungovat, nebo byly méně důležité než dříve. Jak se ukázalo na příkladu historických vichřic, je velkou chybou podcenit sílu přírody. Spolu s lidskou společností totiž postupně utvářela lesy do podoby, v jaké je známe dnes.

Další díl seriálu o historické ekologii se bude detailně věnovat historii a zániku výmladkových lesů.

Vznik článku byl podpořen dlouhodobým vědecko-výzkumným projektem č. RVO-67985939 a Grantovou agenturou České republiky (GA17-09283S).

Seznam použité literatury uvádíme na webových stránkách Živy.

Jana Jakšová

## Elektrická a jasmonátová signalizace v mucholapce podivné

Masožravost rostlin je jednou z mnoha strategií, jak úspěšně kolonizovat bioty chudé na živiny. Příslušnou adaptací jsou speciálně vyvinuté listy, nazývané pasti, které slouží k lákání kořisti, jejímu polapení a strávení. Pasti bývají většinou méně efektivní fotosynteticky, ale velmi efektivní v získávání živin z chycené kořisti. Tyto živiny mohou později stimulovat fotosyntézu, a tedy i růst celé rostliny nebo její plodnost. Jednou z nejpozoruhodnějších masožravých rostlin je bezpochyby mucholapka podivná (*Dionaea muscipula*) – jediný druh rodu mucholapka řazeného do čeledi rosnatkovitých (*Droseraceae*). Od 18. století, kdy u ní jako u první rostliny byla objevena masožravost, se vědci usilovně snaží porozumět biologickým a biomechanickým sensorům této rostliny. Zatímco kdysi zakládali své závěry na pouhém pozorování, dnes máme možnost provádět různorodé analýzy a měření, abychom získali nové poznatky.

### Význam a funkce elektrických signálů

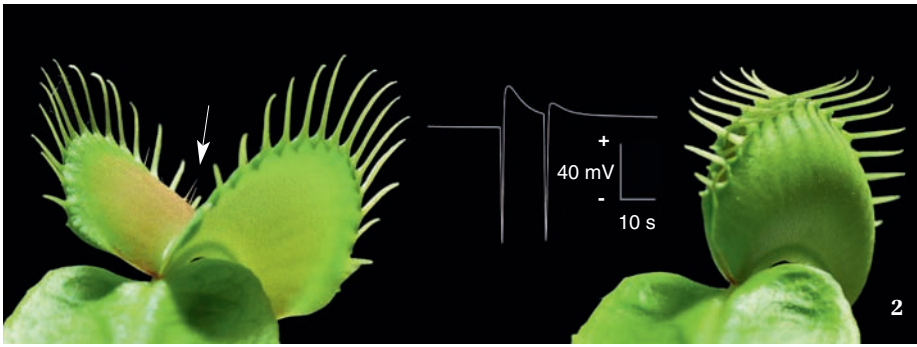
Masožravou adaptací mucholapky podivné je list přeměněný do podoby svírací čepele s citlivými spouštěcími výčnělky na vnitřní straně (obr. 1 a 2). Lapací cyklus zahrnuje mechanismus pro rychlé chycení kořisti, po něm následuje dobře organizovaná souslednost aktivace genů odpovědných za těsné uzavření pasti, strávení kořisti a vstřebávání živin. Jejich postupná aktivace je založena na „počítání“ podnětů pomocí těchto smyslových orgánů uvnitř pasti (Hedrich a Neher 2018). Převádění mechanického podráždění pasti v elektrický vzruch, známý dnes i u některých dalších masožravých rostlin, např. u příbuzné rosnatky (*Drosera*), prokázal již v r. 1873 John Burdon-Sanderson. Nyní máme popsány tři hlavní typy elektrických signálů v rostlinách – rychlý akční potenciál, pomalejší variační potenciál a nedávno byl charakterizován také systémový potenciál (Zimmermann a kol. 2009). Jeho amplituda závisí stejně jako u variačního potenciálu na intenzitě stimulu a od variačního potenciálu se liší opačnou po-

vádění mechanického podráždění pasti v elektrický vzruch, známý dnes i u některých dalších masožravých rostlin, např. u příbuzné rosnatky (*Drosera*), prokázal již v r. 1873 John Burdon-Sanderson. Nyní máme popsány tři hlavní typy elektrických signálů v rostlinách – rychlý akční potenciál, pomalejší variační potenciál a nedávno byl charakterizován také systémový potenciál (Zimmermann a kol. 2009). Jeho amplituda závisí stejně jako u variačního potenciálu na intenzitě stimulu a od variačního potenciálu se liší opačnou po-



1 Moucha bojující uvnitř pasti mucholapky podivné (*Dionaea muscipula*) a spouštějící tak stovky elektrických signálů. Mucholapka je jedinou suchozemskou rostlinou chytající drobné lezoucí a létavé živočichy pomocí velmi rychle pohyblivého mechanismu. Foto A. Pavlovič

laritou (šíří se jako hyperpolarizace membrány). Jak systémový potenciál funguje, není ale dosud prozkoumáno. Všechny tři typy se v rostlinách uplatňují při signalizaci na dlouhé vzdálenosti. Elektrickým vzruchem, který se konkrétně šíří v mucholapce, je akční potenciál, tedy elektrický potenciál známý především u živočichů. Iontový mechanismus akčního potenciálu se u rostlin liší od mechanismu u živočichů ve využitých iontech. U živočichů je vyvolán tokem sodných ( $\text{Na}^+$ ) a draselných ( $\text{K}^+$ ) iontů přes plaz-



**2** Otevřená past mucholapky podivné. Po jednom mechanickém podráždění se generuje akční potenciál (udáván v milivoltech – mV), který ale není dostatečně silný, aby způsobil rychlý pohyb pasti. K tomu je nutné druhé podráždění v krátkém časovém intervalu, jež vede ke vzniku druhého akčního potenciálu, následnému rychlému pohybu pasti a jejímu nehermetickému uzavření.

**3** Schéma po sobě následujících událostí při a po polapení kořisti mucholapkou (zleva): proces začíná vysláním elektrického signálu po doteku (šipky), pokračuje aktivací syntézy jasmonátů a následnou reakcí v lokálním pletivu, tedy expresí genetické informace a syntézou trávících enzymů, v tomto případě cystein proteázy dionainu. Blíže v textu. Upraveno podle: A. Pavlovič a kol. (2017)

matickou membránu. U rostlin se na jeho vzniku kromě  $K^+$  uplatňují také vápenaté ( $Ca^{2+}$ ) a chloridové ( $Cl^-$ ) ionty, které se pohybují nejen skrz plazmatickou membránu, ale i membránu vakuoly. V obou případech jednotlivé ionty přecházejí přes membrány speciálními kanály.

Na začátku celého lapacího cyklu je receptorový potenciál. Dotyk spouští výčnělek vede k deformaci a stimulaci senzorických buněk, které se nacházejí ve spodní zúžené části výčnělku. Výsledkem je otevření mechanicky citlivých iontových kanálů, depolarizace buněčné membrány a vznik receptorového potenciálu. Napětově řízené iontové kanály pak zesilují receptorový potenciál a vytvářejí akční potenciál (obr. 2) s konstantní amplitudou a rychlostí. První mechanoelektrická stimulace spouští výčnělek není pro hmyz fatální, pouze nastaví lapací část rostliny do „pohotovostního“ režimu. Obnova klidového potenciálu po depolarizaci trvá zhruba 20–30 s. V tomto časovém rozmezí je nezbytné druhé podráždění. Protože každý stimul vyvolává depolarizaci o přibližně stejné velikosti, druhý sti-

mul v tomto časovém období má aditivní charakter. Toto „počítání“ nebo „paměť“ mechanických změn u mucholapky může zabránit zbytečnému uzavření pasti, pokud by do ní spadly listy, půdní částice nebo třeba kapky deště.

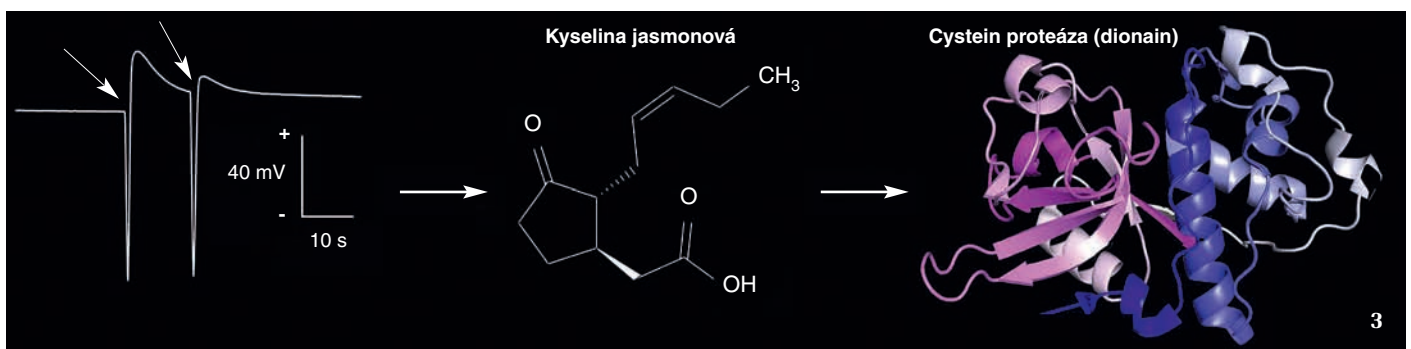
Po rychlém zachycení kořisti není past zcela uzavřena a dochází k dalšímu, velmi pomalému pohybu. Okraj pasti se začne vyklánět ven a vzniklý ohyb umožní těsné přilnutí obou částí čepele. Při trávení je tak kořist dokonale sevřena, ale nikoli rozdrčena. Konečné uzavření pasti a tvorba „zeleného žaludku“, důležitá pro trávení kořisti, závisí na rostlinném hormonu kyseliny jasmonové.

### Úloha jasmonátů při lokální a systémové odpovědi

Důležitost elektrických signálů pro zaznamenání přítomnosti kořisti na povrchu pasti u některých druhů masožravých rostlin je známa již po více než jedno století, ale teprve nedávno byla objasněna úloha sloučenin ze skupiny derivátů kyseliny jasmonové, odvozených od lipidů. Tyto krátké řetězce alkylyklopentanonových a alkylyklopentenonových karboxylátů mají pozoruhodně strukturní a funkční podobnosti s živočišnými prostaglandiny, jež brzdí zánětlivé reakce, což poukazuje na společný prekurzor – kyselinu linolenovou. Obecný termín jasmonáty se používá pro cyklické biosyntetické prekurzory kyseliny jasmonové (JA, obr. 3) a její metabolity. Mechanismus působení jasmonátů je založen na jejich interakci s odpovídajícím receptorem a následné aktivaci signální dráhy, která vede k transkripci cílových genů. Avšak jediný jasmonát, u něhož byl objasněn molekulární základ genové regulační aktivity, je konjugát isoleucinu s kyselinou jasmonovou (JA-Ile). Signalizační aktivita byla ale prokázána i pro jiné jasmonátové molekuly, pro které zůstává molekulární mechanismus z velké části neznámý, jako je kyselina *cis*-(+)-12-oxofytodienová (*cis*-OPDA) nebo 12-hydroxyjasmonátová.

Byla navržena hypotéza, že události vedoucí k akumulaci jasmonátů v části rostliny vzdálené od místa stimulace/poranění (tzv. systémová odpověď) mohou být zprostředkovány dvěma hlavními mechanismy: transportem jasmonátů mezi buňkami (buněčná neautonomní cesta) typická pro čeleď lilkovitých (*Solanaceae*) nebo rychlým elektrickým, hydraulickým či chemickým signálem, který spouští syntézu JA ve vzdálených částech rostliny (autonomní cesta) – typicky pro modelový druh huseniček rolní (*Arabidopsis thaliana*). Nedávná studie však důležitost elektrické signalizace v komunikaci na delší vzdálenosti prokázala. Ve Švýcarsku Seyed A. R. Mousavi a kolektiv (2013) v huseničku rolním identifikovali dva proteiny iontových kanálů pro  $Ca^{2+}$ , které jsou příbuzné s glutamátovými receptory živočichů. Tyto živočišné receptory aktivované pomocí neurotransmiteru glutamátu zprostředkovávají přenos vzruchu na synapsích v centrálním nervovém systému a představují klíčové hráče v synaptické plasticitě, důležité pro učení a paměť. Právě tyto dva nově objevené proteiny jsou rozhodující pro tvorbu elektrické vlny vyvolanou poškozením listu a přenášené do ostatních orgánů rostliny. Ve všech místech, kam dorazil elektrický signál, byla v odpovědi na poranění spuštěna syntéza jasmonátů, jež zprostředkovala expresi genů, především inhibitorů proteáz zapojených do obranných reakcí rostliny.

Za zmínku stojí, že u mucholapky se akční potenciál šíří pouze v pasti a nezasahuje do spodní asimilační části listu, což pravděpodobně umožňuje účinné šetření zdrojů. Při lapání a zadržování kořisti má rostlina větší metabolické a energetické náklady spojené s uhlíkovým metabolismem (Pavlovič a kol. 2010). Kyselina jasmonová v pasti aktivuje hormonální systém mucholapky vyvoláním exprese a exocytózy hydrolytických enzymů ve velkém počtu žlázek, pokrývajících vnitřní povrch „zeleného žaludku“. V tomto stadiu sekretované hydrolázy rozkládají kořist na bloky stavebních živin. Současně s tím probíhá ve žlázkách zvýšená exprese transportérů pro vstřebávání živin. Čím častěji se bráníci se kořist dotýká spouštěcích výčnělků, tím více akčních potenciálů je spuštěno, a čím větší množství hormonu kyseliny jasmonové je syntetizováno, tím delší a intenzivnější je pak aktivita hormonálního systému mucholapky. Tímto způsobem počet akčních potenciálů informuje rostlinu o velikosti kořisti a obsahu živin v ní. Produkty trávení svaloviny a hemolymfy, zejména aminokyseliny a sodné a amonné ionty, stále



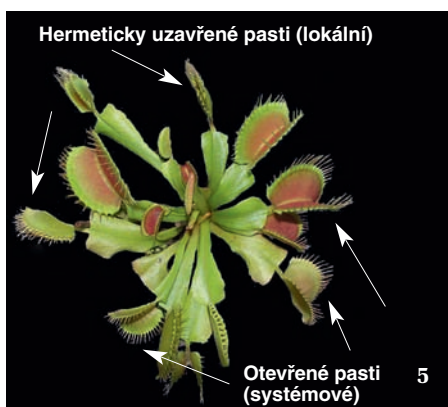
chemicky dráždí list, takže zůstává sevřen řadu dní. Když přibližně po jednom týdnu dojde k dokončení rozkladu kořisti a příjmu živin, past se znovu otevře. Pokud byla drážděna naprázdno, otevře se v závislosti na podmínkách (teplota a vlhkost okolního vzduchu) do dvou dní. Pro normální činnost pastí je tedy důležité nejprve mechanické a následně chemické dráždění.

### Evoluce trávicích enzymů

Jasmonáty regulují aktivitu trávicích enzymů masožravých rostlin. Proteiny v trávicí tekutině mucholapky byly studovány za použití vysoce výkonných metod a bylo zjištěno 9 typů přítomných enzymů – peroxidázy, nukleázy, fosfatázy, fosfolipázy, glukonázy, chitinázy a proteolytické enzymy zahrnující čtyři cystein proteázy, dvě aspartát proteázy a serin karboxypeptidázy (Schulze a kol. 2012). Mnoho chitináz, glukonáz, RNáz a PR-1 proteinů (Pathogenesis-Related – odvozených od patogenez) je silně strukturálně a funkčně homologních se skupinou běžných enzymů obrany rostlin, které se uplatňují při patogenez, tedy při napadení rostliny patogenem (virem, fytoplazmou, bakterií, houbou).

Celý výše popsaný proces, který začíná vysláním elektrického signálu, pokračuje aktivací syntézy jasmonátů a následnou reakcí v lokálním pletivu pastí, tedy expresí genetické informace a syntézou trávicích enzymů, připomíná dobře známou signální dráhu obrany rostlin při reakci na útok patogenu nebo býložravce. Dokážou však jasmonáty, které se hromadí v pastí mucholapky také v odpovědi na poranění, indukovat syntézu trávicích enzymů, tedy typickou odpověď při realizaci masožravosti? Nebo jsou mucholapky schopny tento falešný signál vyhodnotit správně a syntézu trávicích enzymů spustit jen v odpovědi na jasmonáty akumulované až po zachycení živočišné kořisti? Jak specifická je elektrická signalizace v masožravých rostlinách?

V naší nedávné studii (Jakšová a kol. 2020) jsme testovali, zda mucholapka může rozlišit poranění jako typický spouštěč obranných mechanismů rostlin od mechanické stimulace jako typického spouštěče masožravosti. Z výsledků vyplynulo, že elektrická signalizace v mucholapce není specifická. Lidský mozek dokáže dekódovat elektrické signály přicházející z různých receptorů, a můžeme tak rozeznat, zda naše pokožka byla pohlazena nebo zraněna. Totéž ale pro mucholapku neplatí. Poškození pastí spouští stejný akční potenciál jako návštěva možné kořisti. Jak poranění, tak chycení kořisti způsobují akumulaci kyseliny jasmonové v pastech a vedou k sekreci stejných enzymů. Je to jen další důkaz, který naznačuje, že obranné mechanismy rostlin proti býložravcům a patogenům byly převzaty (exaptovány), aby fungovaly při trávení kořisti (Schulze a kol. 2012). Evoluční biologie termínem exaptace popisuje změnu ve funkci znaku v průběhu evoluce. Exaptace např. nastala, pokud znak původně sloužil k jedné funkci, ale časem byl využit k jiné – to může být případ nejen fenotypických znaků, ale i genů ovlivňujících chování.



4 Mucholapka podivná před experimentem. Pokusné rostliny jsou pěstovány v rašelině za standardních skleníkových podmínek a zalévány destilovanou vodou. Katedra biofyziky Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci. Snímky J. Jakšové, pokud není uvedeno jinak

5 Lokální pasti mucholapky jsou po 40 dotecích spouštěcího výčnělku uvnitř pastí nebo při poškození vnějšího povrchu jehlou hermeticky uzavřeny, systémové pasti zůstávají otevřené. Šipky označují příklady obou typů pastí. Foto A. Pavlovič

### „Chuťové buňky“ mucholapky

Proces, při němž dochází k vyslání elektrických signálů, je časovou odpovědí mucholapky na výskyt kořisti nebo jiného dráždivého stimulu. Co se ale odehrává v pastí, jakmile mechanická stimulace kořisti ustane, tedy při pozdní reakci mucholapky? Jak mucholapka pozná, že jde opravdu o živočišnou kořist, když ani nerozezná, zda ji poškozuje nebo mechanicky stimuluje skutečná kořist? Regulace produkce enzymů je úměrná počtu spuštěných akčních potenciálů. Trávicí tekutina produkovaná v odpovědi pouze na mechanickou stimulaci však nemá tak velkou sílu pro strávení kořisti. Musí tam být nějaká chemická látka, uvolněná z částečně rozložené kořisti, která spouští úplnou enzymovou aktivitu a udržuje trávicí proces v běhu i několik dní poté, co pohyb ustane. Jednou z nejpotřebnějších živin omezujících růst masožravých rostlin v bio-

topech chudých na živiny je dusík. V mrtvém těle se vyskytuje ve formě chitinů a proteinů. Ve výše zmíněné studii jsme k výzkumu elektrické a jasmonátové signalizace použili právě tyto sloučeniny bohaté na dusík ve spojení s mechanickou stimulací spouštěcích výčnělků uvnitř pastí. Mnoho vědců se zaměřovalo na chitin jako součást vnější kostry hmyzu. Ačkoli je chitin pravděpodobně první složkou, která se dostane do přímého kontaktu s trávicími žlázami, není pro masožravé rostliny hlavním zdrojem dusíku v porovnání s proteiny. Na základě našich výsledků je zřejmé, že mucholapka rozpozná přítomnost a charakteristiku určitých chemických látek, a tomu také přizpůsobuje sekreci trávicích enzymů. Stimulace proteinem, konkrétně albuminem z hovězího séra (BSA), ve spojení s mechanickou stimulací vyvolala nejvyšší hladinu kyseliny jasmonové a jejího isoleucinového konjugátu, stejně jako nejintenzivnější expresi studovaných genů kódujících cystein proteázu (dionain) a chitinázu. Nutno podotknout, že samotná chemická stimulace nevyvolává žádné spontánní akční potenciály. Spojník mezi chemickými stimuly a enzymovými aktivitami tvoří jasmonáty. Zajímavostí také je, že schopnost vyvolat enzymovou aktivitu není substrátově specifická. Protein BSA byl nejlepším induktorem nejen proteolytických aktivit, ale také chitinázových a fosfatázových aktivit, zatímco chitin vykazoval spíše inhibiční efekt.

Mucholapka tedy umí pomocí chemických senzorů, kterými disponuje, dokonale rozlišit, jestli se v pastí nachází kořist, nebo ne. Těmito chemickými senzory jsou konkrétní receptory nebo kanály. Člověk má chuťové receptory vázány na chuťových pohárcích sliznice jazyka, díky nim rozeznáváme chuťové látky ve slinách a pět různých chutí. Chitin v mucholapce je rozpoznáván pravděpodobně pomocí LysM receptoru. Z výsledků Sönke Scherzera a jeho spolupracovníků (2013) lze usuzovat, že by přítomnost proteinů v pastí mohla být vnímána pomocí amoniového kanálu DmAMT1. Zmínění autoři krmili mucholapku glutaminem. Enzym s deaminázovou aktivitou odštěpil z glutaminu aminoskupinu za vzniku  $\text{NH}_4^+$ , který je přijímán amoniovým kanálem. Schopnost proteinu udržet vysokou hladinu jasmonátů a trávicí proces v běhu může být zprostředkována díky  $\text{NH}_4^+$ . V konečném výsledku kombinace elektrického signálu, jasmonátů a schopnosti rozeznat chemické látky skládá dokonalý proces, tvořící v mucholapce funkční celek.

*Tento příspěvek, stejně jako výzkum regulace enzymatických aktivit v masožravých rostlinách, byl podpořen Grantovou agenturou České republiky (projekt 16-07366Y) a Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy prostřednictvím Národního programu udržitelnosti I (grant LO1204).*

Seznam použité literatury uvádíme na webové stránce Živa. K tématu více také v Živě 2014, 2: 57–59.