

Vodní režim rostlin

- **Transport kapalné vody**
 - Transport vody přes membránu
 - Příjem vody kořenem
 - Radiální transport vody v kořenech
 - Kořenový vztlak
 - Příjem vody nadzemní částí

Základní charakteristiky transportu vody na buněčné úrovni

- **Transport kapalné vody přes membrány**
- (plasmalema, tonoplast, membrány organel)
- $\mathbf{J_w = L_p \Delta\psi_w = L_p (\Delta\psi_p + \sigma\Delta\psi_s)}$
- $\mathbf{J_w}$ - transport vody membránou, $\mathbf{L_p}$ - permeabilita mebrány pro vodu,
- $\mathbf{\Delta\psi_w}$ - rozdíl vodního potenciálu, $\mathbf{\Delta\psi_p}$ - rozdíl tlakového potenciálu,
- $\mathbf{\sigma}$ - reflexní koeficient, $\mathbf{\Delta\psi_s}$ - rozdíl osmotického potenciálu
-
- Ve skutečnosti situace komplikovanější: současný transport více látek (např. vody a iontů), elektroosmóza, tepelná osmóza, apod.

Současný transport vody a rozpuštěné látky

- Matematické vyjádření umožňuje thermodynamika ireversibilních procesů,
- $\mathbf{J}_w = \mathbf{L}_w \Delta\mu_w + \mathbf{L}_{ws} \Delta\mu_s$
- $\mathbf{J}_s = \mathbf{L}_s \Delta\mu_s + \mathbf{L}_{sw} \Delta\mu_w$
- \mathbf{J}_w - tok vody, \mathbf{J}_s - tok rozpuštěné látky, $\Delta\mu_w$ - gradient chemického potenciálu vody, $\Delta\mu_s$ - gradient chemického potenciálu rozp. látky, \mathbf{L}_w , \mathbf{L}_s - permeabilita membrány pro vodu a pro rozp. látku, $\mathbf{L}_{ws} = \mathbf{L}_{sw}$ (Onsagerovy reciproční koeficienty)

Interakce mezi vodou a rozpuštěnou látkou při jejich průchodu membránou

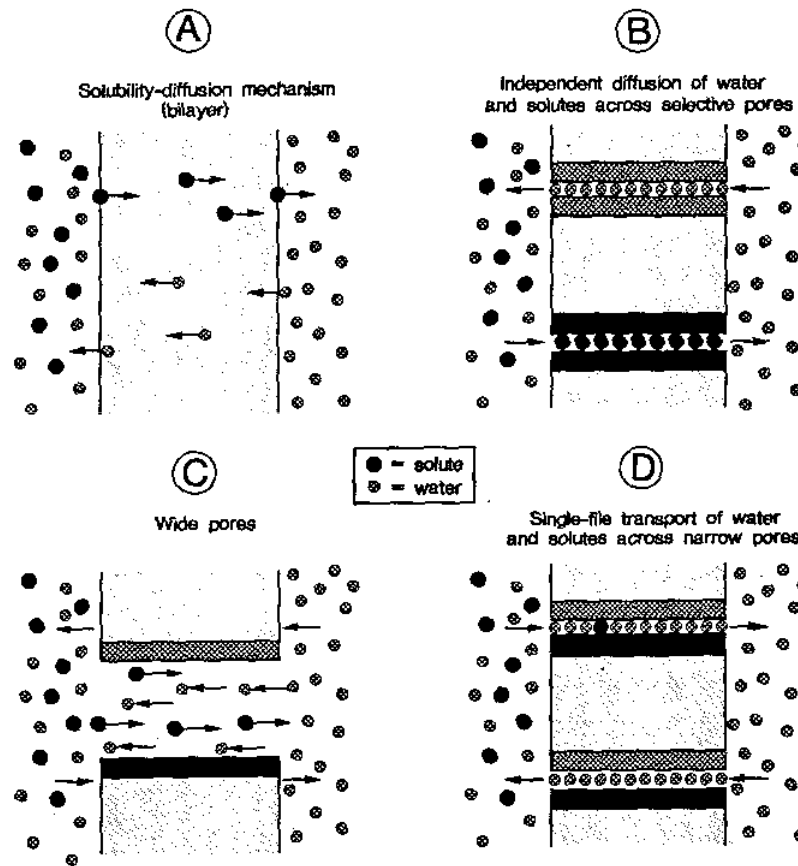
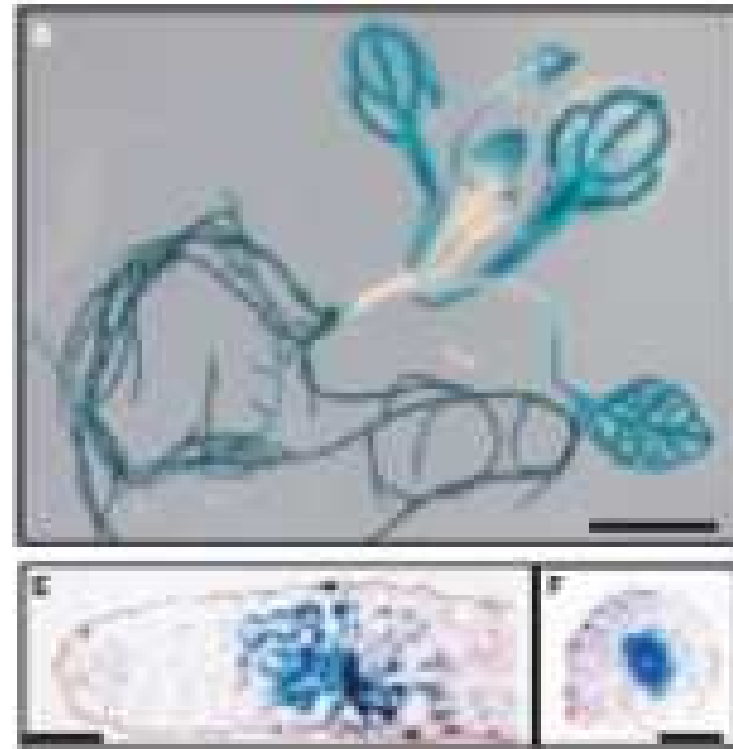
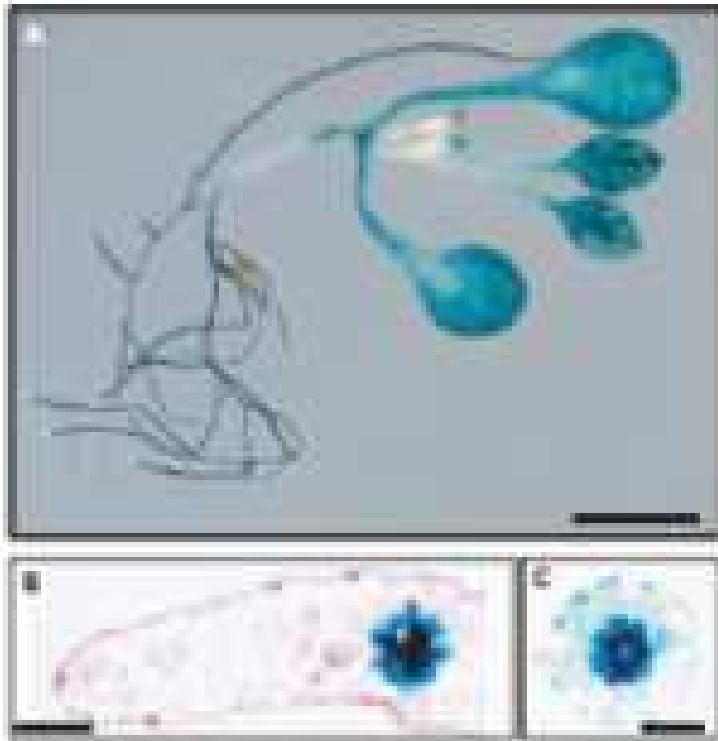


Fig 3. Interactions between water and solutes during their passage across membranes. A, B. Water and solutes move independently of each other by diffusion either across the lipid bilayer (solubility-diffusion mechanism) or across different selective pores (eqn (3)). C. A wide pore is sketched which permits water and solutes to pass each other in the pore. This results in some frictional interaction between flows which can be expressed in terms of the reflection coefficient (solvent drag; eqn (4)). D. Single-file pores are indicated which allow the passage of water and solutes, but no passing of molecules within the pore. This results in a tight stoichiometric coupling between water and solutes (eqn (5)).

Membrány, aquaporiny

- **Membrána:** fosfolipidová dvojvrstva (transport O_2 , CO_2) + transmembránové proteiny (transport vody, iontů včetně protonů, některých hydrofilních organických látek); pasivní a aktivní transport (proti gradientu chem. poten.); ATPasy, přenašečový transport (antiport, symport),
- **Aquaporiny** patří do skupiny "major intrinsic proteins" (MIP); proteiny 25 - 30 kDa;
- tonoplast intrinsic proteins (TIP), plasmalemma intrinsic proteins (PIP), nodule intrinsic proteins (NIP), small intrinsic proteins (SIP)
- pasivní transport, tok v obou směrech, permeabilita pro vodu o 1 až 2 řády vyšší než je permeabilita lipidové dvojvrstvy; častý výskyt, velká heterogenita jak u různých druhů rostlin tak v rámci jedné rostliny v souvislosti s různou lokalizací (u *Arabidopsis* 35 a u bavlníku 71 MIP)

Lokalizace aquaporinů (Da Ines et al. 2010)

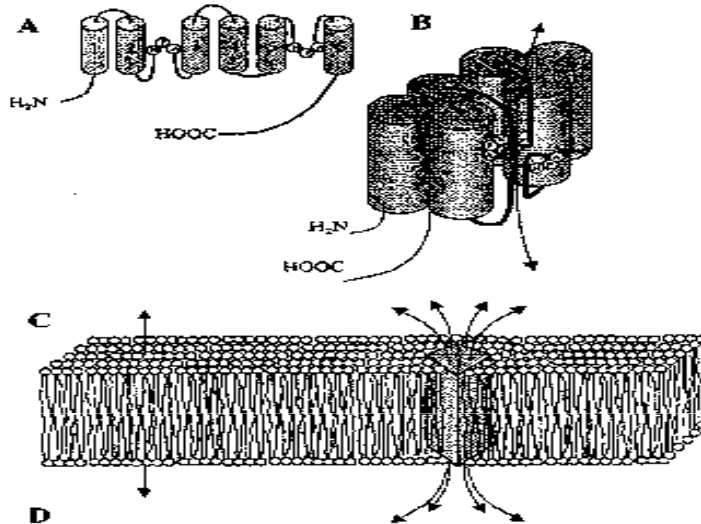


Histochemická lokalizace *PIP2;1::GUS* (A,B,C) a *PIP2;2::GUS* (D,E,F) v semenáčcích *Arabidopsis* (A,D), průřezu primárních listů (B,E) a kořenů (C,F).

Aquaporiny - struktura

1056 Tyerman et al.

TRANSMEMBRANE WATER TRANSPORT



via lipid bilayer	via water channels
$F_{os}/P_s = 1$	$F_{os}/P_s > 1$
low P_{os} (10^{-5} m s^{-1})	high P_{os} (10^{-4} to 10^{-3} m s^{-1})
$E_a = 46$ to 63 kJ mol^{-1}	$E_a = 17$ to 25 kJ mol^{-1}
Insensitive to mercurials	Sensitive to mercurials
Gating not possible	Gating possible

Fig. 1. Summary of the properties of water permeation through the lipid phase of cell membranes and through water channels embedded in the lipid bilayer. (A) The predicted secondary structure of the AQP1 monomer is shown, with the cylinders denoting membrane-spanning α -helices (N, P and A are single-letter amino acid codes). (B) Proposal for the manner in which the two NPA motifs overlap in the membrane to form a water-filled pore, indicated by the vertical arrow (adapted from Jung et al., 1994). In reality the helices are tilted at an angle of approximately 25° from vertical and the water pore is more centrally located in the monomer (Cheng et al., 1997). (C) In the membrane, four polypeptides form a tetrameric array, with water flow occurring through each monomer. (D) Summary of the features associated with water flow across the lipid bilayer only compared with water flow through a biological membrane studded with aquaporins. Note that F_{os} is given for the entire membrane and not for the individual aquaporin monomers.

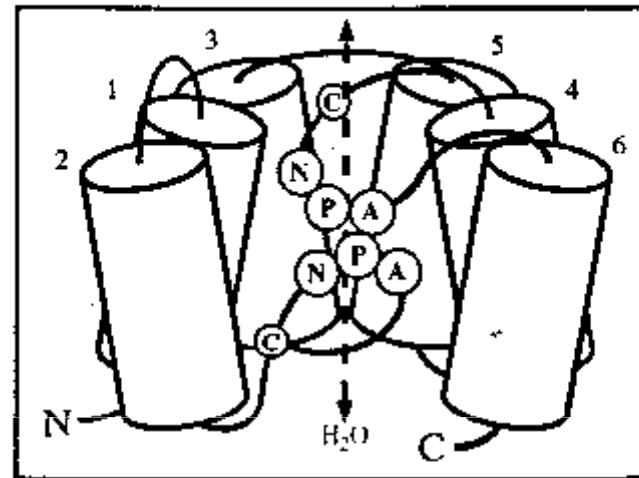


Figure 1. Model of the Structure of the Aquaporin Protomer.

The model shows six membrane-spanning domains (numbered 1 through 6) and two Asn-Pro-Ala loops folded into the membrane. The proposed path taken by water molecules is shown by the dashed double arrow.

Aquaporiny

92 D.-T. Luu & C. Maurel

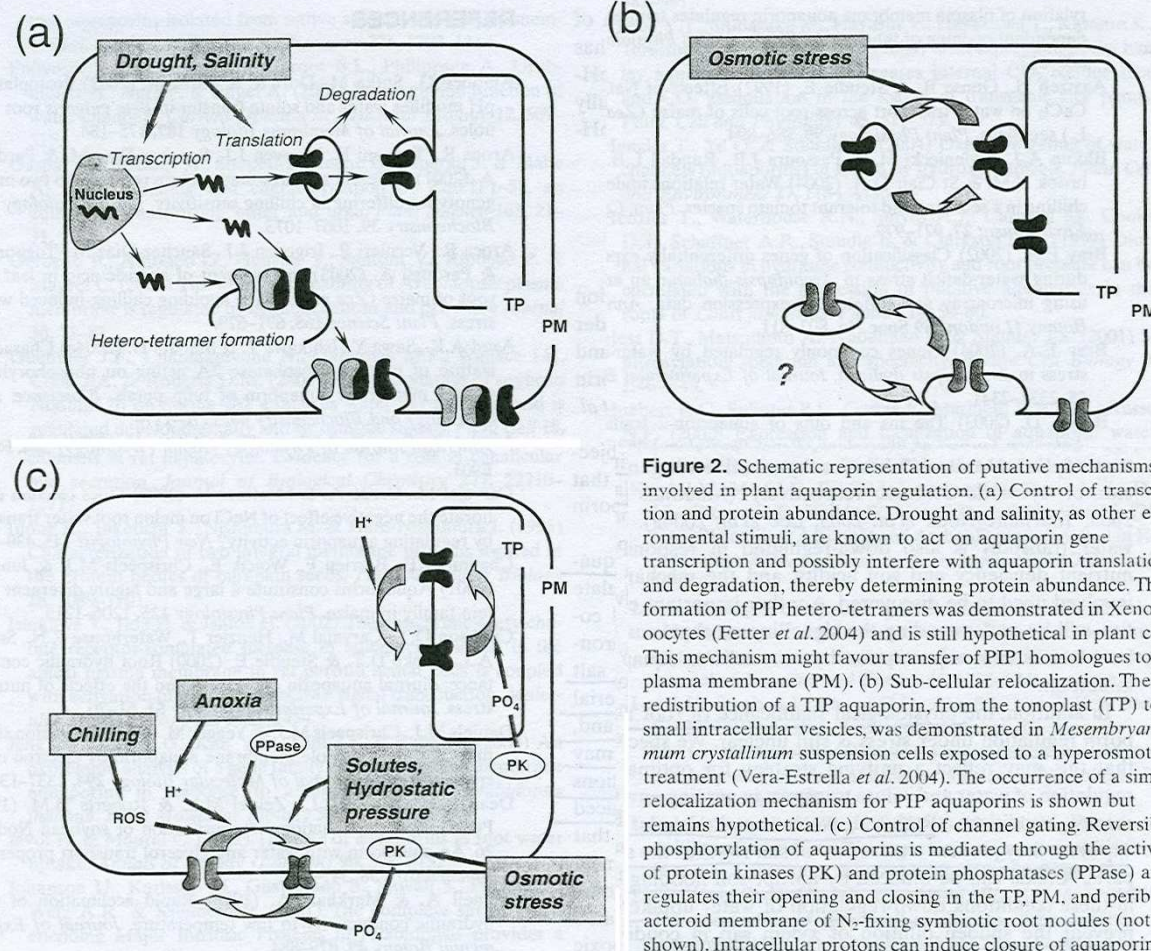


Figure 2. Schematic representation of putative mechanisms involved in plant aquaporin regulation. (a) Control of transcription and protein abundance. Drought and salinity, as other environmental stimuli, are known to act on aquaporin gene transcription and possibly interfere with aquaporin translation and degradation, thereby determining protein abundance. The formation of PIP hetero-tetramers was demonstrated in *Xenopus* oocytes (Fetter *et al.* 2004) and is still hypothetical in plant cells. This mechanism might favour transfer of PIP1 homologues to the plasma membrane (PM). (b) Sub-cellular relocalization. The redistribution of a TIP aquaporin, from the tonoplast (TP) to small intracellular vesicles, was demonstrated in *Mesembryanthemum crystallinum* suspension cells exposed to a hyperosmotic treatment (Vera-Estrella *et al.* 2004). The occurrence of a similar relocalization mechanism for PIP aquaporins is shown but remains hypothetical. (c) Control of channel gating. Reversible phosphorylation of aquaporins is mediated through the activity of protein kinases (PK) and protein phosphatases (PPase) and regulates their opening and closing in the TP, PM, and peribacteroid membrane of N_2 -fixing symbiotic root nodules (not shown). Intracellular protons can induce closure of aquaporins in the TP and PM. Reactive oxygen species (ROS), high solute concentrations, and cell hydrostatic pressure act on aquaporin activity but it remains unclear whether their effects are direct or indirect. The graph also shows the effects of chilling, anoxia, and osmotic stress, on accumulation of ROS, accumulation of intracellular protons, and activity of a PK, respectively.

(Luu and Maurel 2005)

Aquaporiny – regulace transportu vody

- **Aquaporiny** umožňují buňce regulovat transport vody: změnou hojnosti jejich výskytu (exprese genů) a změnou jejich propustnosti
 - fosforylace zvyšuje a defosforylace snižuje permeabilitu, fosforylace - proteinová kináza závislá na Ca^{2+} ,
 - ovlivněna Na^+ , Cl^- , toto ovlivnění je zmírněno současným přidáním Ca^{2+} ,
 - nedostatkem O_2 , ROS
 - vodní stres, ABA,
 - cirkadiální rytmus,
 - různá selektivita,
 - jejich funkce je experimentálně často blokována Hg^{2+} ,
- význam pro kompartmentaci uvnitř buněk (mnohem více TIP v tonoplastu než PIP v plasmalemně), rychlý transport mezi sousedními buňkami (pohyby průduchů, motorické buňky, prodlužovací růst), při sníženém transportu apoplastem

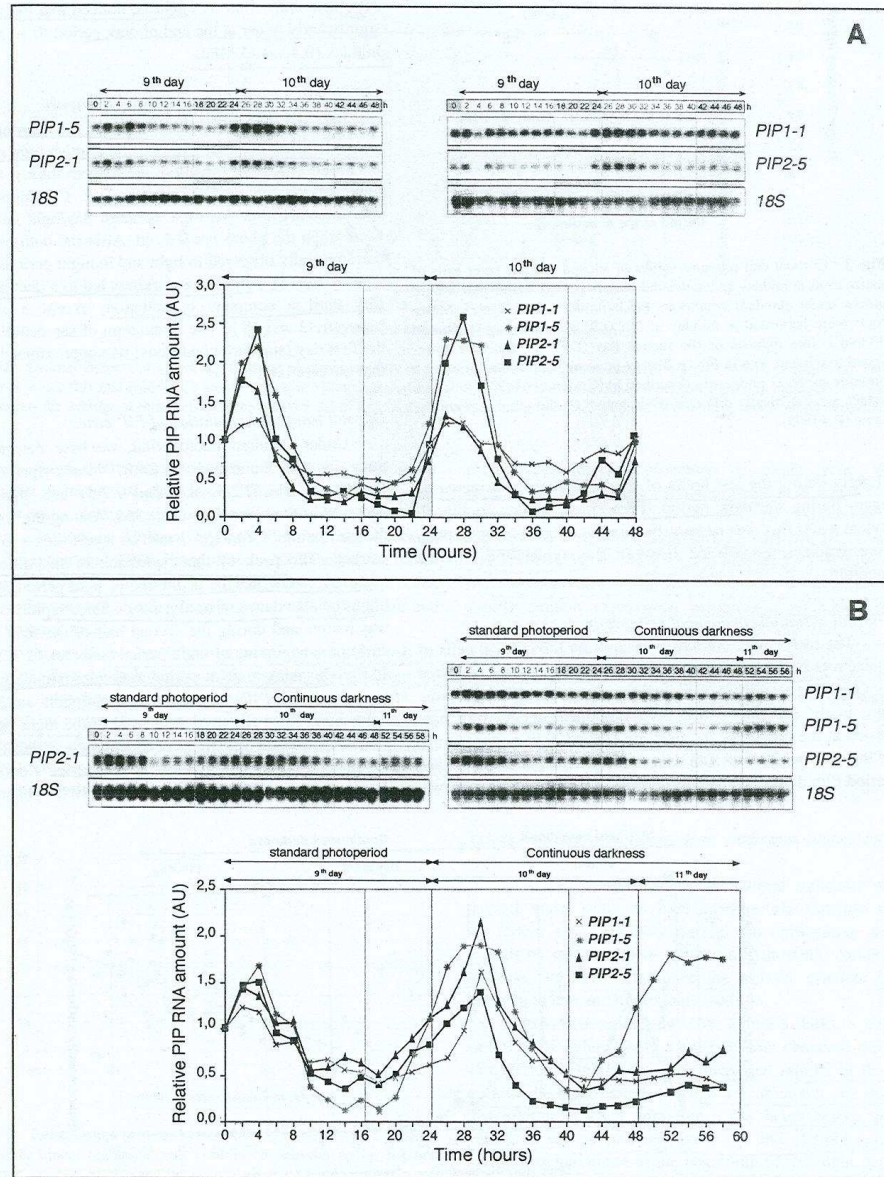


Fig. 5

Day-night oscillations of various *ZmPIP* transcript levels in roots of young maize plants grown under 16-h photoperiod or continuous darkness. (Lopez *et al.* 2003)

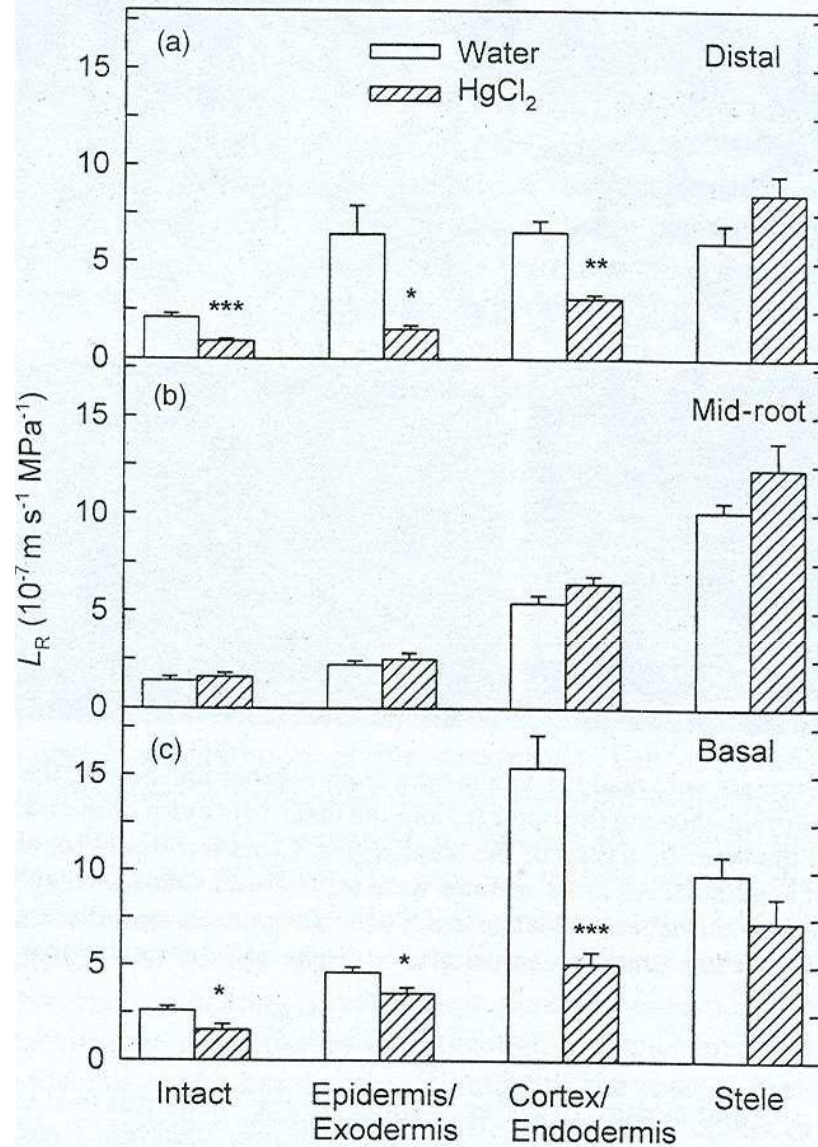
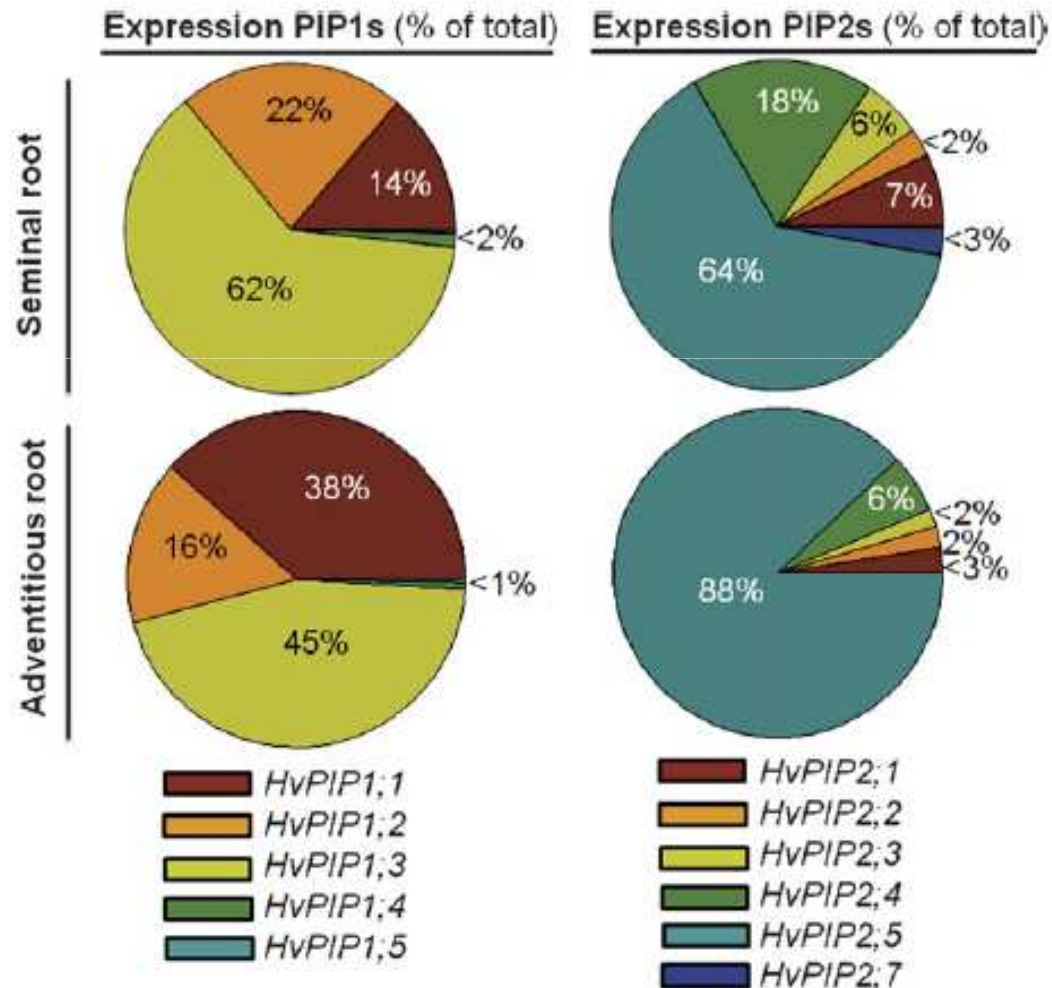


Figure 5. L_R for distal, mid-root and basal regions of roots of *A. deserti* under wet conditions. L_R for intact segments, the epidermis plus exodermis ($L_{R,EPEx}$), the cortex plus endodermis ($L_{R,CoEn}$) and the stele ($L_{R,S}$) was calculated from L_P measured in water (open bars) and in $25 \mu\text{M}$ HgCl_2 (hatched bars), using mean values of K_h (text data, assumed not to change in HgCl_2) for each root region; Eqn 2 was used for intact segments and Eqns 3 and 4 for sequential cell layers. Data are means ± 1 SE ($n = 5-6$ plants). Asterisks indicate significant differences due to the HgCl_2 treatment (Student's *t*-test).

(North *et al.* 2004)

Příspěvek jednotlivých aquaporinů k celkové expresi PIP1 a PIP2 v primárním a adventivním kořenu ječmene (Knipfer *et al.* 2011)



Aquaporiny urychlující transport vody v listu (Heinen *et al.* 2009)

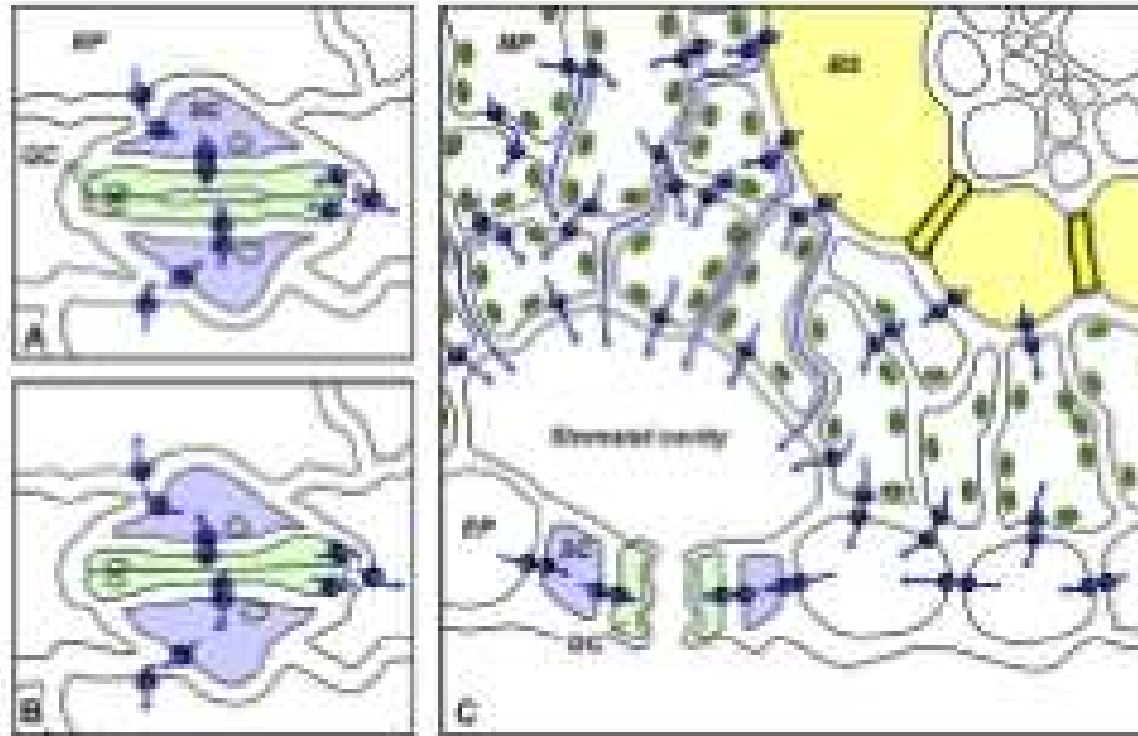


Fig. 2. Models of aquaporin-facilitated transmembrane water flow in *Z. mays* stomatal apparatus and mesophyll cells. (A) Schematic view on a stomata during its opening process. Unlike stomata are composed of two guard cells (GC, light green) surrounded by two subsidiary cells (SC, light blue). During stomatal opening, solute accumulation in the guard cells decreases the osmotic potential. To re-establish the osmotic equilibrium, water follows the solutes into the guard cells resulting an increase in their volume and turgor pressure which finally causes the pore aperture allowing gas/liquid exchanges. The water influx could be facilitated by a high expression and activity of aquaporins in the guard cells plasma membranes but also in the surrounding subsidiary and epidermal (EP) cells. The same cell type could play an important role in supplying the water required by the guard cells. (B) Schematic view of a stomata during its closure. During the closure, the decrease in water potential in the guard cells induces a rapid water efflux, which could also be facilitated by AQP's in suitable way including the opening process. (C) Schematic view of a cross-section through a stoma leaf showing the radial water flow during transpiration out of the bundle sheath towards the stomatal cavity. Water of the transpiration stream can follow either the apoplastic or free cell-to-cell pathways. The transcellular component of the cell-to-cell pathway could be increased by the presence of AQP's. Also, AQP expression in mesophyll cells could also facilitate the CO_2 uptake, which is not represented in this figure and is photoacoustically important for the apoplastic pathway; have been omitted to avoid an overcharge of the figure. All these models are obtained from previous (collaborative) data demonstrating the presence of 2 mEP proteins in the plasma membranes of these cells (Heinen *et al.*, 2009). SC, bundle sheath; EP, epidermal; GC, guard cell; MP, mesophyll; SC, subsidiary cell.

Příjem a transport vody v kořenech

- **Absorpce vody kořenem :**
- $\mathbf{J_w = L_{sr} \Delta\psi_w}$
- J_w - rychlost absorpce, L_{sr} - vodivost na rozhraní kořen a půda, $\Delta\psi_w$ - rozdíl vodního potenciálu mezi půdou a kořeny
- $\mathbf{M_a = A \times L_{sr} \Delta\psi_w}$
- M_a - množství absorbované vody, A - absorpční plocha

- *Dostupnost půdní vody:* množství vody, množství rozpuštěných látek (iontů - osmotický potenciál), velikosti půdních částic určujících velikost pórů (menší než 10 μm kapilární síly) a tím matriční potenciál.
- Množství dostupné vody = množství vody při plné půdní kapacitě - množství v bodě trvalého vadnutí (ψ_{soil} -0.03; -1.5 MPa).

Adaptace kořenů

- *Hydrotropický růst kořenů* - zpomalení růstu na straně kde je vyšší vlhkost půdy a zrychlení na opačné straně, senzorem pravděpodobně kořenová čepička, mechanismus není znám, může se uplatňovat modulus elasticity buněčné stěny.
- *Další morfologické přizpůsobení* - rozložení kořenů, dvojitý kořenový systém
- *Anatomické* - endodermis, exodermis, atd
- *Fyziologické* - osmotické vyrovnávání
- Většinou je vodní potenciál půdy vyšší (méně negativní) než vodní potenciál kořenů a proto dochází k absorpci vody do kořenů, ale může tomu býti i naopak ve velmi suché nebo zasolené půdě. Rostlina se výdeji vody brání anatomickou stavbou kořene (exodermis, suberinizace rhizodermis).
- Rostlina - výtah pro vodu

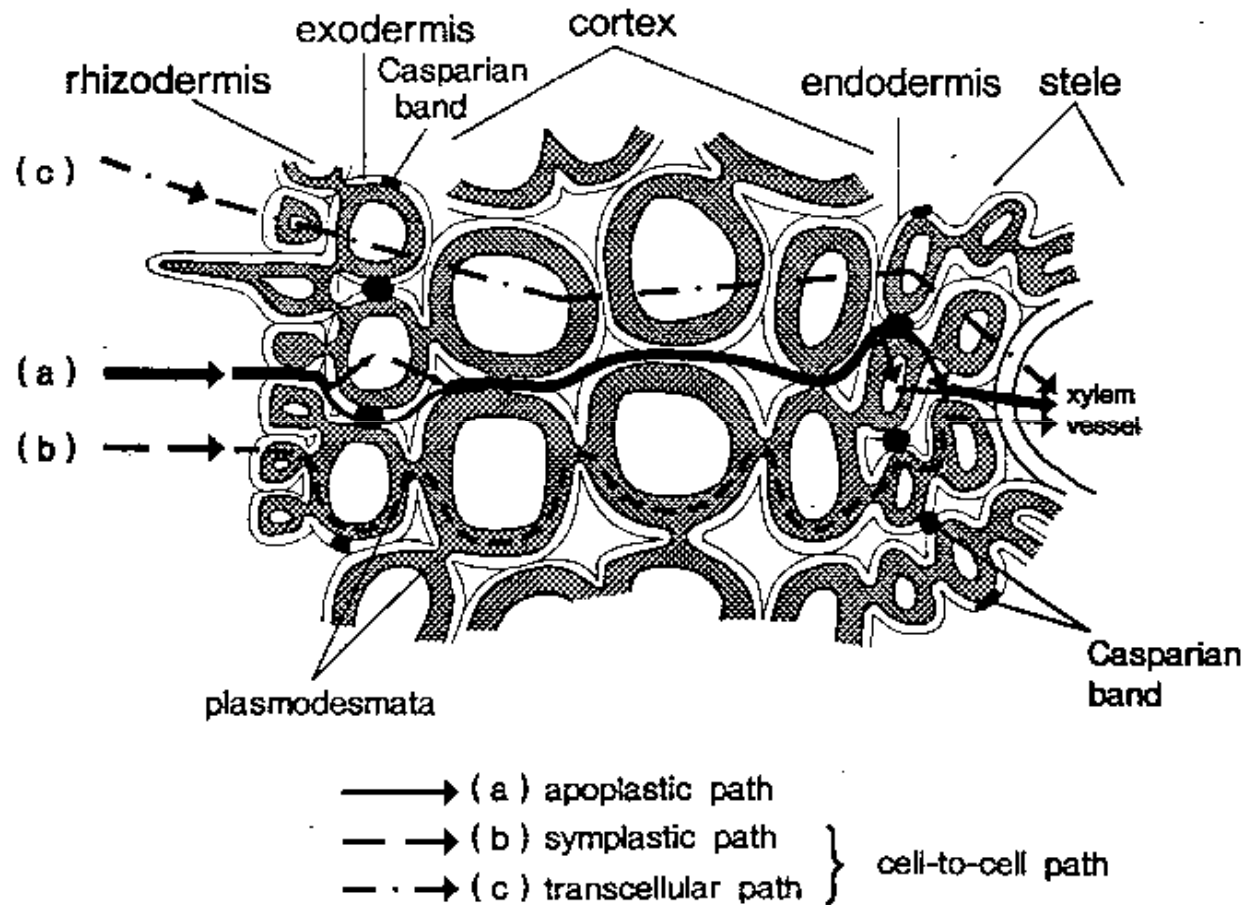
Příjem vody kořenem

- U většiny rostlin se *zóna nejrychlejšího příjmu vody* v apikální části kořene (5 - 10 cm od vrcholu, závisí na druhu rostliny a prostředí)
- Shoduje se zónou největšího výskytu *kořenových vlásků*.
- Množství je obrovské ale jejich doba života je krátká (maximálně několik týdnů). Jejich význam je ve zvětšení absorpční plochy a závisí na tom kolik z přijaté vody do kořenového vlásku je spotřebováno na jeho růst a kolik je transportováno dále do kořene.
- Příjem vody suberinizovanými kořeny je podstatně pomalejší, není zanedbatelný vzhledem k jejich obrovské ploše (asi 30 %).
- Mykorýza
- Velká složitost a variabilita anatomické stavby u různých druhů rostlin (exodermis, suberinizace, postranní kořeny)

Radiální transport vody v kořenech

- *Radiální transport* ve tkáni kořene:
- *apoplastem* (buněčné stěny, intercelulární prostory),
- *symplastem* (protoplasma propojená plasmodesmaty),
- *přes buňky*
- podobně jako u transportu přes membránu se v transportu kořenem (J_r) uplatňuje jak gradient tlaku ($\Delta\psi_p$) tak i gradient osmotického potenciálu ($\Delta\psi_s$), jejich uplatnění závisí na cestě vody a na rychlosti transpirace.
- $J_r = L_r \Delta\psi_w = L_r (\Delta\psi_p + \sigma\Delta\psi_s)$
- L_r - vodivost kořene, σ - reflexní koeficient

Různé cesty transportu vody v kořenu



Různé cesty transportu vody v kořenu

784 Steudle and Peterson

Composite transport model of root

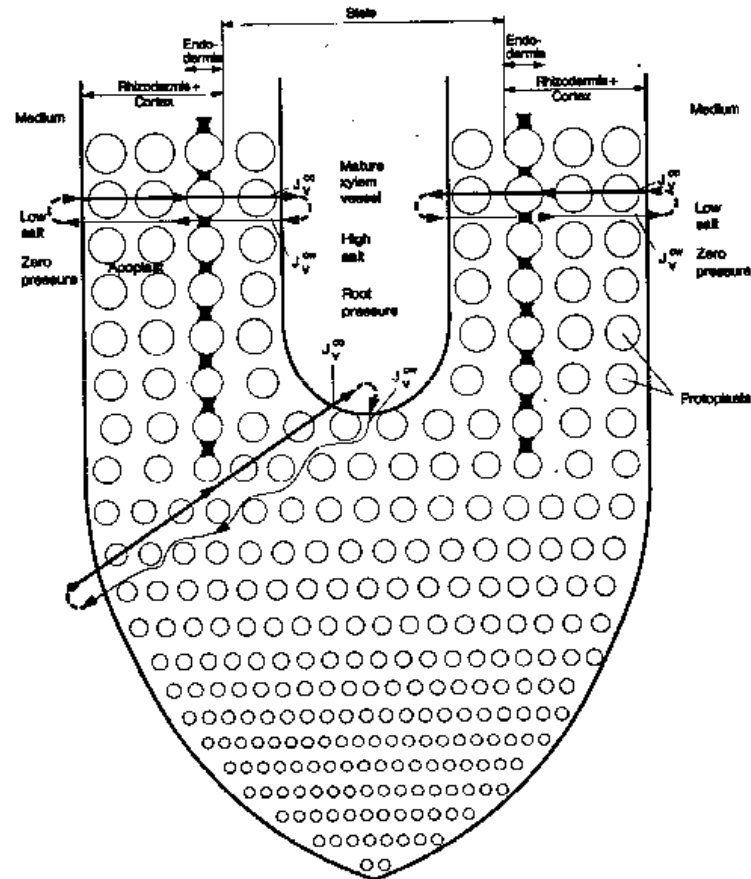


Fig. 3. Composite transport model of root (schematic). The root osmotic barrier is comprised of cells (protoplasts) and the apoplast. The apoplastic path may be interrupted by Casparian bands in the endo- and exodermis (exodermis not shown for the sake of simplicity). Water and solutes move along two parallel pathways (cell-to-cell and apoplastic routes which are denoted by superscripts 'oc' and 'cw', respectively). The cell-to-cell path has a high selectivity (reflection coefficient, $\sigma_w^{oc} \approx 1$), and the apoplastic path a very low selectivity for solutes ($\sigma_w^{cw} \approx 0$). At low rates of transpiration, this results in a circulation flow of water in the root (denoted by J_v) and in a low overall root σ_w (as found experimentally). The model explains variable root hydraulic conductivity which depends, in part, on the nature of the driving force. For further explanation, see text.

Zastoupení jednotlivých cest

- *Zastoupení jednotlivých cest: transport apoplastem vyšší při vyšším $\Delta\psi_p$, tedy při vyšší transpiraci, vodivost vyšší, nízký reflexní koeficient (též difúze a hromadný tok rozpuštěných látek), omezení anatomickou stavbou- endodermis, exodermis*
- *Symplastem + přes buňky - uplatňuje se hlavně $\Delta\psi_s$, vysoký reflexní koeficient, nižší vodivost, aquaporiny, vzájemné ovlivnění mezi transportem vody a rozpuštěných látek; ovlivnění ABA, Ca^{2+}*
- *Transport vody tedy závisí: 1) morfologii a anatomii, 2) mechanismu transportu, 3) interakci vody a rozpuštěných látek, 4) aktivitě aquaporinů*
- *Obdobný mechanismus: radiální transport ve stonku, longitudiální transport v kořenech a stonku mimo cévní svazky, transport v listu*

Kořenový vztlak

- dostatečná vlhkost půdy, nízká rychlost transpirace (jarní doplnění vody v cévách)
- projevy - gutace, exudace
- mechanismus: do xylému transportovány osmoticky aktivní látky, vytváří se značný gradient osmotického potenciálu mezi buňkami kořenů a xylémem, který zajišťuje transport vody do xylému a tím se v cévách vytváří pozitivní tlakový potenciál
- model Taura a Katou 1988 - není nutný nízký osmotický potenciál xylemové šťávy

Model radiálního transportu vody a iontů v kořeni

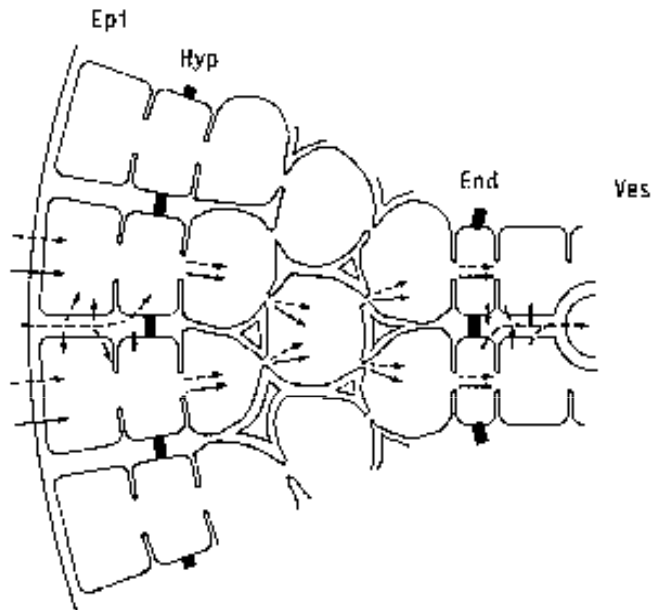


Fig. 2. A scheme of the radial transport pathway of solute and water across maize roots. *Ep1* epidermis, *Hyp* hypodermis, *End* endodermis, *Ves* a xylem vessel. — — — indicates the water flow. Black-filled spaces are the Casparian strips at the endodermis and the hypodermis. Solute and water are absorbed in the root peripheral layers (*i.e.*, both in the epidermis and the hypodermis), transported to the root stele through the symplast and secreted finally into the xylem vessels

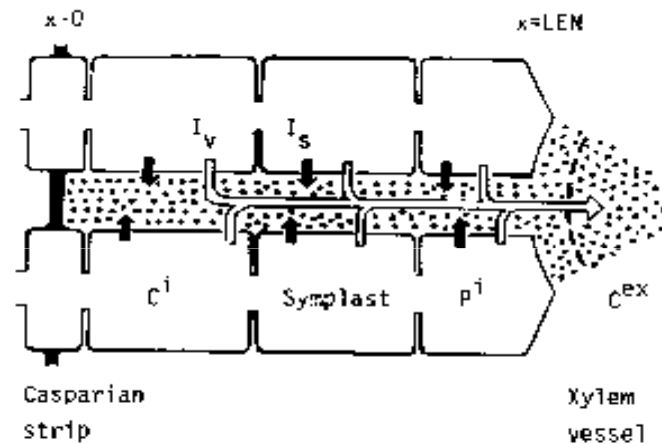


Fig. 3. Schematic representation of the apoplast canal system in the root stele which enables metabolism dependent water transport into vessels. C^{ex} the osmotic concentration of the xylem exudate, C^i the osmotic concentration in the symplast, P^i the intracellular pressure with reference to the bathing medium, I_s the net solute flux across the symplast cell membrane into the canal, I_v water excretion flux across the symplast cell membrane into the canal, L, EN canal length

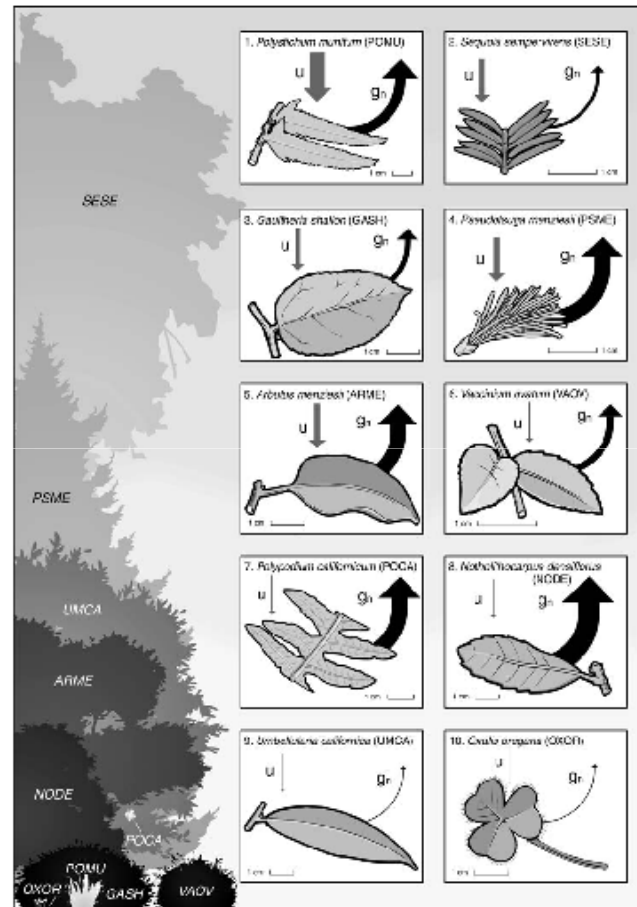
Příjem vody nadzemní částí

- Dešťové srážky, rosa, mlha, vysoká vlhkost vzduchu
- Předpokladem je relativně nízký vodní potenciál v nadzemní části, může dojít i k opačnému gradientu vodního potenciálu a opačnému směru transportu vody
- Při dešťových srážkách větší část vody vypařena zpět, malá část absorbována listy, závisí též na smáčivosti listů
- Pro vodní bilanci rostliny je obvykle významnější omezení transpirace než příjem vody
- Epifytické rostliny (*Bromeliaceae*, *Orchidaceae*)

Příjem vody ze vzduchu listy různých rostlin v lesním porostu

(Limm et al. 2009)

Fig. 3 Leaf wetting increases foliar hydration in many of the dominant broadleaf, coniferous, and fern species of the redwood forest ecosystem. Each box illustrates the leaf morphology of one species with grey arrows illustrating the magnitude of foliar uptake capacity (U); arrow thickness represents the foliar uptake capacity of each species relative to the maximum capacity measured) and black arrows illustrating water conservation when leaf wetting stops nocturnal water loss through stomata (g_n ; arrow thickness represents the nocturnal conductance rate of each species relative to the maximum rate measured). These species are ranked in order of how influential foliar uptake may be for leaf hydration relative to the suppression of nocturnal conductance when leaves are wet. *P. murinum* is ranked first because it demonstrated the highest ratio of foliar uptake capacity to nocturnal conductance and *U. californica* and *O. oregana* are ranked last because no foliar uptake capacity was measured. All illustrated species either experience leaf wetting in the canopy of redwood forest where fog impaction and interception occurs first during fog exposure or on the forest floor where occult precipitation delivers fog water after the canopy foliage saturates. Crown silhouettes on the left indicate the relative position of each species within the redwood forest profile.

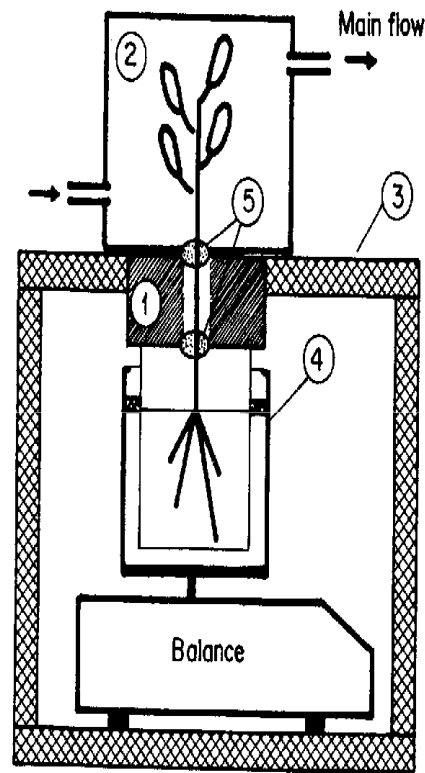


Metody stanovení

- 1) *Gravimetrické metody*
 - a) současné stanovení absorpce vody a transpirace v laboratorních podmínkách
 - b) stanovení spotřeby vody v polních podmínkách - lyzimetry (za předpokladu vyrovnané vodní bilance používají se ke stanovení evapotranspirace umělých nebo přirozených porostů)
- 2) *Stanovení rychlosti příjmu vody potometry*
 - a) pro celý kořenový systém
 - b) pro jednotlivé části
- 3) *Měření kořenového vztlaku*
 - a) určení množství exudované tekutiny po odříznutí nadzemní části
 - b) použití tlakové sondy

Gravimetrické metody

Fig. 14.13. Schematic design of water-budget meter: 1 control unit with attached inner and outer containers mounted on a balance; 2 gas exchange cuvette for determining CO₂ exchange and transpiration; 3 steel cage connecting control unit with platform of the balance; 4 outer container on the pan of the balance with oil seal to prevent evaporation to ambient air; 5 air-tight seals fixing the plant to the control unit and gas exchange cuvette; wind and radiation shields not shown. (From Flach et al. 1995)



Současné měření rychlosti
absorpce a rychlosti transpirace
v laboratorních podmínkách

Potometry

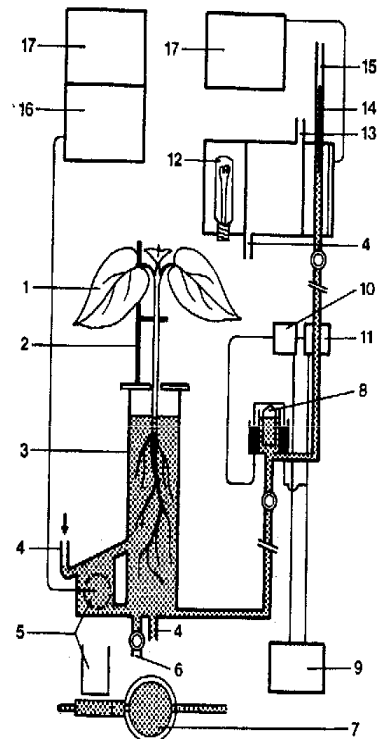


Fig. 3.25 The equipment used for continuous recording of the phosphate and water uptake in a plant root (PETERSSON 1971). 1 — plant, 2 — plant holder, 3 — plexiglass vessel containing labelled nutrient solution, 4 — air inlet, 5 — end-window GM-tube, 6 — solution outlet, 7 — plexiglass vessel, vertical view, 8 — float switch, 9 — DC-set, 10 — relay, 11 — magnet valve, 12 — lamp, 13 — air outlet, 14 — float, 15 — glass burette, 16 — ratemeter, 17 — recorder.

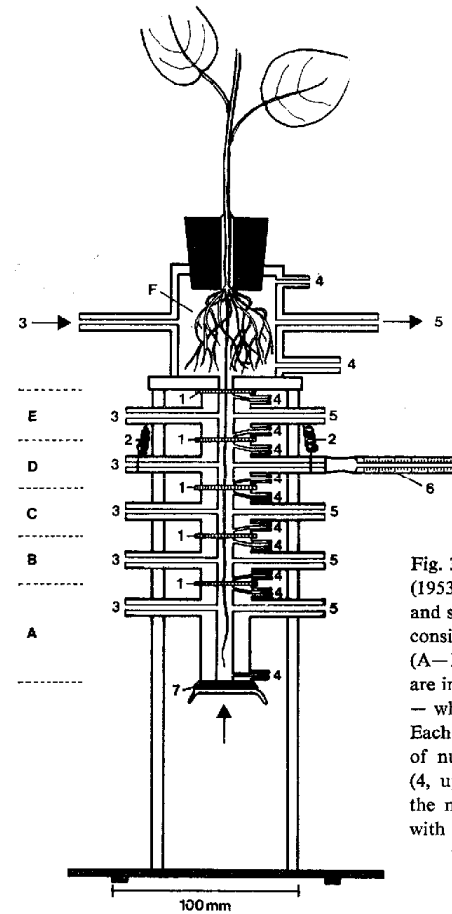


Fig. 3.30 Micropotometer used by BROUWER (1953) for determining absorption of water and salts in various parts of a single root. It consists of a set of small Lucite chambers (A—E) with a main chamber (F). All of them are interconnected using rubber discs (1) and — when measuring — a pair of springs (2). Each chamber has an inlet (3) for addition of nutrient solution and two lateral tubes (4, upper and lower) and a connection for the measuring capillary (6). 7 — metal disc with attached strong spring (arrow). The whole device is screwed to a stand.

Tlaková sonda pro stanovení kořenového vztlaku

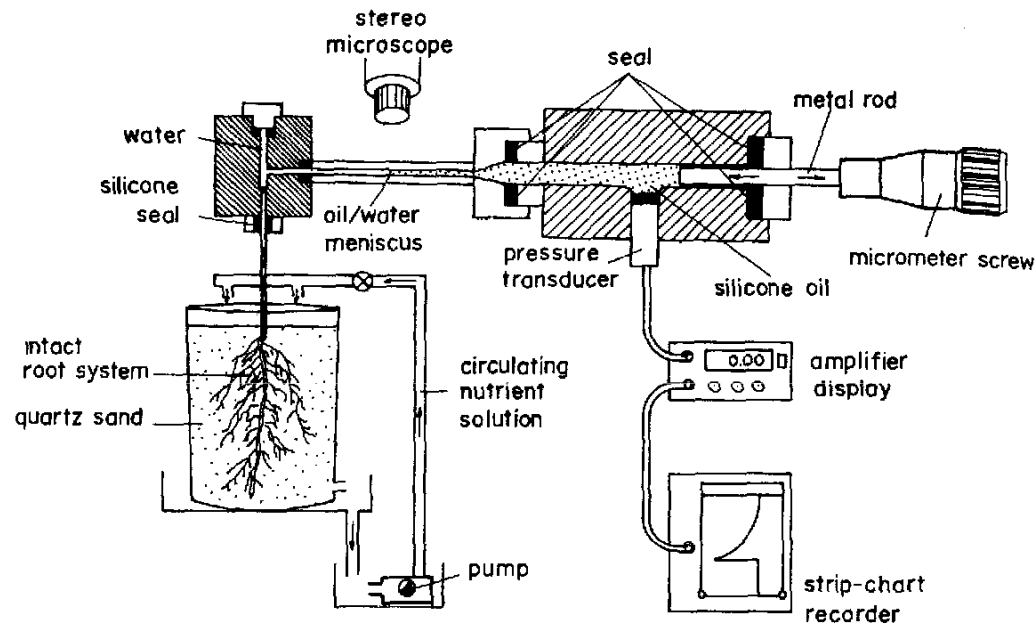


Fig. 14.14. Device for measuring root pressure and root pressure relaxation on spruce roots; root pressure was monitored by a pressure transducer connected to an amplifier and display; movements of the oil water meniscus are recorded in a measuring capillary (stereo microscope); hydrostatic pressure relaxations are measured by moving the micrometer screw rapidly into and out of the pressure probe. (From Rüdinger et al. 1994)

Měření transportu vody v kořeni (Fritz *et al.* 2010)

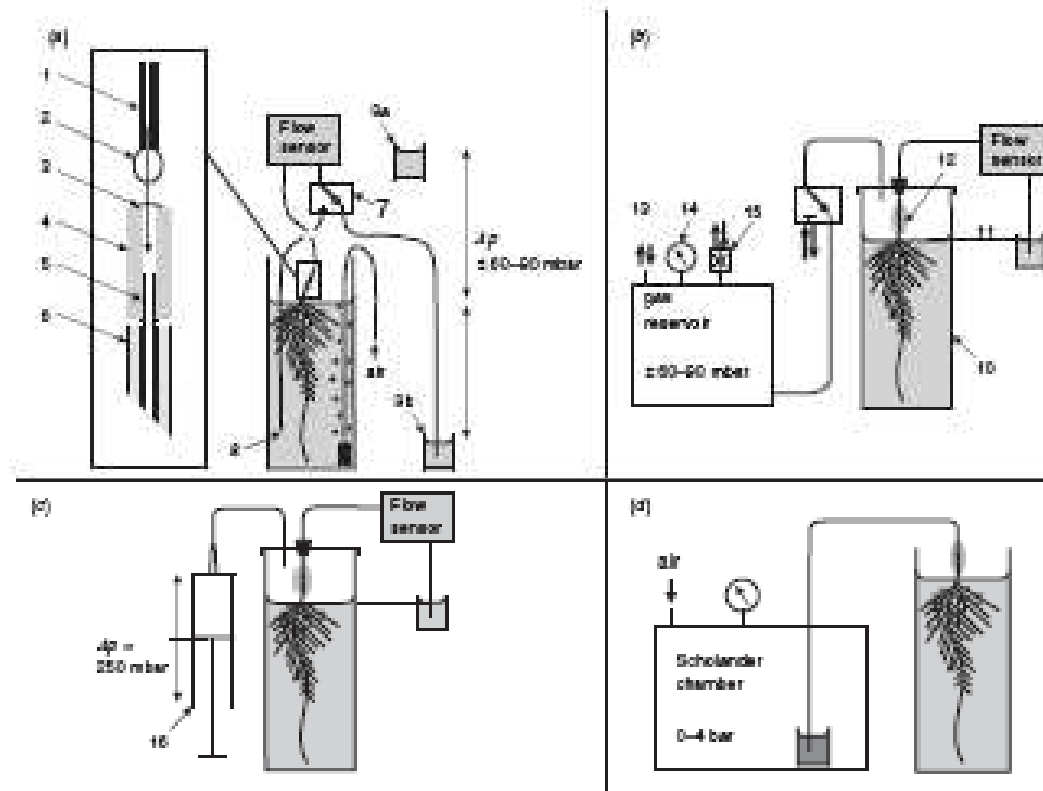


Fig. 4. Devices used for experimental treatment of maize root systems grown in hydroponics. (a) Device for application of radial hydrostatic pressure difference by changing the outflow level. The rootlets (3) were shielded from the cortex (4) and a silicone was coated with the gas reservoir (1) before insertion into the silicone adapter (4) as shown (inset). After complete filling of the tubing with water from the outflow side a droplet (2) appeared at the inlet tubing (1). The inlet tubing was inserted into the silicone adapter (4) that contained radial cutlets (3). The outlet tubing of the flow sensor was connected to a three-way cock (7) that allowed for switching between two different height levels of the outflow, one (8) being the medium surface (zero level), the other one a point for positive (9) or negative (9a or 9b). (b) Device for pneumatic application of a radial hydrostatic pressure difference. The root and the lateral adhesion were enclosed gas-tight within the growth chamber (10), whereas the outlet of the sensor tubing was kept at atmospheric pressure at exactly the height of the medium surface (11). To prevent elastic deformation, the silicone droplet was coated with gas (12). The air pressure above the medium could be raised or lowered by connection of the root chamber to a gas reservoir, wherein the pressure was adjusted to a constant value slightly above or below atmospheric pressure. This reservoir was connected (13) with a syringe pump providing in the sucking or pumping mode. The pressure in the gas reservoir was adjusted with a manometer (14) and a valve (15). The pressure difference between atmospheric and root chamber could be applied or removed within less than one second by a three-way cock (6). Application of oscillating radial pressure gradients. The gas-tight central rootlet (3) was connected with a syringe (14). (c) Infusion of a dye solution into the root adhesion into the stem. For application of pressure to the dye solution a commercial Scholander chamber was used. The pressure in the chamber could be adjusted by the needle valve of the Scholander chamber and a capillary outlet.