

SYLWIA ZIELIŃSKA

*Katedra Biotechnologii Roślin, Wydział Biologii
Uniwersytet Szczeciński
Wąska 13, 71-415 Szczecin
E-mail: sziel@univ.szczecin.pl*

METABOLIZM WĘGLOWODANÓW JAKO JEDEN ZE SKŁADNIKÓW MECHANIZMÓW TOLERANCJI NA STRESY ABIOTYCZNE U ROŚLIN

WSTĘP

Stresy środowiskowe, takie jak ekstremalne temperatury, susza czy zasolenie, na które narażone są rośliny wyższe, są głównymi przyczynami zmian w metabolizmie węglowodanów. W warunkach działania stresów abiotycznych następuje regulacja metabolizmu roślin dzięki współdziałaniu szlaków sygnałnych wywołanych przez cukry ze szlakami odpowiedzi na zmieniające się warunki środowiska zewnętrznego. Duża liczba genów wrażliwych na stres jest indukowana przez glukozę, co wskazuje na rolę cukrów w odpowiedziach roślin na stresy środowiskowe. Rola węglowodanów jest związana z regulacją genów kodujących białka enzymów metabolizmu węglowodanów (SEKI i współaut. 2002), a także ze zróżnicowaną regulacją zawartości cukrów i aktywności enzymów metabolizmu węglowodanów oraz z funkcją cukrów jako cząsteczek sygnałnych w ekspresji genów podczas stresów abiotycznych (HO i współaut. 2001, GUPTA i KAUR 2005). Węglowodany jako cząsteczki sygnałne wpływają na rośliny we wszystkich stadiach wzrostu.

Cukry regulują wzrost roślin poprzez modulację ekspresji genów i aktywności enzymów w tkankach donorowych, które produkują i eksportują węglowodany oraz w tkankach akceptorowych. Ta regulacja zapewnia optymalną syntezę i wykorzystanie zasobów węgla i energii. Ogólnie niski poziom cukrów zwiększa wydajność fotosyntezy, mobilizację materiałów zapasowych i ich eksport, podczas gdy duża ilość cukrów promuje wzrost roślin oraz magazynowanie w nich węglowodanów. Akumulacja cukrów w tkankach donorowych obniża wydajność fotosyntezy. Mechanizm homeostazy pozwala na adaptacje metabolizmu węglowodanów na zmieniające się warunki środowiska. Spośród czynników środowiskowych, które wpływają na rośliny: susza, zasolenie i ekstremalne temperatury są najważniejszymi, natomiast inne, takie jak promieniowanie nadfioletowe UVB, metale ciężkie, powoździe i zanieczyszczenia atmosferyczne zyskały na znaczeniu w ostatnich latach.

STRES NISKIEJ TEMPERATURY A METABOLIZM WĘGLOWODANÓW

Stres chłodu powoduje w roślinach różne dysfunkcje na poziomie komórkowym, tzn. uszkodzenia błon komórkowych, powstawanie reaktywnych form tlenu (ang. reactive oxygen species, ROS), denaturację białek, akumulację toksycznych metabolitów (BOWERS 1994, SHAO i współaut. 2008). W warunkach naturalnych rośliny mogą uzyskiwać toleran-

cję na niską temperaturę dzięki aklimatyzacji do chłodu, czyli stopniowej ekspozycji na niskie temperatury nie powodujące zamarzania (THOMASHOW 1999). Proces ten jest związany ze złożonymi mechanizmami, które obejmują zmiany w ekspresji genów, w zawartości składników budulcowych membran, w podwyższaniu zawartości kwasu abscysynowego,

antyoksydantów, w akumulacji znacznych ilości substancji rozpuszczalnych takich jak cukry rozpuszczalne, aminokwasy i betaina glicynowa odgrywające rolę w ochronie komórek przed uszkodzeniami w wyniku zamarzania (MA i współaut. 2009). Udowodniono, że wiele rodzajów cukrów rozpuszczalnych jest włączanych w proces aklimatyzacji do chłodu. Takimi cukrami są przede wszystkim dwucukry: sacharoza, trehaloza, a oprócz nich heksozy (fruktoza, glukoza) oraz skrobia i niektóre oligosacharydy, szczególnie rodziny rafinozy (RFO), czyli rafinoza i stachioza. RFO są akumulowane u wielu roślin w odpowiedzi na ekspozycję w niskich temperaturach (CHATTERTON i współaut. 1990, BACHMANN i współaut. 1994). Utrzymanie lub wzrost zawartości sacharozy (PALONEN i współaut. 2000) oraz wzrost zawartości rafinozy i stachiozy (IMANISHI i współaut. 1998, MORSY i współaut. 2007) zapewniało wysoką tolerancję roślin na stres chłodu. Ponadto stwierdzono 2-krotnie pod-

wyższony poziom monosacharydu pentozy, arabinozy, podczas traktowania chłodem roślin *Coffea canephora* (PARTELLI i współaut. 2010). Arabinoza zaś, podobnie jak hydroksypolina, jest ważnym składnikiem glikoprotein i odgrywa ważną rolę strukturalną w budowie ściany komórkowej, szczególnie w warunkach działania zimna, gdyż utrzymuje rozciągliwość ściany komórkowej. W związku z akumulacją poszczególnych cukrów rozpuszczalnych, a szczególnie sacharozy i fruktanów, w metabolizmie cukrów podczas stresu niskiej temperatury obserwowano zdolność do zwiększania aktywności następujących enzymów: syntazy fosfosacharozowej (SPS, EC 2.4.1.14), syntazy sacharozowej (SS, SuSy, EC 2.4.1.13) oraz fruktozylotransferazy sacharoza: sacharoza (SST, EC 2.4.1.99) (GUY i współaut. 1992). Kontrolę metabolizmu sacharozy u roślin w odpowiedzi na zmienne warunki środowiska opisano w pracy przeglądowej CIERESZKO (2006).

METABOLIZM CUKROWCÓW W WARUNKACH WYSOKIEJ TEMPERATURY

Poziom całkowitej ilości cukrów rozpuszczalnych w roślinach jest podwyższony również podczas stresu wysokiej temperatury. Zawartość tych cukrów wiąże się z użytkowaniem termotolerancji, czyli odporności na stres cieplny. Efektem szoku cieplnego na metabolizm węglowodanów było istotne zwiększenie ich zawartości w siewkach m. in. *Brassica* spp. oraz zwiększenie aktywności enzymatycznej inwertazy (INV, EC 3.2.1.26) (KAUR i współaut. 2009). Taki stan jest wynikiem mechanizmu adaptacyjnego do warunków stresu i skutkuje ochronnym wpływem cukrów i ich działaniem jako cząsteczki sygnałne. Do węglowodanów, które

są akumulowane podczas działania stresu cieplnego należą przede wszystkim: fruktoza, sacharoza, galaktinol i rafinoza (PANIKULANGARA i współaut. 2004). W odpowiedzi na stres wysokiej temperatury w roślinach *Arabidopsis* typu dzikiego oraz w roślinach transgenicznym ze zwiększoną ekspresją głównego czynnika transkrypcyjnego szoku cieplnego HSF3 stwierdzono indukcję ekspresji genu syntazy galaktinolu (GalS1, EC 2.4.1.123) – kluczowego enzymu odpowiedzialnego za biosyntezę oligosacharydów rodziny rafinozy (RFO): rafinozy, stachiozy i werbaskozy (PANIKULANGARA i współaut. 2004).

WPLYW STRESU DEFICYTU WODY NA METABOLIZM CUKROWCÓW I CUKROLI

W warunkach niedoboru wody rośliny reagują bardzo szybko w różnorodny sposób. Jedną z reakcji jest regulacja potencjału osmotycznego w komórkach dzięki akumulacji różnych substancji, które powodują utrzymanie odpowiedniego turgoru, przewodnictwa szparkowego, intensywności fotosyntezy, transpiracji i obniżenie wrażliwości liści (THOMAS 1997). Ponadto, stres deficytu wodnego może powstawać przy wielu warunkach środowiskowych, włączając w to oprócz suszy, zasolenie, a także ekstremalne temperatury. Wiele cząsteczek związanych z

regulacją osmotyczności, a w szczególności poliole (cukrole – alkohole cukrowe, polihydroksylowe np. mannitol, ononitol, pinitol) mają także zdolność niszczenia toksycznych reaktywnych form tlenu (ROS) (SHEN i współaut. 1997). W roślinach *Cercis canadensis* znacznie zwiększała się pod wpływem suszy zawartość D-pinitolu (GRIFFIN i współaut. 2004). Rola pinitolu i jego prekursorów, myo-inozytolu i ononitolu jako osmoprotektantów, została dobrze poznana u *Mesembrythemum crystallinum* L. (VERNON i BOHNERT 1992). Akumulacja tych osmoprotektantów

i antyoksydantów reprezentuje fizjologiczną odpowiedź na suszę i mechanizm obrony przed fotoinhibicją (GRIFFIN i współaut. 2004). Zawartość sacharozy oraz skrobi była natomiast zmniejszana przez suszę (MOHAMMEDKHANI i HEIDARI 2008), a całkowitą ilość cukrów rozpuszczalnych tworzyły glukoza i fruktoza, a poza tym zwiększała się ilość cukroli: myo-inozytolu, ononitolu i z przewagą pinitolu (GRIFFIN i współaut. 2004). Udowodniono, że lepszym markerem tolerancji na suszę u *Triticum durum* Desf. jest zawartość cukrów rozpuszczalnych niż prolina (AL HAKIMI i współaut. 1995). Akumulacja węglowodanów rozpuszczalnych jest silnie skorelowana z uzyskiwaniem przez rośliny odporności na suszę (HOEKSTRA i BUITINK 2001). Podczas działania stresu deficytu wody obniżała się także zawartość oligosacharydów:

galaktinolu, rafinozy i stachiozy, podobnie jak węglowodanów niestrukturalnych (heksosoz, sacharozy i skrobi). Było to związane z hamowaniem aktywności enzymu GolS1 oraz indukcją aktywności transferazy metyloinozytolu (IMT, EC 2.1.1.4) (PATTANAGUL i MADORE 1999). Enzym IMT katalizuje metylację myo-inozytolu w szlaku biosyntezy ononitolu i jego aktywność jest kluczowa dla tolerancji deficytu wodnego, a także stresu solnego. Stwierdzono indukcję transkryptów GmIMT (cDNA IMT z *Glycine max*) w liściach siewek transgenicznej soi oraz rzodkiewnika podczas działania stresu suszy i zasolenia, a ponadto potwierdzono obecność produktu białkowego GmIMT i jego substratu przy użyciu systemu rekombinacyjnego w *Escherichia coli* (AHN i współaut. 2011).

METABOLIZM CUKROWCÓW I CUKROLI W WARUNKACH ZASOLENIA

Ilość węglowodanów rozpuszczalnych ma ważne znaczenie podczas działania stresu solnego, ponieważ wtedy są one syntetyzowane i akumulowane w cytozolu. Wzrost zawartości cukrów poprawia regulację osmotyczną i utrzymanie turgoru podczas wzrostu w warunkach zasolenia, które wpływają na rośliny poprzez obniżenie potencjału osmotycznego i pobierania wody oraz toksyczność specyficznych jonów (Na^+ , K^+ , Cl^-) (NEMATİ i współaut. 2011). Jednak rola cukrów w efektach jonowych jest ciągle niewyjaśniona (SIRINGAM i współaut. 2011). Rośliny, które posiadają zdolność do tolerancji zasolenia akumulują cukry proste oraz oligosacharydy (rafinozę i stachiozę). Stres solny indukował syntezę cukrów u takich gatunków roślin jak: słonecznik, jęczmień, sorgo, pomidor, ryż, rzodkiewnik, topola, kukurydza (PARVAIZ i SATYAWATI 2008, PATTANAGUL i THITISAKSAKUL 2008). Ponadto, akumulacja cukrów rozpuszczalnych była związana z wzrostem zawartości jonów Na^+ . Wiedza na temat metabolizmu węglowodanów podczas działania zasolenia jest ciągle bardzo ograniczona. Całkowita zawartość sacharozy oraz pozostałych cukrów rozpuszczalnych podwyższała się podczas stresu solnego u ryżu (*Oryza sativa* L.) odmiany wrażliwej na zasolenie, natomiast nie było takiego efektu u odmiany umiarkowanie wrażliwej i odpornej (PATTANAGUL i THITISAKSAKUL 2008). Stres solny powodował przy tym wzrost aktywności enzymu SPS, jednak aktywność ta nie była skorelowana z

akumulacją sacharozy. Interesującym było, że odmiany ryżu umiarkowanie wrażliwe na zasolenie i odporne nie wykazywały akumulacji sacharozy. Podobnie reagowały wrażliwe i odporne na zasolenie odmiany pomidora (BALIBREA i współaut. 2000). Reakcja roślin wrażliwych mogła być rezultatem redukcji węglowodanów zapasowych, natomiast reakcja roślin odpornych była odwrotna, gdyż następowała w nich akumulacja skrobi. Jednakże skrobia może nie odgrywać znaczącej roli w mechanizmie tolerancji na zasolenie. Sugeruje się, że zdolność roślin do magazynowania cukrów w postaci skrobi pomaga uniknąć zmian metabolicznych z powodu nadmiaru sacharozy w cytoplazmie komórek (PATTANAGUL i THITISAKSAKUL 2008). Uważa się, że względna tolerancja zasolenia związana jest z akumulacją mannitolu i trehalozy, które odgrywają rolę w osmoregulacji podczas działania tego stresu abiotycznego (MORSY i współaut. 2007, PARVAIZ i SATYAWATI 2008). Proporcja mannitolu w całkowitym spektrum węglowodanów osiągała więcej niż 40% i zwiększała się dwukrotnie w porównaniu do jego zawartości w roślinach kontrolnych *Olea europaea* L. (REJŠKOVÁ i współaut. 2007). Oligosacharydy z rodziny rafinozy (RFO) nie odgrywają szczególnej roli podczas stresu zasolenia, gdyż w żadnym przypadku nie były obszernie badane i ich rola jest niewyjaśniona. Ponadto stwierdzono, że w roślinach słonolubnych, tzw. halo-fitach, oraz innych, np. *Glycine max*, *Aster*

tripolium, *Arenaria peploides*, *Medicago sativa*, *Pinus pinaster*, *Spergularia marginata*, magazynowane są bardzo duże ilości cyklicznych polioli, takich jak myo-inozytol, i jego metylowanych pochodnych, takich jak D-ononitol i D-pinitol (SENGUPTA i współaut. 2008). Ich biosynteza wymaga zaangażowania czterech ścieżek enzymatycznych poczynając od prekursora glukozy-6-fosforanu. Myo-inozytol jest syntetyzowany z glukozy-6-fosforanu w dwóch reakcjach katalizowanych przez syntazę 1-fosforanu myo-inozytolu (MIPS, INO, EC 5.5.1.4). Następnie produkt MIPS jest specyficznie defosforylowany przez Mg^{2+} -zależną monofosfatazę 1-fosforanu L-myo-inozytolu (IMP, EC 3.1.3.25) i tworzy wolny inozytol. Podczas działania stresu solnego w roślinach inozytol może być metylowany do D-ononitolu przez IMT w reakcji zależnej od S-adenozylometioniny (SAM). D-ononitol jest następnie epimeryzowany przez epimerazę D-ononitolu (OEP) i w ten sposób powstaje D-pinitol, który może być demetylowany do D-chiro-inozytolu (SENGUPTA i współaut. 2008, PATRA i współaut. 2010, AHN i współ-

aut. 2011). Gen kodujący enzym MIPS (INO) został sklonowany z różnych gatunków roślin: *Arabidopsis thaliana*, ryż, soja, sezam, halofitów *Mesembryanthemum crystallinum* i *Porteresia coarctata* (PcINO1), przy czym transkrypcja tego genu u halofitów była indukowana przez stres solny (AHN i współaut. 2011) i biosynteza pinitolu z inozytolu była regulowana i wzmacniana przez działanie tego stresu abiotycznego (SENGUPTA i współaut. 2008). Gen kodujący enzym IMP nie został jeszcze sklonowany z żadnego organizmu (AHN i współaut. 2011). Z wyżej wymienionych halofitów sklonowano również gen kodujący enzym IMT. Indukcję transkrypcji tego genu przez stres solny stwierdzono u tychże halofitów oraz w roślinach transgenicznym *Nicotiana tabacum* wykazujących koekspresję genów PcINO1 i McIMT1 (PATRA i współaut. 2010), a także w *A. thaliana* z nadekspresją genu GmIMT (AHN i współaut. 2011). W wyniku tej indukcji rośliny transgeniczne charakteryzowały się zwiększoną tolerancją na stres solny.

STRES NADMIARU WODY A METABOLIZM WĘGLOWODANÓW

Nadmiar wody w glebie spowodowany częstymi deszczami, okresowym zalewaniem czy powodzią jest też częstym problemem dotyczącym głównie roślin uprawnych. Bardzo ważną biologiczną konsekwencją zalania wodą jest niedobór (hipoksja) lub całkowity brak tlenu (anoksja) w glebie, który ogranicza wzrost, rozwój i produkcję roślin. Gatunki roślin tolerujące ten rodzaj stresu mogą adaptować się do jego warunków dzięki mechanizmom morfologicznym i metabolicznym. Mechanizmy morfologiczne to przede wszystkim rozwój korzeni bocznych z dobrze uformowaną aerenchymą zawierającą barierę dla dyfuzji tlenu z pędów do korzeni, aby mogło w nich zachodzić oddychanie beztlenowe podczas hipoksji lub anoksji. Główne efekty metaboliczne odporności roślin na stres nadmiaru wody to: zwiększona aktywność enzymów glikolitycznych i fermentacyjnych, zwiększona dostępność cukrów rozpuszczalnych i zaangażowanie mechanizmów obrony antyoksydacyjnej przeciw postresowym uszkodzeniom oksydacyjnym (HOSSAIN i UDDIN 2011). Ponadto, rośliny wytworzyły dwie strategie zachowania podczas działania stresu nadmiaru wody: (i) strategia ucieczki z wody związana z szybszym wydłużaniem

pędów np. u ryżu, kukurydzy, *Paspalum dilatatum*, *Rumex palustris* oraz (ii) strategia spoczynku związana z zużywaniem węglowodanów zapasowych, np. u niektórych odmian ryżu, jednego zimującego ekotypu *Ranunculus repens* i *Rumex crispus* (MANZUR i współaut. 2009). Poza tym stwierdzono, że u *Lotus tenuis* strategia zachowania mogła zmieniać się w zależności od głębokości zanurzenia w wodzie. Całkowite zanurzenie tych roślin w wodzie powodowało spoczynek, podczas którego następowała jedynie utylizacja cukrów rozpuszczalnych i skrobi w procesie oddychania beztlenowego, podczas gdy w warunkach częściowego zanurzenia rośliny szybko rosły, ale nie zużywały węglowodanów zapasowych (MANZUR i współaut. 2009). Odpowiednia zawartość cukrów, które mogą być szybko metabolizowane poprzez fermentację w warunkach hipoksji lub anoksji w korzeniach jest jednym ze składników mechanizmu adaptacyjnego w odpowiedzi na stres nadmiaru wody i niedoboru tlenu (SAIRAM i współaut. 2009, HOSSAIN i UDDIN 2011). Zawartość cukrów zapasowych w korzeniach i aktywność enzymów hydrolizujących sacharozę są ważnymi determinantami tolerancji stresu nadmiaru wody u roślin uprawnych

(SAIRAM i współaut. 2009). W hydrolizę sacharozy zaangażowane są enzymy z grupy inwertaz (INV), których aktywność jest hamowana oraz SuSy, której aktywność jest wzmagana w czasie hipoksji. Korzenie roślin genotypów odpornych zawierały więcej cukrów, w tym redukujących i nieredukujących niż korzenie roślin genotypów wrażliwych. Ponadto nadmiar wody indukował wzrost zawartości cukrów redukujących dzięki zwiększonej aktywności SuSy w genotypach odpornych, potwierdzonej jednocześnie wyższą ekspresją mRNA dla SuSy (SAIRAM i współaut. 2008, 2009). Z drugiej strony stwierdzono, że degradacja sacharozy wymaga obniżenia zużycia tlenu i pozwala uniknąć anoksji, kiedy stężenie tlenu w tkankach jest bardzo niskie (HORCHANI i współaut. 2011). Skrobia magazynowana w korzeniach *Medicago sativa* oraz kukurydzy była mobilizowana i hydrolizowana dzięki podwyższonej aktywności α -amylazy do cukrów rozpuszczalnych już na wczesnym etapie zalewania, co prowadziło do istotnego zwiększenia zawartości sa-

charozy i heksoz, która następnie stopniowo zmniejszała się podczas działania stresu (CASTONGUAY i współaut. 1993, LIAO i LIN 2001, POURABDAL i współaut. 2008). Odporne na zalewanie genotypy ryżu charakteryzowały się zwiększoną ekspresją genu RAm3D oraz wysoką aktywnością amylazy, która była odpowiedzialna za rozpad skrobi i wysokie stężenie cukrów rozpuszczalnych podczas kiełkowania nasion i dostarczała niezbędnych substratów do produkcji energii wymaganej do wzrostu i utrzymania metabolizmu (ISMAIL i współaut. 2009). Do akumulacji skrobi oraz cukrów rozpuszczalnych podczas działania stresu nadmiaru wody dochodziło natomiast w liściach różnych gatunków roślin np. *Helianthus annuus*, *Citrus sinensis*, *Pinus serotina*, *Momordica charantia* i było spowodowane zmniejszeniem tempa fotosyntezy oraz stopnia translokacji węglowodanów z liści do korzeni, zahamowaniem wzrostu i niskim poziomem metabolizmu w korzeniach (LIAO i LIN 2001, IRFAN i współaut. 2010, KANG i współaut. 2010).

ROLA FRUKTANÓW I TREHALOZY W ODPORNOŚCI ROŚLIN NA STRES ABIOTYCZNY

Fruktany są polimerami fruktozy pochodzącej z rozpadu sacharozy i występują w ok. 15% roślin kwiatowych oraz u wielu bakterii i grzybów (MARTINEZ-FLEITES i współaut. 2005). U roślin dwuliściennych fruktany typu inuliny są akumulowane jako długoterminowe węglowodany zapasowe w organach podziemnych, korzeniach i bulwach (VALLURU i VAN DEN ENDE 2008). U traw, gramin, lewan i fruktany powstające z neokestozy działają jako krótkotrwałe składniki zapasowe w wierzchołkach wzrostu, blaszkach liściowych, wydłużających się podstawach liści, a ponadto są też akumulowane na dłuższy czas, aby przetrwać okres zimowy. Podstawową rolą fruktanów jest zapewnienie dodatkowej energii, regulacja osmozy oraz ochrona roślin przed stresem chłodu i suszy poprzez stabilizację membran (HINCHA i współaut. 2003). Zawartość fruktanów i ich metabolizm są ściśle związane z tolerancją chłodu i suszy (DE ROOVER i współaut. 2000, LIVINGSTON i współaut. 2009). Mechanizmy molekularne działania fruktanów w czasie ochrony przeciw stresem abiotycznym nie są jeszcze poznane. Fruktany jako jedyna klasa polisacharydów jest zdolna do interakcji z fosfolipidami w błonie komórkowej w podobny sposób jak

disacharydy i RFO. Podczas działania stresów chłodu i suszy fruktany silnie oddziałują na błony komórkowe poprzez bezpośrednie wiązanie wodoru do grup fosforowych i cholinowych lipidów, co ogranicza odpływ wody z membran (HINCHA i współaut. 2000, 2003). Ponadto te węglowodany, szczególnie typu inuliny, zagłębiają się w dwuwarstwę lipidową zmieniając konformację i także w ten sposób ochraniają je przed zmianą fazy (VEREYKEN i współaut. 2001). Przejście fazowe lipidów jest odpowiedzialne za większość uszkodzeń spowodowanych zwiększeniem przepuszczalności błon. Fruktany mogą zagłębiać się bardziej w membrany (bardziej niż sacharoza) powodując ich stabilizację oraz mogą reagować z wolnymi rodnikami i reaktywnymi formami tlenu (ROS), dlatego też stwierdzono, że pełnią również rolę w obronie przed stresem oksydacyjnym (VALLURU i VAN DEN ENDE 2008). Sugeruje się, że fruktany bezpośrednio wymiatają ROS lub działają pośrednio poprzez stymulację innych specyficznych antyoksydacyjnych mechanizmów obrony np. reakcji utleniania zredukowanego glutationu (GSH) do disulfidu glutationu (GSSG), kwasu askorbinowego do dehydroaskorbinowego lub usuwania jonów ponadtlennokowych

przez dysmutazę ponadtlenkową (VAN DEN ENDE i VALLURU 2009).

Trehaloza, nieredukujący disacharyd glukozy, składający się z dwóch reszt glukozowych połączonych w pozycji $\alpha(1,1)$ i trehalozo-6-fosforan (T6P), które są zaangażowane w odpowiedź na stres u wielu organizmów, zostały uznane za nowe regulatory metabolizmu węgla i rozwoju roślin (RAMON i współaut. 2008). Ten rodzaj węglowodanów jest syntetyzowany z UDP-glukozy i glukozo-6-fosforanu poprzez prekursor trehalozo-6-fosforan i występuje u wielu organizmów: bakterii, grzybów, bezkręgowców i roślin, a także bardzo często jest akumulowany u organizmów odpornych na stres. U bakterii, grzybów, drożdży i glonów funkcjonuje pięć różnych szlaków biosyntezy trehalozy. U roślin wyższych trehaloza jest syntetyzowana tylko w jeden sposób: przez syntazę fosforanu trehalozy (TPS) i fosfatazę fosforanu trehalozy (TPP). Biosynteza i degradacja trehalozy wraz z kompletnym opisem ekspresji genów za nie odpowiedzialnych została poznana przede wszystkim dzięki roślinie modelowej *A. thaliana*, a także ryżu, soi, tytoniu, ziemniaka, pomidora i kukurydzy (PAUL i współaut. 2008, SCHLUEPMANN i PAUL 2009, JIANG i współaut. 2010, PONNU i współaut. 2011). Rola trehalozy w tolerancji stresu abiotycznego została po raz pierwszy zademonstrowana przy rehydratacji roślin *Myrothamnus flabellifolius*, *Selaginella tamarascina* i *Selaginella lepidophylla*. Te rośliny są odporne na desykację i mogą wytrzymywać całkowitą dehydratację, a po ponownej rehydratacji odzyskują całkowicie żywotność. Zawartość trehalozy w ich tkankach sięgała od 3 do 12 mg g⁻¹ świeżej masy i działała ochronnie na białka i membrany. Oprócz stresu suszy akumulacja trehalozy miała miejsce również podczas działania stresu niskiej i wysokiej temperatury oraz zasolenia. Ponadto analiza mikromacierzy wykazała, że najwięcej genów związanych z metabolizmem trehalozy u *A. thaliana* reagowało na stresy abiotyczne takie jak chłód, zasolenie i promieniowanie UV (IORDACHESCU i IMAI 2008). Obecnie różne grupy badaczy próbują stworzyć rośliny odporne na stres poprzez wprowadzanie genów biosyntezy trehalozy do roślin uprawnych. Tolerancja suszy jest jedną z pierwszych otrzymanych dzięki konstytutywnej nadekspresji genu syntazy trehalozy z drożdży (*ScTPS1*) w tytoniu i genu *AtTPS1* w *A. thaliana*. Otrzymane linie transgeniczne akumulowały więcej trehalozy, a *A. thaliana* wykazywał też wyższą zawartość trehalozo-6-fosforanu. Transgeniczne

tomatary z nadekspresją genu *ScTPS1* były również bardziej odporne na zasolenie, suszę i stres oksydacyjny. Ryż z nadekspresją genów syntazy trehalozy z *Escherichia coli* (*OtsA* i *OtsB*) był odporny na stres zasolenia i stres niskiej temperatury. Ponadto te rośliny charakteryzowały się zwiększoną od 3- do 10-krotnie zawartością trehalozy w porównaniu do roślin kontrolnych nietransgenicznych, wyższą aktywnością fotosyntetyczną i ogólną zawartością węglowodanów (FERNANDEZ i współaut. 2010). Akumulacja trehalozy może redukować przekazywanie sygnałów wywołanych przez ROS i tym samym może wpływać na późniejszą odpowiedź obronną rośliny. Rola trehalozy w przekazywaniu sygnałów pozostaje kontrowersyjna z powodu przeciwstawnych ról trehalozy i trehalozo-6-fosforanu. Trehaloza współdziałała z lipidami i białkami, które są częścią kaskady przekazywania sygnałów. Z drugiej strony, trehalozo-6-fosforan hamował heksokinazę (sensor glukozy) u drożdży (PAUL i współaut. 2008). Ostatnie badania wykazały, że T6P wywierał hamujący wpływ na kinazę SnRK1, kluczowy regulator transkrypcji u *Arabidopsis*, w transgenicznych komórkach zawieszinowych trzciny cukrowej, w ekstraktach z ziaren pszenicy, bulwach ziemniaka (PONNU i współaut. 2011). Hamowanie kinazy SnRK1 przez T6P powodowało następnie aktywację czynnika transkrypcyjnego bZIP11, który wpływa na ekspresję genów związanych z metabolizmem węglowodanów i jest częścią mechanizmu regulującego wzrost roślin. Wykazano także, że T6P reguluje metabolizm skrobi w roślinach. U *Arabidopsis* egzogenie podana trehaloza indukowała akumulację skrobi poprzez podwyższenie aktywności pirofosforylasy ADP-glukozy (AGP-azy), głównego enzymu kontrolującego biosyntezę skrobi. Podobnie T6P ułatwiał aktywację AGP-azy w chloroplastach za pomocą reakcji redoks z tioredoksyną (Trx) jako pośrednikiem (PONNU i współaut. 2011). Akumulacja sacharozy w liściach powodowała również zwiększenie zawartości T6P w cytozolu, co prowadziło do aktywacji AGP-azy w chloroplastach bez widocznej zmiany tempa fotosyntezy. W ten sposób trehalozo-6-fosforan może działać jako sygnał pomiędzy cytozolem a chloroplastem, ale mechanizm transportu T6P do chloroplastu jest nieznany (PONNU i współaut. 2011) (Ryc. 1). Podsumowując funkcje T6P można stwierdzić, że jest on nową cząsteczką sygnałową i kluczowym regulatorem centralnego metabolizmu węgla i wzrostu roślin w odpowiedzi na bodźce środowiskowe.

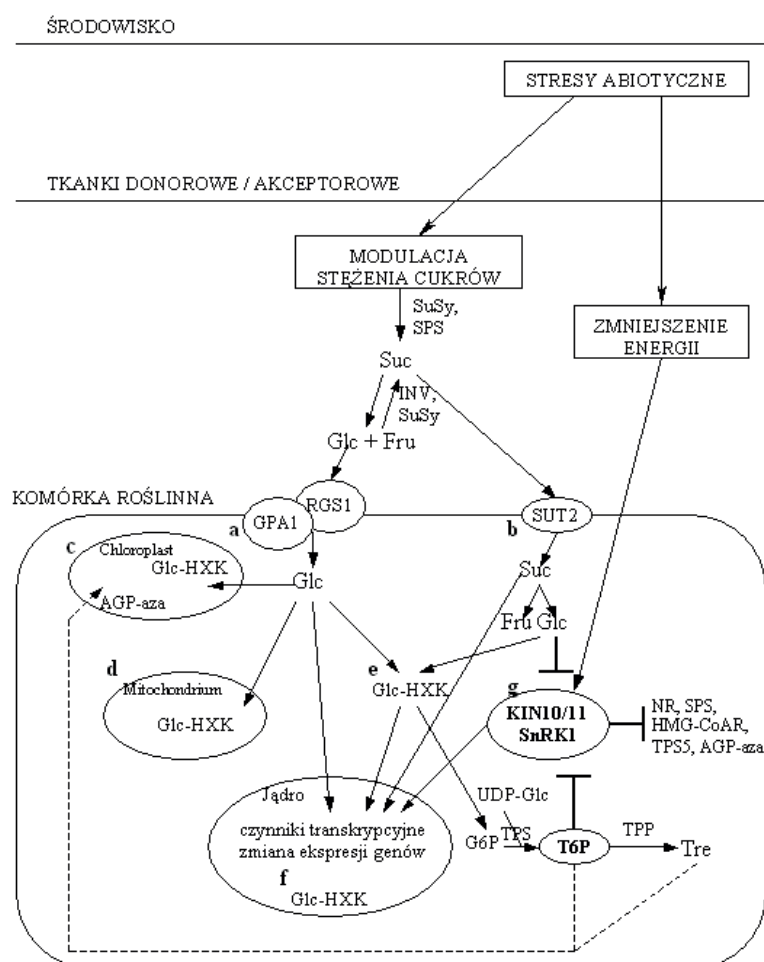
ODBIÓR, PRZEKAZYWANIE SYGNAŁÓW I REGULACJA GENÓW JAKO EFEKT DZIAŁANIA WĘGLOWODANÓW PODCZAS STRESU ABIOTYCZNEGO

Cukry rozpuszczalne są bardzo szybko przekształcane podczas wzrostu i rozwoju roślin. Sacharoza rozkładana jest na glukozę i fruktozę, a nadmiar tych heksoz jest ponownie wykorzystywany do syntezy sacharozy. Ta interkonwersja jest bardzo narażona na stresy zewnętrzne. Cukry, podobnie jak hormony, mogą działać jako pierwotne przekazywacze i regulować sygnały, które kontrolują ekspresję różnych genów biorących udział w metabolizmie i wzroście roślin. Ponadto węglowodany bezpośrednio regulują wzrost i metabolizm poprzez modulację ekspresji genów i aktywności enzymów w tkankach donorowych i akceptorowych (ROSA i współaut. 2009). Stwierdzono, że poziom węglowodanów w roślinach jest odpowiedzialny nie tylko za ekspresję genów, ale również za represję. Regulacja genów przez cukry może odbywać się na poziomie transkrypcyjnym, potranskrypcyjnym oraz translacyjnym. Akumulacja cukrów rozpuszczalnych w tkankach donorowych obniża intensywność fotosyntezy i wywołuje represję genów kodujących białka uczestniczące w procesie fotosyntezy, natomiast niesprzyjające warunki środowiska powodują zróżnicowaną ekspresję poszczególnych białek związanych z metabolizmem węglowodanów np. enzymów związanych z biosyntezą skrobi (AGP-aza) oraz z biosyntezą sacharozy (SuSy, SPS i INV). Geny, których produkty są wykorzystywane w innych szlakach metabolicznych i te posiadające funkcje komórkowe, także są pozytywnie regulowane przez cukry rozpuszczalne np. geny kodujące białka zapasowe takie jak: patatyna, sporamina oraz geny kodujące białka obronne np. inhibitor II proteinyazy. Wiele genów może też ulegać represji przez cukry np. geny kodujące: α -amylazę, endopeptydazę, SuSy, syntazę asparaginy, syntazę jabłczanu, liazę izocytrynianu (ROSA i współaut. 2009). Jednak mechanizmy związane z odbiorem, przekazywaniem sygnałów cukrowych i regulacją genów przez cukry w roślinach wyższych nie zostały do końca wyjaśnione. Wiele badań dotyczących mechanizmów aktywacji i represji wykazało ich regulację przez cukry na poziomie transkrypcyjnym. Ta regulacja odgrywa szczególną rolę podczas odpowiedzi roślin na stresy środowiskowe (PRICE i współaut. 2004). W badaniach mających na celu określenie szlaków percepcji i przekazywania sygnału cukrowego wykorzystano wie-

le mutantów *A. thaliana* ze zmniejszoną (np. mutant *rsr*, ang. reduced sugar response) lub zwiększoną wrażliwością na cukier (np. *gss*, ang. glucose super sensitive; *hss*, ang. high sugar response) lub nie reagujących na stężenie cukru (np. *gin*, ang. glucose insensitive; *sis*, ang. sucrose insensitive). Sygnały cukrowe są odbierane przez receptory zewnętrzne i wewnątrzkomórkowe oraz przekazywane dalej wewnątrz komórki przy pomocy kaskad specyficznych kinaz i fosfataz białkowych. W momencie, gdy dotrą do jądra komórkowego wywołują aktywację czynników transkrypcyjnych oraz ekspresję bądź represję genów (Ryc. 1). Odbiór i przekazywanie sygnałów cukrowych prawdopodobnie następuje przy udziale inwertaz zlokalizowanych w ścianie komórkowej, transporterów cukrowych w plazmolemmie (białko SUT2) oraz enzymu heksokinazy (HXK1, EC 2.7.1.1) bądź niezależnie od heksokinazy lub przy udziale innych sensorów np. glukokinazy czy fruktokinazy. Za kluczowy i konserwatywny sensor glukozy uznano heksokinazę (HXK1) (Ryc. 1). Heksokinaza jest wielofunkcyjnym białkiem, które jest jednocześnie enzymem katalizującym pierwszy etap glikolizy oraz receptorem glukozy. Oprócz heksokinazy za sensor glukozy uważa się receptor sprzężony z białkiem G (HANSON i SMEEKENS 2009) (Ryc. 1). Mechanizmy odbioru i przekazywania sygnałów cukrowych szczegółowo opisano w pracach przeglądowych GUPTA i KAUR (2005), ROLLAND i współaut. (2006), CIERESZKO (2007), RAMON i współaut. (2008), TUTEJA i SOPORY (2008), HANSON i SMEEKENS (2009). Wszystkie badania wykonano przy użyciu *A. thaliana* jako głównego roślinnego systemu modelowego. Za pośrednictwem heksokinazy jest regulowana ekspresja genów kodujących białka metabolizmu fotosyntezy, które ulegają represji pod wpływem nadmiaru glukozy, a także ekspresja genu *SuSy* (*Sus1*), która była z kolei stymulowana. Bez pośrednictwa heksokinazy jest stymulowana ekspresja genu kodującego pirofosforylazę ADP-glukozy (CIERESZKO 2007). W przekazywaniu sygnałów cukrowych zaangażowane są również kaskady specyficznych kinaz białkowych: SnRK (kinazy serynowo-treoninowe), CDPK (kinazy serynowo-treoninowe zależne od jonów Ca^{2+}), MAP (kinazy aktywujące mitogen) i wiele innych, a także fosfatazy białkowe (serynowo-treoninowe i tyrozynowe),

fitohormony, np. kwas abscysynowy, etylen, oraz jony wapnia. Kinazy białkowe KIN10 i KIN11 (Ryc. 1) są centralnym punktem, który łączy szlaki sygnałne stresu, cukrów i rozwoju w regulacji metabolizmu, równowagi energetycznej, wzrostu i przeżywalności podczas stresów abiotycznych (BAENA-GONZALEZ i współaut. 2007). Te kinazy są katalitycznymi podjednostkami kompleksu heterotrimerycznej kinazy SnRK1 i są głównymi regulatorami transkrypcji oraz aktywują katabolizm i hamują anabolizm podczas braku energii zwią-

zanego z warunkami stresu (BAENA-GONZALEZ i SHEEN 2008). Fosforany cukrów, a szczególnie glukozy-6-fosforan i trehalozy-6-fosforan, powodują inhibicję aktywności kinaz SnRK1, w tym KIN10 i 11. Białka KIN10/11 regulują ekspresję genów dzięki aktywności specyficznych czynników transkrypcyjnych z grupy bZIP klasy S1 lub czynników przyłączających białko G (GBF) (BAENA-GONZALEZ i współaut. 2007, HANSON i SREEKENS 2009). Poza regulacją transkrypcji kinazy SnRK1 modulują enzymy ważne dla metabolizmu węgla i azotu



Ryc. 1. Schemat mechanizmów działania cukrów w roślinach podczas stresów abiotycznych (wg ROLLAND i współaut. 2006, RAMON i współaut. 2008, HANSON i SREEKENS 2009):

a) odbiór sygnału glukozowego przez receptor sprzężony z białkiem G (RGS1/GPA1); b) odbiór sygnału sacharozowego i transport sacharozy przez błonę dzięki białku SUT2; c), d) działanie heksokinazy (HXK1) jako sensora glukozy w połączeniu z organellami – chloroplastem i mitochondrium; e) działanie heksokinazy (HXK1) jako sensora glukozy w cytozolu oraz f) w jądrze komórkowym; g) bezpośrednie działanie kinazy KIN10/11 (SnRK1) w warunkach stresów abiotycznych poprzez inaktywację enzymów oraz hamowanie KIN10/11 przez cukry, głównie T6P, który aktywuje również AGP-azę w chloroplastach. Glc: glukoza, Suc: sacharoza, Fru: fruktoza, Tre: trehaloza, T6P: trehalozy-6-fosforan, G6P: glukozy-6-fosforan, SuSy: syntaza sacharozowa, INV: inwertaza, TPS: syntaza fosforanu trehalozy, TPP: fosfatasa fosforanu trehalozy, NR: reduktaza azotanowa, SPS: syntaza fosfosacharozowa, HMG-CoAR: reduktaza 3-hydroksy-3-metyloglutarylo-koenzymu A.

poprzez bezpośrednią fosforylację np. inaktywują reduktazę azotanową (NR) i SPS (RAMON i współaut. 2008), reduktazę 3-hydroksy-3-metyloglutarylo-koenzymu A (HMG-CoAR), syntazę 5 trehalozo-6-fosforanu (TPS5), AGP-azę (BAENA-GONZALEZ i SHEEN 2008) (Ryc. 1). Mimo, że w ostatnich latach opisano niektó-

re mechanizmy działania cukrów, jednak potrzebne są dodatkowe badania, aby otrzymać pełny obraz oddziaływania cukrów w roślinach i poszerzyć wiedzę o mechanizmach tolerancji i adaptacji w czasie stresu abiotycznego.

PODSUMOWANIE

Cukry odgrywają dwojaką rolę w roślinach: po pierwsze są one zaangażowane w różne szlaki metaboliczne, a po drugie działają jako cząsteczki sygnałowe regulujące ekspresję różnych genów, zwłaszcza tych, biorących udział w fotosyntezie, metabolizmie sacharozy i syntezie osmoprotektantów. Węglowodany rozpuszczalne integrują procesy regulujące i kontrolujące funkcje komórki roślinnej. Disacharydy np. trehaloza oraz oli-

gosacharydy rodziny rafinozy, a także poliole i cyklitole działają jako protektanty przed stresami abiotycznymi. Metabolizm trehalozy został uznany za nowy, ważny regulator wzrostu roślin, metabolizmu i odporności na stres. Obecnie kładzie się nacisk na wydajną produkcję roślin transgeniczných z wysoką tolerancją różnych stresów abiotycznych dzięki nadekspresji genów odpowiedzialnych za biosyntezę powyższych cukrów.

METABOLIZM WĘGLOWODANÓW JAKO JEDEN ZE SKŁADNIKÓW MECHANIZMÓW TOLERANCJI NA STRESY ABIOTYCZNE U ROŚLIN

Streszczenie

Zmiany w zawartości węglowodanów w tkankach roślinnych są często zaangażowane w odpowiedzi roślin na wiele stresów abiotycznych takich jak chłód, susza, zasolenie czy zalewanie. Stresy środowiskowe są głównymi przyczynami zmian w metabolizmie węglowodanów. Szlaki sygnałowe wywołane przez cukry współdziałają ze szlakami odpowiedzi na stres i modyfikują metabolizm. W pracy opisano zmiany w zawartości cukrów i ich rolę podczas

wzrostu i rozwoju roślin w warunkach stresów abiotycznych. Ponadto przedstawiono najnowsze dane na temat sposobu, w jaki rośliny odbierają i odpowiadają na czynniki środowiskowe poprzez mechanizmy odbioru sygnałów cukrowych. Dyskutowano także o złożoności ścieżek sygnałowych i znaczeniu poszczególnych cukrów rozpuszczalnych dla odporności roślin na stresy abiotyczne.

CARBOHYDRATE METABOLISM AS A COMPOUND OF TOLERANCE MECHANISMS AGAINST ABIOTIC STRESSES IN PLANTS

Summary

Changes of carbohydrate concentration in plant tissues have been frequently shown to be involved in plant responses to many abiotic stresses like cold, drought, salinity and waterlogging. Environmental stresses lead to major alterations in carbohydrate metabolism. The sugar signaling pathways interact with stress pathways to modulate metabolism. This review describes the changes in sugar content and

their role during plant growth and development under abiotic stresses. Moreover, recent evidences on the way how plants sense and respond to environmental factors through sugar-sensing mechanisms are presented. The complexity of signaling pathways and importance of several soluble sugars for resistance to abiotic stresses in plants are discussed.

LITERATURA

- AHN C., PARK U., PARK P. B., 2011. *Increased salt and drought tolerance by D-ononitol production in Arabidopsis thaliana*. Biochem. Biophys. Res. Commun. 415, 669–674.
- AL HAKIMI A., MONNEVEUX P., GALIBA G., 1995. *Soluble sugars, proline and relative water content (RWC) as traits for improving drought tolerance and divergent selection for RWC from T. polonicum into T. durum*. J. Genet. Breed. 49, 237–244.
- BACHMANN M., MATILE P., KELLER F., 1994. *Metabolism of the raffinose family oligosaccharides in leaves of Ajuga reptans L. Cold acclimation, translocation and sink to source transition: dis-*

- covery of the chain elongation enzyme. *Plant Physiol.* 105, 1335–1345.
- BAENA-GONZALEZ E., ROLLAND F., THEVELEIN J. M., SHEEN J., 2007. A central integrator of transcription network in plant stress and energy signaling. *Nature* 448, 938–942.
- BAENA-GONZALEZ E., SHEEN J., 2008. Convergent energy and stress signaling. *Trends Plant Sci.* 13, 474–482.
- BALIBREA M. E., DELL'AMICO J., BOLARIN M. C., PEREZ-ALFOCEA F., 2000. Carbon partitioning and sucrose metabolism in tomato plants growing under salinity. *Physiol. Plant.* 110, 503–511.
- BOWERS M. C., 1994. Environmental effects of cold in plants. [W:] *Plant-environment interactions*. Wilkinson R.E. (red.). Marcel Dekker, New York, 391–411.
- CASTONGUAY Y., NADEAU P., SIMARD R. R., 1993. Effects of flooding on carbohydrate and ABA levels in roots and shoots of alfalfa. *Plant Cell Environ.* 16, 695–702.
- CHATTERTON N. J., HARRISON P. A., THORNLEY W. R., BENNETT J. H., 1990. Sucrosyl-oligosaccharides and cool temperature growth in 14 forb species. *Plant Physiol. Biochem.* 28, 167–172.
- CIERESZKO I., 2006. Kontrola metabolizmu sacharozu u roślin w odpowiedzi na zmienne warunki środowiska. *Kosmos* 55, 229–241.
- CIERESZKO I., 2007. Odbiór i przekazywanie sygnału wywołanego zmianami poziomu cukrów w komórkach roślin. *Post. Biol. Kom.* 34, 695–713.
- DE ROOVER L., VANDENBRANDEN K., VAN LAERE A., VANDEN ENDE W., 2000. Drought induces fructan synthesis and 1-SST (sucrose:sucrose fructosyltransferase) in roots and leaves of *Cichorium seedlings* (*Cichorium intybus* L.). *Planta* 210, 808–814.
- FERNANDEZ O., BETHENCOURT L., QUERO A., SANGWAN R. S., CLEMENT C., 2010. Trehalose and plant stress responses: friend or foe? *Trends Plant Sci.* 15, 409–417.
- GRIFFIN J. J., RANNEY T. G., PHARR D. M., 2004. Heat and drought influence photosynthesis, water relations, and soluble carbohydrates of two ecotypes of redbud (*Cercis canadensis*). *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 129, 497–502.
- GUPTA A. K., KAUR N., 2005. Sugar signalling and gene expression in relation to carbohydrate metabolism under abiotic stresses in plants. *J. Biosci.* 30, 761–776.
- GUY C. L., HUBER J. L. A., HUBER S. C., 1992. Sucrose phosphate synthase and sucrose accumulation at low temperature. *Plant Physiol.* 100, 502–508.
- HANSON J., SMEEKENS S., 2009. Sugar perception and signaling – an update. *Curr. Opin. Plant Biol.* 12, 562–567.
- HINCHA D. K., HELLWEGE E. M., HEYER A. G., CROWE J. H., 2000. Plant fructans stabilize phosphatidylcholine liposomes during freeze-drying. *Eur. J. Biochem.* 267, 535–540.
- HINCHA D. K., ZUTHER E., HEYER A. G., 2003. The preservation of liposomes by raffinose family oligosaccharides during drying is mediated by effects on fusion and lipid phase transitions. *Biochim. Biophys. Acta* 1612, 172–177.
- HO S.-L., CHAO Y.-C., TONG W.-F., YU S.-M., 2001. Sugar coordinately and differentially regulates growth- and stress-regulated gene expression via a complex signal transduction network nad multiple control mechanisms. *Plant Physiol.* 125, 877–890.
- HOEKSTRA F. A., BUITINK J., 2001. Mechanisms of plant desiccation tolerance. *Trends Plant Sci.* 8, 431–438.
- HORCHANI F., R'BI A. O., ASCHI-SMITI S., 2011. Oxygen sensing and plant acclimation to soil flooding. *Int. J. Agric. Res.* 6, 227–237.
- HOSSAIN M. A., UDDIN S. N., 2011. Mechanisms of waterlogging tolerance in wheat: morphological and metabolic adaptations under hypoxia or anoxia. *Aust. J. Crop Sci.* 5, 1094–1101.
- IMANISHI H. T., SUZUKI T., MARUDA K., HARADA T., 1998. Accumulation of raffinose and stachyose in shoot apices of *Lonicera caerulea* L. during cold acclimation. *Sci. Hortic.* 72, 255–263.
- IORDACHESCU M., IMAI R., 2008. Trehalose biosynthesis in response to abiotic stresses. *J. Integr. Plant Biol.* 50, 1223–1229.
- IRFAN M., HAYAT S., HAYAT Q., AFROZ S., AHMAD A., 2010. Physiological and biochemical changes in plants under waterlogging. *Protoplasma* 241, 3–17.
- ISMAIL A. M., ELLA E. S., VERGARA G. V., MACKILL D. J., 2009. Mechanisms associated with tolerance to flooding during germination and early seedling growth in rice (*Oryza sativa*). *Ann. Bot.* 103, 197–209.
- JIANG W., FU F.-L., ZHANG S.-Z., WU L., LI W.-C., 2010. Cloning and characterization of functional trehalose-6-phosphate synthase gene in maize. *J. Plant Biol.* 53, 134–141.
- KANG S.-Y., LEE K. J., LEE G.-J., KIM J.-B., CHUNG S.-J., SONG J. Y., LEE B.-M., KIM D. S., 2010. Development of AFLP and STS markers linked to a waterlogging tolerance in Korean soybean landraces. *Biol. Plant.* 54, 61–68.
- KAUR P., GHAI N., SANGHA M. K., 2009. Induction of thermotolerance through heat acclimation and salicylic acid in Brassica species. *Afr. J. Biotechnol.* 8, 619–625.
- LIAO C.-T., LIN C.-H., 2001. Physiological adaptation of crop plants to flooding stress. *Proc. Natl. Sci. Council.* 25, 148–157.
- LIVINGSTON D. P. III, HINCHA D. K., HEYER A. G., 2009. Fructan and its relationship to abiotic stress tolerance in plants. *Cell. Mol. Life Sci.* 66, 2007–2023.
- MA Y., ZHANG Y., LU J., SHAO H., 2009. Roles of plant soluble sugars and their responses to plant cold stress. *Afr. J. Biotechnol.* 8, 2004–2010.
- MANZUR M. E., GRIMDDI A. A., INSAUSTI P., STRIKER G. G., 2009. Escape from water or remain quiescent? *Lotus tenuis* changes its strategy depending on depth of submergence. *Ann. Bot.* 104, 1163–1169.
- MARTINEZ-FLEITES C., ORTIZ-LOMBARDIA M., PONS T., TARBOURIECH N., TAYLOR E. J., ARRIETA J. G., HERNANDEZ L., DAVIES G. J., 2005. Crystal structure of levan-sucrase from the Gram-negative bacterium *Gluconacetobacter diazotrophicus*. *Biochem. J.* 390, 19–27.
- MOHAMMADKHANI N., HEIDARI R., 2008. Drought-induced accumulation of soluble sugars and proline in two maize varieties. *World App. Sci. J.* 3, 448–453.
- MORSY M. R., JOUVE L., HAUSMAN J.-F., HOFFMANN L., MCD STEWART J., 2007. Alteration of oxidative and carbohydrate metabolism under abiotic stress in two rice (*Oryza sativa* L.) genotypes contrasting in chilling tolerance. *J. Plant Physiol.* 164, 157–167.
- NEMATI I., MORADI F., GHOLIZADEH S., ESMAEILI M. A., BIHAMTA M. R., 2011. The effect of salinity stress on ions and soluble sugars distribution in leaves, leaf sheets and roots of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. *Plant Soil Environ.* 57, 26–33.
- PALONEN P., BUSZARD D., DONNELLY D., 2000. Changes in carbohydrates and freezing tolerance during cold acclimation of raspberry cultivars grown

- in vitro and in vivo*. *Physiol. Plant.* 110, 393–401.
- PANIKULANGARA T. J., EGGERS-SCHUMACHER G., WUNDERLICH M., STRANSKY H., SCHÖFFL F., 2004. *Galactinol synthase 1. A novel heat shock factor target gene responsible for heat-induced synthesis of raffinose family oligosaccharides in Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 136, 3148–3158.
- PARTELLI F. L., VIEIRA H. D., RODRIGUES A. P. D., PAIS J., CAMPOSTRINI E., CHAVES M. M. C.C., RAMALHO J. C., 2010. *Cold induced changes on sugar contents and respiratory enzyme activities in coffee genotypes*. *Ciência Rural* 40, 781–786.
- PARVAIZ A., SATYAWATI S., 2008. *Salt stress and phyto-biochemical responses of plants – a review*. *Plant Soil Environ.* 54, 89–99.
- PATRA B., RAY S., RICHTER A., MAJUMDER A. L., 2010. *Enhanced salt tolerance of transgenic tobacco plants by co-expression of PclNO1 and MclMT1 is accompanied by increased level of myo-inositol and methylated inositol*. *Protoplasma* 245, 143–152.
- PATTANAGUL W., MADORE M. A., 1999. *Water deficit effects on raffinose family oligosaccharide metabolism in coleus*. *Plant Physiol.* 121, 987–993.
- PATTANAGUL W., THITISAKSAKUL M., 2008. *Effect of salinity stress on growth and carbohydrate metabolism in three rice (Oryza sativa L.) cultivars differing in salinity tolerance*. *Indian J. Exp. Biol.* 46, 736–742.
- PAUL M. J., PRIMAVESI L. F., JHURREEA D., ZHANG Y., 2008. *Trehalose metabolism and signaling*. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59, 417–441.
- PONNU J., WAHL V., SCHMID M., 2011. *Trehalose-6-phosphate: connecting plant metabolism and development*. *Front. Plant Sci.* 2, 70. doi: 10.3389/fpls.2011.00070.
- POURABDAL L., HEIDARY R., FARBOODNIA T., 2008. *Effects of three different flooding periods on some anatomical, morphological and biochemical changings in maize (Zea mays L.) seedlings*. *Asian J. Plant Sci.* 7, 90–94.
- PRICE J., LAXMI A., MARTIN S. K. S., JANG J. C., 2004. *Global transcription profiling reveals multiple sugar signal transduction mechanisms in Arabidopsis*. *Plant Cell* 16, 2128–2150.
- RAMON M., ROLLAND F., SHEEN J., 2008. *Sugar sensing and signaling*. *The Arabidopsis Book*, Number 6, <http://www.bioone.org/doi/full/10.1199/tab.0117>.
- REJŠKOVÁ A., PATKOVÁ L., STODÚLKOVÁ E., LIPAVSKÁ H., 2007. *The effect of abiotic stresses on carbohydrate status of olive shoots (Olea europaea L.) under in vitro conditions*. *J. Plant Physiol.* 164, 174–184.
- ROLLAND F., BAENA-GONZALEZ E., SHEEN J., 2006. *Sugar sensing and signaling in plants: conserved and novel mechanisms*. *Annu. Rev. Plant Biol.* 57, 675–709.
- ROSA M., PRADO C., PODAZZA G., INTERDONATO R., GONZALEZ J. A., HILAL M., PRADO F. E., 2009. *Soluble sugars – metabolism, sensing and abiotic stress. A complex network in the life of plants*. *Plant Signal. Behav.* 4(5), 388–393.
- SAIRAM R. K., KUMUTHA D., CHINNUSAMY V., MEENA R. C., 2009. *Waterlogging-induced increase in sugar mobilization, fermentation, and related gene expression in the roots of mung bean (Vigna radiata)*. *J. Plant Physiol.* 166, 602–616.
- SAIRAM R. K., KUMUTHA D., EZHILMATHI K., DESHMUKH P. S., SRIVASTAVA G. C., 2008. *Physiology and biochemistry of waterlogging tolerance in plants*. *Biol. Plant.* 52, 401–412.
- SCHLUEPMANN H., PAUL M., 2009. *Trehalose metabolites in Arabidopsis – elusive, active and central*. *The Arabidopsis Book*, Number 7, <http://www.bioone.org/doi/full/10.1199/tab.0122>.
- SEKI M., NARUSAKA M., ISHIDA J., NANJO T., FUJITA M., OONO Y., KAMIYA A., NAKAJIMA M., ENJU A., SAKURAI T., SATOU M., AKIYAMA K., TAJI T., YAMAGUCHI-SHINOZAKI K., CARNINCI P., KAWAI J., HAYASHIZAKI Y., SHINOZAKI K., 2002. *Monitoring the expression profiles of 7000 Arabidopsis genes under drought, cold and high-salinity stresses using a full-length cDNA microarray*. *Plant J.* 31, 279–292.
- SENGUPTA S., PATRA B., RAY S., MAJUMDER A. L., 2008. *Inositol methyl transferase from a halophytic wild rice, Porteresia coarctata Roxb. (Tateoka): regulation of pinitol synthesis under abiotic stress*. *Plant Cell Environ.* 31, 1442–1459.
- SHAO H. B., CHU L. Y., LU Z. H., KANG C. M., 2008. *Primary antioxidant free radical scavenging and redox signalling pathways in higher plant cells*. *Int. J. Biol. Sci.* 4, 8–14.
- SHEN B., JENSEN R. G., BOHNERT H. J., 1997. *Increased resistance to oxidative stress in transgenic plants by targeting mannitol biosynthesis to chloroplasts*. *Plant Physiol.* 113, 1177–1183.
- SIRINGAM K., JUNTAWONG N., CHA-UM S., KIRDMANEE C., 2011. *Salt stress induced ion accumulation, ion homeostasis, membrane injury and sugar contents in salt-sensitive rice (Oryza sativa L. spp. indica) roots under iso-osmotic conditions*. *Afr. J. Biotechnol.* 10, 1340–1346.
- THOMAS H., 1997. *Drought resistance in plants*. [W:] *Mechanisms of environmental stress resistance in plants*. Basra A. S., Basra R. K. (red.). Harwood Academic Publ., Netherlands, 1–42.
- THOMASHOW M. F., 1999. *Plant cold acclimation: freezing tolerance genes and regulatory mechanisms*. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 50, 571–599.
- TUTEJA N., SOPORY S. K., 2008. *Chemical signaling under abiotic stress environment in plants*. *Plant Signal. Behav.* 3(8), 525–536.
- VALLURU R., VAN DEN ENDE W., 2008. *Plant fructans in stress environments: emerging concepts and future prospects*. *J. Exp. Bot.* 59, 2905–2916.
- VAN DEN ENDE W., VALLURU R., 2009. *Sucrose, sucro-syl oligosaccharides, and oxidative stress: scavenging and salvaging?* *J. Exp. Bot.* 60, 9–18.
- VEREYKEN I. J., CHUPIN V., DEMEL R. A., SMEEKENS S. C., DE KRUIJFF B., 2001. *Fructans insert between the headgroups of phospholipids*. *Biochim. Biophys. Acta* 1510, 307–320.
- VERNON D. M., BOHNERT H. J., 1992. *A novel methyl transferase induced by osmotic stress in the facultative halophyte Mesembryanthemum crystallinum*. *EMBO J.* 11, 2077–2085.