

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta
Katedra experimentální biologie rostlin

**Je syntéza cukerných alkoholů obecným mechanismem stresové
odpovědi rostlin?**



Bakalářská práce

Jitka Peldřimovská
2010

Školitelka:

Doc. RNDr. Helena Lipavská, Ph.D.
Katedra experimentální biologie rostlin PřF UK

Poděkování

Ráda bych poděkovala své školitelce Doc. RNDr. Heleně Lipavské, Ph.D. za odbornou pomoc a nesmírnou trpělivost během tvorby mé práce. Dále bych chtěla poděkovat své rodině a Janě Lábusové za psychickou podporu.

Obsah

Abstrakt	4
Klíčová slova	4
Abstract	5
Keywords.....	5
Seznam použitých zkratk.....	6
1. Úvod	7
2. Cukerné alkoholy	8
3. Manitol	9
4. Sorbitol.....	13
4.1. Rostliny produkující sorbitol.....	13
4.2. Metabolizmus sorbitolu	14
4.3. Distribuce sorbitolu v rostlině	15
4.4. Transport sorbitolu	16
4.4.1. Transport bóru.....	17
4.5. Transgenní rostliny	17
4.6. Sorbitol a stres	18
4.6.1 Vodní stres	18
4.6.2. Zasolení.....	19
4.6.3. Nízká teplota	20
4.7. Jak je to u rostlin, které nesyntetizují polyoly jako primární produkt fotosyntézy?	21
5. Závěr.....	23
Seznam použité literatury.....	24

Abstrakt

Rostliny se s nepříznivými podmínkami prostředí vyrovnávají různými obrannými mechanismy. Jedním z nich je akumulace kompatibilních solutů, mezi něž patří i sacharidy včetně cukerných alkoholů. Kompatibilní soluty se zapojují do osmotického přizpůsobení buněk, zhašení volných radikálů a mohou chránit makromolekuly a buněčné membrány díky simulaci vodního obalu. Cukerné alkoholy se vyskytují v řadě rostlin, kde slouží jako primární produkty fotosyntézy a transportovatelné nebo skladovatelné formy uhlíku. Homology enzymů zapojených do metabolismu polyolů byly ovšem v poslední době nalezeny i druhů, které cukerné alkoholy pro uvedené základní funkce sacharidového metabolismu nevyužívají, a kde je tedy jejich role nejasná. Je známo, že některé rostliny jsou schopny přepínat mezi různými sacharidy (včetně cukerných alkoholů) při odpovědi na rozdílné stresy a některé produkují polyoly pouze v určité fázi vývoje. Je proto otázkou dalšího studia, zda neobjevíme polyoly při stresové odpovědi i u dalších rostlin pokud je vystavíme určitému typu stresu v určitém vývojovém stádiu. Cílem této práce je shrnout poznatky o úloze manitolu a především sorbitolu a jejich zapojení při odpovědi rostliny na stres.

Klíčová slova: polyoly, sorbitol, manitol, abiotický stres, kompatibilní soluty

Abstract

Plants cope with adverse environmental conditions with broad variety of defence mechanisms. One of them is the accumulation of compatible solutes, e.g. carbohydrates including sugar alcohols. The compatible solutes are involved in osmotic adjustment, scavenging of reactive oxygen species and they can protect macromolecules and cell membranes by simulation of water envelopes. The sugar alcohols appear in a large range of plants where they serve as primary products of photosynthesis and are involved in long distance transport of C and energy storage. Homologues of the enzymes of polyol metabolism, however, have been recently found also in the plant species that do not use sugar alcohols for fulfilling of above mentioned basic functions of carbohydrate metabolism and where their role remains elusive. It is well known that some plants are able to switch between different carbohydrates in response to different stresses, and some produce polyols only at a certain stage of development. It is therefore question of further studies, whether the polyols cannot be observed in other plants under specific stress conditions and in certain developmental stages as a part of stress response. The aim of this Bachelor thesis is to summarize knowledge of mannitol and sorbitol roles, and especially their involvement in plant responses to stress.

Keywords: polyols, sorbitol, mannitol, abiotic stress, compatible solutes

Seznam použitých zkratek

ABA	kyselina absisová
M-6-PR	NADPH-dependentní mannóza-6-fosfát reduktáza
MdSOT3	transportér sorbitolu u jabloně
MdSOT4	transportér sorbitolu u jabloně
MdSOT5	transportér sorbitolu u jabloně
MTD	NAD-dependentní manitol dehydrogenáza
PcSOT1	transportér sorbitolu u višně
PcSOT2	transportér sorbitolu u višně
S6PDH	sorbitol-6-fosfát dehydrogenáza
SA	kyselina salicylová
SDH	NAD-dependentní sorbitol dehydrogenáza

1. Úvod

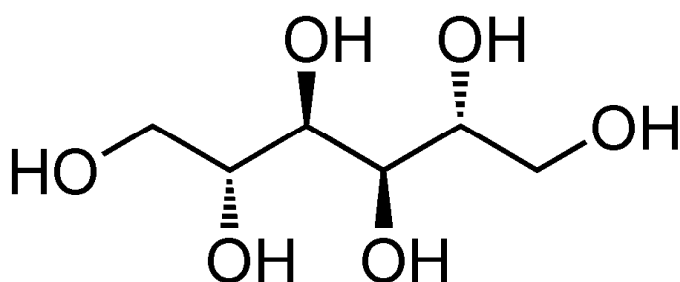
Sacharidy jsou jednou ze základních skupin látek v rostlině. Vznikají fotosyntézou z vody a oxidu uhličitého za pomoci sluneční energie. V rostlině slouží nejen jako okamžitý zdroj uhlíku a energie, ale i jako zásoba. Některé sacharidy jsou využívány jako stavební látky, důležitá je také jejich účast při stresové odpovědi.

Rostliny jsou organismy přisedlé a těžko tedy mohou uniknout před nepříznivými podmínkami prostředí. Nepříznivé podmínky poškozující rostliny jsou nazývány stresové faktory. Rostliny vyvinuly různé adaptační mechanismy, jak se s těmito nepříznivými podmínkami vyrovnat. Jedním z těchto mechanismů je i akumulace kompatibilních solutů. Kompatibilní soluty jsou nízkomolekulární látky, které neovlivňují metabolismus buňky i za vysoké koncentrace. Častým důsledkem působení stresových faktorů je nedostatek vody. Hromadění kompatibilních solutů v buňce může vést k osmotickému přizpůsobení, které umožňuje tok vody do buňky i za nízkého osmotického potenciálu okolí, dále mohou tyto látky sloužit jako osmoprotektanty. Cukerné alkoholy jsou jedny z těchto látek. Některé rostliny je produkují vedle sacharózy jako primární produkt fotosyntézy, ale obsahují je i rostliny, kde tomu tak není. Jejich roli v těchto rostlinách bude třeba objasnit. Získané poznatky by mohly vést mimo jiné, k vytvoření hospodářsky využitelných transgenních rostlin, které by měly vyšší odolnost vůči nepříznivým podmínkám prostředí právě díky modifikaci sacharidového metabolismu a akumulaci cukerných alkoholů.

2. Cukerné alkoholy

Cukerné alkoholy (polyoly) jsou vysoce hydroxylované lineární či cyklické sloučeniny. Jsou to deriváty uhlovodíků o vysoké rozpustnosti. Skládají se nejméně ze tří uhlíků nesoucích každý OH skupinu. Nejjednodušší polyol je tedy glycerol. V cévnatých rostlinách se vyskytuje 17 cukerných alkoholů a z toho v krytosemenných rostlinách jich bylo identifikováno 13 (Loescher a Everard, 1996). Nejhojněji se vyskytují šestiuhlíkaté lineární cukerné alkoholy manitol, sorbitol a galaktitol. V rostlinách zastávají rozmanité funkce. Především jsou to vedle sacharózy primární metabolity cukerného katabolismu. Dále slouží jako transportní formy sacharidů. Z ekonomického hlediska zvyšují sladkost ovoce při dozrávání. A také hrají velmi důležitou roli v toleranci abiotického stresu a při napadení patogenem (Kanayama, 2009). Zapojují se do osmotického přizpůsobení buněk (Ahmad et al., 1978), zhašení volných radikálů (Smirnoff a Cumbes, 1988, Shen et al., 1997) a ochrany membrán a makromolekul díky simulaci vodního obalu (Smirnoff, 1998). Navíc tvoří komplexy s bórem a podílí se na jeho příjmu a transportu po rostlině (Hu et al., 1997, Bellaloui et al., 1999). Polyoly vznikají redukcí monosacharidů nebo jejich fosfátových esterů. Byly nalezeny u různých druhů rostlin. Uvedu alespoň některé čeledě, u jejichž zástupců se cukerné alkoholy vyskytují. Růžovité (*Rosaceae*) a jitrocelovité (*Plantaginaceae*) obsahují sorbitol, miříkovité (*Apiaceae*) zase manitol, jesencovité (*Celestraceae*) galaktitol. Některé druhy z čeledí krtičníkovité (*Scrophulariaceae*) a zárazovité (*Orobanchaceae*) obsahují dva různé polyoly manitol a galaktitol (Loescher a Everard, 1996).

3. Manitol



Obr. 1: Strukturní vzorec molekuly manitolu

Cukerný alkohol, o kterém existuje nejvíce znalostí, je manitol. Proto se s ním seznámíme ze začátku. Je to nejrozšířenější cukerný alkohol v přírodě. Byl nalezen u více než 100 druhů cévnatých rostlin. Některé z těchto druhů rostlin jsou uvedeny v tabulce (**Tab. 1**).

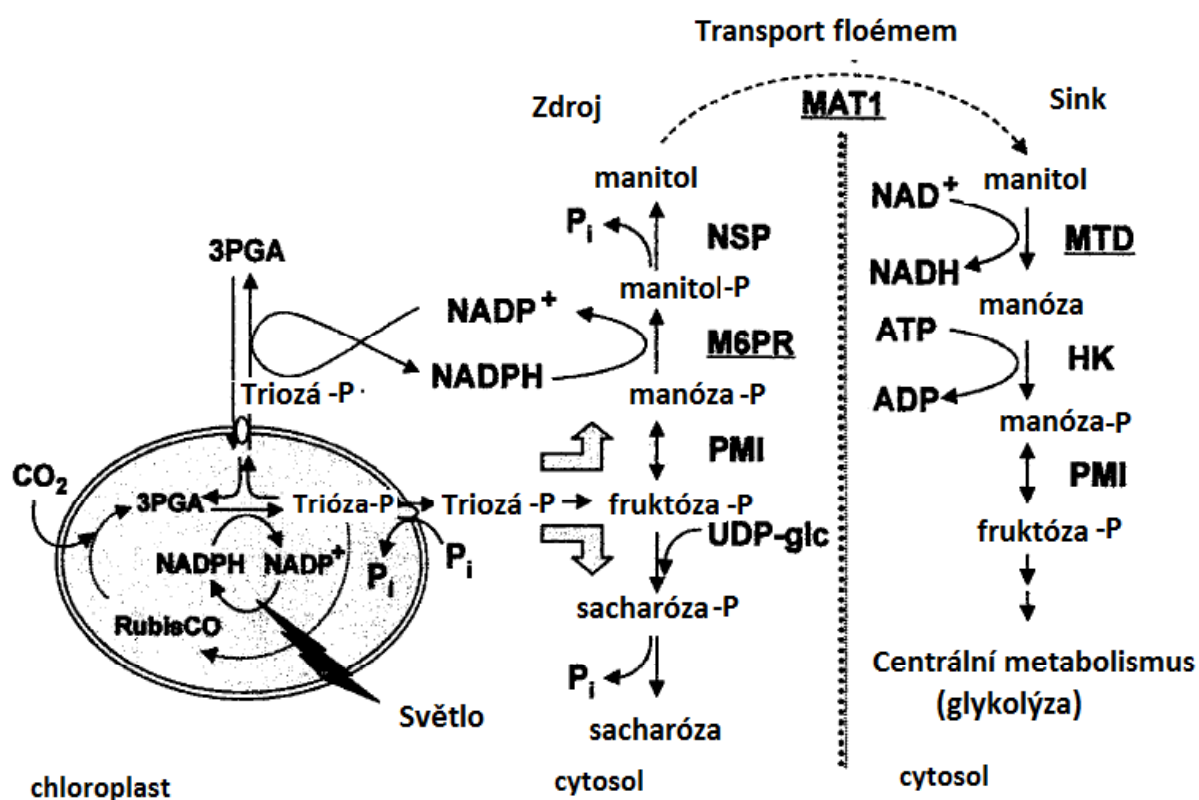
čeleď	druh	pletivo
Apiaceae	<i>Petroselinum crispum</i>	list, řapík
	<i>Apium graveolens</i>	list, řapík, kořen
	<i>Daucus carota</i>	
	<i>Pastinaca sativa</i>	
Arecaceae	<i>Cocus nucifera</i>	
Brassicaceae	<i>Brassica oleraceae</i>	
Bromeliaceae	<i>Ananas sativus</i>	
Buxaceae	<i>Buxus sempervirens</i>	
Cactaceae	<i>Opuntia vulgaris</i>	
Combretaceae	<i>Laguncularia racemosa</i>	
Compositae	<i>Lactuca sativa</i>	
Cucurbitaceae	<i>Citrullus vulgaris</i>	pericarp
	<i>Cucurbita pepo</i>	plod
Euphorbiaceae	<i>Manihot utilissima</i>	
Fabaceae	<i>Phaseolus vulgaris</i>	
	<i>Pisum spp.</i>	
	<i>Spartium junceum</i>	
Gnetaceae	<i>Ephedra distachya</i>	
Gramineae	<i>Agropyron repens</i>	
	<i>Andropogon annulatus</i>	
Liliaceae	<i>Asparagus officinalis</i>	
Oleaceae	<i>Forestiera acuminata</i>	kůra, list
	<i>Fraxinus americana</i>	
	<i>Fraxinus excelsior</i>	kořen, dřevo
	<i>Fraxinus omus</i>	list, kůra
	<i>Jasminum nudiflorum</i>	
	<i>Jasminum officinale</i>	list, kůra
	<i>Ligustrum vulgare</i>	kůra, květ
	<i>Olea europaea</i>	list, kůra
	<i>Syringa vulgaris</i>	kořen, stonek
Platanaceae	<i>Platanus orientalis</i>	
Rosaceae	<i>Prunus laurocerasus</i>	
Rubiaceae	<i>Coffe arabica</i>	
	<i>Gardenia</i>	
Scrophulariaceae	<i>Veronica</i>	

Tab. 1: Rostliny obsahující manitol. Upraveno podle Stoop et al. (1996)

Manitol je šestiuhlíkatý lineární cukerný alkohol. Ve většině cévnatých rostlin je manitol syntetizován z mannóza-6-fosfátu prostřednictvím NADPH-dependetní manóza-6-fosfát reduktázy (M-6-PR). Tato reduktáza katalyzuje přeměnu manóza-6-fosfátu na manitol-1-fosfát, a následně dochází k defosforylaci fosfatázou. Manitol se syntetizuje především

v dospělých listech, kde je M-6-PR lokalizovaná v cytosolu v buňkách palisádového a houbovitého parenchymu a v buňkách pochev cévních svazků. Utilizace manitolu je v sinkových pletivech celé rostliny. V případě celeru je manitol přímo oxidován na manózu prostřednictvím NAD-dependentní manitol dehydrogenázy (MTD) (Stoop et al., 1996).

Jako modelová rostlina ke studiu transportu manitolu byl vybrán celer. Na plazmatické membráně byl nalezen transportér manitolu AgMaT1, jehož cDNA AgMaT1 umožnila kvasince růst na manitolu. Transportér je tvořen 12 transmembránovými helixy a je to symportér H^+ . Přes tonoplast vakuoly se manitol přesouvá pasivní difuzí (Noiraud et al., 2001).



Obr. 2: Biosyntéza, transport a katabolismus manitolu v rostlině. Enzymy katalyzující reakce: **NSP** manóza-1-fosfát fosfatáza, **M6PR** manóza-6-fosfát reduktáza, **PMI** fosfomanóza isomeráza, **MTD** NAD-dependentní manitol dehydrogenáza, **HK** hexokináza. Upraveno podle Stoop et al., (1996).

Zajímavé také je, že manitol je zapojen do transportu bóru rostlinou. Bór je u mnoha rostlin imobilní, a tak u některých pletiv dochází k jeho nedostatku. Z floémové šťávy celeru byl izolován manitol-B-manitol komplex usnadňující pohyb B po rostlině (Hu et al., 1997).

Manitol vedle toho, že je primárním produktem fotosyntézy, slouží jako kompatibilní solut zapojený do osmotického přizpůsobení, a tak zvyšuje toleranci rostliny k abiotickému stresu. U celeru se uplatňuje zejména při stresu vyvolaném zasolením (Stoop et al., 1996). K akumulaci manitolu v celeru dochází díky snížení aktivity MTD v sinkových pletivech a zvýšení aktivity M-6-PR v dospělých listech (Stoop a Pharr, 1994). V podmínkách *in vitro* bylo zjištěno, že v celeru se při osmotickém stresu manitol akumuluje v pletivech díky výraznému omezení utilizace manitolu (Vítová et al., 2002), kdežto v olivovníku je pozorovaná strategie jiná, manitol se sice akumuluje, ale nadále se také využívá jako zdroj uhlíku a energie (Rejšková et al., 2007).

Akumulace manitolu za stresových podmínek nebyla však zaznamenána u všech druhů, které jej produkují. Na stejném území za totožných podmínek prostředí v Severní Sicilii byl během roku analyzován obsah manitolu v listech čtyř druhů z čeledi olivovitých (*Oleaceae*), u kterých je manitol hlavní složkou sacharidového spektra v listech. U obou opadavých stromů jasanu zimnáře (*Fraxinus ornus*) a jasanu úzkolistého (*Fraxinus angustifolia*) obsah manitolu postupně stoupal během sucha s nejvyšší hodnotou na konci tohoto suchého období, a pak opět klesl. Naproti tomu u stále zelených stromů olivovníku evropského (*Olea europia*) a jamovce širokolistého (*Phillyrea media*) nebyla pozorována souvislost mezi obsahem manitolu a množstvím srážek či teplotou. Autoři tedy předpokládají, že u olivovníku a jamovce nehraje manitol hlavní roli při odpovědi těchto druhů na horké a suché podmínky léta (Oddo et al., 2002).

Smirnoff a Cumbe (1998) zjistili *in vitro*, že mannitol je účinný zhášec hydroxylových radikálů a chrání enzymy před poškozením. Otázkou bylo, zda je tomu tak i v podmínkách *in vivo*. Shen et al. (1997) proto vložili do tabáku (*Nicotiana tabacum*) bakteriální manitol-1-fosfát dehydrogenázu cílenou do chloroplastu aminoterminálním transičním peptidem. Transgenní tabák akumuloval manitol v chloroplastu a byl fenotypově identický s kontrolou. Produkce reaktivních forem kyslíku ROS, mezi něž patří peroxid vodíku, superoxid a hydroxylový radikál, je za světla v chloroplastu nevyhnutelná. Jsou tvořeny Mehlerovou reakcí ve fotosystému I (Piterková et al., 2005). Bylo zjištěno, že přítomnost manitolu v chloroplastu zvyšuje odolnost proti oxidativnímu stresu vyvolanému aplikací herbicidu methylviologenu, která vede k produkci hydroxylových radikálů. Mezofylové buňky transgenní rostliny vykazovaly vyšší fixaci CO₂ než buňky kontroly. Autoři navrhuji, že vyšší fixace CO₂ v transgenní rostlině je možná díky ochraně enzymů před hydroxylovými radikály (Shen et al., 1997).

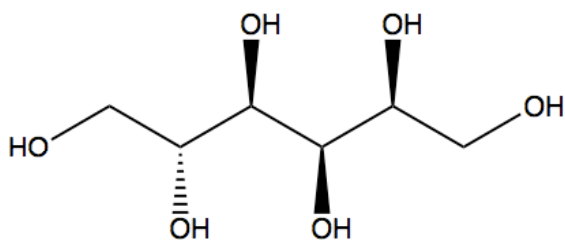
Jednou z výhod manitolu oproti sacharóze je, že při degradaci poskytuje více energie. NADH produkované v iniciačním kroku katabolismu manitolu, které může být dále oxidováno v mitochondriích, může poskytnout navíc tři molekuly ATP. Po odeznění stresu, když je akumulovaný manitol odbouráván a rostlina se potřebuje rychle zotavit, získává více energie než rostliny bez tohoto kompatibilního solutu (Stoop et al., 1996).

Kvůli shora uvedeným vlastnostem se uvažuje o vytvoření hospodářsky využitelných transgenních rostlin, které by byly odolnější vůči abiotickému stresu právě díky akumulaci manitolu. Proto Karakas et al. (1997) zkoušeli transgenní tabák s vloženou manitol-1-fosfát dehydrogenázou, která umožňovala akumulaci manitolu, vystavit suchu a zasolení. Fenotypově byly transgenní rostliny asi o čtvrtinu menší než rostliny kontroly. Nicméně během solného stresu byla sušina kontrolních rostlin snížena o 44 %, kdežto u transgenních rostlin snížení hmotnosti sušiny nenastalo. U tabáku akumulujícího manitol bylo pozorováno osmotické přizpůsobení na rozdíl od kontroly, kde osmotické přizpůsobení nenastalo. Inositol, polyol přirozeně se vyskytující u tabáku, se akumuloval u obou typů tabáku během solného stresu a u transgenního tabáku bylo jeho množství třikrát vyšší než množství manitolu. Autoři vypočítali, že manitol se podílí pouze na 30-40 % změně osmotického potenciálu v cytosolu a přesto to stačí ke zvýšení tolerance k solnému stresu. Naproti tomu nebylo pozorováno žádné zvýšení tolerance k suchu u transgenní rostliny vůči kontrole. Osmotický potenciál se znatelně nelišil u obou typů rostlin během sucha.

Dále se zdá, že regulace hladin manitolu je zapojena do odpovědi rostliny na napadení patogenem. Porovnáním databází se zjistilo, že MTD izolovaná z celeru vykazuje značnou sekvenční podobnost s proteiny ELI3, což jsou patogenem-ovlivněné geny z petržele a huseníčku, které podléhají odpovědi na útok patogena zprostředkované kyselinou salicylovou (SA). Experimentálně bylo ověřeno, že aktivita MTD se zvyšuje po ošetření buněk SA. Utilizace manitolu slouží jako zdroj energie, a protože je manitol antioxidant, jeho odstranění možná zvyšuje patogenem vyvolané oxidativní vzplanutí (Williasom et al., 1995).

Zajímavé je také využití manitolu v parazitických rostlinách rodu *Orobanche*, *Striga* a *Thesium*, kde se k běžným funkcím manitolu předpokládají ještě dvě další. Vysoký obsah manitolu v parazitické rostlině možná usnadňuje tok vody od hostitele do parazita. Dále je parazitická rostlina schopná přeměnit hostitelské sacharidy v manitol, a tak je chránit před hostitelem, který ho nedokáže metabolizovat (Williasom et al., 2002).

4. Sorbitol



Obr. 3: Strukturní vzorec sorbitolu

Sorbitol (D-glucitol) je šestiuhlíkatý lineární cukerný alkohol. Poprvé byl izolován v roce 1872 Jean-Baptistou Boussingaultem ze zralých plodů jeřábu (*Sorbus aucuparia*). Od toho je odvozen jeho triviální název. První studie o přítomnosti sorbitolu v rostlinách, a to především v plodech, byla motivována čistě ekonomicky. Cílem bylo zjistit falšování ovocných výrobků. Přidáním levnějšího jablka či hrušky, které tento polyol obsahovaly, se v konečném výrobku objevil sorbitol. Dále byl sorbitol zkoumán z hlediska využití pro vnitřní klasifikaci čeledi *Rosaceae* (Gutiérrez a Gaudillere, 1996). Dnešní studie se zabývají především zapojením sorbitolu v odpovědi rostliny na stres a jeho možným využitím v transgenních rostlinách.

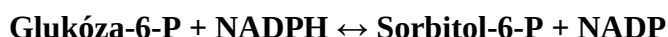
4.1. Rostliny produkující sorbitol

Sorbitol se vyskytuje především v čeledi růžovitých (*Rosaceae*) v podčeledech tavolníkové (*Spiraeoideae*), jabloňové (*Maloideae*) (jabloň, hrušeň, mišpule) a slivoňové (*Prunoideae*) (třešeň, švestka, meruňka, broskvoň). Dále jej nalezneme v čeledi jitrocelovité (*Plantaginaceae*) (jitrocel). U obou předešle zmíněných čeledí je sorbitol vedle sacharózy primárním produktem fotosyntézy a je floémem translokován do sinků. Přítomnost sorbitolu byla objevena ještě u datlovníku pravého (*Phoenix dactylifera*) a kokosovníku ořechoplodého (*Cocos nucifera*, *Palmae*), dubu (*Quercus*) a buku (*Fagus*, *Fagaceae*), révě vinné (*Vitis vinifera*, *Vitaceae*) (Gutiérrez a Gaudillere, 1996), kukuřici seté (*Zea mays*, *Poaceae*) (Doehlert, 1987), upolínu (*Trollius*, *Ranunculaceae*) (Loescher a Everard, 1996), rajčeti jedlým (*Lycopersicon esculentum*, *Solanaceae*) (Cataldiet et al., 1998), sóje *Glycine max*,

Fabaceae) (Kuo et al., 1990) a bérů italským (*Setaria italica*, *Poaceae*) (Veeranagamallaiah et al., 2009).

4.2. Metabolizmus sorbitolu

Metabolizmus sorbitolu byl popsán u jabloně (**Obr. 4**) (Loescher a Everard, 1996). Syntéza sorbitolu je podobná syntéze manitolu. Ve fotosynteticky aktivních pletivech je glukóza-6-fosfát přeměněn na sorbitol-6-fosfát prostřednictvím NADPH-dependentní sorbitol-6-fosfát dehydrogenázy (NADPH-dependentní aldóza 6-fosfát reduktázy) (S6PDH).

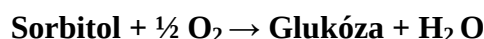


Následně je sorbitol-6- fosfát zbaven fosfatázou fosfátu.

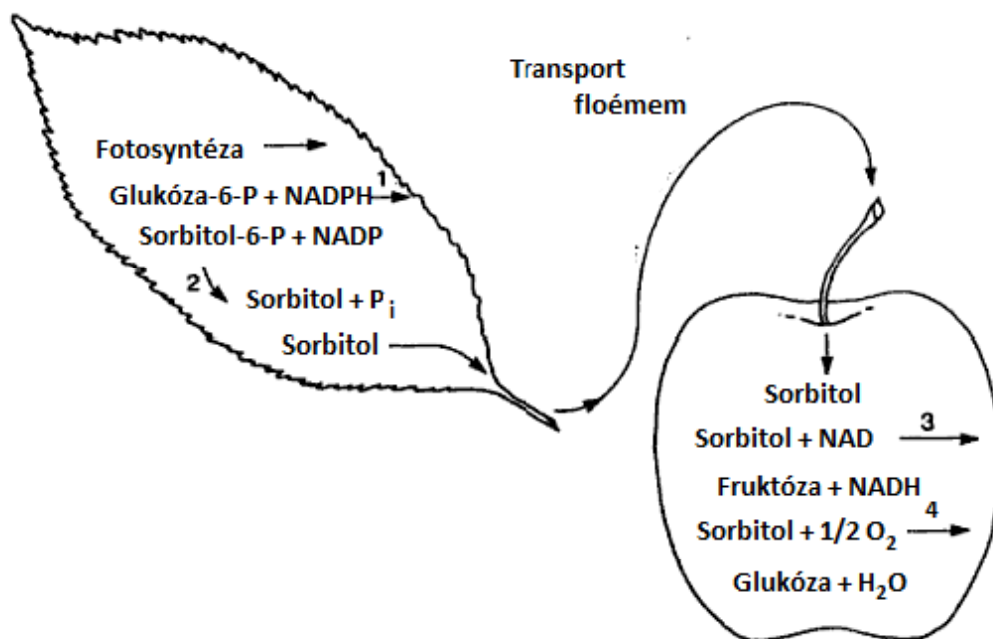
Floémem je sorbitol transportován do sinku, kde je sorbitol přeměněn na fruktózu za pomoci ketózareduktázy: NAD^+ -dependentní sorbitol dehydrogenázy (SDH).



Dále může být sorbitol katabolizován na glukózu prostřednictvím aldózareduktázy: NADP^+ -dependentní sorbitol dehydrogenázy či sorbitol oxidázou.



Na rozdíl od situace ve zdrojovém listu jabloně v klíčícím semeni sóji byla popsána aktivita ketózareduktázy přeměňující fruktózu v sorbitol a zároveň aldózareduktáza katalyzující přeměnu glukózy v sorbitol. Autor navrhuje, že fruktóza a glukóza jsou vzájemně mezi sebou přeměňovány přes sorbitol jako prostředníka (Kuo et al., 1990). Rovněž ve vyvíjejícím se endospermu kukuřice ketózareduktáza upřednostňuje přeměnu fruktózy v sorbitol (Doehlert, 1987). Na druhou stranu aldózareduktáza v kukuřici katalyzuje přeměnu sorbitolu v glukózu. I zde by sorbitol sloužil jako prostředník pro přeměnu fruktózy v glukózu a následně škrob (de Sousa et al., 2009).



Obr. 4: Cesta pro syntézu sorbitolu ve zdrojových listech a degradaci v sinkovém pletivu plodů jabloně. Důležité enzymy (1) aldóza-6-fosfát reduktáza, (2) sorbitol 6-fosfát fosfatáza, (3) sorbitol dehydrogenáza, (4) sorbitol oxidáza. Upraveno podle Loescher a Everard (1996).

4.3. Distribuce sorbitolu v rostlině

Sorbitol je syntetizován v listech, odkud je transportován do sinkových orgánů. Wang et al. (2009) zkoumali lokalizaci SDH, klíčového enzymu metabolismu sorbitolu. Zjistili, že SDH se nachází, jak v sinkových pletivech (v plodech a mladých listech), tak ve zdrojových orgánech (dospělých listech). V plodech jej nalezneme v buňkách dužiny a vodivých pletiv. Ve všech vývojových stádiích je distribuce podobná. V mladých listech se SDH vyskytuje především ve vodivých pletivech a velmi málo v mezofylu. Naproti tomu v dospělých listech je SDH v obou těchto pletivech. SDH se nachází v cytosolu a chloroplastech parenchymatických buněk dužiny a nikoliv v jejich vakuolách. Průvodní buňky cévních svazků mají stejnou lokalizaci SDH. V mladých listech je SDH převážně v cytosolu a méně v chloroplastech a na rozdíl od plodu je i ve vakuolách. Není v buněčné stěně nebo v mitochondriích. V dospělých listech je to podobné až na větší množství SDH v chloroplastech.

Chong a Taper (1971a) zkoumali denní a sezonní distribuci sorbitolu v semenáčcích jabloně. Zjistil, že nejvyšší koncentrace sorbitolu v listech je v červenci a během dne nejvíce

okolo třetí hodiny odpoledne. Chong (1971b) zároveň měřil i sluneční radiaci. Výsledky ukazují, že čím je vyšší sluneční radiace, tím je vyšší obsah sorbitolu. V létě je tedy obsah sorbitolu vyšší než na podzim.

Nadwodnik a Lohaus (2008) měřili procentuální zastoupení sorbitolu v různých kompartmentech buněk listů jitrocele a broskvoně (**Tab. 2**). Nejvíce sorbitolu ze všech kompartmentů našli ve vakuole.

%	vakuola	stroma	cytosol
jitrocel větší	48	27	25
jitrocel přímořský	87	12	1
broskvoň	67	22	11

Tab. 2: Procentuální obsah sorbitolu v různých kompartmentech buňky listu

4.4. Transport sorbitolu

Sorbitol se transportuje z listů, místa syntézy, prostřednictvím floému do sinkových orgánů. Moing et al. (1992) studovali tok uhlíku v dospělých listech broskvoně. Pozorovali, že poměr sorbitolu a sacharózy je větší v řapíku než mezofylu listu, což je nejspíš zapříčiněno přeměnou části sacharózové zásoby na sorbitol. Množství sorbitolu ve floémové šťávě listů broskvoně bylo vyšší než množství sacharózy, a tak autoři navrhuji jako přednostní formu transportu uhlíku sorbitol. Gao et al. (2003) identifikovali dva transportéry sorbitolu PcSOT1 a PcSOT2 v listech a plodu višně. Oba jsou proton-dependentní sorbitol-specifické přenašeče. PcSOT1 je exprimován ve vyvíjejících se plodech a v mladých listech. Naproti tomu je PcSOT2 exprimován pouze v časném stupni vývoje plodu a nikoliv v listech. Dva transportéry sorbitolu byly identifikovány též u jitrocele PmPLT1 a PmPLT2. Jsou to též H^+ symportéry a byly lokalizovány v průvodních buňkách floému zdrojových listů. Na rozdíl od transportérů višně nevykazují tak vysokou substrátovou specifitu, umožňují příjem i manitolu (Ramserger-Gleigner et al., 2004). Další tři transportéry sorbitolu byly objeveny v listech jabloně MdSOT3, MdSOT4, MdSOT5. Jsou to sorbitol/proton kotransportéry jako předchozí transportéry. Všechny tři transportéry byly lokalizovány ve floému nejmenších žilek zdrojových listů. MdSOT3 je exprimován pouze ve zdrojových listech. MdSOT4 a MdSOT5 jsou silně exprimovány kromě zdrojových listů v květech a dále ve zralých plodech, spících pupenech a mladých listech. MdSOT4 navíc ještě ve stonku (Watari et al., 2004). Sorbitol a sacharóza jsou přítomny v apoplastu jitrocelovitých (*Plantaginaceae*), avšak v menší koncentraci než ve floémové šťávě, a tak naložení obou sacharidů do floému musí být

energetizováno (Nadwodnik a Lohaus, 2008). Autoři tak navrhuji apoplastický aktivní transport pro jitrocelovitě.

4.4.1. Transport bóru

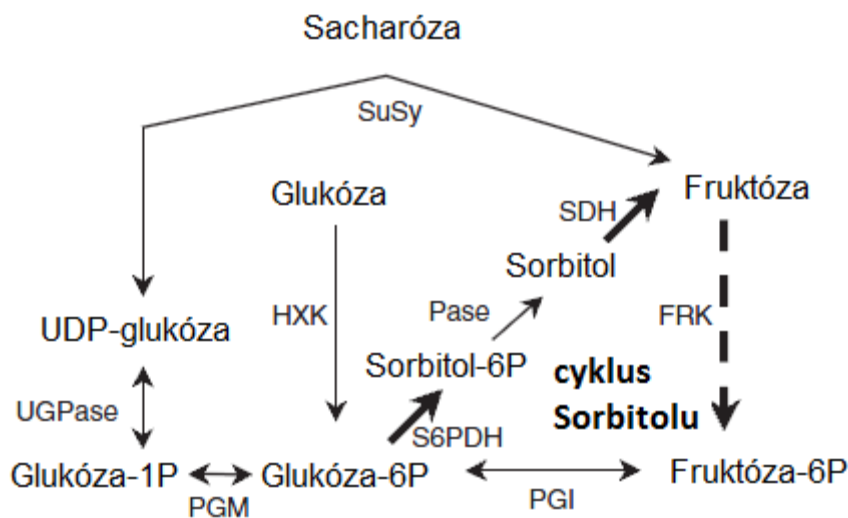
Bór je u vyšších rostlin esenciální mikroprvek a jeho nedostatek se projevuje inhibicí růstu. Bór se v rostlinách ukládá v listech, odkud, jak se předpokládalo, není dále přepravován. Hu et al. (1997) však izolovali z extrafloriálního nektária z báze listu broskvoně komplexy sorbitol-B-sorbitol, sorbitol-B-fruktóza a fruktóza-B-fruktóza. Autoři navrhuji, že bór je po rostlině transportován floémem ve formě sorbitol-B-sorbitol komplexu a předpokládají že přítomnost fruktóza-B-komplexu je výsledkem metabolismu sorbitol-B-sorbitol komplexu po vyložení z floému. Že se sorbitol účastní transportu a příjmu bóru bylo potvrzeno na transgenním tabáku s vneseným genem kontrolujícím syntézu sorbitolu (Bellaloui et al., 1999).

4.5. Transgenní rostliny

Protože u rostlin produkujících cukerné alkoholy se tyto látky účastní stresové odpovědi, uvažuje se o přípravě transgenních rostlin, u kterých by vnesení genu pro syntézu cukerného alkoholu mohlo zvýšit stresovou toleranci. Sheveleva et al. (1998) do tabáku vložili cDNA kódující S6PDH z jabloně. Získali rostliny obsahující různé množství sorbitolu v rozsahu 0,2 až 130 $\mu\text{mol/g}$ čerstvé hmotnosti. Rostliny do 3 $\mu\text{mol/g}$ čerstvé hmotnosti byly fenotypově normální pouze s přibývajícím množstvím sorbitolu zpomalovaly v růstu. Rostliny obsahující od 3 do 5 μmol sorbitolu/g čerstvé hmotnosti měly místa, kde ztratily chlorofyl. U mladých listů to vedlo až k vytvoření nekrotických lézí. Jakmile množství sorbitolu překročilo 15 až 20 $\mu\text{mol/g}$ čerstvé hmotnosti, rostliny byly neplodné a nebyly schopné tvořit kořeny. Ukázalo se, že vysoké množství sorbitolu koreluje s nízkým obsahem myo-inositolu. Myo-inositol je důležitý pro biosyntézu buněčné stěny. Dá se tedy předpokládat, že hyperakumulace sorbitolu narušuje biosyntézu inositolu, a to mohlo vést k inhibici růstu.

Deguchi et al. (2006) předpokládali, že transformované rostliny vykazovaly inhibici růstu, protože se nebyly schopny vypořádat se slepou uličkou metabolismu sorbitolu, který přirozeně nevytvářejí. Proto navrhli novou strategii: vložení celého sorbitolového cyklu kontrolujícího nejen jeho syntézu, ale i jeho degradaci. Do tabáku byla tedy vložena cDNA

S6PDH a SDH. Takto transformované rostliny rostly normálně navzdory akumulaci sorbitolu a nebylo u nich pozorováno žádné ovlivnění množství myo-inositolu oproti kontrole.



Obr. 5: Předpokládaná metabolická dráha sacharózy v sinku a vložený cyklus sorbitolu. Šipky ukazují hlavní směr reakce v pletivu. Enzymy katalyzující jednotlivé reakce: **Susy** sacharóza syntáza, **UGPase** uridin difosfo(UDP)-glukóza pyrofosforyláza, **PGM** fosfoglukomutáza, **HXK** hexokináza, **SDH** NAD-dependentní sorbitol dehydrogenáza, **Pase** fosfatáza, **S6PDH** NADP-dependentní sorbitol-6-fosfát dehydrogenáza, **PGI** fosfoglukoizomeráza, **FRK** fruktokináza. Upraveno podle Deguchiho et al. (2006).

4.6. Sorbitol a stres

4.6.1. Vodní stres

Ze všech abiotických faktorů nedostatek vody omezuje růst rostliny nejvíce. Rostliny se snaží pro udržení turgoru snížit vodní potenciál v buňkách. Jednou z možností je akumulace polyolů. Wang a Stutte (1992) pozorovali aktivní osmotické přizpůsobení 3. a 5. den po zahájení vodního stresu u jabloně. Zaznamenali, že se zvýšila koncentrace sorbitolu, glukózy a fruktózy a naopak snížila koncentrace sacharózy a škrobu. Navrhují, že polyol a monosacharidy jsou důležité pro osmotické přizpůsobení. Vypočítali, že sorbitol se podílí na více než 50 % celkového osmotického přizpůsobení. Sorbitol, fruktózu, sacharózu a škrob označili ^{14}C . Zjistili, že podíl značeného sorbitolu v dospělém listu klesá nejrychleji ze značených fotosyntátů za nestresových i stresových podmínek, avšak po 24 hodinách vodního

stresu začne jeho podíl vzrůstat na rozdíl od ostatních fotosyntátů, jejichž podíl klesá zároveň se zvyšující se úrovní stresu.

Wang a Quebedeaux (1996) pomocí značení ^{14}C zjistili, že akumulace sorbitolu v dospělých listech během vodního stresu je výsledkem přeměny z glukózy a zvýšené přeměny sacharózy v glukózu a fruktózu jako substráty pro syntézu sorbitolu. Zaznamenali, že koncentrace sorbitolu se zvýšila i v mladých listech za stresových podmínek, ale méně než v dospělých listech, což je možná díky aktivitě sorbitol dehydrogenázy, která katabolizuje sorbitol nebo omezením transportu sorbitolu z dospělých listů.

Cui et al. (2003) pozorovali zvýšení obsahu sorbitolu v listech a kořenech mišpule (*Eriobotrya Japonica*) se zvyšujícím se vodním deficitem rostliny. Po zalití rostlin množství sorbitolu v listech postupně kleslo až na původní nestresové hodnoty. Proto autoři navrhuji, že akumulace sorbitolu je adaptací na sucho. Cui et al. (2004) zaznamenali zvýšení obsahu sorbitolu u listů broskvoně, ale nikoliv u kořenů.

Lo Bianco et al. (2000) pěstovali broskvoň za sucha. Pozorovali, že akumulace sorbitolu jak v dospělých listech, tak ve výhoncích začíná druhým týdnem vystavení rostliny suchu a postupně dosahuje 80 % z celkového množství rozpuštěných látek (solutů) zapojených do osmotického přizpůsobení. Bylo pozorováno snížení aktivity SDH ve výhoncích. Autoři usuzují, že snížení aktivity SDH v sinku vede k osmotickému přizpůsobení skrze akumulaci sorbitolu.

Množství sorbitolu se zvýšilo v discích listů jabloně, broskvoně a hrušně, když byly vystaveny polyethylen glycolu (PEG), který způsobuje vysoký osmotický tlak (Kanayama et al. 2007).

4.6.2. Zasolení

Vysoká koncentrace solí snižuje osmotický potenciál půdního roztoku, a přivozuje tak rostlině vodní stres (Sairam a Tyagi, 2004). Rostliny se tedy snaží zvýšit osmotický tlak v buňkách, aby byla hodnota vodního potenciálu nižší než je v půdě a byly schopny přijímat vodu (Procházka et al., 1998). Rostliny tak akumulují osmoticky aktivní látky jako třeba prolin, betain, trehalózu a v neposlední řadě polyoly (Smirnoff, 1998).

Jitrocel přímořský (*Plantago maritima*) rostoucí na zasolené půdě akumuluje vysoké množství sorbitolu (Ahmad et al., 1978). Autoři navrhuji, že sorbitol má v jitrocelu funkci kompatibilního cytosolického solutu, protože si ověřili, že vysoké množství sorbitolu neinhibuje aktivitu enzymů extrahovaných z prýtu, a podílí se tak na osmotickém

přizpůsobení. Pommering et al. (2007) zkoumali rozdílnou regulaci nakládání sorbitolu a sacharózy do floému u jitrocele většího (*Plantago major*) při odpovědi na solný stres. Zjistili rychlou up-regulaci hladiny mRNA floémových transportérů sorbitolu PmPLT1 a PmPLT2. Naproti tomu hladina mRNA floémového transportéru sacharózy PmSUC2 zůstala zpočátku stejná a po 24h solného stresu byla down-regulována. Sorbitol je tak upřednostňovaný sacharid nakládáný do floému během solného stresu. Ve floémové šťávě bylo pozorováno zvýšení poměru sorbitolu ku sacharóze. Navíc pozorovali down-regulaci hladiny mRNA sorbitol dehydrogenázy v celém listu a mRNA sacharóza syntázy v cévních svazcích. Výsledkem toho je zvýšení obsahu sorbitolu v listu.

Veeranagamallaiah et al. (2009) porovnávali dva kultivary bérů italského (*Setaria italica*) s rozdílnou tolerancí k solnému stresu. Pozorovali zvyšování množství sorbitolu se zvyšující se mírou stresových podmínek u obou kultivarů. U kultivaru tolerantního ke stresu bylo množství sorbitolu znatelně vyšší. Zároveň zaznamenali zvyšující se aktivitu aldózareduktázy s narůstajícími stresovými podmínkami a opět byla vyšší u tolerantní rostliny, a to téměř dvojnásobně. Předpokládá se, že je tedy zapojena do syntézy sorbitolu.

Zvýšení obsahu sorbitolu za vysokého solného stresu bylo pozorováno i u listů jabloně, broskvoně, hrušně. Na jeho akumulaci se podílí zvýšená exprese genu pro S6PDH (Kanayama et al. 2007).

4.6.3. Nízká teplota

Deguchi et al. (2002) pozorovali zvýšení množství sorbitolu v listech broskvoně po vystavení rostliny nízké teplotě. Zvýšila se také hladina mRNA kódující S6PDH a urychlila se změna glukózy v sorbitol. Autoři navrhuje, že akumulace sorbitolu v listech vyvolaná nízkou teplotou je výsledkem zvýšené syntézy z glukózy, která je spojená s expresí genu pro S6PDH. Kanayama et al. (2006) získali podobné výsledky na listech jabloně. Navíc zjistili, že zvýšenou expresi S6PDH lze vyvolat kyselinou absisovou (ABA), o které se předpokládá, že je zapojena do aklimatizace rostlin k chladu. V listech jabloní v sadech se na podzim se snižující teplotou zvyšuje obsah ABA i S6PDH. Autoři navrhuje, že S6PDH je ABA-inducibilní gen.

4.7. Jak je to u rostlin, které nesyntetizují polyoly jako primární produkt fotosyntézy?

Syntéza, degradace i role polyolů jsou relativně dobře prozkoumány u čeledí, kde jsou vedle sacharózy polyoly primárními produkty fotosyntézy a slouží jako translokovatelná forma uhlíku i jako jeho zásoba pro energetické využití. Polyoly byly však nalezeny i u druhů, kde tyto funkce nemají. Jedním z nich je i rajče. Cataldi et al., (1998) zaznamenali malé množství sorbitolu v plodu rajčete. V databázích byla nalezena řada sekvencí s velkou podobností k aldo-ketoreduktázám druhů, o kterých se ví, že u nich jsou tyto enzymy zapojeny do metabolismu sorbitolu. Funkce těchto homologů v rostlinách je zatím nejasná. Ohta et al. (2005) se rozhodli charakterizovat protein kódovaný rajčatovým homologem dobře prostudovaného SDH genu z jabloně. Zjistili, že katalyzuje přeměnu sorbitolu ve fruktózu za přítomnosti NAD (H) a jeho exprese je v rostlině všudypřítomná. K čemu však rajče využívá SDH, je zatím nejasné. Proč má rajče SDH? Jak je možné, že gen pro něj během evoluce nevymizel, protože, kdyby byl nepoužívaný, byl by selekcí vyřazen. Homolog SDH byl nalezen i v klíčovém sójovém semeni (*Glycine max*)(Kuo et al., 1990) a obilkách kukuřice (*Zea mays*)(Doehlert, 1997). Lokalizace je u těchto rostlin tedy prostorově a časově vymezená do počátečního vývojového stadia. Zdá se, že v sóji a kukuřici je sorbitol využíván jako intermediát přeměny fruktózy na glukózu. Jsou však i další druhy rostlin, které obsahují geny s podobnými sekvencemi jako je SDH, ale zatím není jasné, jakou roli v těchto rostlinách zastávají. Podobně je to s homology aldózareduktáz. V kukuřičné obilce tento enzym katalyzuje přeměnu sorbitolu v glukózu a slouží tam, jak už zmiňovaný intermediát přeměny fruktózy a glukózy (de Sousa et al., 2009). V ječmeni pomáhá embryu ječmene tolerovat desikaci (Bartels et al., 1991). V bérú italském se díky ní akumuluje sorbitol při solném stresu a podílí se na detoxikaci volných toxických aldehydů (Veeranagamalaiah et al., 2009). Ale i k těmto enzymům jsou nalezeny homology tam, kde je jejich funkce v rostlinách zatím neznámá (**Obr. 6**). Je možné, že zde hrají zcela specifickou roli za určitých podmínek, zejména při určitém typu stresu. Proto lze předpokládat, že kdybychom prozkoumali aktivitu SDH a aldózoreduktázy během všech vývojových stadií veškerých částí rostliny, pravděpodobně zaznamenáme za určitých podmínek změny jejich aktivity, která bude souviset s příslušnou rolí v daném systému. U olivovníku (*Olea europaea*) byla zjištěna schopnost přepínat mezi různými sacharidy při odpovědi na rozdílné stresy. Na zasolení reaguje akumulací manitolu a na nízkou teplotu zvýšením obsahu oligosacharidů rafinózové

řady (Rejšková et al., 2005). Proto kdybychom vystavili rajče vhodnému stresu, mohli bychom pozorovat změnu v aktivitě SDH (Ohta et al., 2005). Autoři předpokládají, že by SDH mohla být zapojena do obrany rostliny před napadením houbami prostřednictvím metabolismu arabitolu, jiného cukerného alkoholu, který též může sloužit SDH jako substrát.

<i>H. vulgare</i>	1	MASAKATMGQGEQDHFVLKSGHAMPVGLGTWRAGSDTAHSVQTAITEAG
<i>B. inermis</i>	1	MASAKAMMGQERQDHFVLKSGHAIPVGLGTWRAGSDTAHSVQTAITEAG
<i>A. fatua</i>	1	MASAKA-MGQGEQDHFVLKSGHAMPVGLGTWRAGSDTAHSVQTAITEAG
<i>X. viscosa</i>	1	MAHAPCFADAKTQS-FKLLSGHSIPVGLGTWRSGDKAGNAVYTAITEAG
<i>D. purpurea</i>	1	-----MAEEIRFFKLNTGAKIPSVGLGTWQSSPGDAAQAVEVAIKCG
<i>D. purpurea2</i>	1	-----MAEEIRFFELNTGAKIPSVGLGTWQSSPGDAAQAVEVAIKCG
<i>Z. mays</i>	1	-----MARHFFVLNTGAKIPSVGLGTWQSDPGVVGNNAVYAAYKAG
		EEE EEEEEEE HHHHHHHHHHHH
<i>H. vulgare</i>	51	YRHVDTAAYGVEKEVGKGLKAAMEAGID-RKDLFVTSKLVCTNLAPERV
<i>B. inermis</i>	51	YRHVDTAAYGVEKEVGKGLKAAMEAGID-RKDLFVTSKLVCTNLAPERV
<i>A. fatua</i>	50	YRHVDTAAYGVEKEVDKGLKAAMEAGID-RKDLFVTSKLVCTNLAPERV
<i>X. viscosa</i>	50	YRHIDTAAYGVEEVEGNALOSAKKAGIN-RKALFVTSKLVCTNLAPERV
<i>D. purpurea</i>	43	YRHIDGARLYENEKEITGVVLKLFDDGVVKREDLFTSKLWSTDHAPEDV
<i>D. purpurea2</i>	43	YRHIDGARLYENEKEITGVVLKLFDDGVVKREDLFTSKLWSTDHAPEDV
<i>Z. mays</i>	40	YRHIDCARVYGNEKEITGLALKLFEEGVVKREDLFTSKLWNDHAPEDV
		HHHHH HHHHHHHHHHHH EEEEEEE HHHH
<i>H. vulgare</i>	100	RPALNTLTKDLQLDYIDLYLHWPFRKKG-AHMPPEAGEVLEFDMEGVW
<i>B. inermis</i>	100	RPALNTLTKDLQLDYIDLYLHWPFRKKG-AHMPPEAGEVLEFDMEGVW
<i>A. fatua</i>	99	RPALNTLTKDLQLDYIDLYLHWPFRKKG-AHMPPEAGEVLEFDMEGVW
<i>X. viscosa</i>	99	RPALKNTLEELQLDYIDLYLHWPFRKKG-AHMPPEAGEVLEFDMEGVW
<i>D. purpurea</i>	93	PVALDKTLEDLQLDYIDLYLHWPFRKKG-SVGLDPEN--FVPTDIFPGTW
<i>D. purpurea2</i>	93	PVALDKTLEDLQLDYIDLYLHWPFRKKG-SVGLDPEN--FVPTDIFPGTW
<i>Z. mays</i>	90	PEALNDSLNDLQLEYIDLYLHWPFRKKG-TNTSPEN--FVPTDIFPGTW
		HHHHHHHHHH EEEEEHHH HHHHH
<i>H. vulgare</i>	149	KEMENLVKDGVLVKDIGVGNFTVTKLNELLSAKIIPPAVCQMEMHPGWKND
<i>B. inermis</i>	149	KEMENLVKDGVLVKDIGVGNFTVTKLNELLSAKIIPPAVCQMEMHPGWKND
<i>A. fatua</i>	148	KEMEKLVKDGVLVKDIGVGNFTVTKLNELLSAKIIPPAVCQMEMHPGWKND
<i>X. viscosa</i>	148	KEMEKLVKGLVRDIG-SNFTVKKLEKLNFAEIKIPVCOMEMHPGWKND
<i>D. purpurea</i>	141	KAMEALYDSGKARAIGVSNFTTKKLSDDLVDVARIIPPAVNOMGCHPSCAOT
<i>D. purpurea2</i>	141	KAMEALYDSGKARAIGVSNFTTKKLSDDLVDVARIIPPAVNOMGCHPSCAOT
<i>Z. mays</i>	137	GAMEKLYDAGKARAIGVSNFTSKKLGDLAVARIIPPAVDOMGCHPSCAOT
		HHHHHHHH EEEEE HHHHHHHHH EEEEE H
<i>H. vulgare</i>	199	KIFEACKKHGIHVTAYSPLGSS-----ERNLADPVEKVKANKLNKTPGQ
<i>B. inermis</i>	199	KILEACKKHGIHATAYSPLGSS-----EKNLADPVEKVKANKLNKTPGQ
<i>A. fatua</i>	198	KIFEACKKHGIHVTAYSPLGSS-----ERNLADPVEKVKANKLNKTPGQ
<i>X. viscosa</i>	198	KMFEICRKYGIHTTAYSPLGSS-----ERLLSDPTVTKANKLNKTPGQ
<i>D. purpurea</i>	191	KLRAFCKSKGMHLSGYSPGSPGTPWVKHDLNENPILVDVAEKLGKTPAQ
<i>D. purpurea2</i>	191	KLRAFCKSKGIHLSGYSPGSPGTPWVKHDLNENPILVDVAEKLGKTPAQ
<i>Z. mays</i>	187	KLHSFCQSTGVHITAYSPLGSPGTTWMNGNVLKEPTLITSAEKLGKTSAQ
		HHHHHHHH EEEEE HHHHHHHHH HHH
<i>H. vulgare</i>	244	VLIKWALQRGTSVIPKSSKDERIKENIQVFGWEIPEEDFKVLCOSIKDEKR
<i>B. inermis</i>	244	VLIKWALQRGTVIPKSSKDERIKENIQVFGWEIPEEDFKVLCOSIKDEKR
<i>A. fatua</i>	243	VLIKWALQRGTSVIPKSSKDERIKENIQVFGWEIPEEDFKVLCOSIKDEKR
<i>X. viscosa</i>	243	ILVRWALQRGTSVIPKSTNFERIKENIQVFGWEIPEEDFKVLCOSIKDEKR
<i>D. purpurea</i>	241	VALRWGLQMGHSLVPKSVHESRIKENIDVFSWCIPDILFAKFSSEIEQVS-
<i>D. purpurea2</i>	241	VALRWGLQMGHSLVPKSVHESRIKENIDVFSWCIPDILFAKFSSEIEQVS-
<i>Z. mays</i>	237	VALRWNTQMGHSLVPKSTNFERIKENIDVFDWSIPDILFAKFSSEIKQAR-
		HHHHHHHH EEE HHHHHHHHH HHHHHHHHH
<i>H. vulgare</i>	294	VLTGEELFVNKTHGPHYSAADVWDHEN
<i>B. inermis</i>	294	VLTGEELFVNKTHGPHYKSAEVDNEN
<i>A. fatua</i>	293	VLTGEELFVNKTHGPHYKSAEVDNEN

Obr. 6: Srovnání sekvencí aminokyselin proteinu aldózareduktázy z ječmene setého (*Hordeum vulgare*), sveřepu bezbraného (*Bromus inermis*), ovsu hluchého (*Avena fatua*), (*Xerophyta viscosa*), náprstníku červeného (*Digitalis purpurea*) a kukuřice seté (*Zea mays*). Písmena podbarvená černě ukazují identické aminokyseliny, šedě pozice s konzervovaným charakterem aminokyselin. Upraveno podle de Sousa et al. (2009).

5. Závěr

Rostliny jsou díky svému způsobu života vystaveny řadě nepříznivých podmínek. Jedním z obranných mechanismů, který výrazně zvyšuje odolnost rostlin, je akumulace kompatibilních solutů mezi něž patří i cukerné alkoholy. Cílem této práce je shrnout dosavadní poznatky o úloze manitolu a sorbitolu v rostlinách. Nemáme zdaleka ještě prostudované všechny rostliny z hlediska toho, jaké sacharidy syntetizují, a rozhodně ne sacharidová spektra v jednotlivých částech rostliny v různých vývojových stádiích a při různých podmínkách prostředí. Je proto možné, že výskyt polyolů je u rostlin častější, než se dosud předpokládalo a jejich role různorodé. Je to proto otázka dalšího studia. V současné době je snaha vyšlechtění odolnějších odrůd hospodářsky významných rostlin za pomoci bioinženýrství. Je možné, že by u některých rostlin stačilo posílit již existující dráhu metabolismu cukerných alkoholů a ne přímo usilovat o její vnesení. I to je prostor pro další studium.

Seznam použité literatury

- Ahmad I, Larher F, Stewart GR** (1979) Sorbitol, a compatible osmotic solute in *Plantago Maritima*. New Phytologist **82**: 671-678
- Bellaloui N, Brown PH, Dandekar AM** (1999) Manipulation of in vivo sorbitol production alters boron uptake and transport in tobacco. Plant Physiology **119**: 735-741
- Bartels D, Engelhardt K, Roncarati R, Schneider K, Rotter M, Salamini F** (1991) An ABA and GA modulated gene expressed in the barley embryo encodes an aldose reductase related protein. Embo Journal **10**: 1037-1043
- Cataldi TRI, Margiotta G, Zambonin CG** (1998) Determination of sugars and alditols in food samples by HPAEC with integrated pulsed amperometric detection using alkaline eluents containing barium or strontium ions. Food Chemistry **62**: 109-115
- Cui SM, Chen GL, Nii N** (2003) Effects of water stress on sorbitol production and anatomical changes in the nuclei of leaf and root cells of young loquat trees. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science **72**: 359-365
- Cui SM, Sadayoshi K, Ogawa Y, Nii N** (2004) Effects of water stress on sorbitol content in leaves and roots, anatomical changes in cell nuclei, and starch accumulation in leaves of young peach trees. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science **73**: 25-30
- de Sousa SM, Rosselli LK, Kiyota E, da Silva JC, Souza G, Peroni LA, Stach-Machado DR, Eberlin MN, Souza AP, Koch KE, Arruda P, Torriani IL, Yunes JA** (2009) Structural and kinetic characterization of a maize aldose reductase. Plant Physiology and Biochemistry **47**: 98-104
- Deguchi M, Bennett AB, Yamaki S, Yamada K, Kanahama K, Kanayama Y** (2006) An engineered sorbitol cycle alters sugar composition, not growth, in transformed tobacco. Plant Cell and Environment **29**: 1980-1988
- Deguchi M, Saeki H, Ohkawa W, Kanahama K, Kanayama Y** (2002) Effects of low temperature on sorbitol biosynthesis in peach leaves. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science **71**: 446-448
- Doehlert DC** (1987) Ketose reductase-activity in developing maize endosperm. Plant Physiology **84**: 830-834

- Gao ZF, Maurousset L, Lemoine R, Yoo SD, van Nocker S, Loescher W** (2003) Cloning, expression, and characterization of sorbitol transporters from developing sour cherry fruit and leaf sink tissues. *Plant Physiology* **131**: 1566-1575
- Gutierrez AJE, Gaudillere JP** (1996) Distribution, metabolism and role of sorbitol in higher plants. A review. *Agronomie* **16**: 281-298
- Hu HN, Penn SG, Lebrilla CB, Brown PH** (1997) Isolation and characterization of soluble boron complexes in higher plants - The mechanism of phloem mobility of boron. *Plant Physiology* **113**: 649-655
- Chong C** (1971) Study of seasonal and daily distribution of sorbitol and related carbohydrates within apple seedlings by analysis of selected tissues and organs. *Canadian Journal of Plant Science* **51**: 519-&
- Chong C, Taper CD** (1971) Effect of solar radiation seasonal concentrations of sorbitol and related carbohydrates in apple leaves. *Canadian Journal of Plant Science* **51**: 551-&
- Kanayama Y** (2009) Physiological Roles of Polyols in Horticultural Crops. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* **78**: 158-168
- Kanayama Y, Moriguchi R, Yamaki S, Deguchi M, Kanahama K** (2007) Effects of environmental stresses and abscisic acid on Sorbitol-6-Phosphate dehydrogenase expression in Rosaceae fruit trees. In RE Litz, R Scorza, eds, *Proceedings of the International Symposium on Biotechnology of Temperate Fruit Crops and Tropical Species*. International Society Horticultural Science, Leuven 1, pp 375-381
- Kanayama Y, Watanabe M, Moriguchi R, Deguchi M, Kanahama K, Yamaki S** (2006) Effects of low temperature and abscisic acid on the expression of the sorbitol-6-phosphate dehydrogenase gene in apple leaves. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* **75**: 20-25
- Karakas B, OziasAkins P, Stushnoff C, Suefferheld M, Rieger M** (1997) Salinity and drought tolerance of mannitol-accumulating transgenic tobacco. *Plant Cell and Environment* **20**: 609-616
- Kuo TM, Doeblert DC, Crawford CG** (1990) Sugar metabolism in germinating soybean seed - evidence for the sorbitol pathway in soybean axes. *Plant Physiology* **93**: 1514-1520
- Lo Bianco R, Rieger M, Sung SJS** (2000) Effect of drought on sorbitol and sucrose metabolism in sinks and sources of peach. *Physiologia Plantarum* **108**: 71-78

- Loescher WH, Everard JD** (1996) Metabolism of carbohydrates in sinks and sources: sugar alcohols. In: E. Zamski and A. Schaffer, eds., Distribution of photoassimilates in plants and crops: source-sink relationships. Marcel Dekker, Inc.. New York. pp. 185-207
- Moing A, Carbonne F, Rashad M, Gaudillère J** (1992) Carbon Fluxes in Mature Peach Leaves. *Plant Physiol* **100**: 1878-1884
- Nadwodnik J, Lohaus G** (2008) Subcellular concentrations of sugar alcohols and sugars in relation to phloem translocation in *Plantago major*, *Plantago maritima*, *Prunus persica*, and *Apium graveolens*. *Planta* **227**: 1079-1089
- Noiraud N, Maurousset L, Lemoine R** (2001) Transport of polyols in higher plants. *Plant Physiology and Biochemistry* **39**: 717-728
- Oddo E, Saiano F, Alonzo G, Bellini E** (2002) An investigation of the seasonal pattern of mannitol content in deciduous and evergreen species of the Oleaceae growing in northern Sicily. *Annals of Botany* **90**: 239-243
- Ohta K, Moriguchi R, Kanahama K, Yamaki S, Kanayama Y** (2005) Molecular evidence of sorbitol dehydrogenase in tomato, a non-Rosaceae plant. *Phytochemistry* **66**: 2822-2828
- Piterkova J, Tomankova K, Luhova L, Petrivalsky M, Pec P** (2005) Oxidative stress: Localisation of reactive oxygen species formation and degradation in plant tissue. *Chemicke Listy* **99**: 455-466
- Pommerrenig B, Papini-Terzi FS, Sauer N** (2007) Differential regulation of sorbitol and sucrose loading into the phloem of *plantago major* in response to salt stress. *Plant Physiology* **144**: 1029-1038
- Procházka S, Macháčková J, Krekule J, Šebánek et al.** (1998) *Fyziologie rostlin*. Akademie Praha
- Ramsperger-Gleixner M, Geiger D, Hedrich R, Sauer N** (2004) Differential expression of sucrose transporter and polyol transporter genes during maturation of common plantain companion cells. *Plant Physiology* **134**: 147-160
- Rejskova A, Patkova L, Stodulkova E, Lipavska H** (2007) The effect of abiotic stresses on carbohydrate status of olive shoots (*Olea europaea* L.) under in vitro conditions. *Journal of Plant Physiology* **164**: 174-184
- Sairam RK, Tyagi A** (2004) Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. *Current Science* **86**: 407-421

- Shen B, Jensen RG, Bohnert HJ** (1997) Increased resistance to oxidative stress in transgenic plants by targeting mannitol biosynthesis to chloroplasts. *Plant Physiology* **113**: 1177-1183
- Sheveleva E, Marquez S, Chmara W, Zegeer A, Jensen R, Bohnert H** (1998) Sorbitol-6-phosphate dehydrogenase expression in transgenic tobacco. High amounts of sorbitol lead to necrotic lesions. *Plant Physiol* **117**: 831-839
- Smirnoff N** (1998) Plant resistance to environmental stress. *Current Opinion in Biotechnology* **9**: 214-219
- Smirnoff N, Cumbes QJ** (1989) Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry* **28**: 1057-1060
- Steinitz B** (1999) Sugar alcohols display nonosmotic roles in regulating morphogenesis and metabolism in plants that do not produce polyols as primary photosynthetic products. *Journal of Plant Physiology* **155**: 1-8
- Stoop J, Pharr D** (1994) Mannitol Metabolism in Celery Stressed by Excess Macronutrients. *Plant Physiol* **106**: 503-511
- Stoop JMH, Williamson JD, Pharr DM** (1996) Mannitol metabolism in plants: A method for coping with stress. *Trends in Plant Science* **1**: 139-144
- Veeranagamallaiah G, Ranganayakulu GS, Thippeswamy M, Sivakumar M, Reddy KE, Pandurangaiah M, Sridevi V, Sudhakar C** (2009) Aldose reductase expression contributes in sorbitol accumulation and 4-hydroxynon-2-enal detoxification in two foxtail millet (*Setaria italica* L.) cultivars with different salt stress tolerance. *Plant Growth Regulation* **59**: 137-143
- Wang XL, Xu YH, Peng CC, Fan RC, Gao XQ** (2009) Ubiquitous distribution and different subcellular localization of sorbitol dehydrogenase in fruit and leaf of apple. *Journal of Experimental Botany* **60**: 1025-1034
- Wang Z, Quebedeaux B, Stutte GW** (1996) Partitioning of C-14 glucose into sorbitol and other carbohydrates in apple under water stress. *Australian Journal of Plant Physiology* **23**: 245-251
- Wang ZC, Stutte GW** (1992) The role of carbohydrates in active osmotic adjustment in apple under water-stress. *Journal of the American Society for Horticultural Science* **117**: 816-823

- Watari J, Kobae Y, Yamaki S, Yamada K, Toyofuku K, Tabuchi T, Shiratake K** (2004) Identification of sorbitol transporters expressed in the phloem of apple source leaves. *Plant and Cell Physiology* **45**: 1032-1041
- Williamson JD, Jennings DB, Guo WW, Pharr DM, Ehrenshaft M** (2002) Sugar alcohols, salt stress, and fungal resistance: Polyols - Multifunctional plant protection? *Journal of the American Society for Horticultural Science* **127**: 467-473
- Williamson JD, Stoop JMH, Massel MO, Conkling MA, Pharr DM** (1995) Sequence-analysis of a mannitol dehydrogenase cDNA from plants reveals a function for the pathogenesis-related protein ELI3. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **92**: 7148-7152