

IWONA CIERESZKO

*Zakład Fizjologii Roślin, Instytut Biologii
Uniwersytet W Białymstoku
Świerkowa 20b, 15-950 Białystok
E-mail: icier@uwb.edu.pl*

KONTROLA METABOLIZMU SACHAROZY U ROŚLIN W ODPOWIEDZI NA ZMIENNE WARUNKI ŚRODOWISKA

Sacharoza jest prekursorem większości związków organicznych wykorzystywanych w procesach metabolicznych zachodzących podczas wzrostu i rozwoju roślin. Sacharoza i skrobia są głównymi produktami końcowymi fotosyntetycznej asymilacji węgla. U wielu roślin sacharoza jest najczęściej transportowanym cukrem (floemem). W tkankach nefotosyntetyzujących przetransportowana z liści sacharoza jest magazynowana (w wakuolach), zużywana w procesie oddychania komórkowego lub zamieniana w inne oligosacharydy, polisacharydy oraz pochodne cukrowców (AP REES 1995). Może być ona donorem szkieletów węglowych do biosyntezy polisacharydów strukturalnych (celuloza, hemicelulozy, pektyny), polisacharydów zapasowych (skrobia), a także glikoprotein, glikolipidów i glikozydów. Zarówno w liściach, korzeniach, jak i kiełkujących nasionach produkty metabolizmu sacharozy (np. α -ketokwasy) są przekształcane w aminokwasy, a następnie w białka (DUFFUS i DUFFUS 1988). Ponadto, produkty metabolizmu tego cukru mogą być wykorzystane w komórce roślinnej w procesach syntezy kwasów nukleinowych, alkaloidów, gum, witamin i niektórych hormonów (KĄCZKOWSKI 1992). Rola sacharozy nie ogranicza się jedynie do dostarczania pośrednich produktów metabolicznych, materiałów budulcowych i zapasowych – jest ona także cząsteczką sygnałną oraz regulatorową, wpływającą na procesy wzrostowe i metaboliczne poprzez indukcję lub hamowanie ekspresji genów (FARRAR i współaut. 2000, SMEEKENS 2000, CIERESZKO 2002, KOCH 2004, GIBSON 2005).

Zmieniające się warunki środowiska często powodują nagromadzanie sacharozy oraz produktów jej metabolizmu w tkankach roślinnych (GUY 1990; HARE i współaut. 1998; CIERESZKO i współaut. 1999, 2002). Funkcje gromadzonych cukrów nie są jednak w pełni poznane (HARE i współaut. 1998, STITT i HURRY 2002). Ze względu na uniwersalne znaczenie sacharozy w życiu roślin podejmowano liczne próby analizy mechanizmów regulujących produkcję i hydrolizę tego cukru oraz czynników kontrolujących zmiany metabolizmu sacharozy w różnych warunkach stresowych (FARRAR i współaut. 2000, WINTER i HUBER 2000, SZADEL i LORENC-PLUCIŃSKA 2002, KOCH 2004; patrz też STARCK w tym zeszycie KOSMOSU). Regulacja metabolizmu sacharozy jest procesem wieloetapowym, zależnym od przebiegu fotosyntezy, transportu asymilatów, oddychania oraz innych szlaków. Regulacja szybkości procesów metabolicznych zależy od aktywności enzymów oraz od intensywności syntezy białek enzymatycznych, kontrolowanej na poziomie transkrypcji, translacji (indukcja lub represja tych procesów) lub też zmian potranslacyjnych powstałych białek. W niniejszej pracy podjęto próbę opisanie zmian aktywności enzymów metabolizmu sacharozy, ekspresji genów kodujących te białka enzymatyczne oraz niektórych elementów szlaku przekazywania sygnałów, wywołanych zmieniającymi się warunkami środowiska. Z konieczności ograniczono się do omówienia wybranych aspektów aktualnych badań, dotyczących regulacji aktywności enzymów uważanych za kluczowe w metabolizmie sacharozy. Wiele

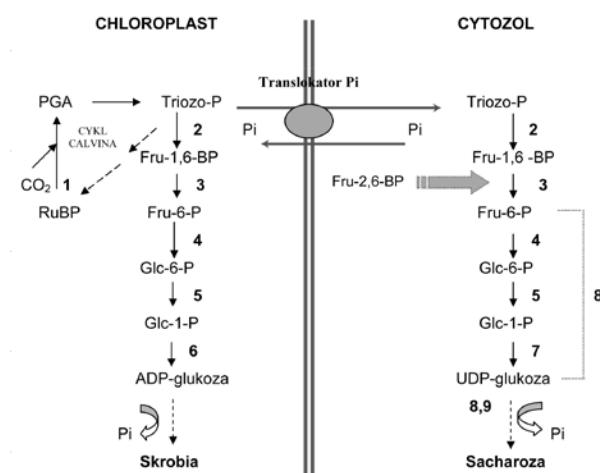
wcześniej poznanych i opisanych przez innych autorów mechanizmów kontroli prze-

mian tego cukru uwzględniono jedynie w zarysach.

ENZYMY KATALIZUJĄCE REAKCJE SYNTEZY SACHAROZY. WPŁYW ABIOTYCZNYCH CZYNNIKÓW STRESOWYCH NA AKTYWNOŚĆ ENZYMATYCZNĄ I JEJ REGULACJĘ

Synteza sacharozy przebiega w cytozolu komórki roślinnej, prekursorami są najczęściej fosforany trioz (aldehyd 3-fosfoglicerynowy, fosfodihydroksyaceton), wczesne produkty fotosyntezy (Ryc. 1). Sacharoza może powstawać także z glicerynianu wytworzonego podczas fotooddechu oraz z produktów degradacji lipidów w cyklu glioksalanowym i szlaku glukoneogenezy w kiełkujących nasionach (DUFFUS i DUFFUS 1988, RATAJCZAK 2001, GABRYŚ 2002). W komórkach fotosyntetyzujących triozo-P są eksportowane z chloroplastu do cytoplazmy za pośrednictwem przenośnika zlokalizowanego w wewnętrznej błonie chloroplastowej, wymiennie z Pi, przenoszonym do stromy chloroplastu (Ryc. 1). Uważa się, że efektywność transportu triozo-P/Pi decyduje o rozdziale zasymilowanego węgla pomiędzy reakcje biosyntezy skrobi i sacharozy w liściach (STRZAŁKA 2002, STARCK 2003).

Intensywność transportu zależy od stężenia Pi w cytozolu – gdy jest ono niskie triozo-P pozostają w chloroplastach i syntetyzowana jest skrobia, natomiast gdy stężenie Pi jest wysokie, triozo-P są eksportowane do cytozolu i zachodzi wytwarzanie sacharozy (CIERESZKO 2000). Powstały z fosforanów trioz fruktozo-1,6-bisfosforan jest następnie przekształcany przez fosfatazę fruktozo-1,6-bisfosforanu (EC 3.1.3.11) do fruktozo-6-fosforanu (Fru-6-P). Reakcja ta podlega kontroli przez fruktozo-2,6-bisfosforan, inhibitor fosfatazy fruktozo-1,6-bisfosforanu, który w większych stężeniach hamuje również syntezę sacharozy (QUICK i SCHAFER 1996, TREVANION 2002, NIELSEN i współaut. 2004). Stwierdzono, że poziom Fru-2,6-BP w komórkach wzrasta w czasie suszy i stresu osmotycznego, co może wskazywać na rolę tego regulatora w aklimatyzacji roślin do powyższych stresów (NIELSEN i współaut. 2004). W następnych reakcjach Fru-6-P jest przekształcany w glukozo-6-fosforan, a następnie w glukozo-1-fosforan (Glc-1-P), który w reakcji katalizowanej przez pirofosforylaze UDP-glukozy (UTP -D-glukozo-1-fosforylaze, EC 2.7.7.9) ulega przemianom do urydynodifosfoglukozy (UDP-glukozy). UDP-glukoza i Fru-6-P są substratami syntazy fosfosacharozowej (UDP-glukoza: D-fruktozo-6-fosfo-2-glukozylotransferaza, EC 2.4.1.14, SPS), enzymu katalizującego tworzenie sacharozo-6-fosforanu, z którego, przy udziale fosfatazy sacharozofosforanowej (EC 3.1.3.24, SPP), powstaje sacharoza. Rola SPS jako enzymu kluczowego w syntezie sacharozy, a także niezbędnego w procesie transportu cukru do rurek sitowych (załadunku floemu), jest stosunkowo dobrze poznana (HUBER i HUBER 1996, STARCK 2003). Aktywność SPS zależy od stadium rozwojowego rośliny, warunków świetlnych, jest kontrolowana alosterycznie przez Pi i Glc-6-P oraz przez fosforylację białka enzymatycznego (WINTER i HUBER 2000). Przykładowo, fosforylacja seryny158 powoduje inaktywację SPS w ciemności, ufosforylowanie seryny229 umożliwia przyłączenie regulatorowego białka 14-3-3, co obniża aktywność enzymatyczną, natomiast fosforylacja seryny429 aktywuje enzym



Ryc. 1. Schemat syntez skrobi i sacharozy w liściach (wg CIERESZKO 2000, zmodyfikowany).

Stosowane skróty: Fru-2,6-BP – fruktozo-2,6-bisfosforan (regulator metaboliczny), PGA – kwas 3-fosfoglicerynowy, Pi – fosforan nieorganiczny, RuBP – 1,5-bisfosforybuloza, triozo-P – triozofosforany, 1 – karboksylaza/oksygenaza RuBP, 2 – aldolaza, 3 – fosfataza fruktozo-1,6-bisfosforanowa, 4 – izomeraza heksozo-fosforanowa, 5 – fosfoglukomutaza, 6 – pirofosforylaza ADP-glukozy, 7 – pirofosforylaza UDP-glukozy, 8 – syntaza sacharozofosforanowa, 9 – fosfataza sacharozofosforanowa.

(WINTER i HUBER 2000, SZADEL i LORENC-PLUCIŃSKA 2002). Aktywacja SPS odbywa się na świetle lub pod wpływem stresu osmotycznego (HUBER i HUBER 1996). Zwiększoną aktywność syntazy fosfosacharozowej w liściach i korzeniach roślin stwierdzono w warunkach niedoboru fosforu, obserwowano wówczas także wzrost zawartości sacharozy (CIERESZKO i BARBACHOWSKA 2000). Obniżony poziom Pi wzmacniał ekspresję SPS oraz cytozolowej fosfatazy fruktozo-1,6-bisfosforanu w liściach mutantów *pho1*, szczególnie w niskiej temperaturze (HURRY i współaut. 2000). Było to prawdopodobnie przyczyną zwiększonego przepływu węgla w stronę syntezy sacharozy, obserwowanego w tych warunkach. Stwierdzono, że rośliny *Arabidopsis* z nadekspresją genu *SPS* charakteryzuje wyższa intensywność fotosyntezy i zwiększona produkcja sacharozy w warunkach chłodu niż rośliny nie zmodyfikowane genetycznie (STRAND i współaut. 2003). Transgeniczny tytoń, z podwyższoną syntezą i aktywnością SPS, nie wykazywał zwiększonej asymilacji CO₂ mimo podwyższonego stosunku stężenia sacharozy do skrobi w liściach, natomiast szybciej wytwarzał pędy kwiatowe i więcej kwiatów niż rośliny kontrolne (BAXTER i współaut. 2003). Ostatnie doniesienia wskazują, że rośliny posiadają nie jedną, ale przynajmniej trzy rodziny genowe (*A, B, C*) kodujące białka SPS (LANGENKÄMPER i współaut. 2002, LUNN i MACRAE 2003). Regulacja ekspresji tych genów oraz ich produktów jest obecnie analizowana (FUNG i współaut. 2003).

Nie wiadomo, czy aktywność SPS jest równie ważna w kontroli metabolizmu cukrowców u wszystkich roślin. Regulacyjna rola enzymu może się zmieniać w zależności od badanej tkanki, stadium rozwojowego rośliny czy też warunków środowiska. Sugeruje się, że enzymy uważane za regulatorowe mają mniejsze znaczenie w kontroli poszczególnych reakcji metabolicznych, a ich rolą jest głównie zapewnienie homeostazy komórkowej (HILL 1998). Należy pamiętać, że SPS współdziała również z innymi enzymami; wymaga ciągłego dopływu substratów, takich jak UDP-glukoza, których dostępność może być czynnikiem ograniczającym aktywność. UDP-glukoza jest metabolitem niezbędnym nie tylko w produkcji sacharozy, lecz także wielu innych związków, np. celulozy, pektyn, kalozy, trehalozy, glikolipidów czy glikoprotein (DELMER i HAIGLER 2002, KLECZKOWSKI i współaut. 2004), których synteza w określonych warunkach może być silnie wzmożona.

Syntezę UDP-glukozy w liściach katalizuje przede wszystkim pirofosforylaza UDP-glukozy (zwana także urydylotransferazą glukozofosforanową, w skrócie UGPaza) (Ryc. 1). Niektóre doniesienia sugerują istnienie kompleksu funkcjonalnego SPS i UGPazy, najprawdopodobniej stabilizowanego przez przyłączenie białek 14-3-3 (WINTER i HUBER 2000). UGPaza była uważana, do niedawna, za enzym występujący zawsze w nadmiarze i nie spełniający istotnej funkcji w kontroli przepływu zasymilowanego węgla w kierunku

Tabela 1. Zmiany ekspresji *Ugp*, genu kodującego pirofosforylaze UDP-glukozy, w liściach rzodkiewnika pospolitego (*Arabidopsis thaliana* L.) w odpowiedzi na różne czynniki zewnętrzne.

Czynnik	Ekspresja Ugp
Deficyt Pi	++
Sacharoza (20–200 mM)	++
Glukoza (100 mM)	0
Deoksyglukoza (20 mM)	0
Galaktoza (20 mM)	0
Mannoza (2–5 mM)	+
Trehaloza (50, 100 mM)	0
Pi (20–100 mM)	0
PEG 6000 (6%)	+
Glicerol (20 mM)	0
Mannitol (50–200 mM)	0
Sorbitol	0
Światło	++
Chłód (1–10 dni)	++
Zasolenie (NaCl lub KCl, 100 mM)	0
Anoksja	0/-
Susza	+/-
Zranienie	+
Kwas okadaikowy (1–2 µM)	-
Staurosporyna (2 µM)	0
ABA	0
Etylen	0

Wykorzystano wyniki badań: CIERESZKO i współaut. (2001a, b), CIERESZKO i KLECZKOWSKI (2005) oraz Ciereszko, dane nieopublikowane. Cukry, mannitol, PEG, Pi, inhibitory podawano do liści w ciemności przez okres 10–12 h; (+) – indukcja, (0) – brak efektu, (-) – obniżenie ekspresji

ku syntezy sacharozy (ZRENNER i współaut. 1993). Inni autorzy zainteresowani byli głównie rolą UGPazy w metabolizmie cukrowców w bulwach ziemniaków przechowywanych w niskich temperaturach, ze względu na obniżenie cech jakościowych bulw (SOWOKINOS 2001). Stwierdzono, że UGPaza występuje przeważnie w cytozolu komórek, chociaż obecność tego enzymu wykazywano także we frakcjach błon komórkowych. Białko UGPazy zlokalizowano w większości badanych tkanek, m. in. w miększu palisadowym i gąbczastym liści (ale nie w epidermie), tkance przewodzącej (głównie we floemie), w korzeniach, bulwach, rozwijających się nasionach (SERGEEVA i VREUGDENHIL 2002). Mimo powszechnego występowania enzymu oraz badań jego roli w metabolizmie cukrowców, niewiele wiadomo o mechanizmach regulujących jego aktywność w tkankach roślinnych. Aktywną formą UGPazy jest prawdopodobnie monomer, oligomeryzacja bowiem inaktywuje enzym (MARTZ i współaut. 2002). Potranslacyjna kontrola aktywności enzymatycznej może zależeć także od glikozylacji białka, podobnie jak w przypadku UGPazy z tkanek zwierzęcych (KLECZKOWSKI i współaut. 2004). Natomiast w komórkach drożdży regulacja aktywności tego enzymu uwarunkowana jest fosforylacją białka (RUTTER i współaut. 2002). Podobną sugestię wysuwano również odnośnie tkanek roślinnych (HUBER i współaut. 2000). Wielostronnej regulacji przez czynniki środowiskowe podlega natomiast ekspresja genów UGPazy. Ekspresja *Ugp*, genu kodującego pirofosforylaze UDP-glukozy, jest wyraźnie zwiększona we wszystkich zastosowanych

warunkach deficytu Pi, zarówno w tkankach *Arabidopsis* rosnących w kulturach hydroponicznych z ograniczonym dostępem fosforu, jak i w liściach mutantów *pho1* (z defektem nośnika fosforanowego), czy też po podaniu do liści D-mannozy, obniżającej pulę cytozolowego Pi (CIERESZKO i współaut. 2001a, CIERESZKO i KLECZKOWSKI 2005). Dane te zostały potwierdzone także w badaniach z zastosowaniem mikromacierzy DNA, w których wzmożoną ekspresję genu UGPazy obserwowano w korzeniach ryżu z deficytem Pi oraz w liściach mutantu *pho3* (WASAKI i współaut. 2003, LLOYD i ZAKHLENIUK 2004). Wzrost aktywności genu UGPazy wykazano także w warunkach chłodu oraz po podaniu egzogennej sacharozy (CIERESZKO i współaut. 2001b). Indukcja ekspresji *Ugp* zależy wyłącznie od sacharozy, a nie od innych badanych cukrów (CIERESZKO i współaut. 2001b, Tabela 1). W warunkach niedoboru Pi, chłodu i nadmiaru sacharozy obserwowano nie tylko zwiększenie poziomu mRNA, ale również wzmożenie syntezy białka UGPazy oraz aktywności enzymatycznej (CIERESZKO i współaut. 2001a-b, CIERESZKO i KLECZKOWSKI 2005). Ekspresja *Ugp* zmieniała się ponadto podczas trwania okresu świetlnego, a także zależała od innych czynników (CIERESZKO i współaut. 2005) (Tabela 1). Uzyskane wyniki świadczą o sprawnej transkrypcyjnej kontroli aktywności UGPazy przez czynniki środowiskowe. Może to wyjaśnić obserwowany przez niektórych autorów „nadmiar” białka enzymatycznego UGPazy, zwłaszcza w warunkach chłodu (ZRENNER i współaut. 1993).

ENZYMY KATALIZUJĄCE HYDROLIZĘ SACHAROZY – REGULACJA AKTYWNOŚCI W WARUNKACH STRESÓW ŚRODOWISKOWYCH

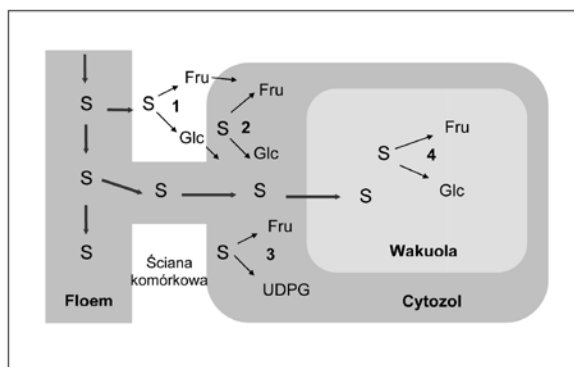
Sacharoza, wykorzystywana w metabolizmie komórkowym, ulega rozkładowi do cukrów prostych w reakcjach katalizowanych przez enzymy z grupy inwertaz (β -fruktofuranazydaz, EC 3.2.1.26) lub syntazę sacharozową (UDP-glukoza: D-fruktozo-2- α -D-glukozylotransferazy, EC 2.4.1.13, SuSy) (QUICK i SCHAFFER 1996). Hydroliza sacharozy przebiega w różnych przedziałach komórki: inwertazy kwaśne są zlokalizowane w ścianie komórkowej lub wakuoli, inwertaza obojętna (zw. także alkaliczną) oraz SuSy – w cytozolu (Ryc. 2). Glukoza i fruktoza, produkty rozkładu sacharozy przez inwertazy, aby

uczestniczyć w dalszych przemianach metabolicznych, muszą być ufosforylowane przez heksokinazę (EC 2.7.1.1) lub fruktokinazę (EC 2.7.1.11) (QUICK i SCHAFFER 1996). W wyniku hydrolizy sacharozy katalizowanej przez SuSy powstaje fruktoza oraz UDP-glukoza (Ryc. 2). UDP-glukoza może być bezpośrednio wykorzystana do syntezy np. celulozy i innych polisacharydów strukturalnych i zapasowych lub po rozkładzie do glukoza-1-fosforanu, reakcji katalizowanej przez pirofosforylaze UDP-glukozy, przy udziale PPi, uczestniczy w glikolizie (MICHALCZYK i GÓRECKI 2002).

Aktywność inwertaz kwaśnych, zlokalizowanych w wakuoli lub w ścianach komórkowych, jest zwykle wysoka w młodych rosnących tkankach, w których inwertazy usprawniają proces rozładunku floemu, w dojrzałych organach akceptorowych roślin najczęściej przeważa aktywność SuSy (STURM i TANG 1999, KOCH 2004, ROITSCH i GONZALES 2004). W dojrzałych tkankach poziom inwertaz jest niski, natomiast ulega podwyższeniu pod wpływem szoku termicznego lub uszkodzenia mechanicznego (ROITSCH i GONZALES 2004). Uważa się, że inwertazy (zwłaszcza zewnątrzkomórkowe, związane z apoplastyczną przestrzenią ścian komórkowych) uczestniczą w procesach obronnych oraz w zależnym od turgoru wzroście elongacyjnym komórek (STURM i TANG 1999, ROITSCH i współaut. 2003, SHERSON i współaut. 2003). Inwertazy zlokalizowane w apoplaście ścian komórki uczestniczą w rozładunku floemu oraz dystrybucji asymilatów pomiędzy donorami i akceptorami (STARCK 2003). Wykazano, że aktywność inwertaz kwaśnych i ekspresja genów kodujących białka tych enzymów zmienia się pod wpływem cukrów, hormonów (auksyn, cytokinin, ABA), chłodu i suszy (TYMOWSKA-LALANNE i KREIS 1998, ROITSCH i współaut. 2003, KOCH 2004). Hipoksja i anoksja silnie obniżają ekspresję genów inwertaz wakuolarnych, natomiast atak patogena lub mechaniczne zranienie indukują ekspresję genów kodujących kwaśne inwertazy ścian komórkowych (ROITSCH i GONZALES

2004). Znacznie mniej wiadomo o funkcjach inwertazy obojętnej, katalizującej hydrolizę sacharozy w cytoplazmie, mimo wyizolowania enzymu z niektórych tkanek roślinnych oraz poznania genów go kodujących (LEE i STURM 1996, ROSE i BOTHA 2000). Znaczący wzrost aktywności inwertazy obojętnej stwierdzono np. podczas somatycznej embriogenezy w kulturach tkankowych marchwi (STURM i TANG 1999) i w łodygach trzciny cukrowej (ROSE i BOTHA 2000). Obserwowany podczas umiarkowanego deficytu Pi wzrost aktywności inwertazy obojętnej oraz obu frakcji inwertaz kwaśnych w liściach i tkankach akceptorowych roślin sugeruje, że sacharoza oraz produkty jej hydrolizy mogą być zaangażowane w proces aklimatyzacji roślin do niedoboru fosforu (CIERESZKO i BARBACHOWSKA 2000). Sugeruje się ponadto, że ważną rolę wszystkich inwertaz jest generowanie sygnałów, wywołanych produkcją glukozy (lub fruktozy), oraz uczestniczenie w transdukcji sygnałów prowadzących do zmian ekspresji licznych genów wrażliwych na cukry (KOCH 2004, ROITSCH i GONZALES 2004). Regulacja aktywności inwertaz odbywa się m.in. z udziałem specyficznych inhibitorów białkowych, zlokalizowanych zarówno w ścianie komórkowej, jak i wakuoli (RAUSCH i GREINER 2004). Ostatnie doniesienia wskazują na interesujący, nieznany dotychczas sposób kontroli aktywności kwaśnych inwertaz wakuolarnych. Stwierdzono, że nowo zsyntetyzowane białka inwertaz mogą być przechowywane w formie nieaktywnej w endomembranowych pęcherzykach, na terenie cytoplazmy, zanim zostaną dostarczone do wakuoli (ROJO i współaut. 2003, KOCH 2004).

Syntaza sacharozy jest homo- lub heterotetramerem, składającym się z podjednostek kodowanych przez różną liczbę genów, w zależności od gatunku rośliny, np. przez 3 geny u kukurydzy (HARDIN i współaut. 2004) czy 6 genów u rzodkiewnika (BAUD i współaut. 2004), których obecność stwierdzono we wszystkich badanych tkankach. SuSy występuje w postaci przynajmniej dwóch izoform – cytozolowej, rozpuszczalnej (najczęściej badanej) lub związanej z błonami komórkowymi (plazmolemą, tonoplastem, aparatem Golgiego) czy też z aktyną cytoszkieletu komórki (HARDIN i współaut. 2004). SuSy związana z plazmolemą uczestniczy głównie w produkcji celulozy (i innych polisacharydów ścian komórkowych), dostarczając UDP-glukozę do kompleksu enzymatycznego syntazy celulozowej (DELMER i HAIGLER 2002).



Ryc. 2. Schemat przedstawiający lokalizację komórkową enzymów hydrolizujących sacharozę oraz ich udział w rozładunku floemu w komórce akceptora.

Stosowane skróty: S – sacharoza, Fru – fruktoza, Glc – glukozę, UDPG – UDP-glukozę, 1 – kwaśna inwertaza ścian komórkowej (nierozpuszczalna), 2 – cytoplazmatyczna inwertaza obojętnej (alkaliczna), 3 – syntaza sacharozy, 4 – wakuolarna inwertaza kwaśna.

Białko SuSy może być fosforylowane przez serynowo-treoninowe kinazy białkowe, aktywowane przez Ca^{2+} (ang. calcium-dependent protein kinases, CDPK), przy serynie15 i serynie170 (HARDIN i współaut. 2004). Do miejsca fosforylacji Ser-170 jest przyłączane ponadto regulatorowe białko ENOD40 (ang. early nodulation). Ostatnie badania wskazują, iż brak białka ENOD jest sygnałem do degradacji enzymatycznego białka SuSy przez kompleks proteosomu (z udziałem ubikwityny) (KOCH 2004). Uważa się, że fosforylacja białka zwiększa hydrolityczną aktywność enzymu i decyduje o jego dystrybucji subkomórkowej, tzn. sprzyja występowaniu cytozolowej izoformy SuSy (WINTER i HUBER 2000). W zależności od pH otoczenia SuSy może bądź to intensywniej syntetyzować sacharozę (pH ok. 8,0) bądź ją rozkładać (pH ok. 6,0). Ostatnie doniesienia wskazują, że syntaza sacharozy w tkankach akceptorowych roślin może uczestniczyć także w produkcji ADP-glukozy, wykorzystywanej w syntezie skrobi w plastydach (BAROJA-FERNÁNDEZ i współaut. 2003). Aktywność i ekspresja białka SuSy oraz genów je kodujących jest zależna od temperatury, warunków tlenowych i osmotycznych. Traktowanie niską temperaturą i podanie sacharozy lub mannitolu silnie indukowało *SUS1* w tkankach *Arabidopsis*, susza indukowała głównie *SUS3*, warunki anareobowe wzmacniały ekspresję *SUS4* i *SUS1*, podczas gdy *SUS5* i *SUS6* nie były wrażliwe na czynniki stresowe (BAUD i współaut. 2004). Stwierdzono, że anoksja może wywołać spadek wewnątrzkomórkowego pH do poziomu sprzyjającego hydrolizie sacharozy (HARDIN i współaut. 2004, KOCH 2004). Występowanie SuSy zostało stwierdzone w rurekach sitowych i komórkach towarzyszących floemu, w których, mimo niskiej zawartości tlenu, enzym ten może uczestniczyć w dostarczaniu metabolitów do oddychania lub syntezy kalozy (NOLTE i KOCH 1993, KOCH 2004). Wzrost aktywności SuSy obserwowany był w tkankach

roślin z deficytem Pi, co może sugerować istotny udział tego enzymu w syntezie oraz hydrolizie sacharozy (i rozładunku floemu) w warunkach stresu fosforanowego (CIERESZKO i BARBACHOWSKA 2000). Nie stwierdzono wpływu niedoboru Pi na zmiany ekspresji genów SuSy (*Sus1* i *Sus2*), natomiast podanie egzogenego Pi (10 -100 mM) silnie indukowało *Sus1* (CIERESZKO i KLECZKOWSKI 2005). Uzyskane wyniki wskazują, iż regulacja aktywności SuSy w deficycie fosforu zachodzi prawdopodobnie na skutek potranslacyjnych modyfikacji białka enzymatycznego. Zwiększona aktywność SuSy w strefie merystematycznej i elongacyjnej korzeni roślin -P (CIERESZKO i współaut. 1998) może sugerować wzmożenie przemian UDP-glukozy prowadzących do syntezy polisacharydów strukturalnych niezbędnych do wzrostu elongacyjnego korzeni, zwiększonego w warunkach deficytu Pi (CIERESZKO i współaut. 2001a). W przemianach UDP-glukozy uczestniczy, m.in., pirofosforylaza UDP-glukozy (Ryc. 1). W korzeniach roślin z niedoborem Pi zaobserwowano zwiększoną aktywność UGPazy, co sugeruje prawdopodobną współpracę obu enzymów w tych warunkach (CIERESZKO i współaut. 2001a). Ponadto, produkt działalności UGPazy w postaci PPI może być dodatkowym źródłem wolnego Pi, jak też uczestniczyć w reakcjach metabolicznych zamiast ATP, którego poziom obniża się podczas deficytu fosforu (RYCHTER i RAO 2005). Ponieważ SuSy prawdopodobnie usprawnia rozładunek floemu — powiązanie funkcjonalne UGPazy z SuSy mogłoby wskazywać na pośredni udział UGPazy w rozładunku floemu. UGPaza współpracuje także z SPS w produkcji sacharozy w liściach, więc może również uczestniczyć w załadunku floemu. Badania wcześniejsze wykazały, że umiarkowany deficyt Pi zwiększał produkcję i transport asymilatów z liści do korzeni (oraz innych akceptorów) i ich rozładunek (CIERESZKO i współaut. 1999, CIERESZKO 2000).

AKUMULACJA SACHAROZY W TKANKACH ROŚLINNYCH W ZMIENNYCH WARUNKACH ŚRODOWISKA

Niedobór Pi w środowisku jest często obserwowanym zjawiskiem (CIERESZKO 2000). Rośliny dostosowują się do zaistniałych warunków uruchamiając różnorodne mechanizmy zwiększające dostępność Pi, zmieniając parametry wzrostowe i metabolizm komórkowy (RYCHTER i RAO 2005). Wiele reakcji

roślin na deficyt fosforu jest regulowanych na poziomie molekularnym, poprzez aktywację specyficznych genów, w tych zaangażowanych w metabolizm cukrowców (WASAKI i współaut. 2003, FRANCO-ZORILLA 2004, CIERESZKO i KLECZKOWSKI 2005). W warunkach stresu fosforowego zwiększona ekspresja

genów i aktywności enzymów związanych z metabolizmem cukrów usprawnia wytwarzanie produktów końcowych fotosyntezy w liściach i ich metabolizm w tkankach akceptorów, umożliwia też sprawne odtwarzanie puli wolnego Pi oraz jego ponowne wykorzystanie. Jednak zmiany ekspresji i aktywności enzymów metabolizmu sacharozy w warunkach niedoboru Pi prowadzą nieraz do nagromadzenia cukrów w tkankach roślin (CIERESZKO 2000). Przykładowo, sacharoza była gromadzona w korzeniach roślin z deficytem fosforu wskutek wzrostu transportu asymilatów z liści; jednocześnie obserwowano akumulację cukrów prostych będącą wynikiem zwiększonej hydrolizy sacharozy, obniżenia fosforylacji heksoz i zahamowania ich przepływu do puli metabolicznej (CIERESZKO i współaut. 1999, CIERESZKO i BARBACHOWSKA 2000, RYCHTER i RAO 2005). Jednak nie u wszystkich roślin (i nie w każdej tkance) obserwuje się gromadzenie sacharozy podczas niedoboru Pi. W liściach roślin z umiarkowanym deficytem Pi może także wzrastać zawartość skrobi (CIERESZKO 2000, CIERESZKO i współaut. 2001a).

Sacharoza oraz produkty jej hydrolizy są nagromadzane w liściach i w tkankach niefo-

tosyntetyzujących również pod wpływem innych czynników stresowych, jak stres wodny czy chłód (INGRAM i BARTELS 1996, KACPERSKA 2002, STITT i HURRY 2002). Natomiast w warunkach obniżonego stężenia tlenu stwierdza się często obniżenie poziomu cukrów w tkankach (DREW 1997). Niska temperatura zwiększa zawartość cukrów rozpuszczalnych w liściach, nawet 10-krotnie (GUY 1990). Nagromadzone cukry pełnią prawdopodobnie funkcje osmoregulatorów i krioprotektantów (GUY 1990, HARE i współaut. 1998, KACPERSKA 2002). Ponadto, gromadzone cukry mogą stanowić swoisty magazyn węgla na okres późniejszy, po ustaniu działania czynnika stresowego. Ale cukry mogą też pełnić rolę regulatorów metabolicznych (CIERESZKO 2002). Wykazano, że nadmiar sacharozy hamuje fotosyntezę w liściach lecz stymuluje inne procesy metaboliczne (np. oddychanie) w tkankach akceptorów (FARRAR i współaut. 2000, PAUL i PELLNY 2003, CIERESZKO 2002). Regulacyjna rola sacharozy może wynikać, jak sugerują niektórzy autorzy, z powiązań metabolizmu tego cukru z metabolizmem związków azotowych (PAUL i PELLNY 2003, STARCK 2004 oraz prace tam cytowane; patrz też STARCK w tym zeszycie KOSMOSU).

REGULACYJNA ROLA SACHAROZY

Regulacja ekspresji genów przez cukry może stanowić jeden z mechanizmów umożliwiającym roślinom dostosowanie do zmieniających się warunków środowiska (KOCH 1996, SMEEKENS 2000, CIERESZKO 2002, LEÓN i SHEEN 2003, GIBSON 2004, KOCH 2004). Poziom i skład cukrów w tkankach roślinnych zmienia się zarówno w ciągu doby jak i w czasie rozwoju roślin. Sacharoza i inne cukry wpływają więc na metabolizm i procesy wzrostowe roślin w ciągu całego ich życia: poczynając od kiełkowania, poprzez rozwój organów wegetatywnych i generatywnych, aż do starzenia się (CIERESZKO 2002, GIBSON 2004). Czynnikiem sygnałowymi mogą być zarówno sacharoza, jak i glukoza, trehaloza, czy też reakcje fosforylacji przy udziale heksokinazy (SMEEKENS 2000, CIERESZKO 2002, HETMANN i KOWALCZYK 2003). Podwyższone stężenia cukrów z reguły powodują represję genów kodujących białka uczestniczące w procesie fotosyntezy (KOCH 1996, CIERESZKO 2002). Niedobór węglowodanów wywołuje reakcje odwrotne (KOCH 1996). Brak

cukrów może także spowodować zmiany w ultrastrukturze komórek niektórych organów kiełkujących nasion i wpływać na mobilizację tłuszczów i białek zapasowych (BOREK i RATAJCZAK 2002). Sacharoza, glukoza czy trehaloza często stymulują ekspresję genów kodujących enzymy metabolizmu sacharozy. Znamienne jest, iż geny kodujące enzymy metabolizmu sacharozy biorą udział w procesie wytwarzania cukrowych czynników sygnałnych, a jednocześnie same podlegają kontroli zależnej od poziomu cukrów. Geny kodujące syntazę sacharozy (np. *Sus1*), inwertazę (*Ivr2*) oraz enzymy uczestniczące w syntezie skrobi — pirofosforylaze ADP-glukozy (*ApL3*, *ApS*) i syntazę skrobiową są indukowane przez sacharozę i glukozę (CIERESZKO 2002). Nieliczne geny, np. *Ugp* kodujący pirofosforylaze UDP-glukozy jest specyficznie regulowany tylko przez sacharozę (CIERESZKO i współaut. 2001b). Jednakże maksymalna aktywacja innych genów, kodujących syntazę sacharozy (*Sh1*), inwertazę (*Ivr1*) oraz pirofosforylaze ADP-glukozy (*ApL1*), zachodzi w

warunkach zmniejszonego stężenia cukrów (KOCH 1996). Regulacja ekspresji genów przez cukry odbywa się najczęściej na poziomie transkrypcji, np. w regionie promotorowym niektórych genów stwierdzono istnienie odcinków regulatorowych SURE (ang. sucrose response element) (SMEEKENS 2000). Najnowsze doniesienia wskazują, że sacharoza (oraz inne cukry) może także kontrolować produkcję czynników transkrypcyjnych, np. bZIP grupy S (ang. basic region leucine zipper), na poziomie translacji (WIESE i współaut. 2004). Przykładowo, w siewkach *Arabidopsis* egzogenne podana glukoza (o stężeniu 167 mM) stymuluje ekspresję 444 genów a obniża ekspresję 534 różnych genów, w tym zmianom ulegają aż 82 czynniki transkrypcyjne (PRICE i współaut. 2004).

Wpływ sacharozy na ekspresję genów może być modyfikowany przez różne czynniki. Przykładowo, wyraźna indukcja ekspresji *Ugp* po podaniu sacharozy do liści obserwowana była w warunkach ciemności oraz niewielkiego oświetlenia. Wyższe natężenia napromieniowania niwelowały efekt sacharo-

zy – ekspresja *Ugp* była zbliżona, niezależnie od dostępu cukru (prawdopodobnie na skutek nagromadzenia fotoasymilatów w liściach) (CIERESZKO i współaut. 2001b, 2005). Podobne wyniki uzyskano badając geny *ApL3* i *ApS* (CIERESZKO 2002, SIEDLECKA i współaut. 2003). Dostarczenie egzogennej sacharozy do liści wzmagало ekspresję *Ugp* u wszystkich badanych roślin, zarówno u mutantów *Arabidopsis pho1*, *pho2*, jak i u roślin kontrolnych, niezależnie od dostępności Pi w podłożu oraz puli endogennej sacharozy w tkankach (CIERESZKO i współaut. 2001b, 2005). Sacharoza i deficyt Pi mogą jednak, w pewnych warunkach, współdziałać w procesie stymulacji ekspresji genu kodującego pirofosforylaze UDP-glukozy (CIERESZKO i KLECZKOWSKI 2004, 2005; CIERESZKO i współaut. 2005). W przyszłych badaniach regulacyjnej roli sacharozy pomocne mogłoby być szersze zastosowanie mutantów specyficznie reagujących na poziom cukrów w podłożu (ROOK i BEVAN 2003), np. wyizolowanych ostatnio *hsr* (ang. *high sugar-response*) (BAIER i współaut. 2004).

DROGI TRANSDUKCJI SYGNAŁÓW WYWOŁANYCH ZMIANĄ DOSTĘPU SACHAROZY

Odbiór sygnału wywołanego przez cukry może zachodzić w apoplasmie, podczas transportu przez błony lub też wewnątrz komórki, np. w cytozolu oraz w trakcie przemian metabolicznych cukrów dostarczonych do komórki. Sugeruje się, że percepcja i transdukcja sygnału wywołanego przez cukry następuje przy udziale: inwertaz zlokalizowanych w ścianie komórkowej, transporterów cukrowych w plazmolemie lub cytozolowego enzymu – heksokinazy (SMEEKENS 2000, CIERESZKO 2002, HETMANN i KOWALCZYK 2003, SHERSON i współaut. 2003). Ostatnie wyniki badań potwierdziły udział heksokinazy (HXK) w szlakach percepcji i transdukcji sygnału cukrowego. Udało się ponadto oddzielić funkcje katalityczne enzymu od jego roli sygnałnej/transdukcijnej poprzez zastosowane mutantów HXK, *gin2* (MOORE i współaut. 2003). W badaniach własnych analizowano udział HXK w procesach transdukcji sygnału wywołanego przez sacharozę i glukozę. Podawano do liści analogi cukrowe, fosforylowane i niefosforylowane przez heksokinazę, inhibitor HXK, oraz stosowano rośliny transgeniczne *Arabidopsis*, z genem *AtHXK1* w orientacji antysensowej lub nadekspresją tego genu (CIERESZKO 2002; CIERESZKO i KLECZKOWSKI

2002a, b). Wykazano, że sygnał wywołany przez glukozę i sacharozę, prowadzący do indukcji *Sus1*, był odbierany i/lub przenoszony przy udziale heksokinazy (CIERESZKO i KLECZKOWSKI 2002a). Natomiast zależna od sacharozy indukcja *Ugp* była przekazywana szlakiem informacyjnym niezależnym od heksokinazy (CIERESZKO i współaut. 2001b). Badania ekspresji genów pirofosforylasy ADP-glukozy (*ApL3*, *ApS*) wskazały, że sygnał wywołany przez glukozę jest odbierany i przekazywany z udziałem HXK (TIESSEN i współaut. 2003). Do transdukcji sygnału sacharozowego niezbędna jest natomiast aktywność SnRK1, specyficznych kinaz białkowych (ang. SNF1-related protein kinase) (TIESSEN i współaut. 2003).

Transdukcja odebranej informacji wymaga współdziałania wielu składników łańcucha przekazywania sygnału, których rola może się zmieniać w zależności od warunków środowiska (STĘPIEŃ 2002). Podstawowym elementem różnych szlaków transdukcji sygnału są procesy fosforylacji i defosforylacji białek. Określając udział specyficznych fosfatyz i kinaz białkowych w szlakach przekazywania sygnału wywołanego przez cukry (także przez niedobór Pi) stosowano inhibitory tych fo-

sfataz i kinaz (kwas okadaikowy oraz staurosporynę) (CIERESZKO i współaut. 2001b, FERNÁNDEZ i współaut. 2002, SIEDLECKA i współaut. 2003, CIERESZKO i KLECZKOWSKI 2004). Stwierdzono, że zależny od sacharozy wzrost ekspresji *Ugp* (oraz *ApS*) był hamowany po podaniu do liści kwasu okadaikowego, natomiast ekspresja *Sus1* była znacząco indukowana przez ten inhibitor (CIERESZKO i współaut. 2001b, SIEDLECKA i współaut. 2003). Dalsze obserwacje wykazały, że wzrost ekspresji *Ugp* w warunkach deficytu Pi był także zahamowany pod wpływem kwasu okadaikowego, staurosporyna nie miała natomiast istotnego wpływu na ekspresję badanych genów (Tabela 1) (CIERESZKO i współaut. 2005). Wyniki tych badań wskazują na udział specyficznych fosfoserynowo-fosfotreoninowych fosfataz białkowych typu 1 (PP1) i 2A (PP2A) w mechanizmach regulacji ekspresji genów *UGPazy* i *SuSy* oraz na obecność różnych dróg sygnałowych inicjowanych przez cukry i zmieniających aktywności genów *Ugp* oraz *Sus1* (CIERESZKO i współaut. 2001b). Obserwowany wpływ kwasu okadaikowego na ekspresję tych genów pozwala wnioskować, że fosfoproteina będąca substratem fosfataz PP1/PP2A uczestniczy w przekazywaniu sygnału powodującego indukcję *Sus1*; natomiast do wzmożenia ekspresji *Ugp* niezbędna jest defosforylacja P-proteiny (CIERESZKO i współaut. 2001b, KLECZKOWSKI i współaut. 2004). Wyniki badań niejednokrotnie wskazywały na kluczową funkcję procesów fosforylacji, przeprowadzanych przez specyficzne kinazy białkowe, w drogach sygnałowych występujących w komórkach roślinnych. Znacznie mniej uwagi poświęcano natomiast roli procesów defosforylacji i katalizującym te reakcje fosfatazom (LUAN 2003). Opisane powyżej eksperymenty mogą potwierdzić znane już mechanizmy regulacji aktywności *SuSy* (WINTER i HUBER 2000).

Drogi transdukcji sygnałów wywołanych przez cukry mogą funkcjonalnie współdziałać ze szlakami hormonalnymi i szlakami odpowiedzi na zmiany środowiska zewnętrznego tworząc w komórkach roślinnych złożoną i rozległą sieć sygnalizacyjną (LEÓN i SHEEN 2003, MOORE i współaut. 2003, GIBSON 2004). Wykazano wiele zależności między cukrami a hormonami roślinnymi, np. zarówno cukry, jak i fitohormony wpływają na embriogenezę, kielkowanie nasion i wczesne stadia rozwojowe roślin oraz regulują aktywność α -amylazy (LEÓN i SHEEN 2003). Sugerowano, że zależny od heksokinazy glukozowy szlak sygnałowy

w kielkujących nasionach wpływa na mechanizm regulacji metabolizmu ABA (HETMANN i KOWALCZYK 2003). Cukry mogą regulować syntezę, koniugację i/lub transport ABA i giberelin, natomiast hormony, takie jak gibbereliny, ABA, cytokininy uczestniczą w regulacji metabolizmu i transportu cukrów (GIBSON 2004). Ponadto, okazało się, że wiele z wyselekcjonowanych w ostatnich latach mutantów cukrowcowych (CIERESZKO 2002) jest uwarunkowanych allelami tego samego genu co znane już wcześniej mutanty hormonalne, np. *gin1*, *isi4*, *sis4* są alleliczne do *aba2*, czy też *gin6*, *isi3*, *sis5*, *sun6* są alleliczne do *abi4* (LEÓN i SHEEN 2003; GIBSON 2004, 2005).

Wskazywano niejednokrotnie na udział ABA w mechanizmach aklimatyzacji roślin do chłodu, stresu osmotycznego i suszy (KACPERSKA 2002). W warunkach chłodu obserwowano aktywację genu *Ugp* i genów *SuSy* (DÉJARDIN i współaut. 1999, CIERESZKO i współaut. 2001b). W celu zbadania, czy ABA może uczestniczyć w modyfikacji ekspresji tych genów przez niską temperaturę zastosowano mutanty *Arabidopsis*: *aba1* i *aba2* (z obniżoną syntezą kwasu abscysynowego). Stwierdzono, że proces indukcji ekspresji genów *Ugp* i *Sus1* w warunkach chłodu zachodzi niezależnie od poziomu ABA (DÉJARDIN i współaut. 1999, CIERESZKO i współaut. 2001b, CIERESZKO 2002). Sacharoza, niedobór Pi, niska temperatura oraz susza powodowały natomiast zwiększenie ekspresji *Rab18*, genu regulowanego zależnie od poziomu ABA, w liściach *Arabidopsis* (CIERESZKO i KLECZKOWSKI 2002b). Transgeniczne rośliny z nadekspresją heksokinazy wykazywały po dostarczeniu sacharozy wyższą ekspresję *Rab18* niż rośliny nie zmodyfikowane genetycznie. Sygnał cukrowy prowadzący do indukcji *Rab18* był więc przekazywany za pośrednictwem heksokinazy. Wywołany przez egzogenną sacharozę wzrost ekspresji *Rab18* był natomiast hamowany po podaniu kwasu okadaikowego, wskazując na udział specyficznych fosfataz białkowych PP1 i PP2A w transdukcji sygnału cukrowego (CIERESZKO i KLECZKOWSKI 2002b). Inne badania wykazały współdziałanie cukrów i ABA w indukcji genu syntazy fosfo-mioinozytolu, enzymu uczestniczącego w produkcji prekursora fityny (magazynowanej w nasionach formy fosforu) (YOSHIDA i współaut. 2002). Podanie egzogennej ABA nie zmieniało ekspresji genu pirofosforylasy ADP-glukozy, *ApL3*, natomiast ABA zwiększał ekspresję tego genu indukowaną uprzednio przez cukry (ROOK

i współaut. 2001). Szlaki transdukcji sygnałów cukrowych i wywołanych deficytem Pi mogą prawdopodobnie współdziałać na pewnych etapach. Sugerują to, między innymi, wyniki badań zmian ekspresji genu UGPazy po podaniu sacharozy do liści roślin z deficytem Pi (CIERESZKO i współaut. 2005) oraz genów kodujących β -amylazę (β -AMY) czy syntazę chalkonową (CHS) (MÜLLER i współaut. 2005). W doświadczeniach własnych, mających na celu określenie składników szlaku transdukcji sygnału o nadmiarze sacharozy i niedoborze Pi, zastosowano mutanty o zmienionej syntezie kwasu abscysynowego i etylenu (*aba1-1*, *aba1-3*, *aba2-1*, *aba3-1*, *eto1-1*) oraz mutanty o obniżonej wrażliwości na te hormony (*abi1-1*, *abi2-1*, *etr1-3*, *ein2-1*). Uzyskane wyniki nie wykazały udziału ABA i etylenu w procesie indukcji ekspresji genu pirofosforylasy UDP-glukozy przy nadmiarze egzogennej sacharozy oraz w warunkach deficytu Pi (Tabela 1) (CIERESZKO i KLECZKOWSKI 2004 oraz dane nie publikowane). Dokładne poznanie elementów dróg

przekazywania sygnałów wywołanych przez sacharozę oraz zmiany czynników środowiska, a pośredniczących w regulacji genów i ich produktów, omawianych w tym opracowaniu, wymaga jednak dalszych badań.

Podsumowując przedstawione w pracy wyniki badań, należy stwierdzić, że w regulacji metabolizmu sacharozy, oprócz niewątpliwej roli syntazy fosfosacharozowej oraz inwertazy, istotną funkcję spełniają mechanizmy kontroli produkcji/rozkładu UDP-glukozy. Różnorodny sposób regulacji przez czynniki abiotyczne genów UGPazy, SuSy (oraz SPS), kluczowych enzymów uczestniczących w przemianach UDP-glukozy, wskazuje na możliwości wszechstronnej i plastycznej kontroli syntezy tego metabolitu w tkankach roślinnych. UDP-glukoza, jak wiadomo, jest niezbędna nie tylko w procesie syntezy sacharozy ale także wielu innych cukrowców i ich pochodnych. Prowadzone badania regulacji aktywności UGPazy i SuSy przez czynniki środowiskowe mogą tym samym mieć nie tylko wartość poznawczą ale również znaczenie aplikacyjne.

SUCROSE METABOLISM CONTROL IN PLANTS AS RESPONSE TO CHANGES OF ENVIRONMENTAL CONDITIONS

Summary

Sucrose is a final product of photosynthesis; it is transported to the sink organs of a plant where it is used as substrate, metabolized to other organic compounds or stored. Besides, sucrose has a nonnutritive role – controlling plant growth, development and regulation of cell metabolism. This review summarizes information on the key enzymes of sucrose synthesis and breakdown, and regulations of their activity (transcriptional, translational control or post-translational modifications) under unfavourable con-

ditions. Changes of carbohydrate concentration in tissues have been frequently shown to be involved in plant responses to different stresses. Changes in sugar content influence the expression of various genes *via* a variety of signal transduction pathways. The regulatory role of sucrose, e.g. control of its own metabolism, and possible interactions of sugar-response pathways with other signalling events are discussed.

LITERATURA

- AP REES T., 1995. *What next? [W:] Sucrose metabolism, biochemistry, physiology and molecular biology.* PONTIS H. G., ŠALERNO G. L., ECHEVERRIA E. J. (red.). *Proceedings international symposium on sucrose metabolism, Mar del Plata, Argentina, May 8–13, 1995.* Am. Soc. Plant Physiol. Ser. 14, 278–283.
- BAIER M., HEMMANN G., HOLMAN R., CORKE F., CARD R., SMITH C., ROOK F., BEVAN M. W., 2004. *Characterization of mutants in Arabidopsis showing increased sugar-specific gene expression, growth, and developmental responses.* Plant Physiol. 134, 81–91.
- BAROJA-FERNÁNDEZ E., MUÑOZ F. J., SAIKUSA T., RODRÍGUEZ-LÓPEZ M., AKAZAWA T., POZUETA-ROMERO J., 2003. *Sucrose synthase catalyses the de novo production of ADPGlucose linked to starch biosynthesis in heterotrophic tissues of plants.* Plant Cell Physiol. 44, 500–509.
- BAUD S., VAULTIER M.-N., ROCHAT C., 2004. *Structure and expression profile of the sucrose synthase multigene family in Arabidopsis.* J. Exp. Bot. 55, 397–409.
- BAXTER C. J., FOYER C. E., TURNER J., ROLFE S. A., QUICK W. P., 2003. *Elevated sucrose-phosphate synthase activity in transgenic tobacco sustains photosynthesis in older leaves and alters development.* J. Exp. Bot. 54, 1813–1820.
- BOREK S., RATAJCZAK W., 2002. *Sugars as a metabolic regulator of storage protein mobilization in germinating seeds of yellow lupine (Lupinus luteus L.).* Acta Physiol. Plant. 24, 425–434.
- CIERESZKO I., 2000. *Wzrost i metabolizm roślin w warunkach deficytu fosforu.* Kosmos 49, 179–189.

- CIERESZKO I., 2002. Regulacyjna rola cukrów. Percepcja cukrów i przekazywanie sygnału w komórkach roślinnych. Post. Biol. Kom. 29, 269–289.
- CIERESZKO I., BARBACHOWSKA A., 2000. Sucrose metabolism in leaves and roots of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) during phosphate deficiency. J. Plant Physiol. 156, 640–644.
- CIERESZKO I., KLECZKOWSKI L. A., 2002a. Glucose and mannose regulate the expression of a major sucrose synthase gene in *Arabidopsis* via hexokinase-dependent mechanisms. Plant Physiol. Biochem. 40, 907–911.
- CIERESZKO I., KLECZKOWSKI L. A., 2002b. Effects of phosphate deficiency and sugars on expression of *rab18* in *Arabidopsis*: hexokinase-dependent and okadaic acid-sensitive transduction of the sugar signal. Biochim. Biophys. Acta 1579, 43–49.
- CIERESZKO I., KLECZKOWSKI L. A., 2004. Expression of UDP-glucose pyrophosphorylase gene in *Arabidopsis* leaves as affected by interaction of phosphate, hormones and sugar. Comp. Biochem. Physiol. 137 (Suppl. 3), 207.
- CIERESZKO I., KLECZKOWSKI L. A., 2005. Expression of several genes involved in sucrose/starch metabolism as affected by different strategies to induce phosphate deficiency in *Arabidopsis*. Acta Physiol. Plant. 27, 147–155.
- CIERESZKO I., ZAMBRZYCKA A., RYCHTER A. M., 1998. Sucrose hydrolysis in bean roots (*Phaseolus vulgaris* L.) under phosphate deficiency. Plant Sci. 133, 139–144.
- CIERESZKO I., FARRAR J. F., RYCHTER A. M., 1999. Compartmentation and fluxes of sugars in roots of *Phaseolus vulgaris* under phosphate deficiency. Biol. Plant. 42, 223–231.
- CIERESZKO I., JOHANSSON H., KLECZKOWSKI L. A., 2001a. Phosphate status affects the gene expression, protein content and enzymatic activity of UDP-glucose pyrophosphorylase in wild-type and *pho* mutants of *Arabidopsis*. Planta 212, 598–605.
- CIERESZKO I., JOHANSSON H., KLECZKOWSKI L. A., 2001b. Sucrose and light regulation of a cold-inducible UDP-glucose pyrophosphorylase gene via a hexokinase-independent, abscisic acid-insensitive pathway in *Arabidopsis*. Biochem. J. 354, 67–72.
- CIERESZKO I., JANONIS A., KOCIĄKOWSKA M., 2002. Growth and metabolism of cucumber in phosphate-deficient conditions. J. Plant Nutr. 25, 1115–1127.
- CIERESZKO I., JOHANSSON H., KLECZKOWSKI L. A., 2005. Interactive effects of phosphate deficiency, sugar and light/dark conditions on gene expression of UDP-glucose pyrophosphorylase in *Arabidopsis*. J. Plant Physiol. 162, 343–353.
- DÉJARDIN A., SOKOLOV L. N., KLECZKOWSKI L. A., 1999. Sugar/osmoticum levels modulate differential abscisic acid-independent expression of two stress-responsive sucrose synthase genes in *Arabidopsis*. Biochem. J. 344, 503–509.
- DELMER D. P., HAIGLER C. H., 2002. The regulation of metabolic flux to cellulose, a major sink for carbon in plants. Metab. Engin. 4, 22–28.
- DREW M. C., 1997. Oxygen deficiency and root metabolism: injury and acclimation under hypoxia and anoxia. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 48, 223–250.
- DUFFUS C. M., DUFFUS J. H., 1988. Metabolizm węglowodanów u roślin. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa.
- FARRAR J., POLLOCK C., GALLAGHER J., 2000. Sucrose and the integration of metabolism in vascular plants. Plant Sci. 154, 1–11.
- FERNÁNDEZ J. J., CANDENAS M. L., SOUTO M. L., TRUJILLO M. M., NORTE M., 2002. Okadaic acid, useful tool for studying cellular processes. Curr. Med. Chem. 9, 229–262.
- FRANCO-ZORILLA J. M., GONZÁLEZ E., BUSTOS R., LINHARES F., LEYVA A., PAZ-ARES J., 2004. The transcriptional control of plant responses to phosphate limitation. J. Exp. Bot. 55, 285–293.
- FUNG R. W. M., LANGENKÄMPER G., GARDNER R. C., MACRAE E., 2003. Differential expression within an SPS gene family. Plant Sci. 164, 459–470.
- GABRYŚ H., 2002. Procesy oddechowe. [W:] Fizjologia roślin KOPCEWICZ J., LEWAK S. (red.). Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 387–420.
- GIBSON S. I., 2004. Sugar and phytohormone response pathways: navigating a signalling network. J. Exp. Bot. 55, 253–264.
- GIBSON S. I., 2005. Control of plant development and gene expression by sugar signaling. Curr. Opin. Plant Biol. 8, 93–102.
- GUY C. L., 1990. Cold acclimation and freezing stress tolerance: role of protein metabolism. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 41, 187–223.
- HARDIN S. C., WINTER H., HUBER S. C., 2004. Phosphorylation of the amino terminus of maize sucrose synthase in relation to membrane association and enzyme activity. Plant Physiol. 134, 1427–1438.
- HARE P. D., CRESS A. W., VAN STADEN J., 1998. Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. Plant Cell Environ. 21, 535–553.
- HETMANN A., KOWALCZYK S., 2003. Mono- i disacharydy – drożdżowymi, roślinnymi i zwierzęcymi cząsteczkami sygnałowymi regulującymi ekspresję genów. Post. Biol. Kom. 30, 87–112.
- HILL S. A., 1998. Carbohydrate metabolism in plants. Trends Plant Sci. 3, 370–371.
- HUBER S. C., HUBER J. L., 1996. Role and regulation of sucrose-phosphate synthase in higher plants. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 47, 431–443.
- HUBER S. C., WINTER H., TOROSER D., ATHWAL G. S., 2000. Metabolic regulation of nitrate and sucrose metabolism. Plant Cell Physiol. 41S, 8.
- HURRY V., STRAND Å., FURBANK R., STITT M., 2000. The role of inorganic phosphate in the development of freezing tolerance and the acclimatization of photosynthesis to low temperature is revealed by the *pho* mutants of *Arabidopsis thaliana*. Plant J. 24, 383–396.
- INGRAM J., BARTELS D., 1996. The molecular basis of dehydration tolerance in plants. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 47, 377–403.
- KACPERSKA A., 2002. Reakcje roślin na abiotyczne czynniki stresowe. [W:] Fizjologia roślin KOPCEWICZ J., LEWAK S. (red.). Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 512–678.
- KĄCZKOWSKI J. 1992. Biochemia roślin. Tom 1. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
- KLECZKOWSKI L. A., GEISLER M., CIERESZKO I., JOHANSSON H., 2004. UDP-glucose pyrophosphorylase. An old protein with new tricks. Plant Physiol. 134, 912–918.
- KOCH K. E., 1996. Carbohydrate-modulated gene expression in plants. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 47, 509–550.
- KOCH K., 2004. Sucrose metabolism: regulatory mechanisms and pivotal roles in sugar sensing and plant development. Curr. Opin. Plant Biol. 7, 235–246.
- LANGENKÄMPER G., FUNG R. W. M., NEWCOMB R. D., ATKINSON R. G., GARDNER R. C., MACRAE E. A., 2002. Sucrose phosphate synthase genes in plants belong to three different families. J. Mol. Evol. 54, 322–332.
- LEE H. S., STURM A., 1996. Purification and characterization of neutral and alkaline invertase from carrot. Plant Physiol. 112, 1513–22.

- LEÓN P., SHEEN J., 2003. *Sugar and hormone connections*. Trends Plant Sci. 8, 110–116.
- LLOYD J. C., ZAKHLENIUK O. V., 2004. *Responses of primary and secondary metabolism to sugar accumulation revealed by microarray expression analysis of the Arabidopsis mutant, pho3*. J. Exp. Bot. 55, 1221–1230.
- LUAN S., 2003. *Protein phosphatases in plants*. Annu. Rev. Plant Biol. 54, 63–92.
- LUNN J. E., MACRAE E., 2003. *New complexities in the synthesis of sucrose*. Curr. Opin. Plant Biol. 6, 208–214.
- MARTZ F., WILCZYŃSKA M., KLECZKOWSKI L. A., 2002. *Oligomerization status, with the monomer as active species, defines catalytic efficiency of UDP-glucose pyrophosphorylase*. Biochem. J. 367, 295–300.
- MICHALCZYK D. J., GÓRECKI R. J., 2002. *Procesy dyfuzji w roślinach i ich znaczenie w plonowaniu*. [W:] Fizjologia plonowania roślin. GÓRECKI R. J., GRZESIUK S. (red.). Wydawnictwo Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego, Olsztyn, 314–352.
- MOORE B., ZHOU L., ROLLAND F., HALL Q., CHENG W.-H., LIU Y.-X., HWANG I., JONES T., SHEEN J., 2003. *Role of the Arabidopsis glucose sensor HXK1 in nutrient, light, and hormonal signaling*. Science 300, 332–336.
- MÜLLER R., NILSSON L., NIELSEN L. K., NIELSEN T. H., 2005. *Interaction between phosphate starvation signalling and hexokinase-independent sugar sensing in Arabidopsis leaves*. Physiol. Plant. 124, 81–90.
- NIELSEN T. H., RUNG J. H., VILLADSEN D., 2004. *Fructose-2,6-bisphosphate: a traffic signal in plant metabolism*. Trends Plant Sci. 9, 556–563.
- NOLTE K. D., KOCH K. E., 1993. *Companion-cell specific localization of sucrose synthase in zones of phloem loading and unloading*. Plant Physiol. 101, 899–905.
- QUICK W., SCHAFFER A. A., 1996. *Sucrose metabolism in sources and sinks*. W: Photoassimilate distribution in plants and crops. Source-sink relationship. ZAMSKI E., SCHAFFER A. A. (red.). Marcel Dekker Inc., 115–156.
- PAUL M. J., PELLNY T. K., 2003. *Carbon metabolite feedback regulation of leaf photosynthesis and development*. J. Exp. Bot. 54, 539–547.
- PRICE J., LAXMI A., MARTIN S. K., JANG J.-C., 2004. *Global transcription profiling reveals multiple sugar signal transduction mechanism in Arabidopsis*. Plant Cell 16, 2128–2150.
- RATAJCZAK L., 2001. *Metaboliczne współdziałanie organelli*. [W:] Podstawy biologii komórki roślinnej. WOŹNY A., MICHEJDA J., RATAJCZAK L. (red.). Wydawnictwo Naukowe UAM, Poznań, 488–511.
- RAUSCH T., GREINER S., 2004. *Plant protein inhibitors of invertases*. Bioch. Bioph. Acta 1696, 253–261.
- ROITSCH T., GONZALES M.-C., 2004. *Function and regulation of plant invertases: sweet sensations*. Trends Plant Sci. 9, 606–613.
- ROITSCH T., BALIBREA M. E., HOFMANN M., PROELS R., SINHA A. K., 2003. *Extracellular invertase: key metabolic enzyme and PR protein*. J. Exp. Bot. 54, 513–524.
- ROJO E., ZOUHAR J., CARTER C., KOVALEVA V., RAIKHEL N. V., 2003. *A unique mechanism for protein processing and degradation in Arabidopsis thaliana*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 100, 7389–7394.
- ROOK F., BEVAN M. W., 2003. *Genetic approaches to understanding sugar-response pathways*. J. Exp. Bot. 54, 495–501.
- ROOK F., CORKE F., CARD R., MUNZ G., SMITH C., BEVAN M. W., 2001. *Impaired sucrose-induction mutants reveal the modulation of sugar-induced starch biosynthetic gene expression by abscisic acid signalling*. Plant J. 26, 421–433.
- ROSE S., BOTHA F. C., 2000. *Distribution patterns of neutral invertase and sugar content in sugarcane internodal tissues*. Plant Physiol. Biochem. 38, 819–824.
- RUTTER J., PROBST B. L., MCKNIGHT S. L., 2002. *Coordinate regulation of sugar flux and translation by PAS kinase*. Cell 111, 17–28.
- RYCHTER A. M., RAO I. M., 2005. *Role of phosphorus in photosynthetic carbon metabolism*. [W:] Handbook of Photosynthesis PESSARAKI M. (red.). Wyd. II. Marcel Dekker, Inc., New York, 123–148.
- SERGEVA L. I., VREUGDENHIL D., 2002. *In situ staining of activities of enzymes involved in carbohydrate metabolism in plant tissues*. J. Exp. Bot. 53, 361–370.
- SHERSON S. M., ALFORD H. L., FORBES S. M., WALLACE G., SMITH S. M., 2003. *Roles of cell wall invertases and monosaccharide transporters in the growth and development of Arabidopsis*. J. Exp. Bot. 54, 525–531.
- SIEDLECKA A., CIERESZKO I., MELLEROWICZ E., MARTZ F., CHEN J., KLECZKOWSKI L. A., 2003. *The small subunit ADP-glucose pyrophosphorylase (ApS) promoter mediates okadaic acid-sensitive uida expression in starch-synthesizing tissues and cells in Arabidopsis*. Planta 217, 184–192.
- SMEEKENS S., 2000. *Sugar-induced signal transduction in plants*. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 51, 49–81.
- SOWOKINOS J. R., 2001. *Biochemical and molecular control of cold-induced sweetening in potatoes*. Amer. J. Potato Res. 78, 221–236.
- STARCK Z., 2003. *Transport i dystrybucja substancji pokarmowych w roślinach*. Wydawnictwo ŚGGW, Warszawa.
- STARCK Z., 2004. *Plastyczność współdziałania metabolizmu azotu i węgla w niekorzystnych warunkach środowiska*. Zesz. Probl. Post. Nauk Roln. 496, 85–102.
- STĘPIEŃ K., 2002. *Transdukcja sygnałów w komórce roślinnej pod wpływem stresów abiotycznych*. Post. Biol. Kom. 29, 595–612.
- STITT M., HURRY V., 2002. *A plant for all seasons: alterations in photosynthetic carbon metabolism during cold acclimation in Arabidopsis*. Curr. Opin. Plant Biol. 5, 199–206.
- STRAND Å., FOYER C. H., GUSTAFSSON P., GARDESTRÖM P., HURRY V., 2003. *Altering flux through the sucrose biosynthesis pathway in transgenic Arabidopsis thaliana modifies photosynthetic acclimation at low temperatures and the development of freezing tolerance*. Plant Cell Environ. 26, 523–535.
- STRZAŁKA K., 2002. *Procesy anaboliczne*. [W:] Fizjologia roślin. KOPCEWICZ J., LEWAK S. (red.). Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 330–386.
- STURM A., TANG G.-Q., 1999. *The sucrose-cleaving enzymes of plants are crucial for development, growth and carbon partitioning*. Trends Plant Sci. 4, 401–407.
- SZADEL A., LORENC-PLUCIŃSKA G., 2002. *Metabolizm sacharozy u roślin oraz jego regulacja w warunkach stresów środowiskowych*. Post. Biol. Kom. 29, 47–59.
- TIESSEN A., PRESCHA K., BRANSCHIED A., PALACIOS N., MCKIBBIN R., HALFORD N. G., GEIGENBERGER P., 2003. *Evidence that SNF1-related kinase and hexokinase are involved in separate sugar-signalling pathways modulating post-translational redox activation of ADP-glucose pyrophosphorylase in potato tubers*. Plant J. 35, 490–500.
- TREVANION S. J., 2002. *Regulation of sucrose and starch synthesis in wheat (Triticum aestivum L.)*

- leaves: role of fructose 2,6-bisphosphate. *Planta* 215, 653–665.
- TYMOWSKA-LALANNE Z., KREIS M., 1998. *Expression of the Arabidopsis thaliana invertase gene family*. *Planta* 207, 259–265.
- WASAKI J., YONETANI R., KURODA S., SHINANO T., YAZAKI J., FUJII F., SHIMBO K., YAMAMOTO K., SAKATA K., SASAKI T., KISHIMOTO N., KIKUCHI S., YAMAGISHI M., OSAKI M., 2003. *Transcriptomic analysis of metabolic changes by phosphorus stress in rice plant roots*. *Plant Cell Environ.* 26, 1515–1523.
- WIESE A., ELZINGA N., WOBBS B., SMEEKENS S., 2004. *A conserved upstream open reading frame mediates sucrose-induced repression of translation*. *Plant Cell* 16, 1717–1729.
- WINTER H., HUBER S. C., 2000. *Regulation of sucrose metabolism in higher plants. Localization and regulation of activity of key enzymes*. *Crit. Rev. Plant Sci.* 19, 31–67.
- YOSHIDA K. T., FUJIWARA T., NAITO S., 2002. *The synergistic effects of sugar and abscisic acid on myo-inositol-1-phosphate synthase expression*. *Physiol. Plant.* 114, 581–587.
- ZRENNER R., WILLMITZER L., SONNEWALD U., 1993. *Analysis of the expression of potato uridinediphosphate-glucose pyrophosphorylase and its inhibition by antisense RNA*. *Planta* 190, 247–252.