

**Univerzita Karlova**  
**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



**Sebastian Termanini**

Mechanismy tolerance k extrémní dehydrataci u rostlin tolerantních vůči vyschnutí

Mechanisms of extreme drought tolerance in resurrection plants

Bakalářská práce

Školitel: doc. RNDr. Helena Lipavská, Ph.D.

Praha, 2018

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze 9. 5. 2018

Podpis

## **Poděkování**

Tímto bych chtěl poděkovat doc. RNDr. Heleně Lipavské, Ph.D. a RNDr. Haně Konrádové, Ph.D, za jejich cenné rady a pomoc při vypracovávání bakalářské práce.

## **Abstrakt**

Sucho je jedním z abiotických stresů, s kterým rostliny bojují od svého přechodu na souš. Existuje však systematicky nesourodá skupina rostlin, která se dokáže vypořádat s extrémním nedostatkem vody a efektivně prosperovat. S vysokým stupněm dehydratace souvisí celá řada problémů zahrnující osmotický stres, hromadění reaktivních forem kyslíku (ROS) nebo degradace proteinů. Avšak rostliny tolerující vysychání našly mechanismy, jak se s těmito problémy vypořádat. Na ochranu proti ROS aktivují antioxidantní enzymy a hromadí neenzymatické antioxidanty, které ROS zhasí. Proti osmotickému stresu využívají široké spektrum aminokyselin a sacharidů od běžně se vyskytující sacharózy až po u rostlin vzácnou trehalózu. Žádná z rostlin nespolečá jen na jedinou látku, ale v závislosti na druhu rostliny tvoří jakýsi specifický koktejl ochranných látek, díky kterému získává toleranci. Studium těchto rostlin a jejich mechanismů tolerance se zdá být perspektivní cestou pro vytipování vhodných cílových genů pro šlechtění kulturních plodin tolerantních k nedostatku vody.

**Klíčová slova:** antioxidantní systémy, dehydratace, LEA, oktulóza, polyoly, RFO, rostliny tolerující vysychání, sacharóza, sucho, trehalóza

## **Abstract**

Drought is one of the abiotic stresses that plants have to fight with from the beginning of their transition to land. However, there is a systematically incoherent group of plants that can solve extreme water scarcity and still effectively prosper. A high degree of dehydration involves a number of problems including osmotic stress, the accumulation of reactive oxygen species (ROS), or protein degradation. However, drought-tolerant plants have evolved mechanisms to deal with these problems. For protection against ROS they activate antioxidant enzymes and accumulate non-enzymatic antioxidants, which can quench ROS. These plants use a wide spectrum of amino acids and carbohydrates against the osmotic stresses, ranging from the ubiquitous and abundant carbohydrates like sucrose, till the trehalose scarce in plants. None of the plants relies on a single substance, instead, plants depend on species-specific cocktails of protective agents, through which they acquire their tolerance. The studies of those plants and their mechanisms of tolerance seem to be a perspective way for selection of preferable target genes suitable for the development of crops tolerant to desiccation.

**Key words:** antioxidant systems, dehydration, drought, LEA, octulose, polyols, RFO, resurrection plants, sucrose, trehalose

# Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod</b> .....	1
<b>2</b>	<b>Rostliny tolerující vyschnutí</b> .....	2
2.1	Homoiochlofylní a poikilochlofylní rostliny .....	4
<b>3</b>	<b>Boj s oxidativním stresem</b> .....	7
3.1	Antioxidační enzymy .....	7
3.2	Neenzymatické antioxidanty .....	8
3.2.1	Oxidoredukční systémy glutationu a askorbátu .....	8
3.2.2	Karotenoidy .....	8
3.2.3	Fenolické sloučeniny .....	9
3.2.4	Sacharidy .....	10
3.2.5	Aminokyseliny .....	11
<b>4</b>	<b>Osmoprotektivní a zásobní látky</b> .....	12
4.1	Sacharidy .....	12
4.1.1	Sacharóza .....	12
4.1.2	RFO a galaktinol .....	15
4.1.3	Oktulóza .....	17
4.1.4	Trehalóza .....	19
4.1.5	Polyoly .....	20
4.2	Aminokyseliny .....	21
<b>5</b>	<b>Proteiny syntetizované v reakci na nedostatek vody</b> .....	23
5.1	Transketolázy .....	23
5.2	LEA proteiny .....	24
<b>6</b>	<b>Závěr</b> .....	27
<b>7</b>	<b>Použité zdroje</b> .....	28
7.1	Použitá literatura .....	28
7.2	Zdroje k použitým obrázkům .....	33

## **Seznam použitých zkratk:**

Cys – Cystein

EDR – Early dehydration responsive proteins

GolS – Galaktinolsyntáza

GPDH – Glycerol-3-fosfátdehydrogenáza

GR – Glutationreduktáza

GSH – Redukovaná forma glutationu

GSSG – Oxidovaná forma glutationu

LEA – Late embryogenesis abundant proteins

NADPH – Redukovaná forma nikotinamidadeninukleotidfosfátu

PS II– Fotosystém II

RFO – Oligosacharidy rafinózové řady

ROS – Reaktivní formy kyslíku

RuBisCO – Ribulóza-1,5-bisfosfátkarboxyláza/oxygenáza

TKT – Transketoláza

UV – Ultrafialové záření

# 1 Úvod

Dostatek vody je jednou z nejdůležitějších podmínek ovlivňujících život na planetě. Lidé a zvířata mají tu výhodu, že se mohou pohybovat, a můžou se tedy k vodě přiblížit. Naopak rostliny patří mezi sesilní organismy, proto musí případný nedostatek vody řešit jinak. Většina rostlin nedokáže přežít, pokud jejich RWC (relativní obsah vody) klesne pod 50-20 %, to zvládne obvykle pouze jejich pyl a semena, kde je ona dehydratace žádoucí a organizovaná. Avšak tuto schopnost, ztratit velké množství vody a stejně přežít, mají některé rostliny napříč rostlinnou říší. Původně tuto schopnost musely mít všechny rostliny, které chtěly osídlit souš. V mokřadech, tedy v prostředí na pomezí souše a vody, docházelo občas k vyschnutí a rostliny musely vyvinout schopnosti tyto podmínky tolerovat a dokázaly období bez vody přežít. Následně se u nich postupně vyvinuly takové mechanismy, jako je syntéza kutikuly nebo uzavírání stomat, které jim pomáhají šetřit s vodou, tudíž se tolerance vůči vyschnutí vytrácela jakožto nadbytečná. Schopnost přežít veliké ztráty vody se zdá jako výhodná vlastnost, jen tyto rostliny vkládají mnoho energie do mechanismů na přežití, a tudíž nedokážou tak rychle růst a stávají se konkurenčně slabšími. Tolerance vůči vyschnutí se tedy omezila jen na pyl a semena, u nichž dochází k extrémnímu vysoušení během zrání. Současné studie ukazují, že rostliny, které dnes mají tuto schopnost ve vegetativních pletivech, ji znovu objevily a začaly ji používat druhotně. Tyto studie staví své závěry na výskytu stejných látek při boji proti suchu jak u semen, tak u vegetativních částí rostlin tolerujících vyschnutí (Illing et al., 2005).

Při nízkém obsahu vody v pletivech se rostlina musí vypořádat s celou řadou problémů od nadměrné tvorby ROS (reaktivní formy kyslíku), přes degradaci proteinů až po krystalizaci látek, jenž mechanicky poškozuje buněčné struktury. Kvůli tomu rostlina hromadí během dehydratace široké spektrum látek, které jí pomáhají se s těmito problémy vypořádat. Mezi takové látky patří osmoprotektanty jako jsou sacharidy nebo aminokyseliny, dále antioxidanty jako je glutathion nebo fenolické sloučeniny. Rostliny neprovádějí změny jen na fyziologické úrovni, ale dochází i k anatomickým či morfologickým změnám jako je skládání listů.

Množství rostlin, které dokáží přežít významné vyschnutí je celá řada. Já se v této práci zaměřím jen na rostliny krytosemenné s jednou výjimkou, kterou jsou rostliny rodu *Selaginella*. Tento druh jsem zde zařadil z historického hlediska, jelikož *Selaginella lepidophylla* byla první druh, o kterém se mluvilo jako o druhu tolerujícím extrémní vyschnutí. Všechny další zde popisované rostliny patří mezi krytosemenné rostliny. Důvodem zájmu o ně je možnost přenést některé z těchto mechanismů na rostliny kulturní. Jak už jsem zmínil, vody dostupné pro rostliny je málo, stále jí ubývá a nároky na plodiny, které dokáží přežít s nižším množstvím

vody budou vyšší a vyšší. Proto objasnění těchto mechanismů může vést k cílenému šlechtění, které nám do budoucna dokáže poskytnout plodinu, která bude růst v místech, kde by dnes žádná nepřežila.

## 2 Rostliny tolerující vyschnutí

Rostliny, které dokáží přijít o značnou část své vody a zároveň přežít, nazýváme rostliny poikilohydrické. Do této skupiny patří široké spektrum rostlin od řas a lišejníků až po krytosemenné rostliny. V rámci této kategorie byla vymezena užší skupina rostlin, do které se zařazují vyšší rostliny s důrazem na rostliny krytosemenné. V angličtině se tato skupina rostlin nazývá resurrection plants (Gaff and Oliver, 2013), což v překladu znamená doslova rostliny vzkříšení. V češtině se ale toto označení nepoužívá a já budu tyto rostliny označovat jako rostliny tolerantní vůči vysychání. Zástupci této skupiny jako je *Craterostigma plantagineum* (viz obrázek 1), *Myrothamnus flabellifolia* (viz obrázek 2) nebo *Xerophyta viscosa* (viz obrázek 3) jsou schopni přežít bez významných poškození vyschnutí až na 5 % RWC a následně se dokáží úplně rehydratovat a obnovit růst, což jim umožňuje žít v aridních oblastech (Farrant, 2000). Obrázky (1A, 2A, 3A) zobrazují rostliny plně hydratované naopak druhá série obrázků (1B, 2B, 3B) ukazuje rostliny dehydratované. Do této skupiny rostlin tolerujících vyschnutí se řadí okolo 135 druhů patřících do 13 různých čeledí napříč krytosemennými rostlinami. Avšak zástupce najdeme i mezi původnějšími rostlinami jako jsou ty z řádu Selaginallales. Sem patří například široce známý vraneček (*Selaginella lepidophylla*), též nazývaný růže z Jericha. Právě nepříbuznost zástupců poukazuje na fakt, že ona schopnost přežít extrémní dehydrataci vznikla v evoluci několikrát, a každá z rostlin využívá specifického souboru obranných mechanismů (Gaff and Oliver, 2013).

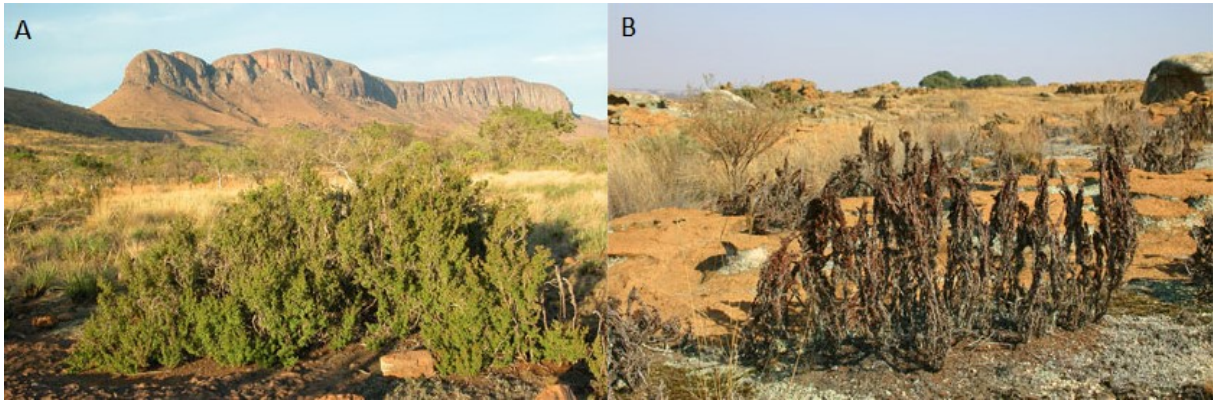
Illing et al. (2005) zjišťovali původ tolerance vůči vysychání ve vegetativních orgánech rostlin tolerantních vůči vyschnutí. Nasnadě byly dvě možnosti: 1) vznik nové, udržitelné odpovědi na abiotické faktory, v tomto případě na sucho; nebo 2) osvojení si mechanismů, které využívají semena při svém vysychání. Vědci porovnávali výskyt různých antioxidantů a členů rodin LEA proteinů u vyvíjejících se semen a ve vegetativních částech jak rostlin tolerujících vyschnutí, tak u těch netolerujících. Zjistili, že ve vyvíjejících se semenech rostlin netolerujících vysychání je velké množství LEA proteinů unikátních pouze pro semena, nevyskytujících se v jejich vegetativních pletivech. Příkladem je LEA 6 nacházející se u *Arabidopsis* pouze v semenech. Bylo však zjištěno, že tato u semen unikátní skupina proteinů



se nachází u některých vysychavých rostlin ve vegetativních částech. Příkladem je *Xerophyta humilis*, kde dochází k syntéze těchto LEA proteinů v pozdějších fázích dehydratace (Collett et al., 2004). Co se týče antioxidantních systémů, tak většina se jich nachází ve všech pletivech u všech rostlin, avšak našel se jeden specifický příklad, a to 1-Cys peroxidoredoxin (viz kapitola Antioxidanční enzymy). Jedná se o antioxidantní enzym, o kterém se vědci domnívali, že se vyskytuje pouze v semenech, byl však objeven i ve vegetativních pletivech rostlin tolerujících vysychání. Tyto látky, příp. enzymy tedy naznačují, že vysychavé rostliny využívají pro ochranu vegetativních pletiv stejné mechanismy, jaké slouží k ochraně semen, která tuto vlastnost mají široce rozvinutou (Illing et al., 2005).



Obrázek 1 – Fotografie hydratované (A) a dehydratované (B) dvouděložné rostliny *Craterostigma plantagineum* ([https://www.zambiaflora.com/speciesdata/image-display.php?species\\_id=151360&image\\_id=4](https://www.zambiaflora.com/speciesdata/image-display.php?species_id=151360&image_id=4); <http://falconeri.forumpro.fr/t9581-craterostigma-plantagineum>)



Obrázek 2 – Fotografie hydratovaného (A) a dehydratovaného (B) dvouděložného keře *Myrothamnus flabellifolia* ([http://www.myro.ch/en/info\\_myrothamnus\\_regen.html](http://www.myro.ch/en/info_myrothamnus_regen.html); [http://www.myro.ch/en/info\\_myrothamnus\\_trocken.html](http://www.myro.ch/en/info_myrothamnus_trocken.html))



Obrázek 3 – Fotografie hydratované (A) a dehydratované (B) jednoděložné rostliny *Xerophyta viscosa* ([http://www.alpinegardensociety.net/image\\_files/onlineshow/sized00930228.JPG](http://www.alpinegardensociety.net/image_files/onlineshow/sized00930228.JPG); <https://www.eoswetenschap.eu/natuur-milieu/dna-herrijzende-plant-ontrafeld#&gid=1&pid=1>)

## 2.1 Homoiochlofylní a poikilochlofylní rostliny

Podle toho, jaké změny se uplatňují při vysychání ve fotosyntetickém aparátu, rozdělujeme rostliny tolerující vyschnutí na poikilochlofylní a homoiochlofylní (Tuba et al., 1998). Během dehydratace totiž dochází u rostlin k útlumu fotosyntézy vlivem deaktivace enzymů asimilujících uhlík, jako je například RuBisCO (Oliver et al., 2011). Přijatá světelná energie tedy není zužitkována k produkci sacharidů, ale vznikají ROS (reaktivní formy

kyslíku). Tyto látky slouží v organismu jako signální molekuly, avšak pokud vzroste jejich koncentrace, mají negativní vliv na stav buněk (viz kapitola Antioxidační systémy) (Mittler, 2002). Rostliny tedy bojují proti negativnímu navýšení obsahu ROS v chloroplastu při vysychání dvěma způsoby. První skupina rostlin rozloží svůj fotosyntetický aparát a omezí vznik ROS, to jsou tzv. rostliny poikilochlofylní. Rostliny z druhé skupiny převážně zachovávají funkci fotosyntetického aparátu, neomezí tak vznik ROS ale výrazně posílí obranu proti nim, tzv. rostliny homoiochlofylní (Tuba et al., 1998).

Nejvíce poikilochlofylních rostlin nalezneme mezi jednoděložnými, a to v čeledi Poaceae. Během dehydratace tyto rostliny snižují obsah fotosyntetických pigmentů, ať už se jedná o chlorofyly nebo o pomocné pigmenty jako jsou karotenoidy (Sherwin and Farrant, 1998). Dochází zde k rozkladu tylakoidních membrán i fotosystémů. Během dehydratace se na místech původních chloroplastů nacházejí tzv. desikoplasty, které obsahují velké množství plastoglobulů a jiných lipidických tělísek, které pomáhají při následné regeneraci (Tuba et al., 1993). Při rehydrataci dochází k obnově všech struktur, avšak úplné zotavení rostliny nastává později, než je tomu u rostlin homoiochlofylních. Například u homoiochlofylní *Selaginella lepidophylla* byly už po 16 h rehydratace pozorovány všechny buněčné struktury takové, jaké jsou v rostlině, která je v plně hydratovaném stavu (Brighigna et al., 2002).

Zástupci homoiochlofylních rostlin patří spíše mezi dvouděložné rostliny, avšak výjimkou nejsou ani příslušníci nižších skupin rostlin (Lycopodiophyta). Tato skupina rostlin zachovává svá fotosyntetická barviva, i když určitý pokles koncentrace chlorofylu byl zaznamenán (Sherwin and Farrant, 1998; Allimillo and Bartels, 2001). Naopak aktivity neenzymatických i enzymatických antioxidačních systémů prudce rostou. Důvodem je vysoký nárůst obsahu ROS (Sgherri et al., 2004; Illing et al., 2005). Zachované zůstávají i tylakoidy, u kterých dochází k četnému překrývání a membrány jsou k sobě silně stisknuty (Navari-Izzo et al., 2000).

Dalším opatřením zabraňujícím poškození funkčních struktur je srolování listů. Toto opatření snižuje poškození listů nadměrným ozářením a pomáhá rostlině lépe zvládat stres způsobený nedostatkem vody. Například *Selaginella lepidophylla* podobně jako jiné rostliny tvořící růžici (rod *Craterostigma*) vytvoří útvar připomínající hnízdo, kde vnější, starší stonky překryjí ty mladší ve středu rostliny. Vnější stonky se uzavírají již v počátečních fázích vysychání, což zajistí nižší světelné poškození a výpar u vnitřních stonků. Stonky jsou uspořádány tak, že i při několikanásobné dehydrataci a následné rehydrataci se nepoškodí a rostlina může tento obranný mechanismus používat opakovaně (Rafsanjani et al., 2015). Sbalování listů můžeme pozorovat i u *Mirothamnus flabellifolia*, kde tvar listů připomíná vějíř,

nacházejí se na něm drážky a valy. Během dehydratace dojde k přitisknutí valů a drážky mezi nimi jsou redukovány (Moore et al., 2007). Tímto rostlina chrání své buněčné struktury před nadměrným ozářením. U *Selaginella lepidophylla* bylo také dokázáno, že rostlina si díky těmto ochranným opatřením zachová více chlorofylu. S tím je spojený vyšší výtěžek fotosystémů a obecně celé fotosyntézy (Lebkuecher and Eikmeier, 1993).

Během dehydratace dochází nejen ke změnám v nadzemních částech, ale i v kořenovém systému. U *Craterostigma plantagineum* dochází k smršťování listů i kořenů, ačkoliv v mnohem menším měřítku u kořenů. U primárních kořenů je to smrštění do deseti procent původní délky a u sekundárních okolo 25 %, což je oproti listům třetina. Už během prvních 24 h rehydratace dochází k odumření sekundárních i terciálních kořenů. Po osmi týdnech od počátku rehydratace byly znatelné i symptomy senescence na primárních kořenech. Tato senescence se časově shoduje s růstem nových kořenů, které nahradí starý kořenový systém. Důvod odumření není jasný, jelikož zásoby v kořenech nejsou vyčerpané a ani přesunuté jako je tomu u starých listů (viz kapitola Sacharidy) (Norwood et al., 2003).

Důležité je poznamenat, že schopnost tolerovat vyschnutí rostliny “nemají zadarmo“. Existuje tu jisté trade-off mezi tím kam rostlina vloží svou energii. Například *Sporobolus pyramidalis*, druh netolerující vysychání, je příbuzný *S. stapfianus*, který naopak vysychání toleruje. A tento *S. pyramidalis* dává větší důraz na růst (Oliver et al., 2011). Tím pádem roste rychleji ve všech fázích svého vývoje a pokud roste v příznivých podmínkách vedle *S. stapfianus*, tak ho přeroste a tudíž by ho i v přírodě konkurenčně vytlačil (Wood and Gaff, 1989). Naopak *S. stapfianus* dává důraz na syntézu aminokyselin (viz kapitola Aminokyseliny) a osmoprotektantů (viz kapitola Sacharidy), díky kterým dokáže přežít v prostředí, kdy by to jeho příbuzný nedokázal (Oliver et al., 2011). Z tohoto příkladu je zřejmé, že tyto rostliny volí strategie přizpůsobené prostředí, ve kterém žijí. Zvláštností je *Lindernia brevidens*. Jedná se o druh tolerující vysychání příbuzný *C. plantagineum*, který však na rozdíl od svého příbuzného obývá deštné pralesy. Všechny rostliny tolerující vysychání rostou v aridních oblastech nebo v oblastech s častým výskytem sucha a toto je jediná výjimka: rostlina, která roste v prostředí, kde nikdy není nouze o vodu. I z historického hlediska se jedná o prostředí, kde bylo v minulosti vlhké klima. Vědci si s touto záhadou neví rady a domnívají se, že mechanismy, které u jejich příbuzných tolerantních vůči vyschnutí umožňují toleranci, slouží *L. brevidens* k něčemu jinému (Phillips et al., 2008).



### 3 Boj s oxidativním stresem

K boji proti oxidativnímu stresu slouží rostlinám antioxidantní systémy. Fungují jako ochrana proti negativním účinkům reaktivních forem kyslíku (ROS). ROS slouží v rostlinách jako signální molekuly (modulují jak vývojové, tak stresové odpovědi rostlin), ale při jejich nadměrném vzniku dochází k oxidativnímu poškození rostlinných struktur, jenž může vést až k úhynu rostliny. Nadměrný vznik ROS způsobují kromě již zmíněného nedostatku vody další abiotické či biotické stresy. Antioxidantní systémy můžeme rozdělit na antioxidantní enzymy a neenzymatické antioxidanty (Mittler, 2002).

#### 3.1 Antioxidantní enzymy

Antioxidantní enzymy jsou proteiny, které samy dokáží zhaset ROS nebo redukují neenzymatické antioxidanty, které zhasí ROS (Mittler, 2002). Mezi nejčastější patří glutathionreduktáza, superoxiddismutáza, askorbátperoxidáza. Nárůst aktivity těchto enzymů během dehydratace byl pozorován u homoiochlofylní *Eragrostis teff* a u poikilochlofylní *X. viscosa*. Naopak u *C. wilmsii* nebyl pozorován žádný trend ve změně aktivity během dehydratace a následné rehydratace (Sherwin and Farrant, 1998; Illing et al., 2005). U netolerantních rostlin dochází během vystavení suchu k poklesu aktivity antioxidantních enzymů (*Eragrostis nindensis*, *E. curvula*) (Illing et al., 2005).

Jedním z enzymů redukujících neenzymatické antioxidanty je glutathionreduktáza (GR). Glutathion (viz níže) se nachází ve dvou formách: v oxidované (GSSG) a redukované (GSH). Rychlost obnovy glutathionu závisí na schopnosti obnovy aktivity glutathionreduktázy. Aktivita GR během dehydratace u *M. flabellifolia* klesla. Po osmi měsících dehydratace však její aktivita klesla natolik, že ani při dostatku NADPH nebyla schopna redukovat GSSG a v rostlině zůstala oxidovaná forma ve vysoké koncentraci oproti redukované formě GSH (následky viz níže) (Kranter et al., 2002).

Peroxiredoxiny je skupina antioxidantních enzymů nacházejících se napříč říšemi. Ve vegetativních částech rostlin tolerujících vysychání, konkrétně u *X. viscosa* a *S. stapfianus* (Mowla et al., 2002; Yobi et al., 2017) a u semen nevysychavých rostlin (Illing et al., 2005) byl objeven jeden enzym z této skupiny, a to 1-Cys peroxiredoxin, který dokáže redukovat  $H_2O_2$  a alkyldydroperoxy (Dietz et al., 2006). U *X. viscosa* byl nalezen v buněčných jádrech, kde plní funkci ochrany nukleových kyselin. K jeho syntéze dochází až při stresu, kterým může být nadměrná teplota či nedostatek vody (Mowla et al., 2002). U *S. stapfianus* dochází během dehydratace k nárůstu tvorby transkriptů kódujících 1-Cys peroxiredoxin (Yobi et al., 2017).

## 3.2 Neenzymatické antioxidanty

Neenzymatických antioxidantů ve vysychavých rostlinách najdeme velké množství napříč různými skupinami látek (karotenoidy, flavonoidy, sacharidy, aminokyseliny, peptidy atd.).

### 3.2.1 Oxidoredukční systémy glutationu a askorbátu

Glutation (GSH) slouží jako redukční ekvivalent při odstraňování nestabilních meziproductů jako je peroxid vodíku či jiné ROS (Mittler, 2002). Během dehydratace *Ramonda serbica* dochází k nárůstu množství jak glutationu, tak askorbátu, který v rostlině plní stejnou funkci (Sgherri et al., 2004). Obě tyto látky se v rostlině nacházejí jak v redukované, tak oxidované formě. Čím je rostlina déle dehydratovaná, tím více přibývá oxidovaných forem oproti těm redukovaným (Kranner et al., 2002; Sgherri et al., 2004; Djilianov et al., 2011). Pokud ale například u *M. flabellifolia* došlo k dehydrataci delší než osm měsíců, rostlina už nebyla schopna obnovit původní poměr forem glutationu, a tím pádem zůstalo více oxidovaných. To může pro rostlinu znamenat problém, jelikož vysoký obsah oxidované formy glutationu (GSSG) inhibuje syntézu proteinů (Kranner et al., 2002). Djilianov et al. (2010) spekulují, že zvyšující se poměr GSSG/GSH během dehydratace může působit jako signál vedoucí k zvýšení aktivity dalších antioxidantních systémů. Stejně jako nárůst poměru GSSG/GSH u *H. rhodopensis* během pozdní fáze dehydratace pozorujeme i nárůst hladina glutationu. V této fázi dehydratace dochází k tomuto nárůstu ve chvíli, kdy se začne zvětšovat množství malondialdehydu, který vzniká oxidací lipidických membrán během oxidativního stresu způsobeného ROS. Obzvlášť velké množství glutationu můžeme nalézt u *S. lepidophylla*, kde navíc slouží jako klíčový prvek pro syntézu  $\gamma$ -glutamyl-aminokyselin, které jsou samy o sobě výbornými zhášeci ROS (viz kapitola Aminokyseliny) (Yobi et al., 2012).

U *S. stapfianus* byl nalezen analog glutationu nazývaný oftalmát. Ten byl původně objeven u savců, kde indikuje oxidativní stres a s tím související syntézu glutationu (Soga et al., 2006). Oliver et al. (2011) se domnívají, že stejná oftalmátová dráha jako je u savců je i u *S. stapfianus*, avšak její přesná funkce není ještě známá.

### 3.2.2 Karotenoidy

Jeden ze způsobů obrany proti ROS je hromadění karotenoidů (Allimillo and Bartels, 2001). Dokáží totiž odebrat od chlorofylů přebytečnou energii, kterou následně disipují na teplo (Demmig-Adams, 1990). Celkový obsah karotenoidů u poikilochlofylních rostlin klesá během

dehydratace a opět roste při rehydrataci. Naopak u homoiochlofylních se výrazně nemění (Sherwin and Farrant, 1998), dochází však ke změnám ve spektru jednotlivých karotenoidních látek. Jeden z karotenoidů hromadící se ve vysychavých rostlinách (*C. plantagineum* a *M. flabellifolia*) během dehydratace je zeaxantin. Zvyšování jeho obsahu je na úkor obsahu violaxantinu a anteraxantinu, jejichž obsah v rostlině během dehydratace naopak klesá (Allimillo and Bartels, 2001; Kranner et al., 2002). Důvodem je jejich světlem indukovaná přeměna na zeaxantin (Demmig-Adams, 1990).

Také  $\beta$ -karoten a  $\alpha$ -tokoferol jsou u *M. flabellifolia* během vysychání spotřebovávány a jejich množství v rostlině klesá. Během rehydratace pak dojde k rychlému nárůstu obsahu obou karotenoidů, hlavně  $\beta$ -karotenu, který je nezbytným pigmentem při absorpci světla při fotosyntéze. Pokud však rostlinu dehydratujeme déle než 8 měsíců, již nikdy nedojde k obnově karotenoidů na původní obsah (Kranner et al., 2002). Naopak nárůst množství jak  $\alpha$ , tak  $\beta$ -tokoferolu byl zaznamenán při dehydrataci *S. stapfianus*, kde slouží jako antioxidant nebo může sloužit jako signální látka, značící příchod stresu. U jeho vůči dehydrataci netolerantního příbuzného *S. pyramidalis* nebyl objeven žádný nárůst množství těchto pigmentů (Oliver et al., 2011).

### 3.2.3 Fenolické sloučeniny

V rostlinách se nachází obrovské množství fenolických sloučenin, které mají různé funkce. Já se zde zaměřuji na jejich funkci jako zhášeců ROS, které se v rostlinách hromadí při oxidativním stresu, a proto hrají tyto látky důležitou roli u rostlin tolerujících vysychání. Například obsah polyfenolů u tolerantní *Haberlea rhodopensis* byl mnohonásobně vyšší (20 % sušiny u dehydratované rostliny), než tomu bylo u netolerantní *C. eberhardtii*. Rozdíl se ještě navýšil, když došlo k prudkému nárůstu obsahu polyfenolů během pozdní fáze dehydratace (Djilianov et al., 2011). Stejný trend můžeme vidět u *M. flabellifolia* (Moore et al., 2005), naopak velké množství fenolických sloučenin před dehydratací a jejich následný pokles během dehydratace byl objeven u *R. serbica*, která je příbuzná s tolerantní *H. rhodopensis* (Sgherri et al., 2004).

Mezi nejvíce zastoupené látky v *H. rhodopensis* je polyfenolický glykosid mykonosid, který tvoří v hydratované rostlině až 9 % sušiny. S klesajícím obsahem vody sice klesá i jeho množství, ale stále zůstává v rostlině hojně zastoupen (Moyankova et al., 2014). Důvodem poklesu jeho obsahu je zřejmě jeho využití k syntéze kyseliny dihydrokávové (Dell'Aqua and Schweikert, 2012), jejíž množství během dehydratace roste. Ta stejně jako mykonosid slouží jako výborný zhášec ROS (Moyankova et al., 2014).

U *M. flabellifolia* je nejhojněji zastoupeným polyfenolem 3,4,5 tri-O-galloylchininová kyselina (až 3/4 hmotnosti sušiny v dehydratovaných listech). Tato kyselina plní mnoho funkcí souvisejících s vysycháním. Například dokáže absorbovat velké množství UV záření, čím předchází vzniku ROS z nadměrného ozáření, a i sama funguje jako účinný zhášec ROS. Její hlavní funkce je však v buněčných membránách, do nichž vstupuje, a tím zabraňuje vzniku tuhého gelu, který vzniká při nedostatku vody (Moore et al., 2005).

Antokyany patří do skupiny vakuolárních barviv zvaných flavonoidy. Hromadění těchto barviv bylo pozorováno během sucha jak u rostlin tolerantních vůči vyschnutí (*Lindernia brevidens*), tak u příbuzných netolerantních (*L. subracemosa*). *L. subracemosa* hromadila během dehydratace více antokyanů, překvapivé je, že i přesto u ní došlo k největší degradaci chlorofylu (Juszczak and Bartels, 2017). Stejný trend můžeme vidět u poikilochlofylní *Xerophyta viscosa* (Sherwin and Farrant, 1998). Zde je však rozklad chlorofylu plánovaný a není zde potřeba tak velkého množství antokyanů, protože ROS nevznikají v takové míře. Co se týče homoiochlofylních rostlin, ani u nich není tvorba antokyanů dostatečná k tomu, aby plnohodnotně uchránily buněčné struktury (Farrant et al., 2003). Proto zapojují další mechanismus – skládání svých listů (jež bylo popsáno výše) a hromadění antokyanů pouze na abaxiální straně listu (Sherwin and Farrant, 1998; Moore et al., 2007). *L. subracemosa* své listy neskládá a ani nerozkládá svůj fotosyntetický aparát, a proto i přes velké hromadění antokyanů rostlina neuchrání svůj fotosyntetický aparát, a tudíž není tolerantní vůči vyschnutí (Juszczak and Bartels, 2017).

### 3.2.4 Sacharidy

Sacharidy neplní v návaznosti na nedostatek vody jenom zásobní či osmoprotektivní funkci (viz kapitola Osmoprotektivní látky), ale fungují i jako zhášec ROS. O tomto faktu se již dlouho tušilo (Smirnoff and Cumbes, 1989), ale až nedávné studie osvětlují mechanismy tohoto působení (např. Matros et al., 2015). Mezi účinné zhášecí řadíme disacharidy (sacharóza; Morelli et al., 2003 nebo trehalóza; Stoyanova et al., 2011), oligosacharidy (cukry rafinóзовé řady; Nishizawa et al., 2008) či polyoly (Smirnoff and Cumbes, 1989). Polyolů můžeme velké množství najít např. v *S. lepidophylla*. Mezi ty, co účinně zhášejí ROS, patří manitol a myo-inositol, jejichž množství během dehydratace roste, a právě zhášení ROS zde bude jejich hlavní funkcí (další funkce viz kapitola Polyoly) (Yobi et al., 2012).

Mezi účinné zhášecí ze skupiny disacharidů patří sacharóza (Morelli et al., 2003). Avšak v rostlinách rodu *Craterostigma* a druhu *Lindernia brevidens* byl nalezen jiný disacharid D-glycero-D-ino-oktulóza (zkráceně oktulóza), který byl testován na schopnost zhášet ROS.



Výsledky ukázaly, že oktulóza je dokonce čtyřikrát lepší zhášec než sacharóza (Zhang and Bartels, 2015). Pokud pomocí paraquatu (herbicid) zamezíme přechodu elektronů z fotosystému I na kyslík, a ještě zvýšíme ozáření, hladina ROS se radikálně zvedne (Bus and Gibson, 1984). To má za následek prudký pokles obsahu oktulózy, která společně s dalšími sacharidy (sacharóza) zásobuje NADPH-produkující dráhy jako je oxidativní pentozofosfátová dráha (Couée et al., 2006).

### 3.2.5 Aminokyseliny

Aminokyseliny jsou základními stavebními kameny proteinů, ale mimo to můžou v rostlině plnit i jiné funkce jako je zhášení ROS. Velké množství aminokyselin, a hlavně změny jejich obsahů během dehydratace byly pozorovány u trávy *S. stapfianus*. U většiny aminokyselin, i u těch méně zastoupených, byl pozorován nárůst množství během prvních fází dehydratace, následně se hladina neměnila, a až zhruba při 35 % RWC došlo k poklesu jejich množství. Nárůst, a tedy syntéza aminokyselin, zřejmě souvisí s degradací tylakoidů a enzymů souvisejících s fotosyntézou (např. RuBisCO) ve starých listech. Dochází i k částečnému rozkladu proteinů v mladých listech, ale ve starých je rozloženo až 50 % všech proteinů (Martinelli et al., 2007). Hromaděn během dehydratace byl i prolin, a to jak u druhů tolerantních vůči vyschnutí (*S. stapfianus*; Martinelli et al., 2007), tak u netolerantních druhů (*S. pyramidalis* a *S. virginicus*; Naidoo and Mundree, 1993) rodu *Sporobolus*. Prolin funguje v rostlinách jako účinný zhášec ROS (Akashi et al., 2001), proto je zvláštní, že u *S. stapfianus* jeho množství během dehydratace klesne, a to v situaci, kdy se RWC přiblíží 35 %. Hoekstra et al. (2001) zjistili, že důvodem je zřejmě neschopnost prolinu plnit tyto funkce při nižším obsahu vody (Hoekstra et al., 2001). Zvláštní je, že u starých listů *S. stapfianus* množství prolinu roste během celé dehydratace, a to i přes to, že tyto staré listy již ztratily svou schopnost tolerance vůči vyschnutí. (Martinelli et al., 2007).

$\gamma$ -glutamyl-aminokyseliny jsou modifikované aminokyseliny, které vznikají rozkladem glutationu  $\gamma$ -glutamyltranspeptidázou za přítomnosti nějaké aminokyseliny. Tyto  $\gamma$ -glutamyl-aminokyseliny jsou následně rozkládány  $\gamma$ -glutamylcyklotransferázou na 5-oxoprolin a danou aminokyselinu, která je z extracelulárního prostoru transportována do cytoplazmy. 5-oxoprolin je přeměněn na glutamát, který společně s cysteinem a glycinem vytvoří redukovaný glutation. Díky tomuto cyklu dochází, jak k recyklaci aminokyselin, tak glutationu (Oliver et al., 2011). Tento způsob recyklace glutationu není u rostlinného modelového organismu *Arabidopsis thaliana* tak častý (Ohkama-Ohtsu et al., 2008), naopak u savců se zdá být velice častý. Oliver et al. (2011) se domnívají, že tento způsob recyklace se vyskytuje i u *S. stapfianus*. Důvodem

je extrémní nárůst množství  $\gamma$ -glutamyl-aminokyselin, například obsah u  $\gamma$ -glutamyl-fenylalaninu vzrostl během dehydratace osmnáctsetkrát. Vysoký nárůst  $\gamma$ -glutamyl-aminokyselin byl pozorován i u *S. lepidophylla*, kdy byl rozdíl v obsahu těchto látek zjištěn mezi vůči vysychání tolerantní *S. lepidophylla* a netolerantní *S. moellendorffii* (Yobi et al., 2012).  $\gamma$ -glutamyl-aminokyseliny tedy plní dvě funkce, zaprvé se účastní recyklace redukovaného glutathionu, který zháší ROS a zadruhé fungují jako zásobárna dusíku (Oliver et al., 2011).

## 4 Osmoprotektivní a zásobní látky

Osmoprotektivní látky neboli osmoprotektanty, jsou látky s neutrálním nábojem a nízkou toxicitou, které jsou ve velkém hromadě kvůli přečkání osmotického stresu. Díky této ochraně nedochází k porušení buněčných struktur a rostliny po přečkání stresu mohou znovu fungovat (Lang, 2007). Je známo mnoho osmoprotektantů, hlavně mezi sacharidy či aminokyselinami. Většinu níže zmíněných látek, které fungují jako osmoprotektanty využívají rostliny i jako zásobní molekuly, díky kterým dokáží přežít dlouhé období bez vody a následně jsou schopné rehydratace.

### 4.1 Sacharidy

Sacharidy patří mezi látky multifunkční, fungují například jako stavební kameny rostlin, jako je celulóza nebo lignin (Houtman and Atalla, 1995). Tato jejich funkce zde není podrobně diskutována, jelikož významněji nesouvisí s tolerancí vůči vysychání. Sacharidy dále slouží jako účinné zhášecí ROS, o čemž pojednává podkapitola Sacharidy kapitoly Antioxidační systémy (viz výše). Také slouží jako zásobárny energie a uhlíku. U většiny rostlin k tomu slouží škrob nebo sacharóza. Tyto sacharidy u vysychavých rostlin najdeme, ale spolu s nimi se zde vyskytuje i široké spektrum specifických látek jako je oktalóza, cukry rafinózové řady (RFO) nebo trehalóza. A nakonec slouží jako osmoprotektivní látky, které brání vnitřní struktury před poškozením z nedostatku vody. Mezi významné osmoprotektanty patří sacharóza, RFO, oktalóza, trehalóza nebo polyoly.

#### 4.1.1 Sacharóza

Změny hladin sacharózy byly pozorované u drtivé většiny rostlin tolerujících vyschnutí a zdá se, že právě tento sacharid patří mezi hlavní a univerzální látky chránící rostlinu během dehydratace. Sacharóza funguje jako dobrý zhášecí ROS (viz výše), ale i jako stabilizátor buněčných membrán. Jedná se o disacharid složený z glukózy a fruktózy.

U všech rostlin, které jsem zmínil v tabulce (Tabulka 1), až na jednu výjimku, dochází k hromadění sacharózy během dehydratace (Müller et al., 1997; Whittaker et al., 2001; Moore et al., 2007; Djilianov et al., 2011; Egert et al., 2015). Tou výjimkou je *S. lepidophylla*, která stejně jako rostliny tolerující vysychání z původnějších skupin rostlin (např. vysychavý druh mechu *Tortula ruralis* Smirnov, 1992) zachovávají množství sacharózy po celou dobu sice vysoké, ale neměnicí se (Yobi et al., 2012). Trendy nárůstu sacharózy se mohou lišit, většina rostlin uvedených v tabulce 1 začne hromadit sacharózu hned na začátku dehydratace a v takovém trendu pokračují, dokud rostlina není úplně vysušená (Müller et al., 1997; Whittaker et al., 2001; Moore et al., 2007; Peters et al., 2007; Egert et al., 2015). Výjimku zde tvoří *H. rhodopensis*, u které se obsah sacharózy během dehydratace neměnil, dokud nebyla rostlina vysušena na 35 % RWC, pak došlo k nárůstu jejího obsahu. U její příbuzné *C. eberhardtii*, která není tolerantní vůči vysychání, dochází hned na začátku dehydratace k nárůstu obsahu sacharózy jako u většiny vysychavých rostlin v tabulce, ale v pozdnější fázi obsah sacharózy prudce klesl (Djilianov et al., 2011).

Narůstající množství sacharózy je u všech těchto rostlin na úkor poklesu obsahu nějakého jiného sacharidu. Buď je štěpen škrob, nebo dochází k syntéze sacharózy z hexóz nebo jsou látky jako RFO či oktulóza přestavěny na sacharózu. Například *S. stapfianus* během první fáze dehydratace navýší jak množství sacharózy, tak i hexóz. Důvodem je probíhající fotosyntéza, která na rozdíl od jiných rostlin tolerujících vysychání probíhá ještě nějakou dobu po začátku dehydratace. Druhým důvodem jsou zásoby škrobu, které rostlina má a postupně je štěpí. Díky těmto dvěma procesům si *S. stapfianus* dokáže nashromáždit velké množství hexóz, které až přestane probíhat fotosyntéza a dojdou zásoby škrobu, přemění na sacharózu. Úbytek hexóz předchází nárůst aktivity hexokináz, které připojují fosfát na hexózy jako je například fruktóza a následně je z nich syntetizována sacharóza (Whittaker et al., 2001). Tento úbytek hexóz během dehydratace kvůli syntéze sacharózy byl pozorován i u rostlin čeledi Gesneriaceae (*Ramonda nathalie*, *R. myconi* a *H. rhodopensis*), kde tímto způsobem vzniknou zhruba tři pětiny veškeré sacharózy. Další pětina vzniká z přestavby rafinózy patřící mezi RFO (viz níže) a poslední pětina vzniká ze štěpeného škrobu (Müller et al., 1997). Škrob samozřejmě během dehydratace ubývá a například u *H. rhodopensis* při 20 % RWC nebyl už žádný škrob detekován (Moyankova et al., 2014).

Druh	Čeleď	Výskyt	Homio- / Poiklochlorfylní	Změny obsahu látek s ochrannou funkcí	Citace
<i>Xerophyta viscosa</i>	Velloziaceae	jižní Afrika	Poiklochlorfylní	sacharóza ↑, rafinóza ↑, galaktinol ↓	(Peters et al., 2007)
<i>Ramonda nathalie</i>	Gesneriaceae	Balkánský poloostrov	Homiochlorfylní	sacharóza ↑, rafinóza ↓, galaktinol ↓	(Müller et al., 1997)
<i>Ramonda myconi</i>	Gesneriaceae	Pyrenejský poloostrov	Homiochlorfylní	sacharóza ↑, rafinóza ↓, galaktinol ↓	(Müller et al., 1997)
<i>Haberlea rhodopensis</i>	Gesneriaceae	Balkánský poloostrov	Homiochlorfylní	sacharóza ↑, rafinóza ↓, galaktinol ↓	(Moyankova et al., 2014)
<i>Lindernia brevidens</i>	Linderniaceae	jižní Afrika	Homiochlorfylní	sacharóza ↑, oktulóza ↓	(Phillips et al., 2008)
<i>Craterostigma pumilum</i>	Linderniaceae	vých. Afrika, jih Arabského poloostrov.	Homiochlorfylní	sacharóza ↑, oktulóza ↓, stachyóza ↓	(Egert et al., 2015)
<i>Craterostigma agnewi</i>	Linderniaceae	jižní Afrika	Homiochlorfylní	sacharóza ↑, oktulóza ↓, stachyóza ↓	(Egert et al., 2015)
<i>Craterostigma plantagineum</i>	Linderniaceae	jižní a vých. Afrika, Jemen	Homiochlorfylní	sacharóza ↑, oktulóza ↓, stachyóza ↓	(Egert et al., 2015)
<i>Myrothamnus flabellifolia</i>	Myrothamnaceae	jižní Afrika	Homiochlorfylní	sacharóza ↑, trehalóza ↑	(Moore et al., 2007)
<i>Sporobolus stapfianus</i>	Poaceae	jižní a vých. Afrika, Jemen	Homiochlorfylní	sacharóza ↑, polyoly ↑, gamaglutamyl AK ↑, asparagin ↑, arginin ↑	(Whittaker et al., 2001) Oliver et al., 2011)
<i>Selaginella lepidophylla</i>	Selaginaceae	USA a Mexiko	Homiochlorfylní	polyoly ↑, gamaglutamyl AK ↑	(Yobi et al., 2012)

Tabulka 1 –Výčet nejprostudovanějších rostlin tolerujících vysychání. V předposledním sloupci jsou u každé rostliny zmíněny látky, které jsou v rostlině silně zastoupené a během dehydratace či rehydratace dochází ke změnám jejich obsahu. ↑ šipka značí nárůst množství dané látky během dehydratace a ↓ šipka naopak pokles.

Zásobní roli škrobu u rodu *Craterostigma* zastává oktulóza (viz níže), jejíž množství během dehydratace klesá, a naopak množství sacharózy roste. Během rehydratace dochází naopak k syntéze oktulózy a úbytku sacharózy (Egert et al., 2015). Zvláštní je, že během dehydratace v mladých listech *C. plantagineum* nedocházelo k úbytku oktulózy, ale obsah sacharózy narůstal. Vědci zjistili, že důvodem je transport sacharózy ze starých listů, které ztrácejí svou schopnost tolerance a postupně umírají (Norwood et al., 1999). Tuto možnost recyklace využívají i jiné rostliny, jako např. *S. stapfianus* (Whittaker et al., 2001). U *C. plantagineum* spoluvytváří zásoby sacharózy i přeměna ze stachyózy - jednoho ze sacharidů RFO, který je skladován v kořenech a během dehydratace je transportován do listů a přeměněn na sacharózu (Norwood et al., 2003).

Vědci zjistili, že důležitým faktorem není jen absolutní množství sacharidů v rostlině, ale i jejich poměr, například poměr sacharózy ku hexózám. Ten se u *H. rhodopensis* zvyšuje na rozdíl od její příbuzné *C. eberhardtii*, která není tolerantní vůči vysychání (Djilianov et al., 2011). Právě zvětšující se poměr sacharózy ku fruktóze funguje jako signál v případě nedostatku vody, na který pak mohou zareagovat ostatní mechanismy související s ochranou rostliny před vysycháním (Weber et al., 1995).

Pro rostlinu je velice důležité si během dehydratace vytvořit velké zásoby sacharózy, aby v případě rehydratace mohla tyto zásoby mobilizovat a díky tomu obnovit všechny struktury v dehydratované rostlině (Norwood et al., 2003). Sacharóza je právě tím sacharidem, který lze rychle mobilizovat a rychle použít jako zdroj energie a uhlíku během rehydratace. To je zřejmě důvod, proč i přesto, že ve řadě vlastností jí předčí jiné sacharidy, rostliny sacharózu stejně hromadí nejvíce. Příkladem je *M. flabellifolia*, který hromadí trehalózu i sacharózu, i když trehalóza je mnohem lepším stabilizátorem membrán (Drennan et al., 1993).

#### 4.1.2 RFO a galaktinol

Mezi cukry rafinóзовé řady (RFO) patří rafinóza, stachyóza a verbaskóza. Tyto sacharidy nalezneme jak ve vegetativních pletivech rostlin tolerujících vysychání, tak v semenech běžných rostlin, kde chrání buňky embryí během vysychání při maturaci (Horbowicz et al., 1995). Po chemické stránce jsou RFO deriváty sacharózy, na které jsou vázány alfa 1→4 glykosidickou vazbou galaktosylové zbytky. Základním stavebním kamenem pro syntézu RFO je galaktinol. Ten vzniká za pomoci galaktinolsyntázy (GolS) z UDP-galaktózy a myo-inositolu (Schneider and Keller, 2009). Právě aktivita tohoto enzymu je stejně jako hladina sacharidů v rostlině závislá na RWC. Příkladem může být *X. viscosa* a *C. plantagineum*, u kterých pokud mírně klesne RWC (na 90 %), tak GolS dosáhne maxima své

aktivity. Tento časný krok je důležitý k vytvoření dostatečných zásob galaktinolu pro tvorbu RFO. Při další dehydrataci rapidně klesá aktivita GolS a začne vzrůstat až během rehydratace, aby došlo k vytvoření zásob (Peters et al., 2007; Egert et al., 2015). Obsah galaktinolu během dehydratace klesá, jak je využíván k syntéze RFO (Müller et al., 1997; Peters et al., 2007). Během rehydratace dochází ke zvýšení hladiny myo-inositolu a vysoká je i aktivita GolS. Proto je tedy zvláštní, že ani po sedmi dnech regenerace, kdy už je obsah vody v rostlině v normálu, nedojde ke zvýšení hladiny galaktinolu. Tento fakt zřejmě poukazuje na využívání myo-inositolu k jiným účelům (Peters et al., 2007). Předpokládá se jeho využití při opravě poničených struktur po dehydrataci, jelikož v rostlinách normálně spoluvytváří komponenty buněčné stěny a účastní se biogeneze membrán (Loewus and Murthy, 2000).

Velké množství rafinózy bylo nalezeno právě u rostlin s tolerancí vůči vysychání jako je *H. rhodopensis*, která na rozdíl od své příbuzné netolerantní *C. eberhardtii* obsahuje dvacetkrát více rafinózy. Tento rozdíl se ještě zvětší, když dojde u *H. rhodopensis* k nárůstu obsahu rafinózy v pozdní fázi dehydratace (Djilianov et al., 2011). Rafinóza zastává v rostlinách zřejmě různé funkce. Buď slouží jako zásobárna uhlíku a během dehydratace dochází k snížení jejího obsahu, nebo slouží jako osmoprotektant, a naopak dochází k jejímu hromadění během dehydratace. Zásobní funkci plní například u rostlin z čeledi Gesneriaceae (*H. rhodopensis*, *R. nathalie*, *R. myconi*) (Müller et al., 1997; Djilianov et al., 2011). Snížení obsahu rafinózy během dehydratace nastává kvůli její přeměně na sacharózu. Zhruba jedna pětina sacharózy u *R. nathaliae* vznikne tímto způsobem (Müller et al., 1997). Její funkce jako osmoprotektantu byla pozorována u *X. viscosa*, kde docházelo k její akumulaci během dehydratace, která začala už velice brzy, a sice při 70 % RWC. Nejvíce rafinózy bylo u této rostliny nalezeno při 5 % RWC a následně během rehydratace její hladina klesala (Peters et al., 2007). Rafinóza dokáže plnit funkci osmoprotektantu díky svým jedinečným vlastnostem. Jednou z nich je schopnost stabilizovat proteiny a membrány během dehydratace (Crowe et al., 1998).

Rafinóza se také podílí na vitifikaci buněčného obsahu (Schebor et al., 2010), tedy extrémnímu zahuštění buněčného obsahu odlišnými látkami (zde je to rafinóza a sacharóza) (Bernallugo and Leopold, 1995). Tento jev i přes nízký obsah vody v buňce zabraňuje krystalizaci látek (například sacharózy) uvnitř buňky, což by mělo za následek mechanické narušení buněčných membrán. Také jelikož je roztok tak viskózní, neumožňuje průběh reakcí, které závisejí na difuzi, proto je tento ideální pro dehydratované rostliny, které potřebují procesy v buňce zpomalit a jen čekat na rehydrataci (Buitink and Leprince, 2004). U *X. viscosa* zabraňuje rafinóza krystalizaci molekul sacharózy, které napomáhají vitifikaci (Koster, 1991).

Důležitým faktem není jen absolutní obsah těchto dvou sacharidů v rostlině ale i jejich poměr, který je právě u *X. viscosa* mnohem menší než u jiných vysychavých rostlin. V předchozích studiích na jiných rostlinách (*H. rhodopensis*, *R. nathalie*, *R. myconi*, *C. plantagineum*) neklesl poměr sacharóza:rafinóza pod 5,1:1 (Bianchi et al., 1991; Müller et al., 1997; Ghasempour et al., 1998), avšak u *X. viscosa* byl poměr 1,3:1 (Peters et al., 2007). Důvodem může být právě funkce rafinózy v *X. viscosa*, která není pouze zásobní ale i osmoprotektivní, a kvůli více funkcím, které zde rafinóza plní, se liší i poměr těchto dvou sacharidů (Peters et al., 2007).

Stachyóza jakožto další z cukrů rafinózové řady byla ve velkém množství nalezena u rodu *Craterostigma*. U druhů *Craterostigma agnewi* a *C. plantagineum* tvořila až polovinu RFO a důvodem je její vysoký výskyt ve floémové šťávě (Egert et al., 2015). U posledně zmíněného druhu *C. plantagineum* bylo objeveno velké množství stachyózy i v kořenech. Plní zde zřejmě zásobní funkci podobně jako oktulóza v listech. Stachyóza tvoří v kořenech *C. plantagineum* více než 40 % suché hmotnosti pletiva. Během dehydratace sice její množství klesá na úkor rostoucího obsahu sacharózy, ale stejně jí je i v hydratovaných kořenech nejvíce ze všech sacharidů (Norwood et al., 2003). Štěpením stachyózy  $\beta$ -galaktosidázou vzniká sacharóza a galaktóza (Egert et al., 2015). Během dehydratace klesá celkový obsah sacharidů v kořenech, a to na polovinu. Důvodem je jejich transport do jiných pletiv jako jsou nejmladší části růžice, kde není dostatek sacharidů kvůli neprobíhající fotosyntéze. Avšak už během prvních hodin po rehydrataci je část zásob do kořenů vrácena (nárůst množství u všech cukrů) (Norwood et al., 2003).

Verbaskóza má největší molekulu ze všech tří zmíněných RFO. To je možná důvod, proč jí rostliny ve srovnání se stachyózou tolik nevyužívají jako transportní sacharid. Například u *X. viscosa* či *C. plantagineum* tvoří pouze minoritní část obsahu RFO (Peters et al., 2007; Egert et al., 2015). Jsou však i výjimky jako je *Craterostigma pumilum* nebo *C. agnewi*, které na rozdíl od svého příbuzného *C. plantagineum* hromadí během dehydratace více verbaskózy než rafinózy. U *C. pulmilum* je to dokonce nejvíce zastoupený sacharid z RFO (Egert et al., 2015).

### 4.1.3 Oktulóza

Oktulóza je osmiuhlíkatý monosacharid, který se nachází v rostlinách v osmi izoformách. Rostliny tento sacharid hromadí v různých částech těla od listů až po plody (více o oktulóze v review Zhang and Bartels, 2018). Velké množství tohoto sacharidu, konkrétně jeho izoformy D-glycero-D-ido-oktulózy, nalezneme u rostlin z čeledi Linderniaceae. Právě v této čeledi nalezneme rostliny tolerantní vůči vyschnutí, a to rod *Craterostigma* a druh *Lindernia brevidens* (Bianchi et al., 1991; Phillips et al., 2008; Egert et al., 2015). Nízká koncentrace

oktulózy byla nalezena ještě u příbuzné *Lindernia racemosa*, která však mezi rostliny tolerující vysychání nepatří (Phillips et al., 2008). Rozdílné množství oktulózy nalezneme i u druhů rodu *Craterostigma*. Například *C. pumilum* obsahuje v dehydratované formě (5 % RWC) trojnásobek obsahu oktulózy který nalezneme u *C. plantagineum*. *C. agnewi* obsahuje jen o něco méně oktulózy než *C. plantagineum* (Egert et al., 2015).

Vysoká koncentrace oktulózy (89 % hmotnosti sušiny) se v *C. plantagineum* nacházela pouze pokud byla rostlina hydratovaná. S klesajícím podílem vody docházelo i k poklesu hladiny oktulózy a ve chvíli, kdy byla rostlina maximálně dehydratovaná, oktulózy zde bylo velice málo. Opačný trend můžeme vidět u sacharózy, které bylo na začátku málo a během dehydratace její hladina vzrostla na hodnotu srovnatelnou s hodnotou pro oktulózu v hydratovaném stavu (90 % hmotnosti sušiny). Z toho se dá usoudit, že zde oktulóza slouží jako zásobní molekula, která je při poklesu obsahu vody přeměněna na sacharózu (Bianchi et al., 1991). Stejný trend byl pozorovaný u *L. brevidens* (Phillips et al., 2008). Oktulóza je tedy sacharidem hydratovaných rostlin a sacharóza dehydratovaných. Tento fakt potvrzuje i experiment, kdy *C. plantagineum* přidali exogenně sacharózu a ta se následně všechna přeměnila na oktulózu. Pokud však sacharózu přidali během dehydratace, žádný nárůst obsahu oktulózy nenastal (Zhang and Bartels, 2015).

V *C. plantagineum* se sice nachází škrob, ale množství uloženého uhlíku v něm je minimální oproti tomu uloženému do oktulózy. Stejně jako u škrobu množství oktulózy kolísá během 24 h cyklu, kdy v noci je oktulóza zpracovávána a přes den zase syntetizována. Její množství se tedy řídí cirkadiálními rytmy. Stejný trend je i u enzymů které se podílejí na syntéze oktulózy, kdy jejich největší aktivita je během dne a nejnižší v noci (Norwood et al., 2000). Avšak aktivita těchto enzymů, které katalyzují běžné reakce pentózofosfátového cyklu, se liší od transketoláz, které mají na starost syntézu oktulózy ve stresových situacích. U transkriptů těchto transketoláz dochází k nárůstu transkripce během dehydratace, na rozdíl od těch běžných, u kterých k navýšení nedochází (viz kapitola Transketolázy) (Zhang et al., 2016).

*C. plantagineum* na dlouhou vzdálenost netransportuje oktulózu, ale využívá pro tento účel RFO. Takže i přesto, že ve floémové šťávě v řapících *C. plantagineum* bylo nalezeno velké množství oktulózy, v kořenech se skoro žádná nevyskytuje. Oktulóza tedy musí být transformována, zřejmě na stachyózu a až pak je transportována do kořenů (Norwood et al., 2000).

U *C. plantagineum* se ukázal také jistý rozdíl ve vzorci ukládání oktulózy v různě starých rostlinách a v částech růžice. Největší množství oktulózy nalezneme u mladých listů, které se nacházejí uvnitř růžice. Zhruba o 25 % méně oktulózy nalezneme v mladých listech na



okraji růžice. Toto rozložení ukazuje, že oktulóza je směřována do listů uvnitř růžice, které jsou mladé a v případě dehydratace jsou překryty vnějšími listy (viz výše). Pro rostlinu je perspektivnější zachránit mladé listy uprostřed než ty staré na okrajích. Dobře je to patrné u hladovějící rostliny, která na okrajích růžice měla nejmenší množství oktulózy ze všech, a naopak uvnitř růžice bylo množství dvakrát větší. Hladovějící rostlina se musí rozhodnout, kam oktulózu uloží, jelikož bylo zjištěno, že listy s nízkým obsahem této látky ztrácejí schopnost tolerance vůči vyschnutí. Důvodem je důležitá funkce oktulózy jako zhášedce ROS při navození tolerance. Ze starých listů, které slouží jen jako ochrana mladých a během rehydratace už nejsou obnovovány, je oktulóza předistribována do mladých uprostřed růžice. (Zhang and Bartels, 2015). Tuto strategii redistribuce sacharidů volí i jiné vysychavé rostliny jako je například *S. stapfianus* (Martinelli et al., 2007) či *E. nindensis* (Willigen et al., 2001), jejichž mladé listy jsou tolerantní na rozdíl od těch starých. Zvláštností jsou staré rostliny *C. plantagineum*, které obsahovaly méně oktulózy než mladé rostliny, ale nelišilo se její množství uvnitř a vně růžice (Zhang and Bartels, 2015).

#### 4.1.4 Trehalóza

Trehalóza je neredukující rozpustný disacharid, který se skládá ze dvou glukózových zbytků spojených vazbou 1,1. Vyskytuje se napříč organismy, kde plní různé spektrum funkcí. Například ve sporách hub, u kvasinek, hlístic či želvušek napomáhá přežít extrémní podmínky, v kterých se nacházejí. Tuto funkci může plnit díky své schopnosti stabilizovat membrány, lipozómy a proteiny. Nejdříve se myslelo, že rostliny trehalózu vůbec nemají. Ukázalo se, že tomu tak není a že trehalóza se u rostlin nachází v malých množstvích a slouží jako signální molekula (více o trehalóze v review Elbein et al., 2003). Avšak jsou rostliny, ve kterých se nachází ve větším množství, mezi takové rostliny patří např. *M. flabellifolia*. Původně se myslelo, že trehalóza obsažená v rostlině je produktem hub a bakterií, které rostou uvnitř listů *M. flabellifolia*. Od této představy se upustilo, jelikož tak velké množství trehalózy obsažené v listech by nemohlo být vytvořeno mikroorganismy vyskytujícími se v malých množstvích. Trehalóza je totiž nejzastoupenějším sacharidem v rostlině, pokud je tedy rostlina hydratovaná. Během dehydratace dojde k dalšímu nárůstu jejího množství, což pozorujeme i u sacharózy a v dehydratované rostlině jsou tyto látky v poměru 1:1 (Moore et al., 2007). Zde kromě funkce stabilizace membrán napomáhá sacharóze k vitifikaci buněčného obsahu (Drennan et al., 1993). Trehalóza totiž tvoří krystaly tak snadno jako právě sacharóza (Williams and Leopold, 1989).

Tráva *Tripogon lolliformis* obsahuje také značné množství trehalózy, které roste

paralelně s klesajícím obsahem vody. U této rostliny byla nalezena funkce trehalózy jako spouštěče autofágie. Autofágie je v situaci, kdy rostlina nemá dostatek živin, výborné řešení k recyklaci látek (Williams et al., 2015). V malých koncentracích nalezneme trehalózu i u jiných vysychavých druhů jako je *E. nindensis*, *S. stapfianus* (Ghasempour et al., 1998) nebo *H. rhodopensis* (Moyankova et al., 2014). A je možné, že trehalóza zde slouží primárně jako signální molekula.

Největší množství trehalózy mezi rostlinami tolerujícími vysychání nalezneme u rodu *Selaginella* (Liu et al., 2008; Yobi et al., 2012). Proto se dříve myslelo, že trehalóza je tou hlavní látkou, díky které rod *Selaginella* toleruje vysoký stupeň dehydratace. Avšak srovnávací studie mezi příbuznými druhy *Selaginella lepidophylla* (vysychání tolerující) a *S. moellendorffii* (k vysychání citlivá) překvapivě ukázaly vyšší koncentraci trehalózy u druhu nepodstupujícího vysychání. Trehalóza tedy není tou látkou, díky které rostlina dokáže přežít vyschnutí (Yobi et al., 2012). Tento fakt potvrzuje studie na kvasince *Sacharomyces cerevisiae*, která dokáže přežít vyschnutí a zároveň hromadí ve velkém množství trehalózu. Pokud jí však byla narušena syntéza trehalózy, tak i přes to dokázala vyschnutí přežít (Ratnakumar and Tunnacliffe, 2006). U *S. lepidophylla* patří polyoly (viz. níže) mezi soubor látek, které se podílejí na toleranci vůči vyschnutí tohoto druhu oproti jeho příbuznému *S. moellendorffii*. Yobi et al. (2012) se domnívají, že na toleranci se podílí i velké množství neidentifikovaných látek, které se vyskytovaly u obou druhů, ale u toho tolerantního bylo jejich množství až stonásobně vyšší.

#### 4.1.5 Polyoly

Polyoly jsou vícesytné alkoholy, které plní v rostlinách tolerujících vysychání mimo jiné osmoprotektivní funkci. Velký obsah polyolů a jejich následné hromadění bylo objeveno u *S. lepidophylla*. Právě tyto látky zřejmě umožňují *S. lepidophylla* přežít dehydrataci, jelikož její příbuzná *S. moellendorffii*, která netoleruje vysychání, obsahuje několikanásobně méně polyolů. Značné rozdíly mezi těmito druhy byly v obsahu xylitolu, sorbitolu, arabitolu a erythritolu, a to jak u dehydratovaných, tak u hydratovaných rostlin (Yobi et al., 2012). Výskyt cukerných alkoholů vede ke zvýšení povrchového napětí (Kaushik and Bhat, 1998), které přispívá k přednostní hydrataci proteinů ohrožených denaturací (Xie and Timasheff, 1997). Právě xylitol a sorbitol, které se v *S. lepidophylla* nacházely v největším množství (Yobi et al., 2012), se ukázaly jako nejlepší stabilizátory proti denaturaci (vysokou teplotou) hexokináz A u kvasinek (Tiwari and Bhat, 2006). Dále polyoly (hlavně glycerol) dokáží vázat vodu pomocí vodíkových můstků (Kataoka et al., 2011) a napomáhají tak pomalejší dehydrataci. Díky tomuto zpomalení má rostlina více času na syntézu proteinů a jiných látek potřebných k ochraně před

nedostatkem vody (Yobi et al., 2012).

U výše zmíněných polyolů došlo během dehydratace u *S. lepidophylla* k poklesu jejich množství. Naopak nárůst můžeme pozorovat u manitolu, jehož množství vzrostlo u obou druhů. Důvodem je možné využití manitolu jako signální látky při přicházejícím stresu (Yobi et al., 2012). Tento typ signalizace byl objeven u *Arabidopsis*, kde při stresu došlo ke zvýšení hladiny manitolu. Ten spustil zvýšenou expresi genů kódujících proteiny, které následně pomohly rostlině přežít onen stres. *Arabidopsis*, ale mannitol neprodukuje a jeho produkce nebyla u tohoto druhu prokázána, k jeho syntéze bylo dosaženo vložением daného genu pro syntézu, z tohoto důvodu není jasné, do jaké míry je tento jev univerzální (Chan et al., 2011). Mezi další polyoly u *S. lepidophylla*, jejichž množství během dehydratace stoupl, je myo-inositol (Yobi et al., 2012). V menších množstvích tento polyol nalezneme i u jiných vysychavých rostlin jako např. u *X. viscosa*, kde ale jeho obsah během dehydratace klesá, jelikož je spotřebováván na syntézu RFO (Peters et al., 2007). RFO v *S. lepidophylla* nebyly nalezeny, takže jeho nárůst zde souvisí s jinou funkcí. Zřejmě zde slouží jako zhášec ROS, v čem je velice účinný. Tuto funkci zde plní i jiné polyoly jako je manitol nebo sorbitol (Yobi et al., 2012).

Rozdílný obsah některých polyolů byl nalezen *S. stapfianus* a *S. pyramidalis*, kde jeden z druhů je tolerantní a druhý naopak netolerantní vůči vysychání. Tolerantní *S. stapfianus* obsahoval několikanásobně vyšší množství arabitolu, erythritolu a manitolu (Oliver et al., 2011). Tento další příklad jen potvrzuje, že polyoly jsou látkami nezbytnými k toleranci vůči vysychání u některých druhů (Yobi et al., 2012).

## 4.2 Aminokyseliny

Aminokyseliny plní v rostlinách mnoho funkcí, nejdůležitější je jejich funkce jako základních stavebních kamenů proteinů. Dále kromě antioxidační funkce (viz kapitola Antioxidační systémy), můžou aminokyseliny sloužit jako osmoprotektanty nebo jako zásobárny dusíku a uhlíku. Tyto funkce byly potvrzeny u *S. stapfianus*, kde mezi nejzastoupenějšími aminokyselinami v dehydratované rostlině patří arginin a hlavně asparagin. Tyto dvě aminokyseliny tvoří 50 % všech aminokyselin v dehydratovaném stavu. Vysoký je i rozdíl v množství mezi *S. pyramidalis* (netolerantní) a *S. stapfianus* (tolerantní), kde druhý druh obsahuje několikanásobně větší množství těchto aminokyselin. Během prvních fází dehydratace u *S. stapfianus* dochází k prudkému poklesu množství těchto aminokyselin, které zůstávají na nízké úrovni, dokud neklesne RWC pod 35 %. Pak dochází k opětovnému navýšení, kdy se obsah aminokyselin vrátí na původní úroveň (Oliver et al., 2011). Tyto

aminokyseliny jsou důležitými zásobárnami dusíku a uhlíku, a tato jejich vlastnost byla pozorována i u jiných rostlin či semen, kde slouží jako rychle využitelná zásoba během růstu (Fait et al., 2006). Tuto funkci zřejmě plní i u *S. stapfianus*, a proto jejich množství vzroste během největší dehydratace, důvodem je připravená zásoba dusíku a uhlíku na regeneraci během rehydratace (Martinelli et al., 2007). Oliver et al. (2011) se domnívají, že asparagin zde plní i roli osmoprotektní. Pokles obsahu v počáteční fázi dehydratace je zřejmě způsoben transportem těchto aminokyselin do kořenů, kde jsou chráněny před dopady stresu. U starých listů už nedochází k nárůstu množství v pozdní fázi dehydratace ani argininu, ani asparaginu. Rostlina totiž tyto staré listy s největší pravděpodobností nebude rehydratovat, není tedy třeba, aby v nich byla zásoba aminokyselin na syntézu proteinů (Martinelli et al., 2007). Důvod, proč je *S. stapfianus* tolik zaměřen na hromadění aminokyselin, není jen jeho ochrana proti nedostatku vody (Oliver et al., 2011), ale i jeho výskyt v místech s nízkým obsahem dusíku (Burke, 2002). Tento vůči vysychání tolerantní druh také dokáže získávat snadněji dusík z půdy než jeho vůči vysychání netolerantní příbuzný *S. pyramidalis* (Oliver et al., 2011).

Arginin a asparagin patří mezi aminokyseliny nejvíce zastoupené u *S. stapfianus*, ale u *S. lepidophylla* patří mezi aminokyseliny, které rostlina vůbec nehromadí (Yobi et al., 2012; Oliver et al., 2011). Jedním z důvodů je zřejmě fakt, že *S. lepidophylla* neroste v místech s nízkým obsahem dusíku, a tak svým metabolismem nespolehá na tyto dusíkaté aminokyseliny. U *S. lepidophylla* dochází k hromadění jiných aminokyselin jako je karnitin nebo betain. Během dehydratace dochází jak u vysychavého (*S. lepidophylla*), tak u nevysychavého (*S. moellendorffii*) vranečku k hromadění karnitinu. Jedná se o derivát aminokyseliny, zřejmě důležitý u vraneček tolerantních vůči vyschnutí, jelikož *S. lepidophylla* ho během dehydratace hromadila v signifikantně vyšším množství (Yobi et al., 2012). Osmoprotektní funkce karnitinu (Cánovas et al., 2007) stejně jako betainu (Miller and Ingram, 2007) byla v minulosti prokázána u *E.coli*. Jak u *S. lepidophylla* tak u *S. stapfianus* došlo během dehydratace k nárůstu množství aromatických aminokyselin jako je tryptofan, acetyltryptofan, či fenylalanin, jež jsou prekurzory důležitých primárních i sekundárních metabolitů (Oliver et al., 2011; Yobi et al., 2012).

Jsou však i druhy rostlin tolerujících vysychání, které nespolehají na hromadění aminokyselin během dehydratace. Mezi takové patří například *H. rhodopensis* nebo *R. serbica*, u kterých vůbec nedochází k nárůstu prolinu, který je u jiných rostlin tolerujících vysychání důležitou součástí mechanismu tolerance. Jediný produkt související s aminokyselinami, u kterého u *H. rhodopensis* došlo během dehydratace k nárůstu je 3-aminoizomáselná kyselina (Moyankova et al., 2014). Jedná se o produkt štěpení aminokyselin a často se nachází

v semenech při jejich klíčení nebo hladovění vegetativních částí. V těchto případech dochází k rozkladu aminokyselin, aby mohl být využit dusík a uhlík, který se v nich nachází (Diebold et al., 2002). K tomuto procesu tedy zřejmě dochází i zde, jelikož dehydratovaná rostlina potřebuje tyto prvky na syntézu proteinů, které chrání buněčné struktury (Moyankova et al., 2014).

## 5 Proteiny syntetizované v reakci na nedostatek vody

Během dehydratace byl pozorován u některých proteinů pokles jejich syntézy či aktivity a u jiných tomu bylo naopak. Úbytek aktivity až rozklad byl pozorovatelný u některých proteinů souvisejících s fotosyntézou, která během dehydratace neprobíhá. Příkladem může být rozklad enzymu RuBisCO ve starých listech, jehož aminokyseliny jsou využity k syntéze jiných, během dehydratace potřebných proteinů (více kapitola Aminokyseliny) (Martinelli et al., 2007). Úbytek jak v množství, tak aktivitě byl také pozorován u transketoláz nesouvisejících se syntézou oktulozy (viz níže). Naopak zvýšená aktivita byla zřejmá u antioxidantních enzymů, či jiných peptidových antioxidantů jako je například glutation, které se podílejí na zhášení ROS (více v kapitole Antioxidantiční systémy). Rostliny se připravují během dehydratace na dlouhé období, kdy bude nedostatek živin a během následné rehydratace musí být připraveny rychle zmobilizovat zásoby. Proto během dehydratace zvýšily svou aktivitu enzymy související s glukogenezí (aldózy a GAPDH (glycerol-3-fosfátdehydrogenáza)), která slouží k vytvoření zásob (Norwood et al., 2003). Největší hromadění však pozorujeme u LEA proteinů, chránících buněčné struktury během sucha (viz níže).

### 5.1 Transketolázy

Transketolázy jsou enzymy, které v rostlinách zastávají funkci v Calvinově a pentózafosfátovém cyklu, kde dochází k syntéze sacharidů, které jsou dále využívány v rostlině (Racker, 1961). U *C. plantagineum* byly objeveny tři izoformy těchto enzymů (TKT3, TKT7, TKT10). Během rehydratace dochází k prudkému zvýšení transkriptů *tkt7* a *tkt10* v listech. Naopak transkripce *tkt3* je konstantní jak v listech, tak v kořenech (Bernacchia et al., 1995). Rozdílný je i výskyt v samotné buňce, kde se TKT3 nachází v chloroplastech, zatímco TKT7 a TKT10 jsou enzymy cytosolické. Právě tyto enzymy ani neobsahují peptidovou transportní sekvenci do chloroplastu, kterou mají ostatní transketolázy včetně TKT3 (Willige et al., 2009).

Všechny tyto enzymy dokáží stejný přenos ketoskupiny z daného donoru na akceptor, ale TKT7 a TKT10 navíc zvládnou katalyzovat vznik oktuloza-8-fosfátu. Akceptor zde tvoří

glukóza-6-fosfát a donor  $\beta$ -hydroxypyruvát nebo fruktóza-6-fosfát. Předpokládá se, že zde existuje nějaký typ fosfatázy, který odebere oktulóze-6-fosfát právě fosfát (Zhang et al., 2016). Důvodem předpokladu je výskyt podobných fosfatáz například u sedoheptulózy-7-fosfátu (Ceusters et al., 2013).

Zvýšená transkripce *tkt7* a *tkt8* během rehydratace u rostlin tolerujících vyschnutí (Bernacchia et al., 1995), která koreluje s nárůstem koncentrace oktulózy v rostlině (Phillips et al., 2008), naznačuje společně se schopností těchto enzymů vytvářet oktulózu-8-fosfát, že tyto transketolázy se podílí na tvorbě oktulózy. Otázkou jen zůstává, jestli je tento děj reverzibilní nebo jestli pro tvorbu sacharózy existuje jiná dráha doposud neznámá. Jiná situace je u TKT3, která zřejmě plní funkci pouze v pentózofosfátovém a Calvinově cyklu jako to dělají jiné izoformy transketoláz u netolerantních druhů rostlin. Důvodem je jejich neschopnost katalyzovat syntézu oktulózy (Zhang et al., 2016) a výskyt v chloroplastech (Bernacchia et al., 1995).

Zajímavá je i podobnost těchto tří proteinů, TKT7 a TKT10 jsou si strukturně podobné na 93 %, na druhou stranu protein TKT3 má s proteiny TKT7 a TKT10 společného jen 80 % aminokyselin, což značí jeho dřívější vývojové odpojení (Bernacchia et al., 1995). Pokud se podíváme na fylogenetický strom rostlinných transketoláz, právě skupina těchto tří enzymů se časně odděluje od hlavní větve transketoláz nevysychavých rostlin. A právě TKT3 je nejbliž k oné velké skupině. U rostlin příbuzných *C. plantagineum*, konkrétně *L. brevidens* a *L. racemosa* byly nalezeny homology genů výše zmíněných transketoláz. Je zde i odpovídající rozdělení ve fylogenetickém stromu kde homology *tkt7* a *tkt10* jsou nejméně příbuzné všem transketolázám rostlin netolerujících vysychání a homology *tkt3* jsou naopak bližší. Předpokládá se, že stejný tento způsob syntézy oktulózy probíhá i u příbuzných druhů rostlin, u kterých byl zjištěn výskyt oktulózy (Zhang et al., 2016).

## 5.2 LEA proteiny

Největší skupinou proteinů syntetizovaných při dehydrataci u rostlin jsou hydrofiliny, tedy proteiny s indexem hydrofobicity větším než jedna a obsahující více než šest procent glycinu. Z těchto proteinů mají největší zastoupení tzv. LEA proteiny (ang. late embryogenesis abundant proteins, tedy volně přeloženo jako proteiny vyskytující se ve velkém množství ve fázi pozdní embryogeneze), které se nacházejí napříč taxony (příbuzné najdeme např. u *Escheria coli*) (Garay-Arroyo et al., 2000). LEA proteiny se dělí do několika skupin, které se liší jak svým složením, tak lokalizací v rámci (pletiv) rostliny. Tyto proteiny byly poprvé

objevy u semen, kde dochází k jejich největšímu hromadění během pozdní fáze jejich zrání, proto také jejich pojmenování (Battaglia et al., 2008). LEA umožňují semenům přežít dlouhé období bez vody. Tato jejich schopnost je využita i ve vegetativních částech vysychavých rostlin, kde byly také nalezeny (Illing et al., 2005).

LEA proteiny se nacházejí jak u rostlin tolerantních vůči vyschnutí, tak u těch netolerantních. Jejich množství se však liší a je závislé na obsahu vody v rostlině. Jak bylo výše řečeno, LEA proteinů je několik skupin, ty se liší svou lokalizací, funkcí a zřejmě i svým podílem pomoci při vysychání. Intenzivně se studuje mRNA *LEA-like 11-24*, kterou nalezneme jak u rostlin tolerantních, *C. plantagineum* nebo *L. brevidens*, tak u rostlin netolerantních k vyschnutí, *L. subracemosa*. Všechny tyto rostliny patří do stejné čeledi, a přece je u nich vzorec transkripce mRNA odlišný. Během dehydratace dochází k nejintenzivnější transkripci u *C. plantagineum* a nejméně intenzivní u *L. subracemosa* (Juszczak and Bartels, 2017). Z předešlé studie (Ataei et al., 2016) vyšlo najevo, že důvodem jsou speciální cis-elementy v sekvencích promotorů právě těchto LEA proteinů. U vůči vysychání tolerantních druhů rostlin probíhá na mRNA pro LEA proteiny intenzivní tvorba polyzómů. U výše zkoumaných rostlin sledujeme korelaci tvorby polyzómů a hromadění transkriptů, kde *C. plantagineum* tvoří polyzomy nejvíce a *L. subracemosa* nejméně. Tento fakt naznačuje nejen důležitost hromadění transkriptů během dehydratace, ale i způsob jejich transkripce. Na polyzómech jsou transkribovány i jiné transkripty jako mRNA proteinů chlorofylové degradační kaskády. U *C. plantagineum* a *L. brevidens* sledujeme během dehydratace negativní korelaci akumulace transkriptů této kaskády i LEA transkriptů a množství chlorofylu v rostlině, které se ale udržuje na úrovni dostatečné k následné rehydrataci rostliny. Naopak u *L. subracemosa* je korelace pozitivní (Juszczak and Bartels, 2017).

Během dehydratace zřejmě dochází k degradaci mRNA, to dokazuje, proč nebyly v konečné fázi dehydratace u *L. subracemosa* nalezeny transkripty kódující LEA, EDR1 (viz níže) či enzymy chlorofylové degradační kaskády. Avšak u tolerantních druhů *C. plantagineum* a *L. brevidens* se tyto transkripty našly v hojném počtu. Důvodem bude zřejmě intenzivní transkripce mRNA na polyzómech, kde je stabilizována a nedochází k její degradaci (Juszczak and Bartels, 2017). U kvasinek dochází k navázání iniciačních translačních faktorů na mRNA, kterou chrání před degradací a udržují stálost translace (Huch and Nissan, 2014). Stejně tomu bude i u *C. plantagineum*, kde je mRNA navázána k polyzómu iniciačním translačním komplexem, což zabrání degradaci (Juszczak and Bartels, 2017).

*EDR1* (early dehydration responsive) jsou taxonomicky restriční geny, které byly nalezeny u všech rostlin z čeledi *Linderniaceae*. Společně s LEA proteiny jsou lokalizovány i

v plastidech rostlin. Nárůst jejich množství a transkripce mRNA na polyzómech během dehydratace u tolerantních rostlin poukazuje na jejich funkci při ochraně fotosyntetického aparátu. Ze zkoumaných mRNA pro LEA proteiny se v plastidech *C. plantagineum* a *L. brevidens* nachází *LEA-like 13-62* a *LEA3 3-06*. Avšak tyto transkripty nebyly nalezeny u netolerantního druhu *L. subracemosa*, a to ani v dehydrovaném ani v hydratovaném stavu. Co se týče mRNA EDR1 proteinu, u netolerantního druhu její množství klesá při dehydrataci, naopak u tolerantních roste (Juszczak and Bartels, 2017).

Mezi další LEA proteiny hromaděné během dehydratace patří u *C. plantagineum* hromaděný protein dsp22, který je vázán na membránu tylakoidů jako součást fotosystému II (PS II). Právě jeho umístění naznačuje, že zde bude plnit funkci ochrany fotosyntetického aparátu. Dále se ukázalo že, tento protein zřejmě váže zeaxantin. Důkazem je vysoká koncentrace tohoto pigmentu ve stejných frakcích s dsp22 při preparativní isoelektrofokusové frakcionaci. Tato vysoká koncentrace byla nalezena u dehydratovaných listů, naopak u hydratovaných nebyl nalezen ani dsp22, ani zeaxantin (Allimillo and Bartels, 2001). Vztah dsp22 a zeaxanthinu byl potvrzen v experimentu za použití dithiothreitolu, což je látka inhibující tvorbu zeaxanthinu (Demmig-Adams, 1990). Když byl tedy dithiothreitol aplikován na rostliny, nedošlo k syntéze zeaxanthinu, tudíž dsp22 protein neměl co vázat a také se nesyntetizoval (Allimillo and Bartels, 2001).

Příbuzné zeaxantin-vázající proteiny nalezneme i u jiných rostlin. Například v etiolizovaném ječmenu, kde jsou syntetizovány v reakci na světelné záření (Krol et al., 1999) nebo u řasy *Dunaliella* jako součást ochranného aparátu proti nadměrnému ozáření (Levy et al., 1993). Dsp22 může mít důležitou roli během vysychání, kdy stabilizuje zeaxantin, zatímco zbytek proteinů vázajících pigmenty je degradován. Přitom zeaxantin chrání proteiny antény PS II (viz kapitola Karotenoidy). Druhé využití dp22 je možná při rehydrataci, kde opět stabilizuje zeaxantin, který chrání PS II než dojde k úplné obnově uspořádání tylakoidů (Allimillo and Bartels, 2001).

Jak bylo už řečeno v kapitole Rostliny tolerující vyschnutí, LEA proteiny napomohly dokázat, že rostliny tolerující vysychání svých vegetativních pletivech znovuobjevily tuto schopnost, kterou využívají v průběhu zrání semen, kde je tato vlastnost široce rozšířena. Konkrétně se jednalo o skupinu LEA 6 proteinů, které jsou důležité během dehydratace. Úbytek vody zřejmě spustí jejich hromadnou syntézu, která slouží k vytvoření kaskády na ochranu proteinů a stabilizaci membrán. Další možnost je transport různých typů LEA proteinů do jednotlivých organel, kde chrání nukleové kyseliny, proteiny a membrány před dehydratací (Illing et al., 2005).



## 6 Závěr

Po prostudování řady studií týkajících se rostlin tolerujících vysychání, jsem došel k jednoznačnému závěru, že rostliny nic “nevěší na jeden hřebík“. Ona vlastnost tolerance je velice komplexní a zahrnuje široké spektrum mechanismů zajišťujících rostlině přežití. Zdá se, že rostliny by se ani nemohly spoléhat pouze na hromadění jedné látky, jelikož před extrémním stresem, který dokáže přežít, by je pouze jedna látka nedokázala ochránit. Rostliny jsou složité organismy s mnoha strukturami a pro každou z nich se hodí jiná látka, která by ji chránila. Na ochranu fotosystémů jsou hromaděny karotenoidy, naopak na ochranu membrán jsou využívány LEA proteiny. Ačkoliv pozorujeme určité trendy, kdy většina rostlin hromadí stejné látky, najde se i mnoho výjimek. Jako nejčastěji a v největším množství hromaděná látka byla zjištěna sacharóza, což není divu kvůli jejímu univerzálnímu využití jak jako osmoprotektantu, zhášeče ROS, tak jako rychle metabolizovatelné zásoby uhlíku a energie. Avšak spolu se sacharózou rostliny hromadí i jiné sacharidy či aminokyseliny, které v součinnosti chrání rostlinu před stresem. Mezi takové můžou patřit látky unikátní pro určité druhy, jako je například oktulóza, nebo látky vyskytující se napříč rostlinnými druhy tolerujícími vyschnutí jako jsou RFO. Rozmanitost hromaděných látek je důležitá například při vitifikaci, kdy by, pokud by v rostlině byla jen sacharóza, došlo k její krystalizaci a mechanickému poničení membrán, avšak díky rafinóze či trehalóze k tomu nedojde.

Ve chvíli, kdy u vysychavých rostlin dojde i k malému úbytku vody, dochází okamžité reakci tak, aby se rostlina dokázala dostatečně připravit na stres, který ji pravděpodobně bude čekat. Samotné akumulace určitých látek, a naopak rozklad jiných, slouží rostlině jako signály spouštěcí syntézu jiných ochranných látek jako jsou LEA proteiny. Právě kvůli provázanosti a komplexnosti celého obranného systému bude složité aplikovat tuto vlastnost na kulturních plodinách. Bohužel oteplující se klima a nedostatek vodních zdrojů, nás v budoucnu bude nutit jít také touto cestou.

## 7 Použití zdroje

### 7.1 Použitá literatura

- Akashi, K., Miyake, C., and Yokota, A.** (2001). Citrulline, a novel compatible solute in drought-tolerant wild watermelon leaves, is an efficient hydroxyl radical scavenger. *FEBS Lett.* **508**: 438–442.
- Allimillo, J.M. and Bartels, D.** (2001). Effects of desiccation on photosynthesis pigments and the ELIP-like dsp22 protein complexes in the resurrection plant *Craterostigma plantagineum*. *Plant Sci.* **160**: 1161–1170.
- Ataei, S., Braun, V., Challabathula, D., and Bartels, D.** (2016). Differences in LEA-like 11-24 gene expression in desiccation tolerant and sensitive species of Linderniaceae are due to variations in gene promoter sequences. *Funct. Plant Biol.* **43**: 695–708.
- Battaglia, M., Olvera-Carrillo, Y., Garcarrubio, A., Campos, F., and Covarrubias, A.A.** (2008). The Enigmatic LEA Proteins and Other Hydrophilins. *Plant Physiol.* **148**: 6–24.
- Bernacchia, G., Schwall, G., Lottspeich, F., Salamini, F., and Bartels, D.** (1995). The transketolase gene family of the resurrection plant *Craterostigma plantagineum*: differential expression during the rehydration phase. *EMBO J.* **14**: 610–618.
- Bernallugo, I. and Leopold, A.C.** (1995). Seed Stability During Storage: Raffinose content and seed glassy state. *Seed Sci. Res.* **5**: 75–80.
- Bianchi, G., Gamba, A., Murelli, C., Salamini, F., and Bartels, D.** (1991). Novel carbohydrate metabolism in the resurrection plant *Craterostigma plantagineum*. *Plant J.* **1**: 355–359.
- Brighigna, L., Bennici, A., Tani, C., and Tani, G.** (2002). Structural and ultrastructural characterization of *Selaginella lepidophylla*, a desiccation-tolerant plant, during the rehydration process. *Flora* **197**: 81–91.
- Buitink, J. and Leprince, O.** (2004). Glass formation in plant anhydrobiotes: survival in the dry state. *Cryobiology* **48**: 215–228.
- Burke, A.** (2002). Properties of soil pockets on arid Nama Karoo inselbergs—the effect of geology and derived landforms. *J. Arid Environ.* **50**: 219–234.
- Bus, J.S. and Gibson, J.E.** (1984). Paraquat: Model for Oxidant-Initiated Toxicity. *Environ. Health Perspect.* **55**: 37–46.
- Cánovas, M., Bernal, V., Sevilla, A., and Iborra, J.L.** (2007). Salt Stress Effects on the Central and Carnitine Metabolisms of *Escherichia coli*. *Biotechnol. Bioeng.* **96**: 722–737.
- Ceusters, J., Godts, C., Peshev, D., Vergauwen, R., Dyubankova, N., Lescrinier, E., De Proft, M.P., and Van Den Ende, W.** (2013). Sedoheptulose accumulation under CO<sub>2</sub> enrichment in leaves of *Kalanchoë pinnata*: A novel mechanism to enhance C and P homeostasis? *J. Exp. Bot.* **64**: 1497–1507.
- Chan, Z., Grumet, R., and Loescher, W.** (2011). Global gene expression analysis of transgenic, mannitol-producing, and salt-tolerant *Arabidopsis thaliana* indicates widespread changes in abiotic and biotic stress-related genes. *J. Exp. Bot.* **62**: 4787–4803.
- Collett, H., Shen, A., Gardner, M., Farrant, J.M., Denby, K.J., and Illing, N.** (2004). Towards transcript profiling of desiccation tolerance in *Xerophyta humilis*: Construction of a normalized 11 kX. *humilis* cDNA set and microarray expression analysis of 424 cDNAs in response to dehydration. *Physiol. Plant.* **122**: 39–53.
- Couée, I., Sulmon, C., Gwenola, G., and Amrani, A.** (2006). Involvement of soluble sugars in reactive oxygen species balance and responses to oxidative stress in plants. *J. Exp. Bot.* **57**: 449–459.
- Crowe, J.H., Carpenter, J.F., and Crowe, L.M.** (1998). The Role of Vitrification in Anhydrobiosis. *Annu. Rev. Physiol.* **60**: 73–103.
- Dell'Aqua, G. and Schweikert, K.** (2012). Skin benefits of a mycoside-rich extract from resurrection plant

- Haberlea rhodopensis. *Int. J. Cosmet. Sci.* **34**: 132–139.
- Demmig-Adams, B.** (1990). Carotenoids and photoprotection in plants: A role for the xanthophyll zeaxanthin. *Biochim. Biophys. Acta* **1020**: 1–24.
- Diebold, R., Schuster, J., Däschner, K., and Binder, S.** (2002). The Branched-Chain Amino Acid Transaminase Gene Family in Arabidopsis Encodes Plastid and Mitochondrial Proteins. *Plant Physiol.* **129**: 540–550.
- Dietz, K.J., Jacob, S., Oelze, M.L., Laxa, M., Tognetti, V., De Miranda, S.M.N., Baier, M., and Finkemeier, I.** (2006). The function of peroxiredoxins in plant organelle redox metabolism. *J. Exp. Bot.* **57**: 1697–1709.
- Djilianov, D., Ivanov, S., Moyankova, D., Miteva, L., Kirova, E., Alexieva, V., Joudi, M., Peshev, D., and Van den Ende, W.** (2011). Sugar ratios, glutathione redox status and phenols in the resurrection species *Haberlea rhodopensis* and the closely related non-resurrection species *Chirita eberhardtii*. *Plant Biol.* **13**: 767–776.
- Drennan, P.M., Smith, M.T., Goldsworthy, D., and van Staden, J.** (1993). The occurrence of trehalose in the leaves of the desiccation-tolerant angiosperm *Myrothamnus flabellifolius* Welw. *J. Plant Physiol.* **142**: 493–496.
- Egert, A., Eicher, B., Keller, F., and Peters, S.** (2015). Evidence for water deficit-induced mass increases of raffinose family oligosaccharides (RFOs) in the leaves of three *Craterostigma* resurrection plant species. *Front. Physiol.* **6**: 1–6.
- Elbein, A.D., Pan, Y.T., Pastuszak, I., and Carroll, D.** (2003). New insights on trehalose: A multifunctional molecule. *Glycobiology* **13**: 17–27.
- Fait, A., Angelovici, R., Less, H., Ohad, I., Urbanczyk-Wochniak, E., Fernie, A.R., and Galili, G.** (2006). Arabidopsis Seed Development and Germination Is Associated with Temporally Distinct Metabolic Switches. *Plant Physiol.* **142**: 839–854.
- Farrant, J.M.** (2000). A comparison of mechanisms of desiccation tolerance among three angiosperm resurrection plant species. *Plant Ecol.* **151**: 29–39.
- Farrant, J.M., Willigen, C. Vander, Loffell, D.A., Bartsch, S., and Whittaker, A.** (2003). An investigation into the role of light during desiccation of. *Plant Cell Environ.* **26**: 1275–1286.
- Gaff, D.F. and Oliver, M.** (2013). The evolution of desiccation tolerance in angiosperm plants: A rare yet common phenomenon. *Funct. Plant Biol.* **40**: 315–328.
- Garay-Arroyo, A., Colmenero-Flores, J.M., Garcarrubio, A., and Covarrubias, A.A.** (2000). Highly hydrophilic proteins in prokaryotes and eukaryotes are common during conditions of water deficit. *J. Biol. Chem.* **275**: 5668–5674.
- Ghasempour, H.R., Gaff, D.F., Williams, R.P.W., and Gianello, R.D.** (1998). Contents of sugars in leaves of drying desiccation tolerant flowering plants, particularly grasses. *Plant Growth Regul.* **24**: 185–191.
- Hoekstra, F.A., Golovina, E.A., and Buitink, J.** (2001). Mechanisms of plant desiccation tolerance. *Trends Plant Sci.* **6**: 431–438.
- Horbowicz, M., Obendorf, R.L., McKersie, B.D., and Viands, D.R.** (1995). Soluble saccharides and cyclitols in alfalfa (*Medicago sativa* L.) somatic embryos, leaflets, and mature seeds. *Plant Sci.* **109**: 191–198.
- Houtman, C.J. and Atalla, R.H.** (1995). Cellulose-Lignin Interaction. *Plant Physiol.* **107**: 977–984.
- Huch, S. and Nissan, T.** (2014). Interrelations between translation and general mRNA degradation in yeast. *Wiley Interdiscip. Rev. RNA* **5**: 747–763.
- Illing, N., Denby, K.J., Collett, H., Shen, A., and Farrant, J.M.** (2005). The signature of seeds in resurrection plants: A molecular and physiological comparison of desiccation tolerance in seeds and vegetative tissues. *Integr. Comp. Biol.* **45**: 771–787.
- Juszczak, I. and Bartels, D.** (2017). LEA gene expression, RNA stability and pigment accumulation in three

- closely related Linderniaceae species differing in desiccation tolerance. *Plant Sci.* **255**: 59–71.
- Kataoka, Y., Kitadai, N., Hisatomi, O., and Nakashima, S.** (2011). Nature of hydrogen bonding of water molecules in aqueous solutions of glycerol by attenuated total reflection (ATR) infrared spectroscopy. *Appl. Spectrosc.* **65**: 436–441.
- Kaushik, J.K. and Bhat, R.** (1998). Thermal stability of proteins in aqueous polyol solutions: Role of the surface tension of water in the stabilizing effect of polyols. *J. Phys. Chem. B* **102**: 7058–7066.
- Koster, K.L.** (1991). Glass Formation and Desiccation Tolerance in Seeds. *Plant Physiol.* **96**: 302–304.
- Kranner, I., Beckett, R.P., Wornik, S., Zorn, M., and Pfeifhofer, H.W.** (2002). Revival of a resurrection plant correlates with its antioxidant status. *Plant J.* **31**: 13–24.
- Krol, M., Ivanov, A.G., Jansson, S., Kloppstech, K., and Huner, N.P.A.** (1999). Greening under high light or cold temperature affects the level of xanthophyll-cycle pigments, early light-inducible proteins, and light-harvesting polypeptides in wild-type Barley and the Chlorina f2 mutant. *Plant Physiol.* **120**: 193–203.
- Lang, F.** (2007). Mechanisms and Significance of Cell Volume Regulation. *J. Am. Coll. Nutr.* **26**: 613S–623S.
- Lebkuecher, J.G. and Eikmeier, W.G.** (1993). Physiological Benefits of Stem Curling for Resurrection Plants in the Field. *Ecology* **74**: 1073–1080.
- Levy, H., Tal, T., Shaish, A., and Zamir, A.** (1993). Cbr, an algal homolog of plant early light-induced proteins, is a putative zeaxanthin binding protein. *J. Biol. Chem.* **268**: 20892–20896.
- Liu, M. Sen, Chien, C. Te, and Lin, T.P.** (2008). Constitutive components and induced gene expression are involved in the desiccation tolerance of *Selaginella tamariscina*. *Plant Cell Physiol.* **49**: 653–663.
- Loewus, F.A. and Murthy, P.P.N.** (2000). myo-Inositol metabolism in plants. *Plant Sci.* **150**: 1–19.
- Martinelli, T., Whittaker, A., Bochicchio, A., Vazzana, C., Suzuki, A., and Masclaux-Daubresse, C.** (2007). Amino acid pattern and glutamate metabolism during dehydration stress in the “resurrection” plant *Sporobolus stapfianus*: A comparison between desiccation-sensitive and desiccation-tolerant leaves. *J. Exp. Bot.* **58**: 3037–3046.
- Matros, A., Peshev, D., Peukert, M., Mock, H., and Ende, W. Van Den** (2015). Sugars as hydroxyl radical scavengers : proof-of-concept by studying the fate of sucralose in *Arabidopsis*. *Plant J.* **82**: 822–839.
- Miller, E.N. and Ingram, L.O.** (2007). Combined effect of betaine and trehalose on osmotic tolerance of *Escherichia coli* in mineral salts medium. *Biotechnol. Lett.* **29**: 213–217.
- Mittler, R.** (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci.* **7**: 405–410.
- Moore, J.P., Hearshaw, M., Ravenscroft, N., Lindsey, G.G., Farrant, J.M., and Brandt, W.F.** (2007). Desiccation-induced ultrastructural and biochemical changes in the leaves of the resurrection plant *Myrothamnus flabellifolia*. *Aust. J. Bot.* **55**: 482–491.
- Moore, J.P., Westall, K.L., Ravenscroft, N., Farrant, J.M., Lindsey, G.G., and Brandt, W.F.** (2005). The predominant polyphenol in the leaves of the resurrection plant *Myrothamnus flabellifolius*, 3,4,5 tri-O-galloylquinic acid, protects membranes against desiccation and free radical-induced oxidation. *Biochem. J.* **385**: 301–308.
- Morelli, R., Russo-Volpe, S., Bruno, N., and Lo Scalzo, R.** (2003). Fenton-Dependent Damage to Carbohydrates : Free Radical Scavenging Activity of Some Simple Sugars. *J. Agric. Food Chem.* **51**: 7418–7425.
- Mowla, S.B., Thomson, J.A., Farrant, J.M., and Mundree, S.G.** (2002). A novel stress-inducible antioxidant enzyme identified from the resurrection plant *Xerophyta viscosa* baker. *Planta* **215**: 716–726.
- Moyankova, D., Mladenov, P., Berkov, S., Peshev, D., Georgieva, D., and Djilianov, D.** (2014). Metabolic profiling of the resurrection plant *Haberlea rhodopensis* during desiccation and recovery. *Physiol. Plant.* **152**: 675–687.
- Müller, J., Sprenger, N., Bortlik, K., Boller, T., and Wiemken, A.** (1997). Desiccation increases sucrose levels in

- Ramonda and Haberlea, two genera of resurrection plants in the Gesneriaceae. *Physiol. Plant.* **100**: 153–158.
- Naidoo, G. and Mundree, S.G.** (1993). Relationship between morphological and physiological responses to waterlogging and salinity in *Sporobolus virginicus* (L.) Kunth. *Oecologia* **93**: 360–366.
- Navari-Izzo, F., Quartacci, M.F., Pinzino, C., Rascio, N., Vazzana, C., and Sgherri, C.L.M.** (2000). Protein dynamics in thylakoids of the desiccation-tolerant plant *Boea hygroskopica* during dehydration and rehydration. *Plant Physiol.* **124**: 1427–1436.
- Nishizawa, A., Yabuta, Y., and Shigeoka, S.** (2008). Galactinol and Raffinose Constitute a Novel Function to Protect Plants from Oxidative Damage. *Plant Physiol.* **147**: 1251–1263.
- Norwood, M., Toldi, O., Richter, A., and Scott, P.** (2003). Investigation into the ability of roots of the poikilohydric plant *Craterostigma plantagineum* to survive dehydration stress. *J. Exp. Bot.* **54**: 2313–2321.
- Norwood, M., Truesdale, M.R., Richter, A., and Scott, P.** (1999). Metabolic changes in leaves and roots during dehydration of the resurrection plant *Craterostigma plantagineum* (Hochst). *South African J. Bot.* **65**: 421–427.
- Norwood, M., Truesdale, M.R., Richter, A., and Scott, P.** (2000). Photosynthetic carbohydrate metabolism in the resurrection plant *Craterostigma plantagineum*. *J. Exp. Bot.* **51**: 159–165.
- Ohkama-Ohtsu, N., Oikawa, A., Zhao, P., Xiang, C., Saito, K., and Oliver, D.J.** (2008). A  $\gamma$ -Glutamyl Transpeptidase-Independent Pathway of Glutathione Catabolism to Glutamate via 5-Oxoproline in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* **148**: 1603–1613.
- Oliver, M.J., Guo, L., Alexander, D.C., Ryals, J.A., Wone, B.W.M., and Cushman, J.C.** (2011). A Sister Group Contrast Using Untargeted Global Metabolomic Analysis Delineates the Biochemical Regulation Underlying Desiccation Tolerance in *Sporobolus stapfianus*. *Plant Cell* **23**: 1231–1248.
- Peters, S., Mundree, S.G., Thomson, J.A., Farrant, J.M., and Keller, F.** (2007). Protection mechanisms in the resurrection plant *Xerophyta viscosa* (Baker): Both sucrose and raffinose family oligosaccharides (RFOs) accumulate in leaves in response to water deficit. *J. Exp. Bot.* **58**: 1947–1956.
- Phillips, J.R., Fischer, E., Baron, M., Van Den Dries, N., Facchinelli, F., Kutzer, M., Rahmzadeh, R., Remus, D., and Bartels, D.** (2008). *Lindernia brevidens*: A novel desiccation-tolerant vascular plant, endemic to ancient tropical rainforests. *Plant J.* **54**: 938–948.
- Rafsanjani, A., Brule, V., Western, T.L., and Pasini, D.** (2015). Hydro-Responsive Curling of the Resurrection Plant *Selaginella lepidophylla*. *Sci. Rep.* **5**: 1–7.
- Ratnakumar, S. and Tunnacliffe, A.** (2006). Intracellular trehalose is neither necessary nor sufficient for desiccation tolerance in yeast. *FEMS Yeast Res.* **6**: 902–913.
- Schebor, C., Florencia, M., and Buera, P.** (2010). Glass transition and time-dependent crystallization behavior of dehydration bioprotectant sugars. *Carbohydr. Res.* **345**: 303–308.
- Schneider, T. and Keller, F.** (2009). Raffinose in chloroplasts is synthesized in the cytosol and transported across the chloroplast envelope. *Plant Cell Physiol.* **50**: 2174–2182.
- Sgherri, C., Stevanovic, B., and Navari-Izzo, F.** (2004). Role of phenolics in the antioxidative status of the resurrection plant *Ramonda serbica* during dehydration and rehydration. *Physiol. Plant.* **122**: 478–485.
- Sherwin, H.W. and Farrant, J.M.** (1998). Protection mechanisms against excess light in the resurrection plants *Craterostigma wilmsii* and *Xerophyta viscosa*. *Plant Growth Regul.* **24**: 203–210.
- Smirnoff, N.** (1992). The carbohydrates of bryophytes in relation to desiccation tolerance. *J. Bryol.* **17**: 185–191.
- Smirnoff, N. and Cumbes, Q.** (1989). Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry* **28**: 1057–1060.
- Soga, T., Baran, R., Suematsu, M., Ueno, Y., Ikeda, S., Sakurakawa, T., Kakazu, Y., Ishikawa, T., Robert, M.,**

- Nishioka, T., and Tomita, M.** (2006). Differential metabolomics reveals ophthalmic acid as an oxidative stress biomarker indicating hepatic glutathione consumption. *J. Biol. Chem.* **281**: 16768–16776.
- Stoyanova, S., Geuns, J., Hideg, V., and Ende, W.** (2011). The food additives inulin and stevioside counteract oxidative stress. *Int. J. Food Sci. Nutr.* **62**: 207–214.
- Tiwari, A. and Bhat, R.** (2006). Stabilization of yeast hexokinase A by polyol osmolytes: Correlation with the physicochemical properties of aqueous solutions. *Biophys. Chem.* **124**: 90–99.
- Tuba, Z., Lichtenthaler, H.K., Maroti, I., and Csintalan, Z.** (1993). Resynthesis of Thylakoids and Functional Chloroplasts in the Desiccated Leaves of the Poikilochlorophyllous Plant *Xerophyta scabrida* upon Rehydration. *J. Plant Physiol.* **142**: 742–748.
- Tuba, Z., Protor, M.C.F., and Csintalan, Z.** (1998). Ecophysiological responses of homoiochlorophyllous and poikilochlorophyllous desiccation tolerant plants: a comparison and an ecological perspective. *Plant Growth Regul.* **24**: 211–217.
- Weber, H., Borisjuk, L., Heim, U., Buchner, P., and Wobus, U.** (1995). Seed Coat-Associated Invertases of Fava Bean Control Both Unloading and Storage Functions: Cloning of cDNAs and Cell Type-Specific Expression. *Plant Cell* **7**: 1835–1846.
- Whittaker, A., Bochicchio, A., Vazzana, C., Lindsey, G., and Farrant, J.** (2001). Changes in leaf hexokinase activity and metabolite levels in response to drying in the desiccation-tolerant species *Sporobolus stapfianus* and *Xerophyta viscosa*. *J. Exp. Bot.* **52**: 961–969.
- Williams, B., Njaci, I., Moghaddam, L., Long, H., Dickman, M.B., Zhang, X., and Mundree, S.** (2015). Trehalose Accumulation Triggers Autophagy during Plant Desiccation. *PLoS Genet.* **11**: 1–17.
- Williams, R.J. and Leopold, A.C.** (1989). The Glassy State in Corn Embryos. *Plant Physiol.* **89**: 977–981.
- Willige, B.C., Kutzer, M., Tebartz, F., and Bartels, D.** (2009). Subcellular localization and enzymatic properties of differentially expressed transketolase genes isolated from the desiccation tolerant resurrection plant *Craterostigma plantagineum*. *Planta* **229**: 659–666.
- Willigen, C. Vander, Farrant, J.M., and Pammenters, N.W.** (2001). Anomalous Pressure Volume Curves of Resurrection Plants Do Not Suggest Negative Turgor. *Ann. Bot.* **88**: 537–543.
- Wood, J.N. and Gaff, D.F.** (1989). Salinity studies with drought-resistant species of *Sporobolus*. *Oecologia* **78**: 559–564.
- Xie, G. and Timasheff, S.N.** (1997). Mechanism of the stabilization of ribonuclease A by sorbitol: Preferential hydration is greater for the denatured than for the native protein. *Protein Sci.* **6**: 211–221.
- Yobi, A., Schlauch, K.A., Tillett, R.L., Yim, W.C., Espinoza, C., Wone, B.W.M., Cushman, J.C., and Oliver, M.J.** (2017). *Sporobolus stapfianus*: Insights into desiccation tolerance in the resurrection grasses from linking transcriptomics to metabolomics. *BMC Plant Biol.* **17**: 1–30.
- Yobi, A., Wone, B.W.M., Xu, W., Alexander, D.C., Guo, L., Ryals, J.A., Oliver, M.J., and Cushman, J.C.** (2012). Comparative metabolic profiling between desiccation-sensitive and desiccation-tolerant species of *Selaginella* reveals insights into the resurrection trait. *Plant J.* **72**: 983–999.
- Zhang, Q. and Bartels, D.** (2018). Octulose : a forgotten metabolite ? *J. Exp. Bot.* **68**: 5689–5694.
- Zhang, Q. and Bartels, D.** (2015). Physiological factors determine the accumulation of D-glycero- D-ido-octulose ( D-g-D-i-oct ) in the desiccation tolerant resurrection plant *Craterostigma plantagineum*. *Funct. Plant Biol.* **43**: 684–694.
- Zhang, Q., Linnemann, T.V., Schreiber, L., and Bartels, D.** (2016). The role of transketolase and octulose in the resurrection plant *Craterostigma plantagineum*. *J. Exp. Bot.* **67**: 3551–3559.

## 7.2 Zdroje k použitým obrázkům

Obrázek 1–A ([https://www.zambiaflora.com/speciesdata/image-display.php?species\\_id=151360&image\\_id=4](https://www.zambiaflora.com/speciesdata/image-display.php?species_id=151360&image_id=4))

Obrázek 1–B (<http://falconeri.forumpro.fr/t9581-craterostigma-plantagineum>)

Obrázek 2–A ([http://www.myro.ch/en/info\\_myrothamnus\\_regen.html](http://www.myro.ch/en/info_myrothamnus_regen.html))

Obrázek 2–B ([http://www.myro.ch/en/info\\_myrothamnus\\_trocken.html](http://www.myro.ch/en/info_myrothamnus_trocken.html))

Obrázek 3–A ([http://www.alpinegardensociety.net/image\\_files/onlineshow/sized00930228.JPG](http://www.alpinegardensociety.net/image_files/onlineshow/sized00930228.JPG))

Obrázek 3–B (<https://www.coswetenschap.eu/natuur-milieu/dna-herrijzende-plant-ontrafeld#&gid=1&pid=1>)