

ZMIANY METABOLICZNE W KORZENIACH WYWOŁANE DEFICYTEM FOSFORU

Metabolic changes in the roots as affected by phosphate deficiency

Iwona CIERESZKO, Anna M. RYCHTER

Summary. Plants respond to phosphate starvation in various ways, exhibiting morphological, physiological and metabolic adaptations. Pi deficiency decreases shoot growth and increases root elongation growth. In a number of plant species lack of phosphorus in the medium is associated with enhanced activities of extracellular phosphatases in the rhizosphere or the release of organic acids. In the roots of plants grown on P-deficient medium the decline in intracellular Pi level is accompanied by higher translocation rate of sucrose from the shoots to the roots and the increase in soluble sugar content (sucrose, glucose and fructose) in the roots. It is postulated that those sugars may play the role of osmoregulators. In phosphate starved plants the decrease in hexose-P pool and slight decline in respiration of the roots as compared to control is observed. This respiration is carried out mainly by alternative, cyanide-resistant pathway. The participation of alternative pathway in the root respiration results in decreased ATP and ADP content of the roots. The decrease in ATP pool was also observed in cell cultures grown on phosphate deficient medium. The low ATP level affects some enzyme activities namely phosphofructokinase and hexose phosphorylating enzymes. In cells culture phosphate deficiency induces the enzymes which by-pass ATP-dependent enzymes. In the roots of Pi deficient plants the decrease in NO⁻ uptake and assimilation is observed. It is proposed that low Pi level in the roots is changing energy economy, directing more energy to the roots growth and saving the energy on nitrate uptake and assimilation.

Key words: alternative pathways, assimilate transport, compartmentation, energy economy, inorganic phosphate, ion uptake, nucleotide pool, respiration, sugars.

Mgr Iwona Cierieszko, Zakład Botaniki i Fizjologii Roślin, Instytut Biologii Filii Uniwersytetu Warszawskiego w Białymstoku, ul. Świerkowa 20b, 15–950 Białystok

Prof dr hab. Anna M. Rychter, Zakład Bioenergetyki Roślin, Instytut Biologii Eksperymentalnej Roślin, Wydział Biologii Uniwersytetu Warszawskiego, Krakowskie Przedmieście 26/28, 00–927 Warszawa

Wykaz stosowanych skrótów: ATP – adenylozotrójfosforan, ADP – adenylozodwufosforan, CTP – cytydynotrójfosforan, GTP – guanozotrójfosforan, PEP – fosfoenolopirogronian, PFK – enzym fosfofruktokinaza, zależny od ATP, PFP – enzym fosfofrukto-fosfo-transferaza, zależny od pirofosforanu, Pi – ortofosforan nieorganiczny, P₂Pi – pirofosforan, UDPGLU – urydynodwufosforan glukozy, UTP – urydynotrójfosforan.

WSTĘP

Wzrost i rozwój roślin jest ściśle uzależniony od dostępności fosforu w podłożu (głównie w postaci ortofosforanów nieorganicznych). Pierwiastek ten jest nie tylko składnikiem wielu niezbędnych w metabolizmie roślin związków organicznych (fosfolipidów, fosforanów cukrów i

kwasów organicznych, ufosforylowanych białek), uczestniczy również w przenoszeniu energii (m.in. jako ATP, pirofosforan) i jest regulatorem wielu reakcji enzymatycznych (m.in. kinaz białkowych i fosfataz uczestniczących w fosforylacji białek błon tylakoidów, wielu enzymów cyklu Calvina, glikolizy i cyklu Krebsa). Utrzymanie właściwego stężenia ortofosforanu (Pi) w

tkankach jest więc niezbędne dla prawidłowego wzrostu i metabolizmu roślin. Spadek zawartości fosforu powoduje w pierwszej fazie modyfikacje morfologiczne i zmiany w metabolizmie pozwalające okresowo dostosować się do warunków deficytowych, w dalszych etapach może prowadzić do opóźnienia kwitnienia, obniżenia owocowania a nawet obumierania roślin.

Kluczowym procesem wpływającym na wzrost roślin jest fotosynteza, w której wytwarzana jest nie tylko energia, ale i substraty niezbędne dla oddychania (Ryc. 1). Dlatego wiele badań poświęcono wpływowi deficytu fosforu na intensywność fotosyntezy oraz rozdział i metabolizm produktów fotosyntezy w zielonych tkankach liści [4, 7, 22, 15, 23, 21, 43, 20]. Niewiele jest natomiast badań poświęconych wpływowi deficytu fosforu na intensywność oddychania. W korzeniu oddychanie wytwarza energię niezbędną do wzrostu, pobierania jonów i utrzymania biomasy korzenia (Ryc. 1). Ilość energii wydatkowanej na te procesy może się zmieniać w czasie wzrostu rośliny [58]. Deficyt fosforu, obniżając intensywność fotosyntezy i oddychania oraz wydajność fotosyntetycznej i oksydacyjnej fosforylacji, może doprowadzić do zmian w gospodarce energią. Zmiany te mogą dotyczyć różnic w proporcjach wydatkowanej energii na pobieranie jonów, na wzrost i na utrzymanie (maintenance) biomasy (Ryc. 1).

Korzeń jest organem, który bezpośrednio reaguje na deficyt fosforu w podłożu. Celem niniejszego artykułu jest podsumowanie wyników ostatnich badań dotyczących różnorodnych przystosowań metabolizmu korzeni do warunków niedoboru fosforu w środowisku.

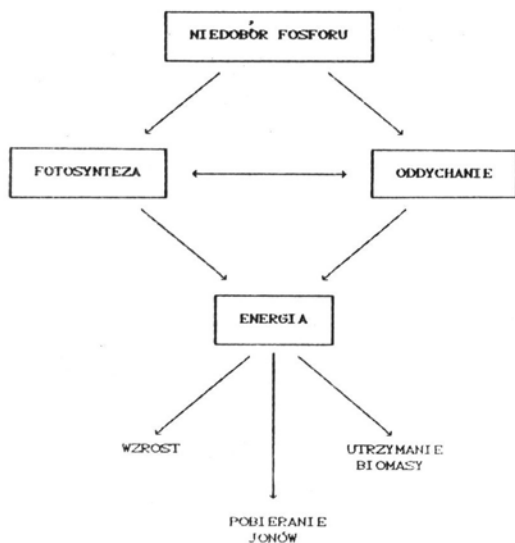
PRZYSTOSOWANIA MORFOLOGICZNE I FUNKCJONALNE KORZENI DO NIEDOBORU FOSFORU W PODŁOŻU

Spadek fosforu w podłożu powoduje, że roślina uruchamia różne strategie prowadzące do zwiększenia dostępności oraz wzrostu pobierania ortofosforanów nieorganicznych (Pi) z otoczenia. Najbardziej typową reakcją na deficyt fosforu jest zahamowanie wzrostu pędu oraz zmniejszenie powierzchni i masy liści, przy jed-

noczesnej stymulacji wzrostu korzenia [15, 23, 43, 46, 48]. Obniżenie zawartości fosforu w środowisku lub jego brak decydują również o morfologii korzeni: wzrasta masa korzeni, długość, zmniejsza się ich średnica, powstaje więcej korzeni bocznych, wydłużają się włośniki (własne obserwacje hodowli fasoli). W wyniku tych zmian wzrasta powierzchnia pobierania jonów. Zmiany te zachodzą prawdopodobnie przy udziale hormonów roślinnych m.in. cytokinin. Wykazano, że dysproporcje we wzroście pędu i korzenia babki zwyczajnej rosnącej na pożywce o ubogim składzie (2% pożywki pełnej) powstrzymywane są, przez pierwsze 7 dni wzrostu, poprzez spryskiwanie $10^{-8}M$ roztworem benzyloaminy [28]. U sievek brzozy, rosnących w deficycie fosforu, obserwuje się niższy poziom endogennych cytokinin [19]. U fasoli, po 18 dniach hodowli na pożywce bez fosforu obserwowano kilkudziesięciokrotny wzrost zawartości kwasu abscysynowego (ABA) w soku płaczu z korzenia (po odcięciu pędu) w porównaniu z roślinami kontrolnymi. Obserwowany był również ogromny wzrost ABA w liściach fasoli z obniżoną zawartością Pi (A. Rychter, dane niepublikowane).

Przy obniżonej dostępności fosforu w środowisku, w niektórych korzeniach obserwuje się wzrost aktywności i sekrecję pozakomórkowych fosfatów, hydrolizujących organiczne związki fosforu [2, 14]. Dostępność ortofosforanów nieorganicznych w roztworze glebowym może być również zwiększona poprzez zmianę pH w otoczeniu dzięki wydzielaniu kwasów organicznych do podłoża. Zakwaszenie podłoża i wydzielanie kwasów organicznych, zwłaszcza kwasu cytrynowego, było obserwowane u łubinu [38, 11] i rzepaku [18]. Ekskrecja kwasu cytrynowego do ryzosfery może ułatwić pobieranie fosforu z trudno dostępnych dla roślin soli: fosforanów żelaza i glinu [27] i fosforanów wapnia [11] pozostawiając w podłożu odpowiednio cytryniany Fe, Al lub Ca.

Spadek zawartości fosforu w tkankach powoduje wielokrotną stymulację pobierania jonów PO_4^{-3} przez korzenie jęczmienia po przeniesieniu ich na pożywkę pełną [36]. Tak duży wzrost zdolności pobierania tłumaczony jest zwiększeniem liczby transporterów Pi i ich po-



Ryc. 1. Wpływ deficytu fosforu na gospodarkę energetyczną roślin.

Fig. 1. The effect of phosphate deficiency on energy economy of plants.

winowactwa do jonów fosforanowych [3, 4]. Transport Pi przez błony plazmatyczne następuje prawdopodobnie jako ko-transport (symport) Pi i protonu (H^+) przy udziale nośników peptydowych [54, 52]. Obliczono, że stosunek ko-transportu $H^+/H_2PO_4^-$ wynosi 4 [52]. W warunkach ograniczonej dostępności fosforu wzrasta również szybkość przewodzenia Pi z korzenia do łodygi, prawdopodobnie poprzez zwiększenie szybkości uwalniania ortofosforanu do ksylemu [3, 4, 41].

Deficyt fosforu może wpływać na obniżenie pobierania innych anionów, np. jonów azotanowych oraz na ich transport w obrębie rośliny [45, 46]. Przy niedoborze fosforu można zaobserwować natomiast zwiększanie się stężenia jonów cynku i miedzi w tkankach [55]. Wzrost pobierania Pi następuje, gdy zwiększa się zawartość magnezu w podłożu, wskazuje to na jego rolę w aktywacji reakcji uczestniczących w transporcie jonów fosforanowych w obrębie rośliny [55]. Inne stresy, takie jak brak wody, zwiększone zasolenie podłoża, mogą pogłębiać u roślin skutki deficytu fosforu [55].

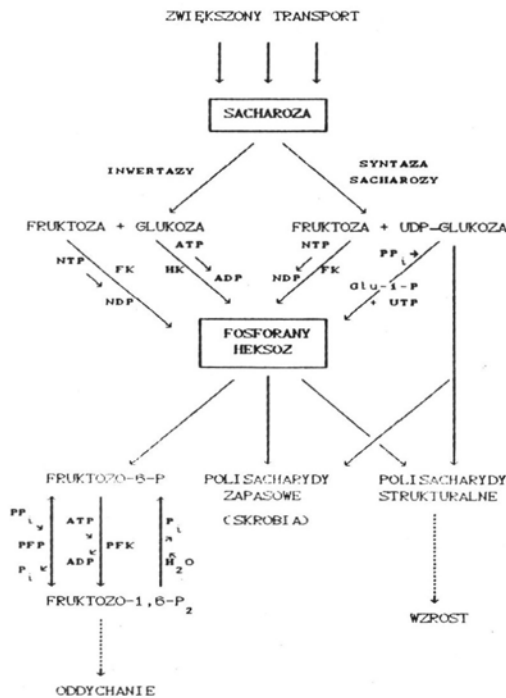
STĘŻENIE I KOMPARTMENTACJA FOSFORU W KOMÓRKACH

Ortofosforan nieorganiczny występuje w komórkach roślinnych w postaci puli cytoplazmatycznej (aktywnej metabolicznie) i wakuolarniej (nieaktywnej) [3, 4]. Pula cytoplazmatyczna stanowi w tkankach fotosyntetyzujących ok. 20%, wakuolarna – 80% całości Pi w komórce [4]. Badania przy użyciu ^{31}P -NMR (magnetycznego rezonansu jądrowego) wykazały, że pula wakuolarna może stanowić nawet 95% całości Pi w korzeniach kukurydzy [35]. Stężenie puli cytoplazmatycznej podlega ścisłej regulacji i może być odmienne w cytosolu i organellach (np. mitochondriach). Pula wakuolarna może uzupełniać ewentualne braki w puli cytoplazmatycznej. Stężenie ortofosforanu w mitochondriach jest około 5-krotnie niższe niż w cytosolu [44]. Brak fosforu w pożywce powoduje szybki spadek stężenia Pi w wakuoli. Spadek fosforu w wakuoli pozwala na utrzymanie przez pewien czas puli cytoplazmatycznej na niezmiennym poziomie [34, 44]. Stopniowo jednak następuje również redukcja puli cytoplazmatycznej [32, 35].

Po 10 dniach wzrostu fasoli na pożywce bez fosforu stężenie Pi w korzeniach spadało do 9% zawartości Pi u roślin kontrolnych, natomiast po 18 dniach poziom Pi był 30-krotnie niższy niż w korzeniach roślin rosnących na pożywce pełnej [50]. Frakcja fosforu całkowitego (ogólnego), w skład której wchodzi frakcje fosforu nieorganicznego oraz frakcje fosforu organicznego (łatwo i trudno hydrolizującego), w korzeniach soi zmniejszała się po 5 dniach wzrostu w deficycie fosforu jedynie o połowę, natomiast zawartość Pi stanowiła po tym czasie 16% kontroli [46]. Tak znaczny spadek całkowitej puli fosforanu nieorganicznego związany jest nie tylko ze spadkiem puli wakuolarniej, ale również poważnym ograniczeniem puli cytoplazmatycznej.

ZMIANY METABOLIZMU W KORZENIACH POD WPŁYWEM DEFICYTU FOSFORU.

Jednym z pierwszych objawów deficytu fosforu jest wzrost zawartości cukrów w korze-



Ryc. 2. Drogi metabolizmu sacharozy w korzeniach; HK – heksokinaza, FK – fruktokinaza, PFP – PP_i-fos fofruktokinaza, PFK – ATP-fosfofruktokinaza, NTP – nukleozydotrójfosforan, PP_i – pirofosforan.

Fig. 2. Pathways of sucrose metabolism in the roots. HK – heksokinase, FK – fructokinase, PFP – PP_i-phos phofruktokinase, PFK – ATP-phosphofruktokinase, NTP – nucleotido-triphosphate, PP_i – pyrophosphate..

niach [15, 23, 50, 42]. W korzeniach fasoli 2-krotny wzrost poziomu sacharozy następuje po 14 dniach hodowli na pożywce bez fosforu [50]. Przyczyną wzrostu stężenia sacharozy jest zwiększona translokacja sacharozy z pędu do korzenia [40, 8]. Badając dystrybucję znakowanych ¹⁴C produktów fotosyntezy pomiędzy pęd i korzenie fasoli, po 3 godzinach asymilacji, stwierdzano prawie dwukrotnie wyższą zawartość znakowanych asymilatów (głównie cukrów) w korzeniach z obniżoną zawartością fosforu w porównaniu z roślinami kontrolnymi [8].

Już u roślin 10 dniowych, a nie wcześniej niż w przypadku wzrostu zawartości sacharozy w korzeniach, obserwuje się 3-krotny wzrost zawartości glukozy i 2-krotny wzrost fruktozy

[50]. Wzrost zawartości glukozy i fruktozy w korzeniach pod wpływem deficytu fosforu może być wynikiem zwiększonej hydrolizy sacharozy. Transportowana sacharoza może opuszczać floem zarówno drogą apoplastyczną jak i symplastyczną [16]. W apoplacie może ulec hydrolizie do cukrów prostych przy udziale inwertazy kwaśnej, związanej ze ścianami komórkowymi lub opuścić apoplast, ulegając rozkładowi dopiero w cytoplazmie (inwertaza obojętna, syntaza sacharozy), bądź wakuoli (inwertaza kwaśna) komórki docelowej [16]. Glukoza i fruktoza powstałe w wyniku hydrolizy katalizowanej przez inwertazy, aby wejść w szlak przemian metabolicznych, muszą być ufosforylowane odpowiednio przez heksokinazę i fruktokinazę przy udziale 2 cząsteczek ATP (Ryc. 2). W wyniku degradacji sacharozy przy udziale syntazy sacharozy powstaje fruktoza i UDP-glukoza, która może być użyta bezpośrednio do syntezy polisacharydów, z pominięciem puli fosforanów heksosów (Ryc. 2). Rozkład sacharozy przy udziale syntazy sacharozy jest bardziej korzystny energetycznie, gdyż wymaga tylko 1 cząsteczki ATP do fosforylacji fruktozy. Wzrost aktywności jednego z wymienionych enzymów pod wpływem deficytu fosforu mógłby wskazywać na miejsce hydrolizy sacharozy oraz ewentualną lokalizację gromadzonej glukozy i fruktozy. Nie wykazano jednak znaczących różnic aktywności inwertazy kwaśnej i obojętnej w korzeniach fasoli rosnących na pożywce pełnej i bez fosforu [8]. Nie jest znana lokalizacja komórkowa i fizjologiczna rola gromadzącej się w korzeniach glukozy i fruktozy. Lambers [30] sugerował, że w warunkach deficytu jonów lub nadmiernego zasolenia gleby cukry proste mogą gromadzić się w wakuoli, pełniąc prawdopodobnie funkcje osmoregulacyjne. Przypuszcza się natomiast, że cukry gromadzone w warunkach stresu temperaturowego i dehydratacyjnego mogą być zlokalizowane w przestrzeniach pozawakuolarnych [24]. Wskazuje się również na błonę jako miejsce lokalizacji osmoregulatorów, którymi m.in. mogą być cukry [37].

Wzrost zawartości glukozy i fruktozy w korzeniach z deficytem fosforu może być spowodowany nie tylko zwiększoną hydrolizą sacha-

rozy, ale również obniżoną fosforylacją tych cukrów przez heksokinazę i fruktokinazę. Aktywność obu tych enzymów spada o około 30% podczas hodowli fasoli na pożywce bez fosforu [50]. Obserwuje się jednocześnie znaczne obniżenie poziomu fosforanów heksoz [50]. Stosunek nieufosforylowanych cukrów (glukoza + fruktoza) do ufosforylowanych u roślin kontrolnych wynosi niewiele ponad jeden, natomiast u roślin z deficytem fosforu, po 10 dniach hodowli wynosi 5, a po 17 dniach powyżej 7. Wskazuje to na zmianę równowagi pomiędzy pulą cukrów nieufosforylowanych i ufosforylowanych u roślin z deficytem fosforu [50]. Niski poziom fosforanów heksoz może wynikać zarówno z obniżonej fosforylacji glukozy i fruktozy jak i odpływu fosforanów heksoz do innych szlaków metabolicznych.

Głównym szlakiem metabolicznym korzystającym z puli fosforanów heksoz jest glikoliza, a pierwszym enzymem regulującym ten szlak jest fosfofruktokinaza zależna od ATP (PFK). Wykazano, że u roślin fosforylacja fruktozo-6 – fosforanu do fruktozo-1,6-difosforanu katalizowana może być również przez fosfofruktofosfo-transferazę zależną od pirofosforanu (PFP) (Ryc. 2). Enzym ten, w przeciwieństwie do fosfofruktokinazy, katalizuje reakcję w sposób odwracalny [6, 26]. W kulturach tkankowych lub komórkowych obserwuje się indukcję aktywności PFP pod wpływem deficytu fosforu [12, 56]. Również w korzeniach gorczycy, rosnących przez 50 dni na pożywce bez fosforu, zaobserwowano 4-krotny wzrost aktywności PFP w porównaniu z roślinami kontrolnymi [57]. W korzeniach fasoli po 17 dniach wzrostu na pożywce bez fosforu aktywność PFP pozostaje niezmienną, natomiast o 50% w porównaniu z kontrolą spada aktywność PFK [50]. Aktywność PFK i PFP, enzymów fosforylujących fruktozo-6-fosforan, jest zależna od ATP (PFK) i pirofosforanu (PFP). Pod wpływem deficytu fosforu w korzeniach fasoli poziom ATP ulega znacznemu obniżeniu [49], podczas gdy poziom pirofosforanu pozostaje niezmienny [50].

Black (1987) opisał reakcje katalizowane przez „klasyczną” fosfofruktokinazę jako szlak

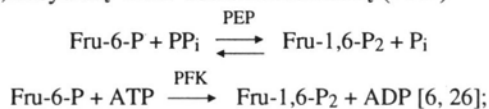
zachowawczy (maintenance pathway), a przez fosfofrukto-fosfo-transferazę jako szlak adaptacyjny (adaptive pathway), podlegający zmianom pod wpływem warunków środowiskowych.

Badania PFP z kultur tkankowych *Brassica nigra* wykazały, że enzym ten składa się z dwóch podjednostek α i β o masie odpowiednio 66 i 60 kDa. Synteza podjednostki α jest ściśle uzależniona od poziomu Pi w komórce [56, 57]. Indukcji syntezy α -podjednostki PFP przez deficyt fosforu w komórkach heterotroficznych kultur tkankowych *Brassica nigra* towarzyszy zwiększenie syntezy wakuolarnej fosfatazy fosfoenolopirogronianu (fosfatazy PEP) oraz cytozolowej karboksylazy PEP [12, 13, 56]. W kulturach tkankowych *Brassica nigra* obserwowano aż 10-krotne zwiększenie aktywności fosfatazy fosfoenolopirogronianu (przy jednoczesnym obniżeniu o ok. 10 razy poziomu ADP, będącego substratem tego enzymu), 5-krotne podwyższenie aktywności karboksylazy PEP oraz 19-krotny wzrost aktywności PPI-fosfofruktokinazy (PFP), podczas gdy aktywność ATP-fosfofruktokinazy (PFK) nie zmieniała się znacząco [12].

Duff i wsp. [13] oraz Theodorou i wsp. [56] postulują, że w kulturach komórkowych *Brassica nigra* przy obniżonej zawartości fosforu możliwe są modyfikacje glikolizy. Mogłyby one polegać na:

1. modyfikacjach początkowych reakcji procesu glikolizy:

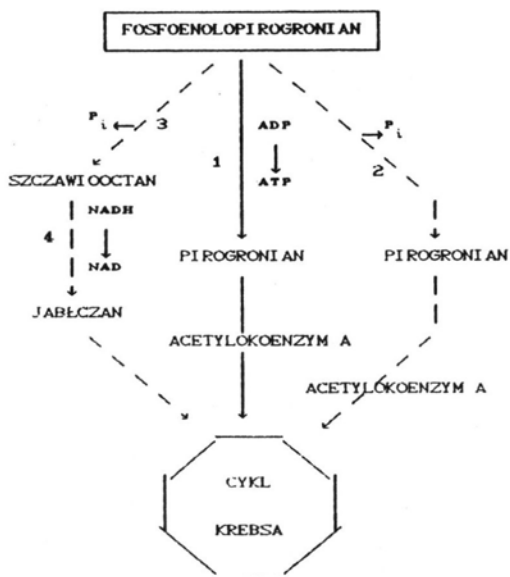
a. PPI-fosfofruktokinaza (PFP) zastępuje „klasyczną” ATP-fosfofruktokinazę (PFK)



2. modyfikacjach końcowych reakcji glikolizy czyli przemian fosfoenolopirogronianu do pirogronianu:

a. fosfataza fosfoenolopirogronianu zastępuje enzym „klasycznej” glikolizy – kinazę pirogronianową (Ryc. 3),

b. karboksylaza PEP i dehydrogenaza jabłczanowa przejmują częściowo rolę kinazy pirogronianowej (Ryc. 3).



Ryc. 3. Metabolizm fosfoenolpirogonianu (PEP) w procesie glikolizy, alternatywne drogi (linie przerywane) indukowane przez deficyt fosforu; 1 – kinaza pirogonganowa; 2 – wakuolarna fosfataza PEP; 3 – karboksylaza PEP; 4 – dehydrogenaza jabłczanowa. Zmodyfikowane wg [56].

Fig. 3. Alternative pathways (broken lines) of phosphoenolpyruvate (PEP) glycolytic breakdown induced by phosphate starvation; 1 – pyruvate kinase; 2 – vacuolar PEP phosphatase; 3 – PEP carboxylase; 4 – malate dehydrogenase.

Proponowane zmiany w metabolizmie glikolizy nie mają jednak charakteru uniwersalnego. Przy deficycie fosforu w kulturach tkankowych *Catharantus roseus* nie obserwowano zmian aktywności enzymów dehydrogenazy glukozy-6-fosforanu i kinazy pirogonganowej [38]. Kultury komórkowe lub tkankowe reprezentują, w porównaniu z całą rośliną, znacznie prostszy układ i tylko niektóre proponowane powyżej modyfikacje glikolizy znalazły potwierdzenie w badaniach na całych roślinach (zmiany aktywności PFP).

Glikoliza dostarcza bezpośrednio substratów do oddychania mitochondrialnego. Około 60% asymilatów transportowanych z pędu do korzenia zużywanych jest w procesie oddychania, dostarczając metabolitów oraz energię potrzebną do wzrostu [30]. Deficyt fosforu nie obniża od-

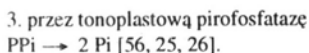
dychania korzeni grochu [34]. W korzeniach fasoli, mimo zwiększonej zawartości cukrów oddychanie nieznacznie spadało, wzrastała natomiast odporność oddychania tych korzeni na cyjanek [48]. Podobny wzrost aktywności drogi alternatywnej w deficycie fosforu i wysokiej zawartości cukrów w pożywce obserwowany był w kulturach komórkowych *Catharantus roseus* [17].

Mitochondria roślinne posiadają dwie drogi transportu elektronów – drogę cytochromową, związaną z fosforylacjami oraz drogę alternatywną, cyjanoodporną, odgałęziającą się od drogi cytochromowej na poziomie ubichinonu i nie związaną z syntezą ATP [29, 30, 47, 31]. Deficyt fosforu w korzeniach fasoli powodował zmiany udziału obu dróg w oddychaniu – obniżenie udziału fosforylującej drogi cytochromowej, przy jednoczesnym podwyższeniu udziału niefosforylującej drogi alternatywnej [48]. W korzeniach fasoli rosnących na pożywce pełnej, udział drogi alternatywnej w oddychaniu jest niewielki i oddychanie zachodzi głównie przy udziale drogi cytochromowej. Po dodaniu czynnika rozprzegającego, np. CCCP (karbonylocyjanek m-chlorofenylohydrizonu), udział drogi alternatywnej w oddychaniu wzrasta, ponieważ czynnik ten stymuluje glikolizę (uwalniając ten szlak od kontroli przez adenylany) i pojemność drogi cytochromowej zostaje wysyciona. W korzeniach kontrolnych dopływ substratów z glikolizy pokrywa się z pojemnością oddechową łańcucha cytochromowego [48]. W korzeniach fasoli rosnących w deficycie fosforu czynnik rozprzegający nie wpływa na oddychanie. Wskazuje to na wysycenie łańcucha oddechowego przez substraty; oddychanie jest więc limitowane dopływem substratów z glikolizy, a poziom glikolizy nie zwiększa się po dodaniu czynnika rozprzegającego, jak to obserwowano w korzeniach kontrolnych. Przy niskim poziomie P_i w tkance glikoliza może być ograniczona dopływem fosforanów heksoz [6, 10]. Częściowe ograniczenie aktywności drogi cytochromowej obserwowano również w korzeniach jęczmienia przy deficycie wszystkich pierwiastków w pożywce [5]. W warunkach niedoboru fosforu przy ograniczonej aktywności drogi cytochromo-

mowej działania alternatywnej drogi oddechowej umożliwiła funkcjonowanie cyklu Krebsa i utlenianie substratów bez sprzężonej z oddychaniem produkcji ATP.

Oddychanie z udziałem drogi alternatywnej zmniejsza jednak wydajność energetyczną tego procesu [49]. Stosunek P/O, czyli stosunek ilości wytwarzanego ATP do ilości pochłoniętego O₂, dla drogi cytochromowej przy utlenieniu endogennego NADH jest 3, a dla drogi alternatywnej wynosi 1 [9]. Z wyliczeń udziału w oddychaniu drogi alternatywnej w korzeniach z deficytem fosforu wynika, że poziom syntezy ATP jest o 1/3 niższy niż w korzeniach rosnących na pożywce pełnej [48]. Może to być główną przyczyną obserwowanego obniżenia poziomu ATP w korzeniach [49]. Zawartość ATP i ADP w korzeniach fasoli była niższa odpowiednio o 21% i 57% [49]. W kulturach tkankowych *Cathartus roseus* przy deficycie fosforu zawartość ATP, CTP, GTP i UTP stanowiła jedynie 20–30% poziomu obserwowanego u roślin kontrolnych [1].

Nośnikiem energii, któremu ostatnio przypisuje się znaczącą rolę, szczególnie w metabolizmie cukrów u roślin, jest pirofosforan (PPi) [25, 26, 56, 57]. Przy deficycie fosforu nie obserwowano znaczących zmian w zawartości PPi [13, 50]. W korzeniach roślin PPi może być rozkładany, dostarczając energii, za pomocą 3 różnych reakcji:



Obecność tych enzymów i ich udział w metabolizmie, szczególnie w deficycie fosforu, wskazuje na dużą rolę PPi jako nośnika energii.

Poziom nukleotydów adenylowych może odgrywać zasadniczą rolę w regulacji dróg wytwarzających i zużywających ATP. Przy deficycie fosforu wzrost korzeni jest większy niż korzeni kontrolnych. Zużycie ATP na wzrost nie może więc ulec obniżeniu, a raczej należy przypuszczać, że na ten proces zużywana jest głównie ograniczona pula ATP. Natomiast obniżeniu

może ulegać zużycie ATP na inne procesy np. pobieranie i asymilację jonów azotanowych.

Deficyt Pi powoduje spadek azotu całkowitego w tkankach, wzrasta natomiast pula wolnych aminokwasów: alaniny, waliny, leucyny [59]. Obserwuje się również wzrost zawartości asparaginy (główny aminokwas transportowany u soi) w korzeniach i łodygach oraz gromadzenie się argininy w liściach soi [46]. Zwiększanie ilości asparaginy w korzeniach soi jest ściśle skorelowane ze spadkiem pobierania jonów ¹⁵NO₃⁻ przez korzenie oraz zmniejszeniem transportu ¹⁵NO₃⁻ z korzeni do pędu [46]. Niższe pobieranie jonów NO₃⁻, obniżenie transportu tych jonów oraz gromadzenie się azotanów w korzeniach roślin z deficytem fosforu obserwowane było również w pracach innych autorów [33, 53, 45]. Badania pobierania i asymilacji jonów azotanowych przez korzenie fasoli, znajdujące się w deficycie fosforu, wykazały prawie 2-krotne obniżenie aktywności reduktazy azotanowej oraz obniżone pobieranie tych jonów. Nie obserwowano natomiast różnic w poziomie jonów amonowych [51].

Rośliny, mimo wzrostu w tych samych warunkach, mogą wykazywać różną wrażliwość na deficyt fosforu. Typowe objawy niedoboru fosforu (ograniczenie wzrostu, obniżone pobieranie jonów NO₃⁻ oraz obumieranie liści) widoczne były u tytoniu już po 12 dniach wzrostu, natomiast u soi – po 20 dniach wzrostu na pożywce bez fosforu [46]. Przypuszcza się, że gromadzenie się jonów amonowych przy deficycie fosforu, może przyspieszać obumieranie roślin tytoniu [46]. Natomiast zwiększona biosynteza argininy może zapobiegać nadmiernemu gromadzeniu się jonów amonowych u soi i umożliwiać dłuższe przetrwanie tych roślin w postępującym deficycie fosforu [46].

PODSUMOWANIE

Deficyt fosforu w pierwszej fazie powoduje modyfikacje morfologiczne i metaboliczne korzenia umożliwiające czasowe przystosowanie się do stresowych warunków środowiska. Wzrost masy i długości korzeni oraz zwiększenie zawartości cukrów (osmoregulatory) umo-

żliwia roślinom „poszukiwania” brakujących jonów. Jednocześnie z powodu niedoboru fosforu zmienia się wydajność energetyczna oddychania. Udział drogi alternatywnej umożliwia, co prawda, utlenianie substratów, jednak powoduje spadek poziomu ATP. Ma to istotne znaczenie dla aktywności procesów fosforylacyjnych, m.in. fosforylacji cukrów. Obniżenie puli fosforanów heksoz limituje glikolizę, ograniczając tym samym intensywność oddychania. Niektóre opisane w tej pracy modyfikacje metabolizmu obserwowane są nie tylko w korzeniach ale i w heterotroficznych kulturach tkankowych roślin. W przypadku szlaku glikolitycznego postulowane są „obejścia” (bypass) reakcji wymagających dostępu ATP lub fosforu na korzyść reakcji wymagających innych nukleotydów lub pirofosforanu. Zmniejszenie zawartości ATP w korzeniu nie powoduje ograniczenia jego wzrostu, obserwuje się nawet stymulację wzrostu korzenia. Wydatek energii na intensywniejszy wzrost korzeni odbywa się prawdopodobnie kosztem ograniczenia wydatków energii na pobieranie, transport i asymilację jonów (m.in. azotanowych) i niektórych procesów metabolicznych.

Nie jest znany mechanizm regulacji umożliwiający procesom związanym ze wzrostem „uprzywilejowane” wykorzystanie ograniczonej puli ATP. Korelacja pomiędzy spadkiem poziomu ATP i obniżeniem pobierania, transportu i asymilacji jonów azotanowych wydaje się wskazywać na powiązanie regulacyjne pomiędzy spadkiem puli energetycznej a gospodarką jonami. Regulacja tego typu, związana prawdopodobnie ze zmienioną funkcją błon, nie byłaby jednak specyficzna i mogłaby dotyczyć wszystkich jonów.

LITERATURA

- [1] ASHIHARA H., LI X.-N., UKAJI T. 1988. Effect of inorganic phosphate on the biosynthesis of purine and pyrimidine nucleotides in suspension-cultured cells of *Catharanthus roseus*. *Anal. Bot.* **61**: 225–232.
- [2] BARRET-LENNARD E. G., DRACUP M., GREENWAY H. 1993. Role of extracellular phosphatases in the phosphorus-nutrition of clover. *J. Exp. Bot.* **44** (267): 1595–1600.
- [3] BIELESKI R. L., 1973. Phosphate pools, phosphate transport and phosphate availability. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **24**: 225–252.
- [4] BIELESKI R. L., FERGUSON J. 1983. Physiology and metabolism of phosphate and its compounds. W: A. LAU-CHLI R. L. BIELESKI (red.), *Encyclopedia of Plant Physiology, New Series 15A* Springer-Verlag, New York, NY. ss. 422–449.
- [5] BINGHAM I. J., FARRAR J. F. 1989. Activity and capacity of respiratory pathways in barley roots deprived of inorganic nutrients. *Plant Physiol. Biochem.* **27**: 847–854.
- [6] BLACK C. C., MUSTARDY L., SUNG S. S., KORMANIK P. P., XU D. P., PAZ N. 1987. Regulation and roles for alternative pathways of hexose metabolism in plants. *Physiol. Plant.* **69**: 387–394.
- [7] BYSTRZEJSKA G., MALESZEWSKI S. 1983. Phosphorus nutrition as a factor influencing photosynthesis in maize plants. II. The effect of phosphorus level on the primary metabolites and on the carbon flow to the end products of photosynthesis. *Z. Pflanzenphysiol. Bd.* **112**: 163–170.
- [8] CIERESZKO I., GNIAZDOWSKA A., RYCHTER A. M. 1994. Translocation and sucrose metabolism in bean roots as affected by phosphate deficiency. *Biol. Plantarum* **36** (suppl.): 187.
- [9] DAY D. A., LAMBERS H. 1980. The regulation of glycolysis and electron transport in roots. *Physiol. Plant.* **58**: 155–160.
- [10] DENNIS T. D., GREYSON M. F. 1987. Fructose 6-phosphate metabolism in plants. *Physiol. Plant.* **69**: 395–404.
- [11] DINKELAKER B., ROMHELD V., MARSCHNER H. 1989. Citric acid excretion and precipitation of calcium citrate in the rhizosphere of white lupin. *Plant, Cell and Environment* **12**: 285–292.
- [12] DUFF S. M.G., LEFEBVRE D. D., PLAXTON W. C. 1989. Purification and characterization of a phosphoenolpyruvate phosphatase from *Brassica nigra* suspension cells. *Plant Physiol.* **90**: 734–741.
- [13] DUFF S. M.G., MOORHEAD G. B.G., LEFEBVRE D. D., PLAXTON W. C. 1989. Phosphate starvation inducible „bypasses” of adenylate and phosphate dependent glycolytic enzymes in *Brassica nigra* suspension cells. *Plant Physiol.* **90**: 1275–1278.
- [14] DUFF S. M.G., SARATH G., PLAXTON W. C. 1994. The role of acid phosphatases in phosphorus metabolism. *Physiol. Plant.* **90**: 791–800.
- [15] FREDEEN A. L., RAO I. M., TERRY N. 1989. Influence of phosphorus nutrition on growth and carbon partitioning in *Glycine max*. *Plant Physiol.* **89**: 225–230.
- [16] GIAQUINTA R. T., LIN W., SADLER N. L. 1983. Pathway of phloem unloading of sucrose in corn roots. *Plant Physiol.* **72**: 362–367.
- [17] HOEFNAGEL M. H.N., VAN IREN F., LIBBENGA K. R. 1993. In cell suspensions of *Catharanthus roseus* the cyanide-resistant pathway is engaged in respiration by excess sugar in combination with phosphate or nitrogen starvation. *Physiol. Plant.* **87**: 297–304.
- [18] HOFFLAND E., FINDENEGG G., NELEMANS J. 1989. Solubilization of rock phosphate by rape. II. Local root

- exudation of organic acids as response to P starvation. *Plant Soil* **113**: 161–165.
- [19] HORGAN J. M., WAREING P. F. 1980. Cytokinins and the growth responses of *Betula pendula* roth. and *Acer pseudoplatanus* L. to nitrogen and phosphorus deficiency. *J. Exp. bot.* **31** (121): 525–532.
- [20] IGLESIAS A. A., PLAXTON W. C., PODESTA F. E. 1993. The role of inorganic phosphate in the regulation of C4 photosynthesis. *Photosynth. Res.* **35**: 205–211.
- [21] JACOB J., LAWLOR D. W. 1993. In vivo photosynthetic electron transport does not limit photosynthetic capacity in phosphate-deficient sunflower and maize leaves. *Plant, Cell and Env.* **16**: 785–795.
- [22] KAMIŃSKA Z., BYSTRZEJSKA G., GAN M., MALESZEWSKI S. 1983. Effect of decreased phosphorus content on photosynthesis and glycolate formation in wheat leaves. *Physiol. Veg.* **21** (4): 701–704.
- [23] KHAMIS S., CHAILLOU S., LAMAZE T. 1990. CO₂ assimilation and partitioning of carbon in maize plants deprived of orthophosphate. *J. Exp. Bot.* **41** (233): 1619–1625.
- [24] KOSTER K. L., LYNCH D. V. 1992. Solute accumulation and compartmentation during the cold acclimation of Puma rye. *Plant Physiol.* **98**: 108–113.
- [25] KOWALCZYK S. 1992. Błonowe pirofosfatazy transportujące protony. *Post. Biochem.* **38** (4): 183–189.
- [26] KOWALCZYK S. 1993. Fruktozo 2,6 bisfosforan – efektor integrujący metabolizm cukrów i pirofosforanu w przedziałach subkomórkowych roślin. *Post. Biol. Komórki* **20** (1): 67–85.
- [27] KOYAMA H., OJIMA K., YAMAYA T. 1992. Characteristics of aluminium-phosphate-adapted carrot cells: Uptake and utilization of the phosphate. *Plant Cell Physiol.* **33** (2): 171–176.
- [28] KUIPER D., STAAL M. 1987. The effect of exogenously applied plant growth substances on the physiological plasticity in *Plantago major* ssp. *pleiosperma*: Responses of growth, shoot to root ratio and respiration. *Physiol. Plant.* **69**: 651–658.
- [29] LAMBERS H. 1980. The physiological significance of cyanide resistant respiration in higher plants. *Plant Cell Environ.* **3**: 293–302.
- [30] LAMBERS H. 1985. Respiration in intact plants and tissues: Its regulation and dependence on environmental factors, metabolism and invaded organisms. W: C. R. DOUCE, D. A. DAY (red.), *Encyclopedia of Plant Physiology, New Series 18* Springer-Verlag, Berlin. ss. 444–448.
- [31] LAMBERS H., RYCHTER A. M. 1989. The biochemical background of variation in respiration rate: respiratory pathways and chemical composition. W: LAMBERS H. (red.), *Causes and consequences of variation in growth rate and productivity of higher plants*. SPB Academic Publishing bv. The Hagen, 199–225.
- [32] LAUER M. J., BLEVINS D. G., SIERZPUTOWSKA-GRACZ. 1989. ³¹P-nuclear magnetic resonance determination of phosphate compartmentation in leaves of reproductive soybeans (*Glycine max* L.) as affected by phosphate nutrition. *Plant Physiol.* **89**: 1331–1336.
- [33] LEE R. B. 1982. Selectivity and kinetics of ion uptake by barley plants following nutrient deficiency. *Ann. Bot.* **50**: 429–449.
- [34] LEE R. B., RATCLIFFE R. G. 1983. Phosphorus nutrition and the intracellular distribution of inorganic phosphate in pea roots tips: A quantitative study using ³¹P-NMR. *J. Exp. Bot.* **146**: 1220–1240.
- [35] LEE R. B., RATCLIFFE R. G. 1993. Subcellular distribution of inorganic phosphate and levels of nucleoside triphosphate in mature maize roots at low external phosphate concentrations: measurements with ³¹P-NMR. *J. Exp. Bot.* **44** (260): 587–598.
- [36] LEFEBVRE D. D., GLASS A. D. 1982. Regulation of phosphate influx in barley roots: effect of phosphate deprivation and reduction of influx with provision of orthophosphate. *Physiol. Plant.* **54**: 199–206.
- [37] LESHEM Y. Y. 1994. Is the a common „GAS” (general adaptation syndrome) response to different types of physiological stress? *Biol. Plantarum* **36** (suppl.): 2.
- [38] LI X-N., ASHIHARA H. 1990. Effects of inorganic phosphate on sugar catabolism by suspension-cultured *Catharanthus roseus*. *Phytochemistry* **29**: 497–500.
- [39] MARSCHNER H., ROMHELD V., CAMACK V. 1987. Root induced changes of nutrient availability in the rhizosphere. *J. Plant Nutr.* **10**: 9–16.
- [40] PERSANOV V. M., ANDREEVA T. F. 1970. Effect of duration of phosphorus deficiency on transfer and utilization of assimilates with regard to plant growth and productivity. *Physiol. Rast.* **17**: 1175–1181.
- [41] POIRIER Y., THOMA S., SOMERVILLE C., SCHIEFELBEIN J. 1991. A mutant of *Arabidopsis* deficient in xylem loading of phosphate. *Plant Physiol.* **97**: 1087–1093.
- [42] QIU J., ISRAEL D. W. 1994. Carbohydrate accumulation and utilization in soybean plants in response to altered phosphorus nutrition. *Physiol. Plant.* **90**: 722–728.
- [43] RAO I. M., FREDEEN A. L., TERRY N. 1993. Influence of phosphorus limitation on photosynthesis, carbon allocation and partitioning in sugar beet and soybean grown with a short photoperiod. *Plant Physiol. Biochem.* **31** (2): 223–231.
- [44] REBELLE F., BIGNY R., DOUCE R. 1984. Is the cytosolic Pi concentration a limiting factor for plant cell respiration? *Plant Physiol.* **74**: 355–359.
- [45] RUFTY T. W., MACKOWN C. T., ISRAEL D. W. 1990. Phosphorus stress effects on assimilation of nitrate. *Plant Physiol.* **94**: 328–333.
- [46] RUFTY T. W., ISRAEL D. W., VOLK R. J., QIU J., SA T. 1993. Phosphate regulation of nitrate assimilation in soybean. *J. Exp. Bot.* **44** (262): 879–891.
- [47] RYCHTER A. M. 1982. Alternatywna droga oddechowa w roślinach wyższych. *Post. Biochem.* **28**: 89–111.
- [48] RYCHTER A. M., MIKULSKA M. 1990. The relationship between status and cyanide-resistant respiration in bean roots. *Physiol. Plant.* **79**: 663–667.
- [49] RYCHTER A. M., CHAUVEAU M., BOMSEL J. L., LANCE L. 1992. The effect of phosphate deficiency on mitochondrial activity and adenylate levels in bean roots. *Physiol. Plant.* **84**: 80–86.
- [50] RYCHTER A. M., RANDALL D. D. 1994. The effect of

- phosphate deficiency on carbohydrate metabolism in bean roots. *Physiol. Plant.* **91**: 383–388.
- [51] RYCHTER A. M., MIKULSKA M., KRAWCZAK A., GNIAZDOWSKA A. 1994. The effect of phosphate deficiency on energy economy of bean plants. (W przygotowaniu do druku).
- [52] SAKANO K. 1990. Proton/phosphate stoichiometry in uptake of inorganic phosphate by cultured cells of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *Plant Physiol.* **93**: 479–483.
- [53] SCHJORRING J. K. 1986. Nitrate and ammonium absorption by plants growing at a sufficient or insufficient level of phosphorus in nutrient solution. W: LAMBERS H., NEETESON J. J., STULEN I. (red.) *Fundamental, ecological and agricultural aspects of nitrogen metabolism in higher plants*. Dordrecht: Martinus Nijhoff, 53–58.
- [54] SENTENAC H., GRIGNON C. 1985. Effect of pH on orthophosphate uptake by corn roots. *Plant Physiol.* **77**: 136–141.
- [55] SHUMAN L. M. 1994. Mineral nutrition. W: WILKINSON R. E. (red.) *Plant-environment interactions*. Marcel Dekker, Inc. New York, Basel, Hong Kong, ss. 149–182.
- [56] THEODOROU M. E., PLAXTON W. C. 1993. Metabolic adaptations of plant respiration to nutritional phosphate deprivation. *Plant Physiol.* **101**: 339–344.
- [57] THEODOROU M. E., PLAXTON W. C. 1994. Induction of P_{Pi}-dependent phosphofructokinase by phosphate starvation in seedlings of *Brassica nigra*. *Plant, Cell and Environment* **17**: 287–294.
- [58] VAN DER WERF A., KOOJIMAN A., WELSCHEN R., LAMBERS H. 1988. Respiratory energy costs for the maintenance of biomass, for growth and for ion uptake in roots of *Carex diandra* and *Carex acutiformis*. *Physiol. Plantarum* **72**: 483–491.
- [59] VEITH R., KOMOR E. 1993. Regulation of growth, sucrose storage and ion content in sugarcane cells, measured with suspension cells in continuous culture grown under nitrogen, phosphorus or carbon limitation. *J. Plant Physiol.* **142**: 414–424.