

ZOFIA STARCK

*Katedra Fizjologii Roślin
Wydział Rolnictwa i Biologii
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego
Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa
e-mail: kfr@sggw.pl*

RÓŻNORODNE FUNKCJE WĘGLA I AZOTU W ROŚLINACH

WPROWADZENIE

Rośliny w czasie ontogenezy stale modyfikują przebieg procesów życiowych; często pod kontrolą procesu różnicowania realizowane są kolejne fazy rozwojowe. Ontogeneza odbywa się na tle zmieniających się warunków środowiska. Nieustanna kontrola przebiegu procesów dotyczy między innymi odżywiania, zapewniającego zaopatrzenie rośliny w niezbędne substraty konieczne do wzrostu oraz dostarczające energii. Priorytetową funkcję w tych procesach odgrywa asymilacja CO_2 i azotu oraz metabolizm wytworzonych produktów. Stosunek ilości węgla do azotu w roślinach waha się w szerokich granicach – od około 5 u glonów do ponad 100 u drzew (RAVEN i współaut. 2004).

Wzrost roślin ściśle uzależniony od produkcji biomasy jest wynikiem fotosyntezy oraz asymilacji azotu pobieranego z podłoża, najczęściej w postaci jonów NH_4^+ lub NO_3^- . Pęd rośliny jest typowym akceptorem azotu, a system korzeniowy jego donorem, przy odwrotnych funkcjach liści – donorów fotoasymilatów, produkujących i wykorzystujących węglowodany i korzeni – akceptorów produktów fotosyntezy. Warunkiem syntezy podstawowych związków budulcowych, wchodzących w skład struktur komórkowych, jest jednoczesna asymilacja tych dwóch pierwiastków, węgla i azotu, oraz pozostałych makro- i mikroelementów. W tym opracowaniu nie będą one omawiane. W ostatnim okresie coraz częściej prowadzone są badania dotyczące fotosyntetycznej asymilacji azotu (FOYER i NOCTOR 2002) i współzależności pomiędzy

funkcją węglowodanów i rozpuszczalnych związków azotowych. W dużym skrócie określa się je jako stosunek C/N.

Fotosynteza stale zaopatruje rośliny w fotoasymilaty, jako substraty oddechowe i szkielety węglowe, zarówno do syntez różnych metabolitów, jak również w substraty do syntezy związków biologicznie czynnych, głównie hormonów. Pobieranie azotu i jego asymilacja muszą być precyzyjnie skorelowane z fotosyntezą i metabolizmem węgla. Z tego typu krzyżujących się współzależności (ang. cross talk) wynikają zmiany wzorów dystrybucji substancji pokarmowych w całej roślinie, a w konsekwencji – realizacja na bieżąco modyfikowanych programów wzrostu liści i korzeni (KOCH 1996, FOYER i współaut. 2000, SCHEIBLE i współaut. 1997).

Produkty wytwarzane w metabolizmie C i N stanowią nie tylko substancje troficzne, lecz również związki przekazujące informacje dotyczące bieżącego statusu (ang. current status) zaopatrzenia komórek w węgiel i azot oraz o wzajemnych stosunkach ilościowych związków azotowych i węglowych (głównie węglowodanów), czyli C/N (STARCK 2004, 2005). Informacje te wykorzystywane są na różnych poziomach organizacji rośliny: od poziomu molekularnego – regulacji ekspresji genów, syntezy enzymów i regulacji ich aktywności, do współzależności pomiędzy przebiegiem poszczególnych procesów fizjologicznych. Cukry i niektóre związki azotowe pełnią funkcje cząsteczek sygnałowych. Rośliny mają „wyczuloną” wrażliwość na we-

wnątrzkomórkowe zmiany poziomu cukrów i dlatego mogą na nie bardzo szybko reagować (FARRAR i współaut. 2000; GIBSON 2004, 2005). Umożliwia to między innymi sprawną modyfikację intensywności wzrostu.

Regulacja odżywiania się roślin C i N w dużym stopniu oparta jest nie tylko na wrażliwości komórek na poziom węgla, lecz również na zmiany ilości rozpuszczalnych związków azotowych, charakterystycznych dla poszczególnych etapów rozwoju oraz w zmieniających warunkach środowiska. Dostępność szkieletów węglowych, produkowanych w fotosyntezie, jest podstawowym warunkiem wykorzystania azotanów w metabolizmie azotu. Około 75% azotu liści jest zlokalizowana w chloroplastach. Dużą jego część to azot białka Rubisko, enzymu o wyjątkowo niskiej aktywności.

Zarówno cukry, jak i azotany regulują ekspresję „genów fotosyntezy” i „genów asymi-

lacji azotu” oraz funkcjonowanie czynników transkrypcyjnych (Bi i współaut. 2005).

W wielu przypadkach zwiększona zawartość cukrów, szczególnie w warunkach niedostatecznego odżywiania roślin azotem, stymuluje wzrost korzeni. Z reguły nadmierne stężenie cukrów rozpuszczalnych, przy deficycie azotu, przyspiesza proces starzenia się liści (GIBSON 2005 i prace tam cytowane).

Produkty fotosyntezy, stanowiące substraty oddychowe, ulegają reoksydacji w procesach oddychania i fotooddychania (FOYER i NOCTOR 2002). Asymilacja azotu łączy fotosyntezę i oddychanie, a u roślin C₃ również fotooddychanie, w sieć współzależnych ze sobą procesów. Z tego wynika, że wielokierunkowe i precyzyjnie koordynowane są interakcje pomiędzy asymilacją węgla i azotu (FOYER i NOCTOR 2002, STARCK 2004). Obecnie znajdują się one w centrum uwagi biologów.

WSPÓLZALEŻNOŚCI POMIĘDZY FUNKCJONOWANIEM CHLOROPLASTÓW I MITOCHONDRIÓW NA TLE RYTMIKI OKOŁODOBOWEJ

Pierwotne informacje o konieczności zmian programów wzrostowych, wynikające z realizacji określonych etapów ontogenezy i z przystosowania się rośliny do warunków środowiska, pochodzą z różnych organelli, w tym z chloroplastów i z mitochondriów. Organella te dążą do utrzymania optymalnego bilansu energetycznego i wydajnego włączania C i N do różnych związków. Na poziomie całej rośliny istotną rolę odgrywa też oszczędna gospodarka wodą. Współczynnik wykorzystania energii świetlnej do syntezy biomasy określany jest jako RUE (ang. radiation use efficiency), a współczynnik wykorzystania wody – WUE (ang. water use efficiency). Badania pozwalające na obliczenia takich wskaźników prowadzi się często na dzikich formach roślin uprawnych, mutantach lub roślinach transgenicznych.

Komórka roślinna w sposób ciągły zaopatruje poszczególne przedziały komórkowe w energię w postaci ATP oraz w równoważniki redukcyjne – NAD(P)H. Poziom zaopatrzenia i zapotrzebowanie na te związki zmieniają się dynamicznie. Zależy on zarówno od tak zwanego „mikroklimatu komórki”, jak i od czynników środowiska. Na przykład, w przypadkach intensywnego oświetlenia roślin, chloroplasty wytwarzają duże ilości ATP i NADPH, przewyższające możliwości

ich wykorzystania w chloroplastach w fazie niezależnej od światła. Oba te związki mogą wówczas być eksportowane do innych przedziałów komórki. W warunkach, gdy światło jest czynnikiem limitującym fotosyntezę, przy jednoczesnym stosunkowo wysokim stężeniu CO₂, chloroplasty importują ATP i NADPH. W takich przypadkach mitochondria eksportują ATP i cytryniany, które w cytozolu redukują NADP. Wymiana metabolitów między mitochondriami i chloroplastami wskazuje na ogromną plastyczność przystosowywania się organelli do różnych warunków (GARDESTROM i współaut. 2002). W przypadkach gdy brakuje NADP⁺, czyli akceptora elektronów, związki te są przechwytywane przez tlen i powstają reaktywne formy tlenu ROS (ang. reactive oxygen species), należące do groźnych dla komórki wolnych rodników. Cukry, biorące udział w oddychaniu i w różnych szlakach metabolicznych, np. w oksydacji kwasów tłuszczowych, uczestniczą w hamowaniu powstawania ROS. W innych jednak przypadkach mogą stymulować ich powstawanie (COUËE i współaut. 2006).

Oprócz wymiany metabolitów pomiędzy mitochondriami i chloroplastami organella te przesyłają sobie różnego typu informacje. Po nocnej przerwie mitochondria przekazują do chloroplastów sygnały o konieczności wzno-

wienia procesu fotosyntezy (GARDESTRÖM i współaut. 2002). Intensywność nie tylko procesu fotosyntezy, lecz również oddychania, ulega fluktuacjom okołodobowym (cyrkadialnym) i sezonowym. Wymaga to bardzo precyzyjnej regulacji biosyntezy i aktywności wielu kluczowych enzymów, uczestniczących w obu procesach. Po zakończeniu nocnej ciemności, uruchamiany jest w chloroplastach proces fotosyntezy, czyli zachodzi indukcja fotosyntetyczna; trwa ona od kilkudziesięciu minut nawet do kilku godzin. Następuje wówczas uaktywnianie enzymów, uczestniczących w fotosyntezie oraz przygotowanie puli metabolicznej do wznowienia fazy świetlnej. Sprawny przebieg indukcji fotosyntetycznej jest uzależniony między innymi od aktywności mitochondriów i sprawności wymiany metabolitów pomiędzy chloroplastami i mitochondriami. Gdy w warunkach doświadczalnych obniżono aktywność mitochondriów, okres indukcji fotosyntetycznej wydłużał się (GARDESTRÖM i współaut. 2002).

Regularna zmienność dobową warunków oświetlenia (świt, światło dzienne, zmierzch, ciemność) powoduje konieczność stałej regulacji metabolizmu chloroplastów. Jest ona

regulowana przez rytmikę okołodobową, stanowiącą przejaw funkcjonowania zegara biologicznego. W regulację ekspresji dużej liczby genów zegara zaangażowane są między innymi cukry (LEJAY i współ. 2003, BLÄSING i współaut. 2005). Współdziałanie pomiędzy aktywnością transporterów jonów w korzeniach, uczestniczących w ich pobieraniu, i asymilacją CO_2 jest jednym z podstawowych warunków koordynacji pomiędzy przebiegiem asymilacji azotu i fotosyntezą. U rzodkiewnika ekspresja genów, warunkujących syntezę transporterów jonów NO_3^- , NH_4^+ i SO_4^{2-} , jest również zależna od rytmów cyrkadialnych.

Okołodobowa rytmika jest ściśle powiązana z redukcją siarczanów oraz z metabolizmem azotanów, realizowanym przez reduktazy: azotanową i azotynową. W ciemności, w chloroplastach nie dochodzi do redukcji feredoksyny wykorzystywanej w dzień do redukcji azotynów. W konsekwencji w nocy nie tylko zahamowana jest fotosynteza, lecz zdaniem GAZZARINI i współaut. (1999) jednocześnie obniżeniu ulega pobieranie i asymilacja azotanów.

WSPÓLDZIAŁANIE HORMONÓW Z REGULACYJNĄ FUNKCJĄ CUKRÓW

Rośliny dysponują zadziwiająco małą różnorodnością hormonów. Należą do nich: auksyny, gibereliny, cytokininy, kwas abscyzynowy, etylen, jasmoniany, a według niektórych autorów — również brasinoidy. Możliwość precyzyjnej koordynacji procesów, przy tak małej różnorodności hormonów, częściowo tłumaczona jest ich kontrolowanym współdziałaniem i to na różnych poziomach organizacji rośliny. Ma ono miejsce na poziomie regulacji ekspresji genów oraz oddziaływania na czynniki transkrypcyjne (GIBSON 2004, 2005).

W reakcji roślin na hormony specyficzną rolę odgrywa kompetencja zarówno komórek, jak i procesów. U rzodkiewnika polega ona na reakcji roślin, zmiennej w czasie, np. na różny poziom cukrów. Modyfikowana jest wówczas wrażliwość na hormony, np. na etylen i ABA (GAZZARINI i MCCOURT 2001).

W czasie rozwoju zarodka w nasionach lub ziarniakach zbóż cukry są nie tylko substratami oddechowymi i substratami wykorzystywanymi do budowy powstających struktur komórkowych, lecz również regulatorami, współdziałającymi z hormonami.

Wysoki poziom glukozy stymuluje mitozy, przy antagonistycznej funkcji ABA, natomiast różnicowanie komórek promuje podwyższony poziom sacharozy i ABA (WEBER i współaut. 1998, WESCHKE i współaut. 2003, GIBSON 2005 i prace tam cytowane). W badaniach prowadzonych na somatycznych zarodkach marchwi wykazano, że wysokie stężenie sacharozy może spowodować przejście tych zarodków w stan spoczynku, co nie jest związane ze zmianami osmotycznymi, lecz raczej z sygnałową funkcją tego cukru (YANG i współaut. 2004).

Reakcja na poszczególne hormony oraz regulatory wzrostu nie będące hormonami (np. systeminę, kwas salicylowy) jest również zależna od warunków środowiska. Sygnały emitowane przez te regulatory są przekazywane na duże odległości przez tkanki przewodzące — ksylem i floem, pełniące funkcję magistrali informacji (STARCK 2006).

Reakcja roślin na hormony wiąże się z obecnością w komórkach specyficznych receptorów. Kompleks hormon-receptor jest jednak wrażliwy na odbiór tylko niektórych sygnałów. Może to być wynikiem wrażliwo-

ści komórki czy organu, czyli zdolności do odbioru sygnału. Najczęściej po odbiorze sygnału uruchomiona jest cała kaskada zmian powodujących reakcję rośliny. Natychmiast rodzi się pytanie, czy komórka reaguje na wszystkie sygnały czy też zachodzi selekcja sygnałów, docierających ze środowiska lub powstających wewnątrz komórki? Wymagałoby to oceny, jakie zmiany w metabolizmie,

a w konsekwencji w przebiegu procesów, może spowodować reakcja na określony sygnał. Taka kontrola zależałaby od precyzyjnie funkcjonujących mechanizmów, np. sprzężeń zwrotnych, regulujących aktywność czy wrażliwość specyficznych receptorów. Poszukiwanie odpowiedzi na te pytania jest obecnie w centrum uwagi biologów roślin.

FIZJOLOGICZNA ROLA CUKROWCÓW – SUBSTANCJI POKARMOWYCH, SUBSTRATÓW WIELU METABOLITÓW I CZĄSTECZEK SYGNAŁOWYCH

Pierwotnym źródłem cukrów u roślin jest proces asymilacji dwutlenku węgla w chloroplastach. Węgiel eksportowany jest z chloroplastów głównie w postaci triozaforanów, choć w wielu przypadkach do cytoplazmy uwalniana jest również glukoza, powstająca w wyniku hydrolizy skrobi, okresowo gromadzonej w tych organellach. W cytozolu rozpoczyna się dalsza droga metaboliczna cukrów: synteza heksoz, a następnie sacharozy, cukru o kluczowym znaczeniu w metabolizmie związków węglowych. U dominującej liczby gatunków roślin sacharoza gra kluczową rolę w transporcie fotoasymilatów na duże odległości, przez floem (STARCK 2003). Pośrednim dowodem potwierdzającym priorytetową funkcję sacharozy jest fakt, że dotychczas nie stwierdzono występowania mutantów pozbawionych zdolności do syntezy sacharozy (SOLERNO i CURATTI 2003).

Fizjologiczne funkcje cukrów są bardzo różnorodne. Jako przykłady reakcji roślin na lokalne zwiększenie stężenia cukrów w organach lub w poszczególnych komórkach można przytoczyć: zahamowanie kiełkowania nasion, indukcję zakwitania rośliny, zwiększanie liczby bulw w przypadku ziemniaka. Cukry pełnią też funkcję osmoregulacyjną w warunkach zaburzeń w czasie różnych stresów (Ryc. 1) i ochronną dla struktur komórkowych – w warunkach niskich temperatur (STITT i HURRY 2002) lub zasolenia.

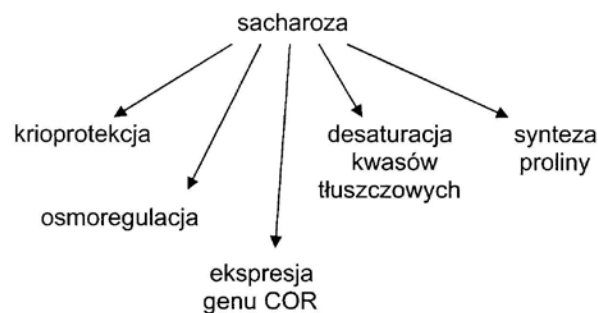
Cukry są źródłem energii, uwalnianej w procesie oddychania. Ponadto, jak już wspomniano, pełnią nie dawno poznaną funkcję tak zwanych cząsteczek sygnałowych czyli uczestniczą w regulacji metabolizmu i wielu różnorodnych procesów życiowych (SHEEN i współaut. 1999, STITT i współaut. 2002, GIBSON 2005).

Już nawet z tych kilku przykładów jasno wynika, że sygnały odbierane przez komórkę, informujące o zróżnicowanym poziomie

cukrów, są bardzo różnorodne. Wysokie stężenie sacharozy powoduje stymulację ekspresji genów uczestniczących w koordynacji metabolizmu prowadzącego do zahamowania dalszej produkcji tego cukru. Może nawet dochodzić do hamowania ekspresji „genów fotosyntezy”. Podobną funkcję mają heksozy; należą one również do kluczowych związków sygnałowych (np. KOCH 1996, 2004; CHIOU i BUSH 1998; SMEEKENS 2000; CIERESZKO 2002; patrz także CIERESZKO w tym zeszycie KOSMOSU).

Niedobór cukrów wpływa stymulująco na intensywność fotosyntezy, również poprzez stymulację ekspresji genów, zaangażowanych w procesie fotosyntezy (FARRAR i współaut. 2000, PAUL i współaut. 2001, CIERESZKO 2002). Zmiany stężenia cukrów są sygnałem odbieranym przez geny zarówno jądrowe, jak i zlokalizowane w plastydach (CIERESZKO 2002).

Z powyższych faktów wynika, że cukry, jako cząsteczki sygnałowe, regulują ekspresję genów podobnie jak klasyczne hormony. Jest to powodem, dla którego w literaturze można spotkać się z błędnym poglądem, że są one swego rodzaju hormonami (SHEEN i współaut. 1999). Przy tak śmiałym, niepra-



Ryc. 1. Regulacyjna funkcja sacharozy w warunkach różnych stresów. COR, ang. cold regulated gene (wg STITT i HURRY 2002, zmodyfikowana).

widlowym uproszczeniu należy pamiętać o ogromnym zróżnicowaniu stężenia cukrów i hormonów występujących w komórkach roślinnych. Specyfika działania cukrów jako cząsteczek sygnałowych polega między innymi na szybkiej reakcji rośliny na zmienne ich stężenie w stosunkowo krótkim czasie. Roślina precyzyjnie monitoruje zmiany w poziomie cukrów i szybko uruchamia mechanizmy prowadzące do utrzymania ich optymalnego poziomu. Kluczowym ogniwem uczestniczącym w tej regulacji jest biosynteza i hydroliza skrobi (STARCK 2002, GIBSON 2005 i prace tam cytowane).

Podobnie jak w przypadku hormonów, sygnał cukrowy jest odebrany przez specyficzny czujnik; może nim być heksokinaza. Jest to bowiem nie tylko enzym, lecz również cząsteczka wrażliwa na zmiany stężenia glukozy.

Wielu autorów sugeruje, że heksokinazy grają dominującą rolę w odbiorze i w transdukcji sygnałów generowanych przez cukry, czyli pośrednio uczestniczą w regulacji metabolizmu (JANG i SHEEN 1994, JANG i współaut. 1997, SMEEKENS 2000, LEJAY i współaut. 2003). W roślinach rzodkiewnika z nadekspresją genu heksokinazy, wzrastała wrażliwość na poziom cukrów w komórkach. Odwrotną reakcję obserwowano w warunkach orientacji antysensowej. Ocena funkcji heksokinazy, jako głównego receptora sygnałów cukrowych, spotyka się do dziś z krytycznymi uwagami i wywołuje kontrowersyjną dyskusję (CIERESZKO 2002). Sugerowany jest zróżnicowany mechanizm percepcji i transdukcji sygnałów cukrowych. Ostatnio wykazano, że również transportery, głównie sacharozy, przystosowane do transportu tego cukru przez błony komórkowe są sensorami (czujnikami) wrażliwymi na zmienne stężenie cukrów, występujących w komórce, np. transporter sacharozy SUT1 o dużej aktywności; uczestniczy on w załadunku sacharozy do floemu (BARKER i współaut. 2000).

W regulacji systemu sygnałowego ważną rolę mogą grać symportery heksoz oraz sacharozy i protonu; te ostatnie biorą udział w transporcie sacharozy przez błony (CHIOU i BUSH 1998, YANG i współaut. 2004). Grają one dużą rolę w rozładunku floemu w organach-akceptorach.

FARRAR i współaut. (2000) proponują inną hipotezę, dotyczącą mechanizmu reakcji roślin na sygnały cukrowe. Wrażliwość rośliny może wynikać z wpływu cukrów na integrację procesów w całej roślinie, a głównie na dystrybucję węgla pomiędzy donorami, produkującymi sacharozę, i akceptorami. Z tego płyną dalsze wnioski, że droga przekazywania sygnałów cukrowych w tkankach roślinnych nie funkcjonuje w oderwaniu od innych szlaków transdukcji sygnałów. Stanowi ona integralną część przestrzennej i zdeterminowanej w czasie sieci współdziałania endogennych i egzogennych czynników. Podobny pogląd wyrazili PAUL i współaut. (2001). Sygnały przekazywane przez cukry, polegające na regulacji ekspresji genów, powodują wzrost lub hamowanie wydajności procesu fotosyntezy. Jest to jednak uzależnione głównie od procesów zachodzących w organach donorach i akceptorach fotosymlatów i ich współdziałania z procesem fotosyntezy. Z tego wynika koncepcja PAULA i współaut. (2001), że modyfikacje genetyczne enzymów, uczestniczących w fotosyntezie nie mogą w zasadniczy sposób zwiększyć intensywności i aktywności fotosyntezy bez radykalnych zmian w współzależnościach aktywności akceptor-donor fotosymlatów. Modyfikacje szlaków metabolicznych prowadzi do syntezy wtórnych metabolitów wpływających w różny sposób na integrację procesów życiowych w całej roślinie (PEGO i współaut. 2000). Z tego wynika, że odbiór sygnału cukrowego powoduje zmiany nie tylko ilościowe, lecz również jakościowe.

METABOLIZM CUKRÓW I SKROBI

Sacharoza jest dwucukrem nie redukującym, bardzo łatwo rozpuszczalnym w wodzie, u niektórych roślin (burak cukrowy, trzcina cukrowa) jest akumulowana w wakuoli organów spichrzowych. Transport sacharozy przez błony ułatwiają transportery sacharozy SUC lub SUT. Są one zlokalizowane

w błonach różnych komórek, m.in. graniczących ze sobą komórek towarzyszących i rurek sitowych oraz w komórkach akceptorów substancji pokarmowych (STARCK 2003).

Sacharoza syntetyzowana jest w roślinach przy udziale syntazy fosforanu sacharozy (SPS). Substratami w tej reakcji są urydyno-

difosforan glukozy (UDPgłukoza) i fruktozo-6-fosforan (Fru-6-P). Powstający ester sacharozo-6-fosforan jest defosforylowany przy udziale fosfatazy fosforanu sacharozy (SPP); jako produkty powstają sacharoza i fosforan. Inaczej przebiega synteza sacharozy przy udziale syntazy sacharozy (stosowane są różne skróty, oznaczające ten enzym: SS, SuSy lub SAS). Syntaza sacharozy zlokalizowana w cytozolu katalizuje zarówno syntezę, jak i degradację tego cukru. W wyniku rozkładu sacharozy, przy katalitycznym udziale SuSy, powstaje fruktoza i urydynodifosforan glukozy (UDPgłukoza), zachowujący w tym związku wysoką wartość energetyczną. Jest to prekursor do wielu syntez, między innymi skrobi i innych polisacharydów.

Badania ostatnich lat wykonane na *Ara-bidopsis* i *Solanum tuberosum* wykazały, że aktywność syntazy sacharozy odgrywa istotną, choć pośrednią rolę w syntezie skrobi (MUÑOZ i współaut. 2005). W roślinach transgenicznym z nadprodukcją tego enzymu wzrastała zawartość UDP-głukozy i skrobi, natomiast w warunkach obniżonej produkcji SuSy (antysens) poziom obu związków wyraźnie malał. Z powyższych badań wyciągnięto wnioski wskazujące na swego rodzaju regulacyjną, obok katalitycznej, funkcję enzymu SuSy. Dotyczy ona regulacji poziomu skrobi w liściach-donorach fotoasymilatów. Biosynteza skrobi, która zachodzi w chloroplastach, jest więc ściśle związana z metabolizmem sacharozy, zlokalizowanym w cytozolu. Wskazuje to na jeszcze jedną funkcję sacharozy.

Nie mniej ważny jest przebieg hydrolizy sacharozy przy udziale jednej zasadowej i kilku kwaśnych inwertaz. Inwertazy, w zależności od ich lokalizacji w komórce, biorą udział w regulacji różnych procesów. Kwaśne inwertazy zlokalizowane w ścianie komórkowej, uczestniczą pośrednio w transdukcji sygnałów poprzez ekspresję genów, związanych z wrażliwością komórek na zmiany stężenia cukrów. Wpływają na podziały komórkowe i dystrybucję cukrów w komórce, m.in. poprzez zwiększanie ilości transporterów heksoz (KOCH 2004). Produkty hydrolizy sacharozy, powstające w wyniku reakcji katalizowanej przez inwertazę zlokalizowaną w cytozolu, dostarczają substratów oddechowych i heksoz wykorzystywanych do syntez różnych metabolitów. Wakuolarna inwertaza kwaśna, hydrolizując sacharozę, powoduje wzrost zawartości cukrów prostych uczestniczących w osmoregulacji i w oddychaniu

(STURM i TANG 1999, KOCH 2004). Z przykładowo wymienionych funkcji inwertaz zlokalizowanych w różnych przedziałach komórki wynika, że są one potencjalnymi, silnymi efektorami wielu różnorodnych procesów; dostarczają bowiem heksoz, cząsteczek sygnałowych (KOCH 2004). Zarówno inwertazy, jak i syntaza sacharozy, uczestniczące w degradacji sacharozy w różny jednak sposób, wpływają na sygnałową funkcję cukrów i metabolizm węglowodanów, a pośrednio, również innych związków. W czasie rozwoju ziarniaków jęczmienia, inwertaza kwaśna zlokalizowana w apoplasmie, ma największą aktywność w okresie poprzedzającym akumulację skrobi. Podczas intensywnej syntezy skrobi wzrasta natomiast aktywność SuSy, w wyniku czego powstaje UDPgłukoza (WESHKE i współaut 2003).

Na szczególną uwagę zasługuje mechanizm stałej regulacji poziomu i stosunków heksoz do sacharozy oraz cukrów do ilości skrobi. Odbywa się ona na różnych poziomach organizacji: począwszy od ekspresji specyficznych genów, poprzez regulację post-translacyjną i modyfikacje aktywności enzymów, uczestniczących w metabolizmie węglowodanów (SZADEL i LORENC-PLUCIŃSKA 2002).

Regulacja syntezy skrobi odgrywa kluczową rolę w metabolizmie węglowodanów. Jest to bowiem związek, który u wielu gatunków roślin jest podstawową substancją akumulowaną w wegetatywnych organach spichrzowych i w nasionach lub ziarniakach. Skrobia niekiedy gromadzi się również w dużych ilościach w chloroplastach. U tak zwanych roślin skrobiowych, po dziennej akumulacji skrobi, w nocy następuje jej hydroliza i eksport produktów rozkładu. W warunkach zaburzeń eksportu produktów fotosyntezy z chloroplastów, np. zahamowanego transportu floemowego, skrobia gromadzi się w chloroplastach w bardzo dużych ilościach. Podobne zjawisko obserwuje się w warunkach zachwiania równowagi pomiędzy fazą świetlną fotosyntezy i fazą bezpośrednio niezależną od światła (np. przy wysokim stężeniu CO₂ w atmosferze). W skrajnych przypadkach, gdy stężenie dwutlenku węgla w atmosferze zwiększono 4-krotnie, ziarna skrobi wypełniające chloroplasty pomidorów zajmowały około 90% ich objętości; hamowany był wówczas dopływ światła do fotosystemów (MADSEN 1976). W roślinach z deficytowym poziomem fosforu również w ciągu nocy hamowany jest rozkład skrobi (STARCK i współaut. 1997, CIERESZKO i

współaut. 2005, patrz także CIERESZKO w tym zeszycie KOSMOSU).

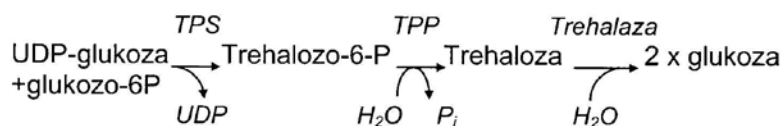
Ostatnio w badaniach dotyczących warunków powstawania skrobi w chloroplastach, szczególną uwagę zwrócono na enzym AGP-azę (ADP-glukozy-pyrofosforylazę), uczestniczący w tej syntezie (GEINBERGER i współaut. 2005). Aktywność AGP-azy w chloroplastach jest regulowana przez światło i sygnały cukrowe, powodujące zwiększanie aktywności tego enzymu. Wynika ona z redukcji bisulfidowej grupy S-S, występującej pomiędzy cysteinami dwóch podjednostek tetramerycznego białka, do grup SH. W tej reakcji oksydo-redukcyjnej uczestniczy tioredoksyna, jeden z regulatorów reakcji świetlnych fotosyntezy.

Enzym ze zredukowanymi grupami bisulfidowymi i towarzyszącymi zmianami konformacji białka nabiera zwiększonego powinowactwa do substratu i dużej aktywności. Jest to klasyczny przykład post-translacyjnej regulacji sprawności działania enzymu, po odebraniu sygnałów, generowanych przez światło i cukier, działających addytywnie. Zdaniem GEIGENBERGER i współaut. (2005) reakcje oksydo-redukcyjne odgrywają podstawową rolę zarówno w asymilacji dwutlenku węgla, jak również w innych reakcjach metabolizmu węglowodanów, głównie w syntezie skrobi. Są to reakcje roślin na sygnały fizjologiczne i środowiskowe.

FUNKCJA I METABOLIZM TREHALOZY

Omawiając biologiczne funkcje różnych cukrów, nie sposób nie wspomnieć nowych wyników badań, dotyczących roli trehalozy i jej pochodnych (GODDIJN i SMEEKENS 1998, GODDIJN i VAN DUN 1999, WINGLER 2002). Jest to alfa-D-glukopiranozylo-1-1-alfa-D-glukopiranozyd, czyli dwucukier nie redukujący. Wiązanie glikozydowe jest utworzone pomiędzy dwoma węglami glikozydowymi. Trehaloza jest bardzo hydrofilnym i termicznie stabilnym związkiem. Łatwo tworzy wiązania wodorowe pomiędzy grupami hydrofilnymi cukrów i białek, np. z heksokinazą (EASTMOND i współaut. 2002). W warunkach odwodnienia komórek glonów oraz drożdży i innych grzybów, chroni błony komórkowe przed degradacją i, jak sugerują niektórzy autorzy, „zastępuje wodę”. Ponadto tworzy tak zwane niehygroskopijne szkliwo (WOLSKA-MITASZKO 2001). Podobną funkcję, jak u wymienionych powyżej organizmów, pełni u roślin zmarzniętych (rezurekcyjnych), skrajnie odpornych na odwodnienie. Obecnie wiadomo, że trehaloza również u innych roślin stanowi substancję ochronną, zabezpieczającą błony komórkowe przed degradacją w czasie

stresów, głównie suszy i stresów termicznych (WINGLER 2002). U roślin wyższych trehaloza występuje powszechnie, choć zawsze w śladowych ilościach, rzędu 0,15 mg g⁻¹ suchej masy (SCHLUEPMANN i współaut. 2004). Jest ona niezbędna między innymi jako regulator metabolizmu węglowodanów, a pośrednio – wzrostu. Mutanty ze zredukowaną syntezą enzymu syntazy trehalozo 6-fosforanu (TPS) mają zahamowany wzrost liści, nie wytwarzają nasion a nawet nie przechodzą w fazę generatywną (VAN DIJKEN i współaut. 2004). Chociaż zawartość trehalozy w roślinach jest tak mała, zdolność do jej syntezy w świetle roślin jest powszechna (GODDIJN i VAN DUN 1999, WINGLER 2002, BOE i współaut. 2005). Metabolizm trehalozy jest zbliżony do metabolizmu sacharozy (Ryc. 2). Substratami do jej syntezy są UDP-glukoza i Glukozy-6- fosforan (Gl-6P). W wyniku reakcji katalizowanej przez syntazę fosforanu trehalozy (TPS) powstaje trehalozo-6-fosforan (T6P), funkcjonujący w roślinach jako związek sygnałowy. W warunkach nadmiernej ilości glukozy w komórkach, ekspresja „genów fotosyntezy” jest hamowana (KOCH 1996), co wiąże się z ni-



UDP – urydynodifosforan

TPP – fosfataza trehalozodifosforanu

TPS – syntaza trehalozo-6fosforanu

Ryc. 2. Przebieg syntezy i rozkładu trehalozy.

skim poziomem T6P. W przypadku konieczności zwiększenia intensywności fotosyntezy, wzrasta aktywność TPS, a w konsekwencji – synteza T6P. Trehaloza jest związkiem odgrywającym ważną funkcję regulacyjną, choć w ogromnym stopniu zależną od jej stężenia. W skrajnych przypadkach zahamowanej syntezy T6P u mutantu *tps*, w rozwijających się nasionach rzodkiewnika, zahamowany jest wzrost komórek i zarodki zamierają (EASTMOND i współaut. 2002). Obecnie przypuszcza się, że T6P pełni rolę „czujnika” poziomu cukrów, reguluje metabolizm węglowodanów, szczególnie w sytuacji poziomu „głodowego” (GODDIJN i SMEEKENS 1998; PAUL i współaut. 2001). Ogranicza przepływ cukrów do glikolizy, ponieważ hamuje aktywność heksokinazy.

Zawartość T6P jest obniżana przez fosfatę trehalozo-6-fosforanu (TPP), powodującą defosforylację T6P i powstawanie trehalozy (Ryc. 2). Cukier ten, podobnie jak sacharoza, indukuje ekspresję genów, uczestniczących w akumulacji węglowodanów w organach

fotosyntetyzujących. U rzodkiewnika trehaloza indukuje ekspresję genu *ApL3*, kodującego dużą podjednostkę ADP-glukozy-pyrofosforylasy (WINGLER 2002). Zwiększona zawartość trehalozy hamuje wzrost roślin (GODDIJN i VAN DUN 1999). W takim przypadku wzrasta aktywność trehalazy, enzymu hydrolizującego trehalozę; jest to zabezpieczenie rośliny przed ujemnym wpływem nadmiernej ilości tego cukru.

Wyniki badań poszukujących pełnej odpowiedzi jaką rolę spełnia trehaloza i T6P nie są jednoznaczne. Jedną z przyczyn rozbieżności poglądów jest stosowanie w badaniach różnorodnych metod; są one prowadzone albo na mutantach z obniżoną aktywnością któregoś z genów, albo na roślinach modyfikowanych genetycznie, z nadprodukcją lub niskim poziomem poszczególnych enzymów. W ostatnich latach coraz częściej wnioski dotyczące funkcji trehalozy wyciągane są z doświadczeń z roślinami traktowanymi trehalozą egzogenicznie (BOE i współaut. 2005).

POBIERANIE I ASYMLACJA AZOTU

Stężenie azotu w glebie waha się w bardzo szerokich granicach: od 10 μM do 100 mM (CRAWFORD 1995). Stwarza to konieczność precyzyjnej regulacji pobierania tego kluczowego makroelementu w celu zapewnienia roślinie dostatecznej ilości azotu i optymalnego stosunku C/N.

Na siedliskach bardzo ubogich w składniki mineralne, często podmokłych, i przy skrajnym braku azotu w podłożu, niektóre gatunki roślin ewolucyjnie wykształciły osobliwy mechanizm odżywiania się organizmami zwierzęcymi. Ten niezwykle sposób zdobywania pokarmów zafascynował ponad 100 lat temu Darwina, który w 1875 r. opublikował pracę p.t. *Insectivorous plants* (za ADLASSING i współaut. 2005). Są to rośliny zwane owadożernymi lub mięsożernymi; są one odporne na zakwaszenie podłoża, na zatopienie, a często również na stresy termiczne (ELLISON i GOTELLI 2001, ADLASSING i współaut. 2005). Obecnie znanych jest na świecie około 600 tak odżywiających się gatunków. W Polsce występuje ich tylko kilkanaście, między innymi kilka gatunków rosiczki (*Drosera*), rosnącej najczęściej na torfowiskach wysokich. Schwytane przez roślinę owady, ślimaki czy inne, drobne zwierzęta są trawione w swego rodzaju pułapkach, wytworzonych na zmo-

dyfikowanych liściach. Roślina mięsożerna wydziela enzymy proteolityczne rozkładające białka ofiary i pochłania powstające z degradacji białek aminokwasy, stanowiące źródło azotu i innych makro- i mikroelementów. Rośliny mięsożerne z reguły mają zredukowany system korzeniowy, zdolny do pobierania wody i jonów z podłoża. Ilość azotu pochodząca od schwytanych drobnych zwierząt waha się u tych roślin w granicach od 10 do 87% całkowitej ilości azotu w jej organizmie. Rośliny mięsożerne asymilują najczęściej śladowe ilości dwutlenku węgla. Intensywność fotosyntezy, zależna od warunków środowiska i różnych gatunków, wynosi od 24 do 76 $\text{nmol g}^{-1} \text{s}^{-1}$ (ELLISON i GOTELLI 2001), czyli jest o kilka rzędów wielkości niższa niż u roślin w pełni autotroficznych. Fotosynteza zlokalizowana jest albo w przekształconych liściach albo w innych organach wegetatywnych, np. ogonkach liściowych (ADLASSING i współaut. 2005).

Ogromna większość roślin pobiera azot z podłoża, w postaci jonów amonowych – NH_4^+ lub azotanów – NO_3^- . Jony amonowe są stosunkowo łatwo włączane do kwasów organicznych; powstają wówczas aminokwasy, a w dalszej kolejności – białka lub inne metabolity. Pobieranie NH_4^+ odbywa się przy

współdziałanie szeregu transporterów – AMT (ang. aminotransporter). W zależności od stężenia jonów amonowych w podłożu roślina uruchamia syntezę transportera o większej lub mniejszej aktywności. Ekspresja odpowiedniego genu zachodzi w ciągu kilku godzin od momentu zmiany zawartości NH_4^+ w podłożu (VON WIREN i współaut. 2000). W regulacji syntezy AMT uczestniczą światło i dynamika cyrkadianalna; oba czynniki powodują bowiem zmiany w zawartości cukrów (CRAWFORD 1995, GAZZARINI i współaut. 1999, LOQUE i VON WIREN 2004). W przypadku, gdy w komórkach zwiększony jest poziom jonu amonowego, trujący dla rośliny (BRITTO i KRONZUCKER 2002), uruchamiane są mechanizmy zahamowania pobierania tego jonu. W warunkach deficytowych zawartości azotu, roślina już po kilku godzinach uruchamia ekspresję genu, w konsekwencji powodującą syntezę bardzo wydajnego transportera jonów amonowych. Po wzroście w komórce stężenia NH_4^+ i w obecności zwiększonego poziomu glutaminy, synteza transportera jest hamowana.

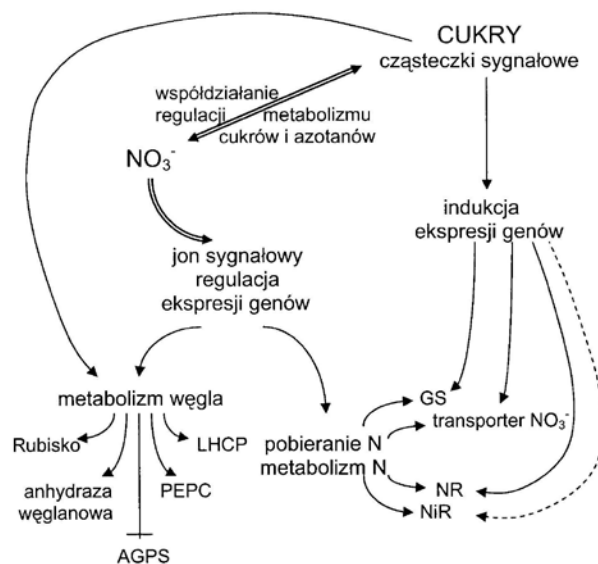
Ponadto, w przypadku dostatecznego zapotrzebowania rośliny w szkielety węglowe, stymulowana jest asymilacja NH_4^+ do związków organicznych, dzięki aktywacji enzymów uczestniczących w metabolizmie azotu: syntazy glutaminowej (GS) i dehydrogenazy glutaminianowej (GDH).

Asymilacja azotanów przebiega wieloetapowo i z bardzo dużym wydatkowaniem energii, wynoszącym nawet powyżej 10% całodiennej produkcji fotosyntetycznej (ESCOBAR i współaut. 2006). Jony te pobierane są również przy udziale transporterów o różnej aktywności. U *Arabidopsis* jeden z transporterów o małej aktywności oznacza się skrótem NRT1, natomiast o dużej, NRT2 (OKAMOTO i współaut. 2003). Ekspresja genów powyższych transporterów hamowana jest przez glutaminę i NH_4^+ .

Azotany pobierane z podłoża redukowane są do azotynów, zarówno w korzeniach, jak i w liściach, w obu przypadkach przy udziale reduktazy azotanowej (NR), zależnej od NAD(P)H. Synteza NR jest ściśle kontrolowana między innymi przez poziom cukrów i emitowane przez nie sygnały. Czas półtrwania tego enzymu jest dostosowany do rytmiki dobowej; wynosi on u pomidorów – 6 h w ciągu dnia, natomiast tylko 2,5 h – w ciemności (TUCKER i współaut. 2004). Redukcja azotynów odbywa się bowiem w chloroplastach i w nocy jest zahamowana, gdyż

katalizuje ją reduktaza azotynowa (NiR) wykorzystująca jako donora elektronów zredukowaną feredoksynę, powstającą na świetle. Redukcja azotynów do jonów amonowych konkuruje zatem z asymilacją CO_2 o produkty fazy świetlnej fotosyntezy. Ponieważ azotyny są dla komórki toksyczne, ten etap redukcji musi przebiegać bardzo sprawnie. Jest pod kontrolą wynikającą zarówno z regulacji ilości NiR, jak i jej aktywności. Azotyny powodują hamowanie aktywności wielu enzymów cyklu Calvina, degradują DNA i składniki błon komórkowych (FOYER i współaut. 1994). W skrajnych przypadkach braku możliwości dostatecznie szybkiej redukcji NO_2^- do NH_4^+ , roślina wytwarza tlenki azotu wydzielane do atmosfery. Jest to kosztowne zabezpieczenie rośliny przed zatruciem azotynami. W tych reakcjach uczestniczy reduktaza azotanowa, enzym wielofunkcyjny (KAISER i współaut. 2002).

W następnym etapie asymilacji azotu grupa amonowa jest włączona do 2-oksoglutaranu (zwanego dawniej alfa-ketoglutaran) przy udziale enzymu dehydrogenazy glutaminianowej (GDH); powstaje wówczas glutaminian. Po przyłączeniu następnego jonu NH_4^+ , przy udziale syntetazy glutaminowej (GS), powstaje glutamina (Ryc. 3). U roślin C3 syntetaza



Ryc. 3. Współdziałanie szlaków metabolicznych cukrów i azotanów.

AGPS – mała jednostka ADP glukopirufosforylazy; GS – syntetaza glutaminowa; LHCP – kompleks chlorofil a/b białko; NR – reduktaza azotanowa; NiR – reduktaza azotynowa; PEPC – karboksylaza fosfoenolo-pirogronianu (wg STARCK 2004, zmodyfikowana).

glutaminowa, występująca w mezofilu, bierze udział w wiązaniu NH_3 , uwalnianego w procesie fotooddychania (GROSSMAN i TAKAHASHI 2001). GDH uczestniczy nie tylko w biosyntezie glutaminianu (czyli w reakcji anabolicznej), lecz również w uwalnianiu NH_4^+ z glutaminy (MASCLAUX-DAUBRESSE i współaut. 2002, STARCK 2004). GDH jest enzymem adaptacyjnym, którego aktywność zależy od poziomu cukrów oraz zapotrzebowania rośliny na glutaminian.

Skrótowny schemat przebiegu reakcji wiązania azotu i mechanizmów regulacji aktywności kilku enzymów (Ryc. 3) wskazuje na ściśle powiązanie metabolizmu węgla i azotu, mające na celu utrzymanie optymalnego poziomu C/N.

Wiele gatunków roślin preferuje NO_3^- w porównaniu z NH_4^+ , pomimo znacznie większych kosztów energetycznych asymilacji azotanów w porównaniu z jonami amonowymi. Zwrócił na to uwagę Darwin już w 1882 r. (za BRITTO i współaut. 2002). Dużą wrażliwością na NH_4^+ charakteryzują się rodziny z rodziny Rosaceae, Solanaceae, ponadto jęczmień, szpinak i wiele innych gatunków; małą wrażliwość na jony amonowe wykazuje np. groch; rośliny z rodziny Ericaceae i Myrtaceae (LASA i współaut. 2002, ESCOBAR i współaut. 2006) preferują nawet jony amonowe. Przyczyny tych różnic do dziś nie są do końca wyjaśnione mimo licznych badań (CRUZ i współaut. 2006). W ostatnich jednak latach wykazano, że powyższe formy azotu wpływają na metabolizm oddychania. NH_4^+ i NO_3^- różnie wpływają na ekspresję genów kilku enzymów oddechowych, między innymi alternatywnej oksydazy (ang. alternative oxidase, AOX), kluczowego enzymu, uczestniczącego w alternatywnym oddychaniu (ESCOBAR i współaut. 2006).

W przypadku konieczności obniżenia poziomu rozpuszczalnych związków azotowych niektóre gatunki roślin, głównie motylkowate, uruchamiają specyficzny mechanizm. Jeśli roślina w określonych warunkach nie może zwiększyć intensywności fotosyntezy (np. z powodu nadchodzącej zimy), wówczas syn-

tetyzuje w organach wegetatywnych białka zapasowe (ang. vegetative storage proteins, VSP). Białka te są syntetyzowane również w warunkach suszy lub innych stresów, np. u cykorii (RICHARD-MOLARD i współaut. 2004), lecz w przypadkach obfitego zaopatrzenia roślin w azot VSP mogą stanowić nawet 10–20% wszystkich, rozpuszczalnych białek w roślinie (FRANCESCHI i GIAQUINTA 1983). W liściach soi, traktowanej wzrastającym stężeniem NO_3^- , synteza mRNA VSP była dodatnio skorelowana z dawką N w podłożu (STASWICK i współaut. 1991).

Białka typu VSP akumulowane u roślin wieloletnich, np. u drzew, na początku okresu spoczynku, są hydrolizowane wiosną, co ułatwia szybkie wznowienie procesu wzrostu. Podobnie w czasie niekorzystnych warunków środowiska VSP ułatwiają przebieg procesu aklimatyzacji, zwiększając plastyczność fenotypową roślin. Wynika ona między innymi z precyzyjnej interakcji z hormonami roślinnymi – auksynami, stymulującymi zarówno wzrost, jak i degradację VSP. Takie zmiany przyspieszają roślinie możliwość wykorzystania rozpuszczalnych związków azotowych w procesie wzrostu. W skrajnie innych warunkach, narzucających konieczność zahamowania wzrostu, jasmoniany i ich estry metylowe hamujące wzrost, stymulują syntezę VSP, obniżając w ten sposób poziom rozpuszczalnych związków azotu. Z tego wynika ciekawy wniosek, że VSP uczestniczą w regulacji szybkich zmian programów wzrostowych (DEWALD i współaut. 1994, STARCK 2004 i tam cytowane prace, COOKE i współaut. 2005, DHONT i współaut. 2006).

Odwracalne zmiany syntezy lub degradacji VSP są odwrotnie proporcjonalne do zawartości skrobi. Pełni ona w pewnym sensie funkcje analogiczne do VSP, ale w regulacji poziomu rozpuszczalnych cukrów (COOKE i współaut. 2005 i tam cytowane prace). Reasumując, skrobia gromadzi się w komórkach w warunkach nadmiaru szkieletów węglowych, często przy deficycie azotu, natomiast VSP – gdy jest dużo azotu, a w danym okresie małe jest zapotrzebowanie na ten makroelement.

CZY AZOTANY I JONY AMONOWE SĄ JONAMI SYGNAŁOWYMI?

Na podstawie badań, wykonywanych głównie na mutantach lub roślinach transgenicznych, wielu autorów uważa, że azotany, a w niektórych przypadkach również jony amonowe, uczestniczą w regulacji metaboli-

zmu azotu i węglowodanów, pełniąc funkcję jonów sygnałowych. Na podstawie szczegółowej analizy genomu rzodkiewnika, wykonanej metodą mikromacierzy, stwierdzono, że azotany uczestniczą zarówno w stymula-

cji, jak i hamowaniu ekspresji łącznie prawie 600 genów (WANG i współaut. 2004). Zdaniem Bi i współaut. (2005) azotany nie tylko regulują ekspresję genów, lecz również działają na czynniki transkrypcyjne i zwiększają wrażliwość roślin na sygnały cukrowe. Z tego jasno wynika, że azotany, oprócz roli kluczowych składników pokarmowych, są również jonami sygnałowymi (CRAWFORD 1995, WANG i współaut. 2004, ESCOBAR i współaut. 2006). Ułatwiają one integrację pomiędzy wieloma szlakami metabolicznymi węglowodanów i azotu (Ryc. 3).

Z drugiej strony, od lat opisywane są zależności pomiędzy funkcją azotu i cytokinin, wpływających na wzrost roślin. W warunkach deficytu azotu cytokininy niejako kompensują niski poziom tego makroelementu

(KUIPER 1988). Zarówno azot, jak i cytokininy regulują wzrost liści, choć w inny sposób. Zdaniem RAHAYU i współaut. (2005), to właśnie cytokininy, a nie jony azotanowe są typowymi cząsteczkami sygnałowymi, transportowanymi przez ksylem z korzeni do liści. Azotany natomiast pełnią w tych reakcjach tylko rolę pośredników w przekazywaniu informacji między organowych. Ścisłe i stosunkowo szybkie (obserwowane już po kilku godzinach) współdziałania azotanów i cytokinin u rzodkiewnika przedstawili TAKEI i współaut. (2002, 2004 i tam cytowane prace). Azotany w wielu przypadkach stymulowały syntezę cytokinin, czyli pośrednio uczestniczyły w przekazywaniu informacji przenoszonych przez te hormony.

PODSUMOWANIE: PRZYCZYNY I SKUTKI ZAKŁÓCENIA OPTIMALNEGO STOSUNKU C/N

Stale zmieniające się warunki środowiska rzadko umożliwiają utrzymanie w roślinach optymalnego stosunku węgla do azotu. Stąd nasuwa się pytanie czy jesteśmy obecnie w stanie nakreślić skutki naruszania tej równowagi?

W warunkach limitujących fotosyntezę przy jednoczesnym dobrym zaopatrzeniu rośliny w azot, obserwuje się stymulację wzrostu liści – donorów fotoasymilatów, często kosztem wzrostu korzeni (KOCH 1996). Dochodzi wówczas do szybkiej mobilizacji cukrów, np. w wyniku rozkładu skrobi, dostarczającego szkielety węglowe. Ograniczane jest pobieranie azotu, między innymi na skutek hamowania ekspresji genów, warunkujących syntezę wydajnych transporterów azotanów i jonów amonowych (Ryc. 4). Oprócz regulacji transkrypcji tych genów, nie mniejsze znaczenie ma również optymalne wykorzystanie nowo syntetyzowanych pierwotnych i wtórnych metabolitów (PEGO i współaut. 2000).

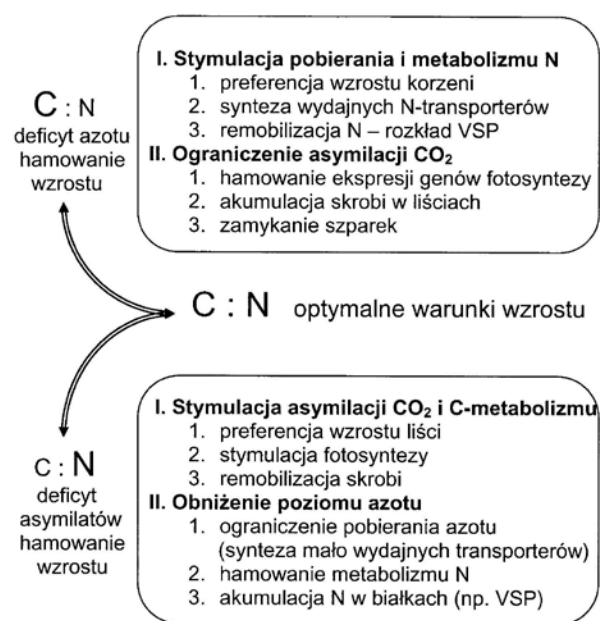
U roślin motylkowatych, np. soi, brodawkowanie jest hamowane przez dostarczanie roślinie azotu. Jeśli jednak, oprócz azotu, jednocześnie potraktujemy roślinę cukrem, wówczas eliminowany jest ujemny wpływ azotu.

Po nocnym okresie ciemności lub po zimie, a często również w okresie przejścia roślin w fazę generatywną, procesy życiowe roślin, głównie wzrost, są często limitowane przez niski poziom szkieletów węglowych. W roślinach obserwuje się deficyt produk-

tów fotosyntezy (CHAPIN III i współaut. 1990; KOCH 1996; STARCK 2002). W warunkach deficytu azotu, wzrost, szczególnie części nadziemnej, jest również ograniczany. W obu przypadkach dochodzi do nieprawidłowego stosunku C/N. Roślina albo uruchamia mechanizmy intensyfikacji fotosyntezy w całej roślinie lub usprawnia pobieranie azotu i preferuje wzrost korzeni. W skrajnych przypadkach, gdy mimo wszystko nie ma możliwości zlikwidowania deficytu azotu, drogą „wyboru mniejszego zła”, roślina nawet ogranicza intensywność fotosyntezy, aby utrzymać prawidłowy stosunek C/N (Ryc. 4) (STARCK 2004, 2005).

W przypadku deficytowego poziomu azotu, nie tylko preferowany jest wzrost korzeni kosztem pędu (KOCH 1996), lecz zmieniony jest też charakter wzrostu korzeni (STITT 1999). Wysoki poziom azotanów w komórkach pędu hamuje wzrost korzeni bocznych; ich wzrost jest natomiast stymulowany, gdy stężenie azotanów w podłożu jest stosunkowo wysokie, a niskie w komórkach.

Chociaż cukry wpływają na ekspresję genów, stymulują lub hamują „geny fotosyntezy” zarówno w doświadczeniach *in vivo* jak i *in vitro*, to jednak reakcja roślin na zwiększone stężenie cukrów w ogromnym stopniu zależy od poziomu azotu w podłożu (MARTIN i współaut. 2002). Takie zależności ilustruje doświadczenie wykonane na kilkudniowych siewkach rzodkiewnika, rosnących na płynnej pożywce, w warunkach nieprzerwanego



Ryc. 4. Mechanizmy regulacji stosunku C/N w różnych warunkach, zmieniających poziom cukrów lub rozpuszczalnych związków azotowych (wg STARCK 2005, zmodyfikowana).

oświetlenia o małej intensywności. W roślinach dostatecznie, a nawet luksusowo odżywianych azotem i dokarmianych sacharozą obserwowano stymulację ekspresji kilku ważnych genów fotosyntezy. Przy deficytowym

poziomie azotu egzogenne traktowanie roślin sacharozą powodowało hamowanie ekspresji tej grupy genów. Hamowany był też wzrost siewek, gdyż stosunek C/N nie był prawidłowy. Z tego doświadczenia wynika, że przy deficytowym poziomie azotu brak jest pozytywnego wpływu cukrów na wzrost siewek, nawet gdy poziom cukrów w roślinach jest niski. Podobne wnioski wyciągnięto z doświadczenia, wykonanego na kiełkujących nasionach grochu, z odciętymi liścieniami, czyli pozbawionymi źródła zarówno C, jak i N. Odżywianie kiełkujących nasion pozbawionych liścieni, wyłącznie sacharozą, powodowało obniżenie aktywności NAD-GDH zarówno anabolicznej, jak i katabolicznej (MOKRUNAS i współaut. 2000).

W innego typu badaniach *in vitro*, przeprowadzonych na rzodkiewniku, naruszenie równowagi C/N przyspieszało proces starzenia się liści (WINGLER 2002).

Z powyższych badań wynika wniosek, że współzależności pomiędzy metabolizmem węgla i azotu stanowią podstawowy warunek utrzymywania homeostazy całego organizmu roślinnego, a w konsekwencji – zahamowanie procesów starzenia się rośliny.

Prof. dr hab. B. Zagdańskiej oraz dr A. Gniazdowskiej dziękuję za przejrzenie artykułu, cenne uwagi i dyskusję nad prezentowanymi w pracy problemami, autorka.

MULTIPLE FUNCTIONS OF CARBON AND NITROGEN IN PLANTS

Summary

The paper reviews recent progress in knowledge of multiple functions played by carbon and nitrogen in plants, of assimilation and metabolism of these elements and of their role as signaling molecules. Special attention is paid to the relationship between photosynthetic production of carbohydrates and their reoxidation in respiration yielding energy required for nitrogen assimilation. Integration of these processes takes place at intracellular, intercellular and interorgan levels. The role of vegetative storage proteins (VSP) and starch, as storage substances, as well as regulatory function of trehalose is presented, especially under stress conditions. Sugars and nitro-

gen metabolites (nitrate and ammonium) function as signals of plant current status of the C/N ratio at various level of its organization: from regulation of gene expression to growth rate of shoot and root. This allows quick modification of nitrate or ammonia uptake and, in consequence, of the program of plant growth. Changes of environmental conditions affecting assimilation and metabolism of carbon and nitrogen may cause plant starvation and a disproportion in the C/N ratio. Plants must therefore regulate sophisticatedly cross-talk between carbon and nitrogen metabolism to ensure their homeostasis.

LITERATURA

- ADLASSING W., PEROUTKA M., LAMBERS H., LICHTSCHEIDL J. K., 2005. *The roots of carnivorous plants* Plant Soil 274, 127–140.
- BACKER L., KÜHN C., WEIS A., SCHULZ A., GEBHARDT C., HIRNER B., HELLMAN H., SCHULZE W., WARD J. M., FROMMER W. B. 2000. *SUT2, a putative sucrose sensor in sieve elements*. Plant Cell 12, 1153–1164.
- BI Y.-M., ZHANG Y., SIGNORELLI T., ZHAO R., ZHU T., ROTHSTEIN S., 2005. *Genetic analysis of Arabi-*

- dopsis GATA transcription factor gene family reveals a nitrate-inducible member important for chlorophyll synthesis and glucose sensitivity.* Plant J. 44, 680–692.
- BLÄSING O. E., GIBON Y., GÜNTHER M., HÖHNE M., MORCUENDE R., OSUNA D., THIMM O., USADEL B., SCHEIBLE W.-R., STITT M., 2005. *Sugars and circadian regulation make major contributions to the global regulation of diurnal gene expression.* Plant Cell 17, 3257–3281.
- BOE H., HERMAN E., BAILEY B., BAE H.-J., SICHER R., 2005. *Exogenous trehalose alters Arabidopsis transcripts involved in cell wall modification abiotic stress, nitrogen metabolism and plant defense.* Physiol. Plant. 125, 114–126.
- BRITTO D. T., KRONZUCKER H. J., 2002. *NH₄⁺ toxicity in higher plants: a critical review.* J. Plant Physiol. 159, 567–584.
- CHAPIN III F. S., SCHULZE E. D., MOONEY H. A., 1990. *The ecology and economics of storage in plants.* Annu. Rev. Ecol. System 21, 423–447.
- CHIOU T.-J., BUSH D. R., 1998. *Sucrose is a signal molecule in assimilate partitioning.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95, 4784–4788.
- CIERESZKO I., 2002. *Regulacyjna rola cukrów, percepcja cukrów i przekazywanie sygnału w komórkach roślinnych.* Postępy Biol. Kom. 29, 269–289.
- CIERESZKO I., JOHANSSON H., KLECZKOWSKI L. A., 2005. *Interactive effects of phosphate deficiency, sucrose and light/dark conditions on gene expression of UDP-glucose pyrophosphorylase in Arabidopsis.* J. Plant Physiol. 162, 343–353.
- COOKE J. E. K., MARTIN T. A., DAVIS J. M., 2005. *Short-term physiological and developmental responses to nitrogen availability in hybrid poplar.* New Phytologist 167, 41–52.
- COUËE I., SULMON C., GOUESBET G., ARMANI A. E., 2006. *Involvement of soluble sugars in reactive oxygen species balance and responses to oxidative stress in plants.* J. Exp. Bot. 57, 449–459.
- CRAWFORD N. M., 1995. *Nutrient and signal for plant growth.* Plant Cell 7, 859–868.
- CRUZ C., BIO A. F. M., DOMINGUEZ-VALDIVIA M. D., APARICIO-TEJO P. M., LAMSUS C., MARTINS-LOUCAO M. A., 2006. *How does glutamine synthetase activity determine plant tolerance to ammonium?* Planta 223, 1068–1080.
- DEWALD D. B., SADKA A., MULLEN J. E., 1994. *Sucrose modulation of soybean Vsp gene expression is inhibited by auxin.* Plant Physiol. 104, 439–444.
- DHONT C., CASTONGUAY Y., NADEAU P., BALANGER G., DRAPEAU R., AVICE J. C., CHALIFOUR F. P., 2006. *Nitrogen reserves, spring regrowth and winter survival of field alfalfa (Medicago sativa) defoliated in the autumn.* Ann. Botany 97, 109–120.
- EASTMOND P. J., VAN DIJKEN A. J. H., SPIELMANN M., KERR A., TISSIER A. F., DICKINSON H. G., JONES J. D. G., SMEEKENS S. C., GRAHA, I. A., 2002. *Trehalose-6-phosphate synthase 1, which catalyses the first step in trehalose synthesis, is essential for Arabidopsis embryo maturation.* Plant J. 29, 225–235.
- ELLISON A. M., GOTELLI N. J., 2001. *Evolutionary ecology of carnivorous plants.* Trends Ecol. 16, 623–629.
- ESCOBAR M. A., GEISLER D. A., RASMUSSEN A. G., 2006. *Reorganization of the alternative pathways of the Arabidopsis respiratory chain by nitrogen supply: opposing effects of ammonium and nitrate.* Plant J. 45, 775–788.
- FARRAR J., POLLOCK C., GALLAGHER J., 2000. *Sucrose and the integration of metabolism in vascular plants.* Plant Sci. 154, 1–11.
- FOYER C. H., NOCTOR G., 2002. *Photosynthetic nitrogen assimilation: inter-pathway control and signaling.* [W:] *Photosynthetic nitrogen assimilation and associated carbon and respiratory metabolism.* FOYER C. H., NOCTOR G. (red.). Kluwer Academic Publishers, Netherlands, 1–22.
- FOYER C. H., NOCTOR G., LELANDIS M., LEASCURE J. C., VALADIER, M. H., BOUTIN J. P., HORTON P., 1994. *Short-term effects of nitrate, nitrite and ammonium assimilation on photosynthesis, carbon partitioning and protein phosphorylation in maize.* Planta 192, 211–220.
- FOYER C. H., FERRARIO-MERY S., HUBER S. C., 2000. *Regulation of carbon fluxes in the cytosol: coordination of sucrose synthesis, nitrate reduction and organic acid and amino acid biosynthesis.* [W:] *Photosynthesis: physiology and metabolism.* LEEGOOD R. C., SHARKEY T. D., VON CAEMERER S. (red.). Acad. Publishers, Netherlands, 177–203.
- FRANCESCHI V. R., GIAQUINTA R. T., 1983. *The para-veinal mesophyll of soybean leaves in relation to assimilate transfer and compartmentation.* Planta 157, 422–431.
- GARDESTROM P., IGAMBERDIEV A. U., RAGHAVENDRA A. S., 2002. *Mitochondrial functions in the light and significance to carbon-nitrogen interactions.* [W:] *Photosynthetic nitrogen assimilation and associated carbon and respiratory metabolism.* FOYER C. H., NOCTOR G. (red.). Kluwer Academic Publishers, Netherlands, 151–172.
- GAZZARINI S., MCCOURT P., 2001. *Genetic interaction between ABA, ethylene and sugar signaling pathways.* Curr. Opin. Plant Biol. 4, 387–391.
- GAZZARINI S., LEJAY L., GOJON A., NINNEMANN O., FROMMER W. B., VON WIREN, 1999. *Three functional transporters for constitutive, diurnally regulated, and starvation-induced uptake of ammonium into Arabidopsis roots.* Plant Cell 11, 937–947.
- GEIGENBERGER P., KOLBE A., TIESSEN A., 2005. *Redox regulation of carbon storage and partitioning in response to light and sugars.* J. Exp. Bot. 56, 1469–1479.
- GIBSON S. I., 2004. *Sugar and phytohormone response pathways navigating a signalling network.* J. Exp. Bot. 55, 253–264.
- GIBSON S. I., 2005. *Control of plant development and gene expression by sugar signalling.* Curr. Opin. Plant Biol. 8, 93–102.
- GODDIJN O., SMEEKENS S. C. M., 1998. *Sensing trehalose biosynthesis in plants.* Plant J. 14, 315–319.
- GODDIJN O. J. M., VAN DUN K., 1999. *Trehalose metabolism in plants.* Trends Plant Sci. 4, 315–319.
- GROSSMAN A., TAKAHASHI H., 2001. *Macronutrient utilization by photosynthetic eucariotes and the fabric of interactions.* Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 52, 153–210.
- JANG J. C., SHEEN J., 1994. *Sugar sensing in higher plants.* Plant Cell 6, 1665–1679.
- JANG J. C., LEON P., SHEEN J., 1997. *Hexokinase as a sugar sensor in higher plants.* Plant Cell 9, 5–19.
- KAISER W. M., WEINER H., KANDBINDER A., TSAI C. B., ROCKEL P., SONODA M., PLANCHET E., 2002. *Modulation of nitrate reductase: some new insight, an unusual case and a potentially important side reaction.* J. Exp. Bot. 53, 875–882.
- KOCH K. E., 1996. *Carbohydrate-modulated gene expression in plants.* Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 47, 509–540.
- KOCH K., 2004. *Sucrose metabolism: regulatory mechanisms and pivotal roles in sugar sensing and plant development.* Curr. Opin. Plant Biol. 7, 235–246.
- KUIPER D., 1988. *Growth responses of Plantago major L. ssp. pleiosperma (Pilger) to changes in mineral supply.* Plant Physiol. 87, 555–557.

- LASA B., FRECHILLA S., APARICIO-TEJO M., LAMSFUS C., 2002. *Alternative pathway respiration is associated with ammonium ion sensitivity in spinach and pea plants*. Plant Growth Regul. 37, 49–55.
- LEJAY L., GANSEL X., CEREZO M., TILLARD P., MÜLLER C., KRAPP A., VAN WIREN N., DANIEL-VEDERE F., GOJON A., 2003. *Regulation of root ion transporters by photosynthesis: functional importance and relation with hexokinase*. Plant Cell 15, 2218–2232.
- LOQUE D., VON WIREN N., 2004. *Regulatory levels for the transport of ammonium in plant roots*. J. Exp. Bot. 55, 1293–1305.
- MADSEN E., 1976. *Effect of CO₂ concentration on morphological, cytological and physiological processes in tomato plants*. State Seed Testing Station. Skovbrynet 20. D.K.-2800 Lyngby. Denmark.
- MARTIN T., OSWALD O., GRAHAM I. A. 2002. *Arabidopsis seedling growth, storage lipid mobilisation, and photosynthetic gene expression are regulated by carbon:nitrogen availability*. Plant Physiol. 128, 472–481.
- MASCLAUX-DAUBRESSE C., VALADIER M. H., CARRAYOL E., REISDORF-CREN M., HIREL B., 2002. *Diurnal changes in the expression of glutamate dehydrogenase and nitrate reductase are involved in the C/N balance of tobacco source leaves*. Plant Cell Environ. 25, 1451–1462.
- MORKUNAS I., LEHMANN T., RATAJCZAK W., RATAJCZAK L., TOMASZEWSKA B., 2000. *The involvement of glutamate dehydrogenase in the adaptation of mitochondria to oxidize glutamate in sucrose starved pea embryos*. Acta Physiol. Plant. 22, 389–394.
- MUÑOZ F. J., BAROJA-FERNANDEZ E., MORÁN-ZORZANO M. T., VIALE A. J., ETXEBERRIA E., ALONSO-CASAJUS N., POZUETA-ROMERO J., 2005. *Sucrose synthase controls both intracellular ADP glucose levels and transitory starch biosynthesis in source leaves*. Plant Cell Physiol. 46, 1366–1376.
- OKAMOTO M., VIDMAR J. J., GLASS A. D. M. 2003. *Regulation of NRT1 and NRT2 gene families of Arabidopsis thaliana: responses to nitrate provision*. Plant Cell Physiol. 44, 304–317.
- PAUL M., PELLNY T., GODDIJN O., 2001. *Enhancing photosynthesis with sugar signals*. Trends Plant Sci. 6, 197–200.
- PEGO J. V., KORTSTEE A. J., HUIJSER C., SMEEKENS S. C. M., 2000. *Photosynthesis, sugars and the regulation of gene expression*. J. Exp. Bot. 51, 407–416.
- RAHAYU Y. S., WALCH-LIU P., NEUMANN G., RÖMHELD V., VON WIREN N., BANGERTH F., 2005. *Root-derived cytokinins as long-distance signals for NO₃⁻ induced stimulation of leaf growth*. J. Exp. Bot. 56, 1143–1152.
- RAVEN J. A., HANDLEY L. L., ANDREWS M., 2004. *Global aspects of C/N interactions determining plant-environment interactions*. J. Exp. Bot. 55, 11–25.
- RICHARD-MOLARD C., BRUGIERE N., MOILLE M., CARRAYOL E., LIMAMI A. M., 2004. *Molecular characterization of a gene encoding a vegetative storage protein (CivSP) from Cichorium intybus and its expression in the root and shoot in relation to nitrogen status and pathogen resistance*. Physiol. Plant. 121, 568–577.
- SALERNO G. L., CURATTI L. 2003. *Origin of sucrose metabolism in higher plants: when, how and why?* Trends Plant Sci. 8, 63–69.
- SCHIEBLE W. R., LAURERER M., SCHULZE E. D., CABOCHE M., STITT M., 1997. *Accumulation of nitrate in the shoot acts as a signal to regulate shoot-root allocation in tobacco*. Plant J. 11, 671–691.
- SCHLUEPMANN H., VAN DIJKEN A., AGHDASI M., WOBBS B., PAUL M., SHEEN J., ZHOU L., JANG J.-C., 1999. *Sugars as signalling molecules*. Curr. Opin. Plant Biol. 2, 410–418.
- SMEEKENS S., 2000. *Sugar-induced signal transduction*. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 51, 49–81.
- SMEEKENS S., 2004. *Trehalose mediated growth inhibition of Arabidopsis seedlings is due to trehalose-6-phosphate accumulation*. Plant Physiol. 135, 876–890.
- STARCK Z., 2002. *Mechanizmy integracji procesów fotosyntezy i dystrybucji biomasy w niekorzystnych warunkach środowiska*. Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych, 481, 113–123.
- STARCK Z., 2003. *Transport i dystrybucja substancji pokarmowych w roślinach*. Wydawnictwo SGGW.
- STARCK Z., 2004. *Plastyczność współdziałania metabolizmu azotu i węgla w niekorzystnych warunkach środowiska*. Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych, 496, 83–102.
- STARCK Z., 2005. *Reakcje roślin na abiotyczne stresy środowiskowe – aklimatyzacja i adaptacja*. Łąkarstwo w Polsce 8, 173–184.
- STARCK Z., 2006. *Role of conducting system in transduction of long-distance stress signals*. Acta Physiol. Plant. 28, 289–308.
- STARCK Z., BOGDAN J., CHOŁUJ D., 1997. *Effect of phosphorus and potassium supply on tomato plant response to chilling stress*. [W:] Crop development for the cool and wet regions of Europe. SOWIŃSKI O., ZAGDĄSKA B., ANIOŁ A., PITHAN K. (red.). COST 814-II, 9–56.
- STASWICK P. E., HUANG J.-F., RHEE Y., 1991. *Nitrogen and methyl jasmonate induction of soybean vegetative storage protein genes*. Plant Physiol. 96, 130–136.
- STITT M., 1999. *Nitrate regulation of metabolism and growth*. Curr. Opin. Plant Biol. 2, 178–186.
- STITT M., HURRY V., 2002. *A plant for all seasons: alternations in photosynthetic carbon metabolism during cold acclimation in Arabidopsis*. Curr. Opin. Plant Biol. 5, 199–206.
- STURM A., TANG G. Q., 1999. *The sucrose-cleaving enzymes of plants are crucial for development, growth and carbon partitioning*. Trends Plant Sci. 4, 401–407.
- SZADEL A., LORENC-PLUCIŃSKA G., 2002. *Metabolizm sacharozy u roślin oraz jego regulacja w warunkach stresów środowiskowych*. Postępy Biol. Kom. 29, 47–59.
- TAKEI K., TAKAHASHI T., SUGIYAMAT., YAMAYA T., SAKAKIBARA F., 2002. *Multiple routes communicating nitrogen availability from roots to shoots: a signal transduction pathway mediated by cytokinin*. J. Exp. Bot. 53, 971–977.
- TAKEI K., UEDA N., AOKI K., KUROMORI T., HIRAYAMA T., SHINOZAKI K., 2004. *AtIPT3 is key determinant of nitrate-dependent cytokinin biosynthesis in Arabidopsis*. Plant Cell Physiol. 45, 1053–1062.
- TUCKER D. E., ALLEN D. J., ORT D. R., 2004. *Control of nitrate reductase by circadian and diurnal rhythms in tomato*. Planta 219, 277–285.
- VAN DIJKEN A. J. H., SCHLUEPMANN H., SMEEKENS S. C. M., 2004. *Arabidopsis trehalose-6-phosphate synthase 1 is essential for normal vegetative growth and transition of flowering*. Plant Physiol. 135, 969–977.
- VON WIREN N., GAZZARINI S., GOJON A., FROMMER W. B., 2000. *The molecular physiology of ammonium uptake and retrieval*. Curr. Opin. Plant Biol. 3, 254–261.
- WANG R., TISCHNER R., GUTIÉRREZ R. A., HOFFMAN M., XING X., CHEN M., CORRUIZI G., CRAWFORD N. M., 2004. *Genomic analysis of the nitrate response*

- using a nitrate reductase-null mutant of Arabidopsis*. Plant Physiol. 136, 2512–2522.
- WEBER H., GOLOMBEK S., BORYSJUK L., MANTEUFFEL R., WOBUS U., 1998. *Expression of a yeast-derived invertase in developing cotyledons of Vicia narbonensis alters the carbohydrate state and affects storage functions*. Plant J. 16, 163–172.
- WESCHKE W., PANITZ R., GUBATZ S., WANG Q., RADCHUK R., WEBER H.M., WOBUS U., 2003. *The role of invertase and hexose transporters in controlling sugar ratio in maternal and filial tissues of barley caryopses during early development*. Plant J. 33, 395–411.
- WINGLER A., 2002. *The function of trehalose biosynthesis in plants*. Photochemistry 60, 437–440.
- WOLSKA-MITASZKO B., 2001. *Trehalosa – substancja przedziwna. Właściwości, występowanie, zastosowanie*. Biotechnologia 2, 36–53.
- YANG Z., ZHANG L., DIAO F., HUANG M., WU N., 2004. *Sucrose regulates elongation of carrot somatic embryo radicles as a signal molecule*. Plant Mol. Biol. 54, 441–459.