

BARTOSZ ADAMCZYK, MIROSŁAW GODLEWSKI

*Katedra Cytologii i Cytochemii Roślin  
Uniwersytet Łódzki  
Banacha 12/16, 90-237 Łódź  
E-mail: bartek\_adamczyk\_79@o2.pl*

## RÓŻNORODNOŚĆ STRATEGII POZYSKIWANIA AZOTU PRZEZ ROŚLINY.

### WSTĘP

Azot należy do pierwiastków, które w stosunkowo dużej ilości występują we wszystkich organizmach żywych. Istotna rola azotu w biologii roślin wynika z faktu, że pierwiastek ten wchodzi w skład nie tylko białek, ale i innych biologicznie ważnych związków, min.: kwasów nukleinowych i nukleotydów, porfiryn, hormonów roślinnych, metabolitów wtórnych, a także nośników energii, czyli np. ATP. Dlatego też niedobór azotu stanowi czynnik silnie ograniczający wzrost i rozwój roślin. Do najpowszechniejszych objawów niedoboru azotu, poza zahamowaniem wzrostu części nadziemnych i podziemnych, zalicza się także przedwczesne opadanie liści (KOPCEWICZ 2002). Liście roślin rosnących w warunkach niedoboru azotu początkowo stają się jasnozielone, a z czasem uzyskują żółtą barwę w wyniku chlorozy. Przy niedoborze azotu rośliny, po obfitym kwitnieniu, wytwarzają niewiele drobnych i często zniekształconych owoców (co obserwowano u np. pomidora czy ogórka) (KOWALSKA 2002). Rośliny bronią się przed niedoborem azotu poprzez efektywne gospodarowanie posiadanymi zasobami tego pierwiastka. Przed opadaniem

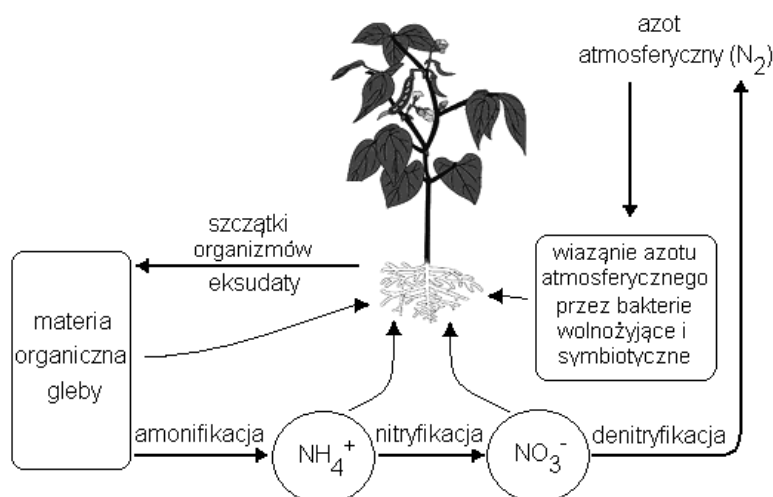
liści rośliny reabsorbują znaczne ilości azotu (KOLB i EVANS 2002). Ponadto rośliny „przekierowują” azot z części wegetatywnych do nasion, co obserwowano np. u ziarniaków zbóż (SIMPSON i współaut. 1983).

Jak wynika z powyższych faktów, rośliny muszą pobierać znaczne ilości azotu do prawidłowego rozwoju. W tym celu utworzyły szeroką gamę strategii pozyskiwania tego cennego pierwiastka. Oprócz pobierania azotu w formie nieorganicznej (jony amonowe i azotanowe), rośliny opanowały także umiejętność pozyskiwania aminokwasów. Dodatkowo rośliny mogą uzyskiwać azot dzięki symbiozie z grzybami mikoryzowymi lub bakteriami (np. *Rhizobium*). Odmianą strategię pobierania azotu wykształciły rośliny owadożerne, tworząc pułapki na owady i po ich schwytaniu trawiąc je z użyciem enzymów wydzielanych z komórek gruczołowych. Tę listę strategii pozyskiwania azotu przez rośliny uzupełnia wykrycie zjawiska wydzielania z korzeni proteaz, które trawiąc białka gleby mogą zwiększać pulę aminokwasów, czyli źródła azotu dla roślin (GODLEWSKI i ADAMCZYK 2007).

### OBIEG AZOTU W PRZYRODZIE

Pobieranie różnych form azotu przez rośliny stanowi istotny element w obiegu tego pierwiastka w przyrodzie (Ryc. 1). Pula azotu w ekosystemie ziemskim jest relatywnie stała, ale podlega cyklicznym przemianom. Największym rezerwuarem azotu jest powie-

trze, w którym stężenie tego pierwiastka wynosi około 78%. Niestety rośliny nie mogą wykorzystywać azotu atmosferycznego ( $N_2$ ). Taką zdolność posiadają niektóre organizmy należące do Procaryota. Bakterie wiążące azot redukują  $N_2$  do amoniaku. Pulę jonów



Ryc. 1. Obieg azotu w przyrodzie (wg PORPORATO i współaut. 2003, zmodyfikowane).

amonowych w glebie zwiększa także proces amonifikacji, w którym związki organiczne (np. aminokwasy) ulegają przekształcaniu do amoniaku (NH<sub>3</sub>). Amoniak w glebie może dalej ulegać procesowi nityfikacji, czyli utlenieniu najpierw do NO<sub>2</sub><sup>-</sup> (azotyny), a potem do NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (azotany). Proces ten prowadzą bakterie nityfikacyjne, a mianowicie: utlenienie do azotynów prowadzą bakterie z gru-

py Nitroso (np. *Nitrosomonas*), a utlenienie do azotanów – bakterie z grupy Nitro (np. *Nitrosospira*). Azotany, podobnie jak i jony amonowe, mogą zostać pobrane przez rośliny i mikroorganizmy lub mogą ulegać procesowi denityfikacji, czyli redukcji do wolnego azotu i powrócić do atmosfery (PORPORATO i współaut. 2003).

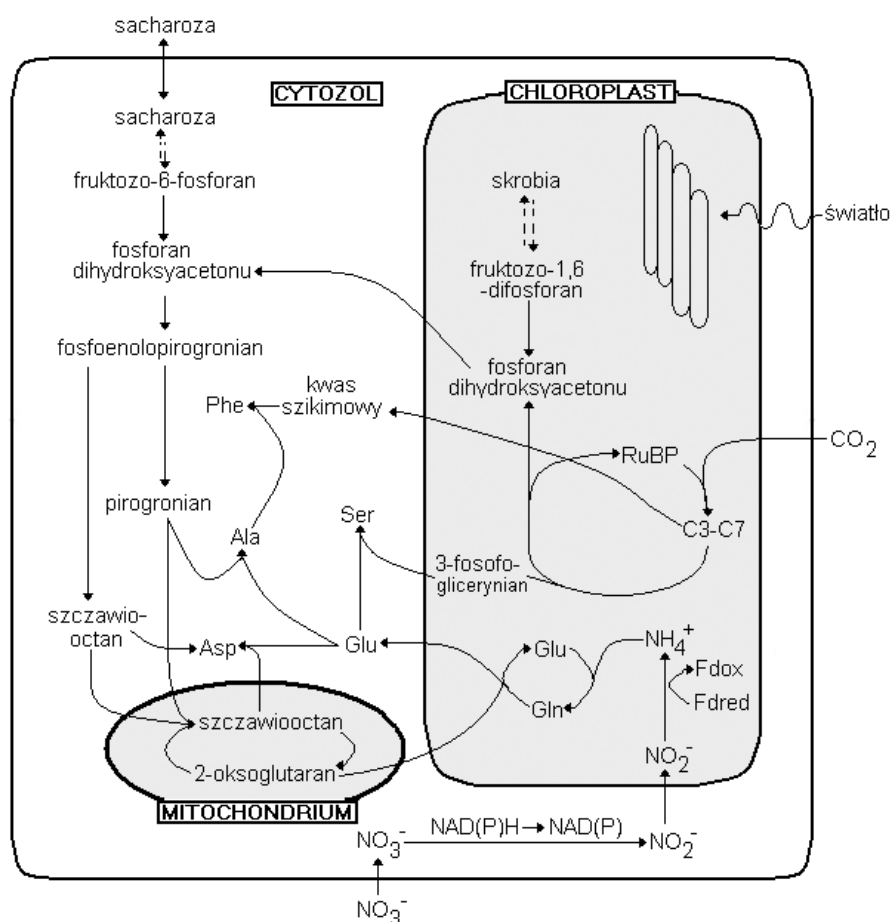
#### AZOT NIEORGANICZNY JAKO ŹRÓDŁO AZOTU DLA ROŚLIN

Powszechnie uważa się, że rośliny są zdolne do pobierania azotu nieorganicznego pod postacią jonów amonowych (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) i azotanowych (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>). Choć z energetycznego punktu widzenia jony amonowe są korzystniejszym źródłem azotu (BLOOM i współaut. 1992), ponieważ nie wymagają redukcji przed wbudowaniem w aminokwasy, to azotany są bardziej dostępne dla roślin. Wynika to z zatrzymywania jonów amonowych w kompleksie sorpcyjnym gleby ze względu na dodatni ładunek NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. Z kolei jony azotanowe nie są wiązane przez ujemnie naładowane kompleksy gleby i dlatego pozostają w roztworze glebowym (KOPCEWICZ 2002). Ponadto rośliny nie preferują jonów amonowych, gdyż mogą one w wysokich stężeniach mieć negatywny wpływ na wzrost korzenia i pędu (MARSCHNER 1995), ponieważ pobieranie NH<sub>4</sub><sup>+</sup> jest powiązane z wydzielaniem protonów do gleby, co powoduje jej zakwaszenie i przez to spadek pobierania kationów z gleby (VON WIREN i współaut. 2000). Pomimo tego, że istnieją międzygatunkowe różnice w preferencjach pobierania NO<sub>3</sub><sup>-</sup> i NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, to prawidłowy wzrost roślin zapewnia

obecność obu źródeł azotu nieorganicznego w glebie (BLOOM i współaut. 1993).

Jak wspomniano, azotany wymagają redukcji przed wbudowaniem w aminokwasy. Taka redukcja azotanów do NH<sub>4</sub><sup>+</sup> przebiega dwuetapowo: i) pierwszy etap (katalizowany przez reduktazę azotanową) zachodzi w cytoplazmie i prowadzi do powstania NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, a drugi etap (katalizowany przez reduktazę azotynową) ma miejsce w chloroplastach w tkankach fotosyntetyzujących, a w tkankach nefotosyntetyzujących – w proplastidach (GABRYŚ 2002). Schemat asymilacji azotu i jej powiązania z metabolizmem węgla na poziomie komórki przedstawiono na Rycinie 2.

Komórki roślin posiadają liczne transportery NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, które pozwalają na skuteczne pobieranie tych jonów w szerokim zakresie stężeń (HOWITT i UDVARDI 2000). WANG i współaut. (1993) wykryli dwa systemy transportu NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, a mianowicie: (i) system transportu o wysokim powinowactwie (ang. high affinity transport system, HATS) i (ii) system transportu o niskim powinowactwie (ang. low affinity transport system, LATS). Przy wysokich stężeniach egzogenego NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, rośliny



Ryc. 2. Schemat asymilacji azotu i jej powiązania z metabolizmem węgla w komórce rośliny wyższej.

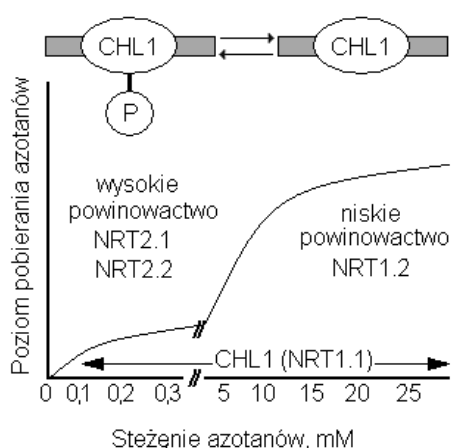
Skróty: Ala – alanina, Fdox – ferredoksyna utleniona, Fdred – ferredoksyna zredukowana, Gln – glutamina, Glu – glutaminian, Phe – fenyloalanina, RuBP – rybulozobisfosforan, Ser – seryna (wg GABRYŚ 2002, zmodyfikowana).

korzystają z LATS, a przy niskich stężeniach – z systemu HATS (WANG i współaut. 1993). System pobierania  $\text{NH}_4^+$  o niskim powinowactwie, w przeciwieństwie do systemu o wysokim powinowactwie, zdaje się nie ulegać wysyceniu rosnącym stężeniem jonów amonowych (RAWAT i współaut. 1999), podlega ekspresji konstytutywnie i jest niewrażliwy na regulację przez poziom azotu w środowisku (VON WIREN i współaut. 1997). U *Arabidopsis thaliana* wykryto rodzinę genów kodujących białka AMT1, z przynajmniej sześcioma transporterami  $\text{NH}_4^+$  (VON WIREN i współaut. 2000) wykazującymi różny wzór ekspresji (LEIGH i SZE 2001) i działającymi na zasadzie uniportu (HOWITT i UDWARDI 2000). Transportery AMT1 wykazują duże podobieństwo u różnych gatunków roślin, ponieważ posiadają 11 transbłonowych domen (VON WIREN i współaut. 2000) i wysoką homologię sekwencji aminokwasów (HOWITT i UDWARDI 2000).

Ekspresja genów kodujących białka transporterów jest ściśle regulowana zawartością  $\text{NH}_4^+$  w glebie, by zapewnić roślinie optymalne warunki do rozwoju i uniknąć nega-

tywnego wpływu nadmiaru jonów na wzrost roślin. Natomiast w sytuacji, gdy stężenie jonów amonowych w komórkach jest wysokie, co może mieć toksyczny wpływ na rośliny (BRITTO i KRONZUCKER 2002), uruchamiane są mechanizmy prowadzące do zmniejszenia pobierania  $\text{NH}_4^+$ . W warunkach deficytu azotu dochodzi do ekspresji genu kodującego białko bardzo wydajnego transportera jonów amonowych (VON WIREN i współaut. 2000). Jednak regulacja transporterów  $\text{NH}_4^+$  ma zdecydowanie bardziej skomplikowany i wielopoziomowy charakter, np. białka te podlegają także regulacji posttranslacyjnej, która w przypadku AtAMT1.2 zachodzi na drodze fosforylacji, katalizowanej przez kinazę białkową, zależną od cAMP (3'-5'-cykliczny adenozynomonofosforan) (HOWITT i UDWARDI 2000).

Podobnie jak w przypadku jonów amonowych, także azotany są pobierane w ściśle kontrolowany sposób, z wykorzystaniem systemów transportujących o różnym powinowactwie do substratu. Korzenie roślin posiadają aż trzy systemy transportu azotanów, a mianowicie: (i) system



Ryc. 3. Pobieranie azotanów u *Arabidopsis thaliana*.

CHL1 (AtNRT1.1) posiada podwójne powinowactwo i dlatego jest zaangażowany w system pobierania o wysokim i niskim powinowactwie. Tryb działania CHL1 jest zależny od fosforylacji/defosforylacji. Transportery AtNRT2.1 i AtNRT2.2 posiadają wysokie powinowactwo i działają głównie w systemie IHATS, natomiast transporter AtNRT1.2 to transporter o niskim powinowactwie, działający w systemie LATS (wg Tsay i współaut. 2007).

konstytutywny o wysokim powinowactwie (ang. constitutive high affinity transport system, CHATS), (ii) system indukowany o wysokim powinowactwie (ang. inducible high affinity transport system, IHATS), (iii)

system konstytutywny o niskim powinowactwie (LATS) (Crawford i Glass 1998). Działanie systemu IHATS, po uprzedniej indukcji, zwykle szybko prowadzi do przekroczenia zapotrzebowania rośliny na  $\text{NO}_3^-$  i następuje obniżenie jego aktywności (Forde i Clarkson 1999) w wyniku regulacji na poziomie mRNA. Geny kodujące białka wszystkich wyżej wymienionych systemów transportu można podzielić na dwie rodziny: *nrt1* i *nrt2*. Transportery NRT2 posiadają wysokie powinowactwo do substratu, natomiast większość transporterów NRT1 ma niskie powinowactwo. Wyjątkiem w rodzinie białek NRT1 jest CHL1 (AtNRT1.1), posiadający podwójne powinowactwo (Liu i współaut. 1999), który po ufosforylowaniu działa jako transporter o wysokim powinowactwie, z kolei w wyniku defosforylacji staje się transporterem o niskim powinowactwie. Proces fosforylacji/defosforylacji CHL1 zachodzi w odpowiedzi na zmiany w egzogennym stężeniu azotanów (Liu i Tsay 2003). Pobieranie azotanów przez *A. thaliana* w zależności od stężenia egzogenego azotu przedstawia Rycina 3.

Wszystkie transportery NRT1 i NRT2 u roślin wyższych posiadają 12 transbłonowych domen (Tsay i współaut. 2007) (Ryc. 3), ale aby NRT2 mógł prawidłowo działać potrzebuje obecności dodatkowego składnika, NAR2, białka z jedną transbłonową domeną (Galvan i współaut. 1996).

#### KONKURENCJA O AZOT NIEORGANICZNY POMIĘDZY ROŚLINAMI A MIKROORGANIZMAMI

Azot nieorganiczny gleby pochodzi z mineralizacji organicznych związków azotowych do  $\text{NH}_4^+$  i następującej po tym nityfikacji do azotanów. Azotany mogą też powstawać ze związków azotu organicznego w wyniku działania heterotroficznych bakterii i grzybów, a więc z pominięciem amonifikacji. Uważa się, że mineralizacja i nityfikacja są czynnikami kluczowymi dla obiegu azotu (Hodge i współaut. 2000a), a rośliny korzystają z nadmiaru azotu nieorganicznego, który nie został pobrany przez mikroorganizmy. Poparciem dla tej tezy są badania, w których w 24 godziny po podaniu znakowanych  $^{15}\text{NH}_4^+$  i  $^{15}\text{NO}_3^-$  do gleby większość znakowanego azotu wykry-

wano w biomacie mikroorganizmów (Lipson i Nisholm 2001). W badaniach krótkoterminowych (24 godziny) mikroorganizmy pobierały pięciokrotnie więcej  $\text{NH}_4^+$  i dwukrotnie więcej  $\text{NO}_3^-$  niż rośliny (Jackson i współaut. 1989). Jednak w badaniach długoterminowych to rośliny pozyskiwały większość znakowanego  $\text{NH}_4^+$  (np. Jaeger i współaut. 1999). Podobnie jak w przypadku konkurencji o aminokwasy, na wynik współzawodnictwa o azot nieorganiczny ma potencjalny wpływ wiele czynników, między innymi obecność mikorytycznego symbiontu, a także proliferacja korzeni w obszarach o szczególnej zasobności w azot nieorganiczny (Hodge i współaut. 2000a).

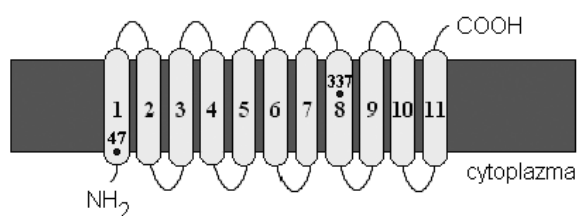
## ROŚLINY SĄ ZDOLNE PO POBIERANIA ORGANICZNYCH FORM AZOTU

Już w połowie ubiegłego wieku zaobserwowano, że rośliny są zdolne pobierać aminokwasy (VIRTANEN i LINKOLA 1946). W ostatnich kilkunastu latach zagadnieniu pozyskiwania aminokwasów przez korzenie roślin poświęcono wiele prac, w których wykazano, że aminokwasy mogą być pobierane w relatywnie znaczących ilościach zarówno w warunkach laboratoryjnych (np. PERSSON i NÄSHOLM 2001), jak i w warunkach polowych (np. NÄSHOLM i współaut. 1998). Potencjalne znaczenie azotu organicznego pod postacią aminokwasów obserwowano w licznych ekosystemach, wliczając w to ekosystemy tropikalne, stepy w Kolorado, północne lasy iglaste, a także ekosystemy rolnicze (LIPSON i NÄSHOLM 2001). W korzeniach wykryto ekspresję genów kodujących transportery aminokwasów (FISHER i współaut. 1998). Transportery aminokwasów, podobnie jak transportery azotu nieorganicznego, podlegają ścisłej kontroli, także na poziomie ekspresji genów odpowiednich białek. Przykładowo, ekspresja *aap1* jest regulowana przez światło, poziom węgla w roślinie, a także głodzenie azotowe (ORTIZ-LOPEZ i współaut. 2000). U roślin zidentyfikowano dwie nadrodziny transporterów aminokwasów, a mianowicie: (i) nadrodzina transporterów aminokwasów, choliny i poliamin (ang. amino acid, polyamine and choline transporters superfamily, APC), (ii) nadrodzina transporterów aminokwasów (ang. amino acids transporter superfamily, ATF). W nadrodzinie ATF wyróżnia się sześć podklas transporterów: (i) permeazy aminokwasów (ang. amino acid permeases, AAP) (FISCHER i współaut. 1995), (ii) transportery lizyny i histydyny (ang. lysine/histidine transporters, LHT) (CHEN i BUSH 1997), (iii) transportery proliny (ang. pro-

line transporters, ProT) (RENTSCH i współaut. 1998), (iv) prawdopodobne transportery auxyn (ang. auxin transporters, AUX) (BENNETT i współaut. 1996), (v) transportery aminokwasów aromatycznych i obojętnych (ang. aromatic and neutral amino acid transporters, ANT1) (ORTIZ-LOPEZ i współaut. 2000), (vi) transportery GABA (ang. gamma-aminobutyric acid transporters, GAT) (MEYER i współaut. 2006). Na Rycinie 4 przedstawiono budowę AAP1, transportera aminokwasów z 11 transbłonowymi domenami (ORTIZ-LOPEZ i współaut. 2000).

Jednak wiele zbadanych dotąd transporterów aminokwasów pełni swoje funkcje w transporcie tych związków wewnątrz rośliny, a badania dotyczące pobierania aminokwasów przez odpowiednie transportery z gleby są zdecydowanie uboższe. HIRNER i współaut. (2006) wykazali, że transporter lizyna-histydyna (LHT1) jest zaangażowany w pobieranie aminokwasów z gleby przez korzenie. Transporter LHT1 posiada niskie powinowactwo do zasadowych aminokwasów, średnie do L-glutaminianu i L-asparaginianu, a wysokie do aminokwasów alifatycznych (HIRNER i współaut. 2006). Badania LEE i współaut. (2007) dowiodły, że także transporter AAP1 jest zaangażowany w pobieranie obojętnych aminokwasów z gleby. Jak dotąd, u wielu badanych gatunków wykazano zdolność do pobierania aminokwasów w znaczących ilościach (LIPSON i NÄSHOLM 2001).

Jednak w warunkach naturalnych także mikroorganizmy mogą pobierać aminokwasy. Zgodnie z powszechnie przyjmowanym poglądem mikroorganizmy dominują w procesie pobierania aminokwasów z gleby. To twierdzenie jest oparte na powszechności mikroorganizmów w glebie, ich wysokim stosunku powierzchni do objętości i szybkim tempie wzrostu w porównaniu do roślin. Potwierdzeniem dla tego poglądu są badania, w których dodatek glukozy do gleby zwiększał pobieranie azotu przez mikroorganizmy, a sterylizacja gleby prowadziła do wzrostu poboru azotu przez rośliny (SCHMIDT i współaut. 1997). JONES i współaut. (2005b) zasugerowali, że pobieranie organicznego azotu z gleby nie przyczynia się znacząco do pozyskiwania azotu przez rośliny, a służy jedynie jako strategia resorpcji azotu organicznego, utraconego w wyniku eksudacji z korzeni. W trakcie współzawodnictwa z mikroorga-



Ryc. 4. Budowa AAP1; zaznaczone reszty histydyny (47 i 337) pełnią kluczową funkcję w transporcie aminokwasów (wg ORTIZ-LOPEZ i współaut. 2000, zmodyfikowane).

nizmami, rośliny przechwytyują jedynie niewielką część podawanego azotu – rośliny z gatunku *Eriophorum vaginatum* zaabsorbowały 1–3,8%, a *Carex aquatilis* – 12% (SCHMEL i CHAPIN 1996) podanych, znakowanych aminokwasów. Jednak biorąc pod uwagę potencjalnie duże zmiany stężenia aminokwasów gleby, ten niewielki procent pobierania może stanowić istotną pulę azotu dla roślin (LIPSON i NÄSHOLM 2001). W badaniach na pszenicy wykazano, że także rośliny hodowlane mogą pobierać około 20% podawanej glicyny bez uprzedniej mineralizacji (NÄSHOLM i współaut. 2001). Za pobieraniem aminokwasów w warunkach naturalnych z gleby przemawia także fakt, że ilość nieorganicznego azotu w glebie niektórych ekosystemów nie zaspokaja potrzeb roślin, co wskazuje, że rośliny muszą pobierać także azot organiczny (KIELLAND 1994). Badania preferencji roślin i mikroorganizmów w stosunku do różnych aminokwasów dowiodły, że rośliny pobierają glicynę efektywniej niż inne aminokwasy (KIELLAND 1994, SCHMIDT i STEWART 1997), z kolei mikroorganizmy preferują aminokwasy o większej masie molowej (KIELLAND 1995). Preferencje mikroorganizmów do aminokwasów innych niż glicyna mogą wynikać z faktu, że ten aminokwas jest gorszym źródłem węgla, co powoduje, że mikroorganizmy mogą „pozostawiać” właśnie glicynę dla roślin (LIPSON i współaut. 1999). Według badań JONES i współaut. (2005a), rośliny mogą pobierać większą ilość aminokwasów w warunkach ich wysokich stężeń w glebie. Z kolei mikroorganizmy mogą pobierać aminokwasy wydzielane z korzeni roślin (DARRAH 1991). Należy także pamiętać, że gleba nie jest homogenna pod względem stężenia azotu organicznego. Istnieją obszary o zwiększonej ilości azotu organicznego, które powstały w wyniku śmierci zwierząt gleby (np. dżdżownic) lub lizy komórek korzeni (HODGE i współaut. 2000a, b). Dodatkowo, także nawozy organiczne dostarczają szczególnie duże ilości związków organicznych. W obszarach bogatych w związki organiczne, ich stężenie może przewyższać zapotrzebowanie mikroorganizmów na to źródło azotu, dając roślinom zwiększony dostęp do tych związków. W rozważaniach dotyczących współzawodnicstwa organizmów o aminokwasy nie należy pomijać potencjalnej roli mikoryzy. Zarówno ektomikoryza, jak i mikoryza erikoidowa, zwiększają powierzchnię pobierania (ROUSSEAU i współaut. 1994) i powinowactwo do aminokwasów (WALLENDIA i READ 1999). Do-

datkowo, niektóre grzyby tworzące mikoryzę mogą wydzielać proteazy trawiące białka gleby, co powoduje zwiększenie w niej puli aminokwasów (NYGREN i współaut. 2007), a także pobierać i przekazywać aminokwasy do rośliny. Niektóre gatunki roślin nie mogły rosnąć bez mikorytycznego symbiontu w warunkach, w których jedynym źródłem azotu był azot organiczny (np. BAJWA i READ 1985). Jednak także i rośliny, które nie tworzą symbiozy z grzybami mikorytycznymi, mogą efektywnie pobierać aminokwasy z gleby (LIPSON i NÄSHOLM 2001).

Kolejnym źródłem azotu dla roślin może być mocznik, który po podaniu do gleby jako nawóz ulega zwykle hydrolizie katalizowanej przez ureazę wydzielaną przez mikroorganizmy gleby (WATSON i współaut. 1994). W wyniku hydrolizy mocznik jest przekształcany do jonów amonowych, które później mogą zostać utlenione do azotanów w wyniku procesu nityfikacji. Dlatego też uważa się, że rośliny nawożone mocznikiem uzyskują dostęp zarówno do mocznika, jak i jonów amonowych oraz azotanowych (MERIGOUT i współaut. 2008). Pobieranie mocznika przez rośliny obserwowano w wielu eksperymentach (np. MERIGOUT i współaut. 2008), a ponadto zidentyfikowano transportery mocznika u *Arabidopsis thaliana*, między innymi AtDUR3, transporter o wysokim powinowactwie, działający na zasadzie symportu (LIU i współaut. 2003a). Wykryto także system transportu mocznika o niskim powinowactwie (LIU i współaut. 2003b). Mocznik można podawać nie tylko do gleby, ale także dolistnie, co wykazano np. u *Malus domestica* (DONG i współaut. 2002).

Rośliny poza licznymi transporterami aminokwasów, posiadają także transportery peptydów, które należą do trzech rodzin genów, a mianowicie: (i) transportery dipeptydów i tripeptydów (ang. peptide transporters, PTR), (ii) transportery oligopeptydów (ang. oligopeptide transporters, OPT), transportery dużych peptydów (ang. ATP binding cassette, ABC) (RENTSCH i współaut. 2007). Białka OPT odpowiadają za transport peptydów zbudowanych z 4-5 reszt aminokwasów (KOH i współaut. 2002). Rodzina transporterów OPT jest dzielona na dwie podrodziny: (i) „prawdziwe” OPT (ang. peptide transporters, PT) (OSAWA i współaut. 2006), transportujące peptydy zbudowane z 4-5 reszt aminokwasowych, a także glutation i jego koniugaty, oraz (ii) białka YSL (ang. yellow stripe like), które u *Arabidopsis thaliana* transpor-

tują aminokwasy chelatujące metale ciężkie (LUBKOWITZ 2006).

Niestety obecna wiedza na temat transporterów peptydów dotyczy głównie transportu tych związków wewnątrz organizmu rośliny. Wśród nielicznych wyjątków znajdują się badania PAUNGFUO-LONHIENNE i współaut. (2009), w której autorzy udowodnili pobieranie dipeptydów w i tripeptydów w przez *Hakea actites*. Potencjalna dostępność peptydów z gleby dla korzeni roślin jest ograniczana przez interakcje tych związków z innymi składnikami gleby. Podobnie jak aminokwasy czy białka, także peptydy mogą być adsorbowane przez fazę stałą gleby (QUALLS i RICHARDSON 2003).

Ponadto w badaniach prowadzonych w warunkach sterylnych MATSUMOTO i współaut. (2000) wykazali pobieranie białkopodobnych związków zawierających azot (o masie

8-9 kDa) przez korzenie *Daucus carota* i *Brassica campestris*, z pominięciem uprzedniej mineralizacji. Także badania MCLAREN i współaut. (1960) wskazują na możliwość pobierania białka (lizozymu, o masie molowej około 14 kDa) przez korzenie jęczmienia. Badania OKAMOTO i OKADA (2004) wskazują, że rośliny z gatunków *Sorghum bicolor* i *Oryza sativa* mogą rekompensować niski poziom egzogenego azotu nieorganicznego przez pobieranie azotu organicznego pod postacią białka. Jednak badania cytowane powyżej nie precyzują mechanizmu pobierania białek. Ponadto PAUNGFUO-LONHIENNE i współaut. (2008), badając możliwość pozyskiwania azotu z białek przez *Hakea actites* i *Arabidopsis thaliana*, otrzymali wyniki sugerujące możliwość pobierania albuminy bez uprzedniego trawienia, a takie pobieranie odbywało się przez endocytozę.

#### PREFERENCJE ROŚLIN W POBIERANIU RÓŻNYCH ŹRÓDEŁ AZOTU Z GLEBY

Niezwykle istotnym elementem w odżywianiu azotowym roślin są preferencje różnych gatunków roślin w stosunku do źródeł azotu. Przykładowo, badania FALKENGREN-GREUP i współaut. (2000) dowiodły, że rośliny żyjące w południowej Szwecji na kwaśnej glebie z wysokim poziomem mineralizacji, mogą wykazywać odmienne preferencje w stosunku do mieszaniny aminokwasów (alanina, glutamina, glicyna) i azotu nieorganicznego (pod postacią metylaminy – analogu  $\text{NH}_4^+$ ) – *Deschampsia flexuosa* pobierała najwięcej azotu organicznego, a *Prunella vulgaris* i *Galium aparine* pobierały głównie azot nieorganiczny. Również badania WEIGELT i współaut. (2005) wskazują na różnice w wykorzystywaniu różnych form azotu przez ro-

śliny; *Lolium perenne* pobierała więcej azotu nieorganicznego i glicyny w porównaniu do aminokwasów o większej masie molowej, natomiast rośliny z gatunku *Nardus stricta* wykazały silne preferencje w stosunku do seryny w porównaniu do azotu nieorganicznego. Preferencje roślin w stosunku do różnych źródeł azotu są często pochodną warunków, w których żyją. Rośliny rosnące w klimacie o niskiej temperaturze i w kwaśnej glebie (ekosystemy alpejskie i arktyczne), w której poziom  $\text{NH}_4^+$  jest wyższy w wyniku ograniczenia nitrifikacji (KLADIVKO i KEENEY 1987), przystosowały się do warunków wykazując preferencję do pobierania jonów amonowych w większym stopniu niż  $\text{NO}_3^-$  (ATKIN 1996).

#### ROŚLINY MOGĄ POZYSKIWAĆ AZOT DZIĘKI SYMBIOZIE

Rośliny poza pobieraniem przez korzenie różnych form azotu, mogą także pozyskiwać azot dzięki symbiozie z bakteriami wiążącymi azot atmosferyczny. Liczne gatunki roślin tworzą symbiozę z odpowiednimi bakteriami np. *Rhizobium melitoli* z lucerną, *Bradyrhizobium japonicum* z soją, czy olcha z bakteriami *Frankia* (SCHLEGEL 2008). Jednak znaczący udział bakterii wiążących azot w budżecie azotowym rośliny nie jest tak oczywisty jak powszechnie sądzono. Według badań DOBBELAERE i współaut. (2002), inokula-

cja pszenicy *Azospirillum* nie powodowała wzrostu stężenia azotu u tych roślin. Jednakże obserwowano również pozytywny wpływ takiej inokulacji na wzrost i wielkość plonu zbóż wynikający ze zmian morfologicznych i fizjologicznych u inokulowanych roślin. Zmiany te powodowały zwiększenie pobierania wody i minerałów (OKON i KAPULNIK 1986).

Z kolei mikoryza jest symbiozą korzeni roślin z grzybami. Współdziałanie symbiontów polega głównie na tym, że grzyb korzysta z

asymilatów transportowanych do korzeni z części pędowej rośliny, natomiast korzyści roślinnego partnera wynikają ze znacznego zwiększenia powierzchni chłonnej w glebie (ROUSSEAU i współaut. 1994). Dzięki mikoryzie, poprzez strzępki grzyba rośliny mogą pozyskiwać różne związki, w tym azot nieorganiczny i organiczny (HEJNOWICZ 2002). Grzyby mikoryzy erikoidowej, wesikularno-arbuskularnej oraz ektomikoryzowej pobierają aminokwasy i przekazują je do rośliny (STRIBLEY i READ 1980, BAJWA i READ 1985, ABUZINADAH i READ 1989, CHAPIN i współaut. 1993). Jednak w niektórych badaniach obser-

wowano również przekazywanie niewielkiej ilości aminokwasów przez grzyb do korzeni gospodarza (nie przekraczającą kilku procent podanego, znakowanego azotu) (PERSSON i NÄSHOLM 2001). Ponadto, strzępki grzybni wydzielają do gleby liczne enzymy, które hydrolizują materię organiczną. Strzępki grzybów mikoryzowych wydzielają proteazy (CHALOT i BRUN 1998), które uwalniają aminokwasy z białek gleby. Grzyby mikoryzowe, z pomocą wydzielanych proteaz i oksydazy polifenolowej, mogą uwalniać i pozyskiwać azot z kompleksów białka – kwas taninowy (READ 1996).

#### KORZENIE PROTEOIDOWE I KOMÓRKI UWALNIANE Z KORZENIA DO RYZOSFERY

Po raz pierwszy korzenie proteoidowe (ang. proteoid roots, cluster roots) wykryto u roślin z rodziny *Proteaceae* (PURNELL 1960), jednak potem podobne struktury wykryto również u niektórych gatunków z rodzin *Betulaceae*, *Casuarinaceae*, *Eleagnaceae*, *Leguminosae*, *Moraceae*, *Myricaceae* (WATT i EVANS 1999). Korzenie proteoidowe charakteryzują się tworzeniem gęstej sieci korzeni bocznych o specyficznym kształcie, co znacznie zwiększa powierzchnię systemu korzeniowego, np. u *Hakea obliqua* wytworzenie korzeni tego typu zwiększyło powierzchnię o około 25 razy (DELL i współaut. 1980). Gatunki wytwarzające korzenie proteoidowe zwykle nie tworzą symbiozy z grzybami mikoryzowymi (SKENE 1998). Korzenie proteoidowe zdają się odgrywać potencjalnie istotną rolę w pozyskiwaniu organicznych form azotu. SCHMIDT i STEWART (1999) wykazali, że siewki *Hakea* posiadające korzenie proteoidowe, mogą pobierać glicynę, nawet gdy mają także do dyspozycji równomolowe stężenia azotu nieorganicznego. SCHMIDT i współaut. (2003) zaobserwowali, że rośliny *Hakea* mogą rosnąć na podłożu zawierającym jedynie peptydy jako źródło azotu i wykazali obecność transporterów aminokwasów (HaAAT4-1), a także transporterów peptydów (HaPepT1) w korzeniach i sugerują, że *Hakea* jest w pełni przystosowana do wzrostu na podłożu zawierającym azot organiczny.

Interesującym zjawiskiem u roślin jest także tworzenie komórek, które oddzielają się od czapeczki korzenia (ang. root border cells, RBC) i otaczają wierzchołkową część korzenia. Rola RBC przede wszystkim polega na ochronie wierzchołka korzenia przed czynnikami abiotycznymi i biotycznymi (HA-

WES i współaut. 2000), chociaż wśród licznych związków wydzielanych przez te komórki wykryto substancje, które mogą mieć znaczenie w pozyskiwaniu składników pokarmowych, w tym także azotu (WEN i współaut. 2007). W pracy WEN i współaut. (2007), na podstawie podobieństwa sekwencji zidentyfikowano ponad 30 białek wydzielanych zarówno z wierzchołków korzeni grochu, jak i z RBC, a w tym:  $\beta$ -glukozydazę, lipoksygenazę, dysmutazę ponadtlenkową, a także proteazę cysteinową.

#### POZYSKIWANIE AZOTU PRZEZ ROŚLINY OWADOŻERNE

Wyjątkową strategię pozyskiwania azotu opanowały rośliny owadożerne, wykształcając zdolność do trawienia egzogennych białek. Rośliny owadożerne rosną zwykle w ekosystemach o niskiej zawartości dostępnych związków odżywczych (ADAMEC 1997) i dlatego stosują, poza fotosyntezą, niezwykle oryginalną metodę pozyskiwania substancji odżywczych. Z pomocą specjalnie w tym celu wykształconych pułapek chwytają owady. Jednym z lepiej poznanych przykładów roślin owadożernih jest *Nepenthes*, rosnąca w lasach południowo-wschodniej Azji i posiadająca pułapki w kształcie dzbanów (OWEN i LENNON 1999). Wewnętrzna powierzchnia dzbanka u *Nepenthes* pokryta jest gruczołami wydzielającymi kwaśny płyn, który zawiera enzymy, między innymi proteazy, a także fosfatazy (HESLOP-HARRISON 1975, PŁACHNO i współaut. 2006). Przykładem proteazy ulegającej sekrecji u roślin owadożernih jest nepentesyna, enzym wykazujący duże podobieństwo do pepsyny i wykryty u *Nepenthes* przez NAKAYAMA i AMAGASE (1968). O ogrom-



nym znaczeniu zdobywania związków z owadów w gospodarce azotowej roślin świadczą badania SCHULZE i współaut. (1997), w których to azot pozyskiwany z owadów stanowił aż 60% azotu pobieranego przez *Nepenthes mirabilis*. W pułapkach dochodzi do intensywnego trawienia schwytanych ofiar, a roślina pobiera azot najprawdopodobniej w formie aminokwasów, lub też małych peptydów (AN i współaut. 2002).

#### POZYSKIWANIE AZOTU DZIĘKI PROTEAZOM WYDZIELANYM Z KORZENI

Wśród fizjologów roślin długo istniał paradigmat, zgodnie z którym mikroorganizmy muszą rozkładać materię organiczną gleby uwalniając azot nieorganiczny, czyniąc go dostępnym dla roślin. Obecnie wiadomo, że azot organiczny pod postacią aminokwasów może być znaczącym źródłem azotu w odżywianiu roślin (LIPSON i NASHOLM, 2001). Jednak w materii organicznej gleby azot organiczny występuje głównie w formie białek (KAYE i HART 1997), a wolne aminokwasy w glebie powstają w wyniku hydrolizy białek i peptydów, katalizowanej przez proteazy wydzielane przez mikroorganizmy. Jednak badania przeprowadzone kilka lat temu wskazują na korzenie roślin jako dodatkowe źródło proteaz (GODLEWSKI i ADAMCZYK 2007). Wyniki te zostały potwierdzone także przez PAUNGFUO-LONHIENNE i współaut. (2008) rok później. Badania zjawiska wydzielania proteaz przez korzenie roślin dowiodły, że poziom aktywności proteaz w podłożu hodowlanym hydroponicznie hodowanych siewek jest specyficzny dla gatunku, a nawet dla odmiany. Badania biochemiczne dowiodły, że proteazy wydzielane z korzeni *Allium porrum*, *Zea mays*, *Helianthus annuus* wykazują optimum aktywności w neutralnym pH i należą głównie do proteaz cysteinowych (GODLEWSKI i ADAMCZYK 2007). Badania z użyciem chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią masową (LC-MS) wykazały, że proteazy wydzielane z korzeni *Allium porrum* trawią

białka (kazeinę i albuminę wołową) z różną specyficznością, a wśród produktów takiego trawienia wykryto niskocząsteczkowe peptydy (ADAMCZYK i współaut. 2009), które mogą być pobierane przez korzenie roślin (TSAY i współaut. 2007). Zastosowanie LC-MS i łańcucha B insuliny jako substratu umożliwiło wykazanie, że proteazy wydzielane z korzeni pora mają aktywność zarówno egzopeptydaz jak i endopeptydaz (ADAMCZYK i współaut. 2009). Wydzielanie enzymów proteolitycznych z pewnością może mieć znacznie w odżywianiu azotowym roślin, na co wskazują badania wykonane na sterylnych hodowlach pszenicy, w których siewki *Triticum aestivum* osiągały największą masę na podłożu Murashige i Skoog'a, w którym zastąpiono azot nieorganiczny białkiem (kazeiną). Obecność kazeiny w podłożu rekompensowała brak azotu nieorganicznego (ADAMCZYK i współaut. 2008). Badania zjawiska wydzielania enzymów proteolitycznych do podłoża sugerują, że w sterylnych warunkach rośliny mogą skutecznie wykorzystywać białka podłoża jako źródło azotu. Jednak w warunkach naturalnych także mikroorganizmy wydzielają proteazy i są zdolne do pobierania produktów proteolizy. Należy jednak pamiętać, że aktywność zarówno bakterii jak i grzybów w glebie zależy od wielu czynników (WIELAND i współaut. 2001), a ponadto gleba nie jest homogenna pod względem zawartości białka (HODGE i współaut. 2000a). W miejscach w glebie szczególnie bogatych w białko możliwości trawienne mikroorganizmów mogą być niewystarczające i w takich miejscach proteazy wydzielane z korzeni roślin mogą trawić białka w celu pozyskania azotu dla roślin.

Przedstawiony przegląd piśmiennictwa wskazuje na ogromną różnorodność przystosowań roślin do korzystania z zasobów pokarmowych środowiska. To zróżnicowanie dotyczy także strategii zdobywania azotu przez rośliny. Problem odżywiania azotowego roślin wymaga dalszych, intensywnych badań.

#### PODSUMOWANIE

Zgodnie z tradycyjnym poglądem fizjologów, rośliny mogą pozyskiwać azot w formie nieorganicznej pod postacią jonów amonowych i azotanowych. Zarówno białka transporterów tych jonów, jak i regulacja ekspresji odpowiednich genów została już w pewnym

stopniu poznana i zrozumiana. Wiadomo także, że symbioza z bakteriami, jak i z grzybami mikoryzowymi może potencjalnie w sposób znaczący wspomóc budżet azotowy rośliny. Dodatkowo, takie przystosowania anatomiczne jak pułapki na owady u owadożernych, prote-

oid roots (zwiększające powierzchnię pobierania korzeni), jak i komórki root border cells mogą potencjalnie wspomagać pozyskiwanie azotu. Na przestrzeni ostatnich lat wzrosło zainteresowanie organicznymi źródłami azotu pod postacią aminokwasów, mocznika i krótkich peptydów. Badania dowiodły, że korzenie roślin mogą pozyskiwać także i te źródła azotu, pomimo konkurencji ze strony mikroorga-

nizmów. Ponadto wykrycie zdolności roślin do wydzielania proteaz przez korzenie wnosi nowe spojrzenie na odżywianie azotowe roślin. Wykazanie, że rośliny dzięki wydzielanym proteazom mogą wykorzystywać białka obecne w podłożu wskazuje, że rośliny mogą aktywnie uczestniczyć w zwiększaniu w ryzosferze puli azotu w formie dostępnej dla roślin niezależnie od mikroorganizmów glebowych.

## VARIOUS STRATEGIES OF NITROGEN ACQUISITION BY PLANTS

### Summary

In this paper we discuss strategies of the uptake of nitrogen by plants. Nitrogen belongs to the group of the most essential nutrients for plants. Uptake of inorganic nitrogen in the form of  $\text{NH}_4^+$  and  $\text{NO}_3^-$  is well-known event, including mechanisms of its uptake and regulation of proper genes. It is also known that symbioses with bacteria or mycorrhizal fungi can potentially improve nitrogen uptake. Additionally, such anatomical adjustments like proteoid roots, root border

cells formation and formation of traps in the case of carnivorous plants can also increase nitrogen influx to plants. It was shown that plant roots can uptake considerable amounts of amino acids, but also short peptides and urea. However, it is still not clear how well plant roots can compete with soil microorganisms for organic nitrogen. Here we also describe exudation of proteases by plant roots, a potentially important strategy in plant nitrogen nutrition.

### LITERATURA

- ABUZINADAH R. A., READ D. J., 1989. *The role of proteins in the nitrogen nutrition of ectomycorrhizal plants IV. The utilization of peptides by birch (Betula pedula L.) infected with different mycorrhizal fungi.* New Phytol. 112, 55–60.
- ADAMCZYK B., GODLEWSKI M., ZIMNY J., ZIMNY A., 2008. *Wheat (Triticum aestivum) seedlings secrete proteases from the roots and, after protein addition, grow well on medium without inorganic nitrogen.* Plant Biol. 10, 718–724.
- ADAMCZYK B., GODLEWSKI M., SMOLANDER A., KITUNEN V., 2009. *Degradation of proteins by enzymes exuded by Allium porrum roots – A potentially important strategy for acquiring organic nitrogen by plants.* Plant Physiol. Biochem. 47, 919–925.
- ADAMEC L., 1997. *Mineral nutrition of carnivorous plants: a review.* Bot. Rev. 63, 273–299.
- AN C.-I., TAKEGAWA S., OKAZAWA A., FUKUSAKI E.-I., KOBAYASHI A., 2002. *Degradation of a peptide in pitcher fluid of carnivorous plant Nepenthes alata Blanco.* Planta 215, 472–477.
- ATKIN O. K., 1996. *Reassessing the nitrogen relations of Arctic plants: a mini-review.* Plant Cell Environ. 19, 695–704.
- BAJWA R., READ D. J., 1985. *The biology of mycorrhizae in the Ericaceae. IX. Peptides as nitrogen sources for the ericoid endophyte and for mycorrhizal and non-mycorrhizal plants.* New Phytol. 101, 459–467.
- BENNETT M. J., MARCHANT A., GREEN H. G., MAY S. T., WARD S. P., MILLNER P. A., WALKER A. R., SCHULZ B., FELDMANN K. A., 1996. *Arabidopsis AUX1 gene: a permease-like regulator of auxin-mediated root gravitropism.* Science 273, 948–950.
- BLOOM A. J., SUKRAPANNA S., WARNER R., 1992. *Root respiration associated with ammonium and nitrate absorption and assimilation by barley.* Plant Physiol. 99, 1294–1301.
- BLOOM A. J., JACKSON L. E., SMART D. R., 1993. *Root growth as a function of ammonium and nitrate in the root zone.* Plant Cell Environ. 16, 199–206.
- BRITTO D. T., KRONZUCKER H. J., 2002.  *$\text{NH}_4^+$  toxicity in the higher plants: a critical review.* J. Plant Physiol. 159, 567–584.
- CHALOT M., BRUN A., 1998. *Physiology of organic nitrogen acquisition by ectomycorrhizal fungi and ectomycorrhizas.* FEMS Microbiol. Rev. 22, 21–44.
- CHAPIN F. S. I., MOILANEN L., KIELLAND K., 1993. *Preferential use of organic nitrogen for growth by a non-mycorrhizal arctic sedge.* Nature 361, 150–153.
- CHEN L. S., BUSH D. R., 1997. *LHT1, A Lysine- and Histidine-Specific Amino Acid Transporter in Arabidopsis.* Plant Physiol. 115, 1127–1134.
- CRAWFORD N. M., GLASS A. D. M., 1998. *Molecular and physiological aspects of nitrate uptake in plants.* Trends Plant Sci. 3, 389–395.
- DARRAH P. R., 1991. *Models of the rhizosphere. II. A quasi-three dimensional simulation of the microbial population dynamics around a growing root releasing soluble exudates.* Plant Soil 138, 147–158.
- DELL B., KUO J., THOMPSON G. J., 1980. *Development of proteoid roots in Hakea obliqua R.Br. (Proteaceae) grown in water culture.* Aus. J. Bot. 28, 27–37.
- DOBBELAERE S., CROONENBORGH S., THYS A., PTACEK D., OKON Y., VANDERLEYDEN J., 2002. *Effect of inoculation with wild type Azospirillum brasilense and A. irakense strains on development and nitrogen uptake of spring wheat and grain maize.* Biol. Fert. Soils 36, 284–297.
- DONG S., CHENG L., SCAGEL C. F., FUCHIGAMI L. H., 2002. *Nitrogen absorption, translocation and distribution from urea applied in autumn to leaves of young potted apple (Malus domestica) trees.* Tree Physiol. 22, 1305–1310.
- FALKENGREN-GRERUP U., MANSSON K. F., OLSSON M. O., 2000. *Uptake capacity of amino acids by ten grasses and forbs in relation to soil acidity and nitrogen availability.* Environ. Exp. Bot. 44, 207–219.

- FISCHER W. N., KWART M., HUMMEL S., FROMMER W. B., 1995. *Substrate specificity and expression profile of amino acid transporters (AAPs) in Arabidopsis*. J. Biol. Chem. 270, 16315–16320.
- FISHER W. N., ANDRE B., RENTSCH D., KROLKIEWICZ S., TEGEDER M., BREITKREUZ K. E., FROMMER W. B., 1998. *Amino acid transport in plants*. Trends Plant Sci. 3, 188–195.
- FORDE B. G., CLARKSON D. T., 1999. *Nitrate and ammonium nutrition in plants: physiological and molecular perspectives*. Adv. Bot. Res. 30, 1–90.
- GABRYŚ H., 2002. *Gospodarka azotowa*. [W:] *Podstawy fizjologii roślin*. KOPCEWICZ J., LEWAK S. (red.). PWN, Warszawa.
- GALVAN A., QUESADA A., FERNANDEZ E., 1996. *Nitrate and nitrite are transported by different specific transport systems and by a bispecific transporter in Chlamydomonas reinhardtii*. J. Biol. Chem. 271, 2088–2092.
- GODLEWSKI M., ADAMCZYK B., 2007. *The ability of plants to secrete proteases by roots*. Plant Physiol. Biochem. 45, 657–664.
- HAWES M. C., GUNAWARDENA U., MIYASAKA S., ZHAO X., 2000. *The role of root border cells in plant defence*. Trends Plant Sci. 5, 1360–1385.
- HEJNOWICZ Z., 2002. *Anatomia i histogeneza roślin naczyniowych*. PWN, Warszawa.
- HESLOP-HARRISON Y., 1975. *Enzyme release in carnivorous plants*. Front. Biol. 43, 525–578.
- HIRNER A., LADWIG F., STRANSKY H., OKUMOTO S., KEINATH M., HARMS A., FROMMER W. B., KOCH W., 2006. *Arabidopsis LHT1 is a high-affinity transporter for cellular amino acid uptake in both root epidermis and leaf mesophyll*. Plant Cell 18, 1931–1946.
- HODGE A., ROBINSON D., FITTER A., 2000a. *Are microorganisms more effective than plants at competing for nitrogen*. Trends Plant Sci. 5, 304–308.
- HODGE A., STEWART J., ROBINSON D., GRIFFITS B. S., FITTER A. H., 2000b. *Plant N capture and microfaunal dynamics from decomposing grass and earthworm residues*. Soil Biol. Biochem. 32, 1763–1772.
- HOWITT S. M., UDVARDI M. K., 2000. *Structure, function and regulation of ammonium transporters in plants*. Biochim. Biophys. Acta 1465, 152–170.
- JACKSON L. E., SCHIMEL J. P., FIRESTONE M. K., 1989. *Short-term partitioning of ammonium and nitrate between plants and microbes in AN annual grassland*. Soil Biol. Biochem. 21, 409–415.
- JAEGER C. H. III, MONSON R. K., FISK M. C., SCHMIDT S. K., 1999. *Seasonal partitioning of nitrogen by plants and soil microorganisms in AN alpine ecosystem*. Ecology 80, 150–164.
- JONES D. L., SHANNON D., JUNVEE-FORTUNE T., FARRAR J. F., 2005a. *Plant capture of free amino acids is maximized under high soil amino acid concentrations*. Soil Biol. Biochem. 37, 179–181.
- JONES D. L., HEALEY J. R., WILLETT V. B., FARRAR J. F., HODGE A., 2005b. *Dissolved organic nitrogen uptake by plants – An important N uptake pathway?* Soil Biol. Biochem. 37, 413–423.
- KAYE J. P., HART S. C., 1997. *Competition for nitrogen between plants and soil microorganisms*. TREE 12, 139–143.
- KIELLAND K., 1994. *Amino acid absorption by arctic plants: implications for plant nutrition and nitrogen cycling*. Ecology 75, 2373–2383.
- KIELLAND K., 1995. *Landscape patterns of free amino acids in arctic tundra soils*. Biogeochem. 31, 85–98.
- KLADIVKO E. J., KEENEY D. R., 1987. *Soil nitrogen mineralization as affected by water and temperature interactions*. Biol. Fert. Soils 5, 248–252.
- KOH S., WILES A. M., SHARP J. S., NAIDER F. R., BECKER J. M., STACEY G., 2002. *AN oligopeptide transporter gene family in Arabidopsis*. Plant Physiol. 128, 21–29.
- KOLB K. J., EVANS R. D., 2002. *Implications of leaf nitrogen recycling on the nitrogen isotope composition of deciduous plant tissues*. New Phytol. 156, 57–64.
- KOPCEWICZ J., 2002. *Podstawy fizjologii roślin*. PWN, Warszawa, 246–258.
- KOWALSKA I., 2002. *Jak rozpoznać, że rośliny głodują*. Działkowiec 7, str. 50–51.
- LEE Y.-H., FOSTER J., CHEN J., VOLL L. M., WEBER A. P. M., TEGEDER M., 2007. *AAP1 transports uncharged amino acids into roots of Arabidopsis*. Plant J. 50, 305–319.
- LEIGH R. A., SZE H., 2001. *Membrane transport meets plant nutrition*. Trends Plant Sci. 6, 47–48.
- LIPSON D. A., NÄSHOLM T., 2001. *The unexpected versatility of plants: organic nitrogen use and availability in terrestrial ecosystems*. Oecologia 128, 305–316.
- LIPSON D. A., RAAB T. K., SCHMIDT S. K., MONSON R. K., 1999. *Variation in competitive abilities of plants and microbes for specific amino acids*. Biol. Fert. Soils 29, 257–261.
- LIU K.-H., HUANG C.-Y., TSAY Y.-F., 1999. *CHL1 is a dual-affinity nitrate transporter of Arabidopsis involved in multiple phases of nitrate uptake*. Plant Cell, 865–874.
- LIU K.-H., TSAY Y.-F., 2003a. *Switching between the two action modes of the dual-affinity nitrate transporter CHL1 by phosphorylation*. EMBO J. 22, 1005–1013.
- LIU L. H., LUDWIG U., GASSERT B., FROMMER W. B., VON WIREN N., 2003b. *AtDUR3 encodes a new type of high-affinity urea/H<sup>+</sup> symporter in Arabidopsis*. Plant Cell 15, 790–800.
- LIU L. H., LUDWIG U., GASSERT B., FROMMER W. B., VON WIREN N., 2003c. *Urea transport by nitrogen – regulated tonoplast intrinsic proteins in Arabidopsis*. Plant Physiol. 133, 1220–1228.
- LUBKOWITZ M., 2006. *The OPT family functions in long-distance peptide and metal transport in plants*. Genet. Eng. 27, 35–55.
- MARSCHNER H. L., 1995. *Mineral nutrition in higher plants*. London: Academic Press.
- MATSUMOTO S., AE N., YAMAGATA M., 2000. *Possible direct uptake of organic nitrogen from soil by chingensai (Brassica campestris L.) and carrot (Daucus carota L.)*. Soil Biol. Biochem. 32, 1301–1310.
- MCLAREN A. D., JENSEN W. A., JACOBSON L., 1960. *Absorption of enzymes and other proteins by barley roots*. Plant Physiol. 35, 550–556.
- MERIGOUT P., LELANDIS M., BITTON F., RENOU J.-P., BRAND X., MEYER C., DANIEL-VEDELE F., 2008. *Physiological and transcriptomic aspects of urea uptake and assimilation in Arabidopsis plants*. Plant Physiol. 147, 1225–1238.
- MEYER A., ESKANDARI S., GRALLATH S., RENTSCH D., 2006. *AtGAT1, a high affinity transporter for gamma-aminobutyric acid in Arabidopsis thaliana*. J. Biol. Chem. 281, 7197–7204.
- NAKAYAMA S., AMAGASE S., 1968. *Acid protease in Nephentes. Partial purification and properties of the enzyme*. Proc. Japan Acad. 44, 358–362.
- NÄSHOLM T., EKBLAD A., NORDIN A., GIESLER R., HÖGBERG M., HÖGBERG P., 1998. *Boreal forest plants take up organic nitrogen*. Nature 392, 914–916.
- NÄSHOLM T., HUSS-DANEL K., HÖGBERG P., 2001. *Uptake of glycine by field grown wheat*. New Phytol. 150, 59–63.
- NYGREN C. M. R., EDQIST J., ELFSTRAND M., HELLER G., TAYLOR A. F. S., 2007. *Detection of extracellular protease activity in different species and genera*

- of ectomycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 17, 241–248.
- OKAMOTO M., OKADA K., 2004. *Differential responses of growth and nitrogen uptake to organic nitrogen in four gramineous crops*. *J. Exp. Bot.* 55, 1577–1585.
- OKON Y., KAPULNIK Y., 1986. *Development and function of Azospirillum-inoculated roots*. *Plant Soil* 90, 3–16.
- ORTIZ-LOPEZ A., CHANG H.-C., BUSH D. R., 2000. *Amino acid transporters in plants*. *Biochim. Biophys. Acta* 1465, 275–280.
- OSAWA H., STACEY G., GASSMANN W., 2006. *ScOPT1 and AtOPT4 function as proton-coupled oligopeptide transporters with broad but distinct substrate specificities*. *Biochem. J.* 393, 267–275.
- OWEN T. P. Jr, LENNON K. A., 1999. *Structure and development of the pitchers from the carnivorous plant Nepenthes alata (Nepenthaceae)*. *Am. J. Bot.* 86, 1382–1390.
- PAUNGFUO-LONHIENNE C., LONHIENNE T. G. A., RENTSCH D., ROBINSON N., CHRISTIE M., WEBB R. I., GAMAGE H. K., CAROLL B. J., SCHENK P. M., SCHMIDT S., 2008. *Plants can use protein as nitrogen source without assistance from other organisms*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105, 4524–4529.
- PAUNGFUO-LONHIENNE C., SCHENK P. M., LONHIENNE T. G. A., BRACKIN R., MEIER S., RENTSCH D., SCHMIDT S., 2009. *Nitrogen affects cluster root formation and expression of putative peptide transporters*. *J. Exp. Bot.* 60, 2665–2676.
- PERSSON J., NÄSHOLM T., 2001. *Amino acid uptake: a widespread ability among boreal forest plants*. *Ecol. Lett.* 4, 434–438.
- PLACHNO B. J., ADAMEC L., LICHTSCHEIDL I. K., PEROUTKA M., ADLASSNIG W., VRBA J., 2006. *Fluorescence labelling of phosphatase activity in digestive glands of carnivorous plants*. *Plant Biol.* 8, 813–820.
- PORPORATO A., D'ODORICO P., LAIO F., RODRIGUEZ-ITURBE I., 2003. *Hydrologic controls on soil carbon and nitrogen cycles. I. Modeling scheme*. *Adv. Water Res.* 26, 45–58.
- PURNELL H. M., 1960. *Studies of the family Proteaceae. I. Anatomy and morphology of the roots of some Victorian species*. *Aus. J. Bot.* 8, 38–50.
- QUALLS R. G., RICHARDSON C. J., 2003. *Factors controlling concentration, export, and decomposition of dissolved organic nutrients in the Everglades of Florida*. *Biogeochemistry* 62, 197–229.
- RAWAT S. R., SILIM S. N., KRONZUCKER H. J., SIDDIQI M. Y., GLASS A. D. M., 1999. *AtAMT1 gene expression and NH<sub>4</sub><sup>+</sup> uptake in roots of Arabidopsis thaliana: evidence for regulation by root glutamine levels*. *Plant J.* 19, 143–152.
- READ D. J., 1996. *The structure and function of the ericoid mycorrhizal root*. *Ann. Bot.* 77, 365–374.
- RENTSCH D., BOORER K. J., FROMMER W. B., 1998. *Structure and function of plasma membrane amino acid, oligopeptide and sucrose transporters from higher plants*. *J. Membr. Biol.* 162, 177–190.
- RENTSCH D., SCHMIDT S., TEGEDER M., 2007. *Transporters for uptake and allocation of organic nitrogen compounds in plants*. *FEBS Lett.* 581, 2281–2289.
- ROUSSEAU J. V. D., SYLVIA D. M., FOX A. J., 1994. *Contribution of ectomycorrhiza to the potential nutrient absorbing surface of pine*. *New Phytol.* 128, 639–644.
- SCHIMEL J. P., CHAPIN F. S. III, 1996. *Tundra plant uptake of amino acid and NH<sub>4</sub><sup>+</sup> nitrogen in situ: plants compete well for amino acid N*. *Ecology* 77, 2142–2147.
- SCHLEGEL H. G., 2008. *Mikrobiologia ogólna*. PWN. Warszawa.
- SCHMIDT I. K., MICHELSEN A., JONASSON S., 1997. *Effects of labile soil carbon on nutrient partitioning between AN arctic graminoid and microbes*. *Oecologia* 112, 557–565.
- SCHMIDT S., STEWART G. R., 1997. *Waterlogging and fire impact on nitrogen availability and utilization in a subtropical wet heathland (wallum)*. *Plant Cell Environ.* 20, 1231–1241.
- SCHMIDT S., STEWART G. R., 1999. *Glycine metabolism by plant roots and its occurrence in Australian plant communities*. *Aust. J. Plant Physiol.* 26, 253–264.
- SCHMIDT S., MASON M. G., SANGTIEAN T., STEWART G. R., 2003. *Do cluster roots of Hakea actities (Proteaceae) acquire complex organic nitrogen?* *Plant Soil* 248, 157–165.
- SCHULZE W., SCHULZE E. D., PATE J. S., GILLISON A. N., 1997. *The nitrogen supply from soils and insects during growth of the pitcher plants Nepenthes mirabilis, Cephalotus follicularis and Darlingtonia californica*. *Oecologia* 112, 464–471.
- SIMPSON R. J., LAMBERS H., DALLING M. J., 1983. *Nitrogen redistribution during grain growth in wheat (Triticum aestivum L.)*. *Plant Physiol.* 71, 7–14.
- SKENE K. R., 1998. *Cluster roots: some ecological considerations*. *J. Ecol.* 86, 1060–1064.
- STRIBLEY D. P., READ D. J., 1980. *The biology of mycorrhiza in the Ericaceae – VII. The relationship between mycorrhizal infection and the capacity to utilize simple and complex organic nitrogen sources*. *New Phytol.* 86, 365–371.
- TSAY Y.-F., CHIU C.-C., TSAI C.-B., HO C.-H., HSU P.-K., 2007. *Nitrate transporters and peptide transporters*. *FEBS Lett.* 581, 2290–2300.
- VIRTANEN A. I., LINKOLA H., 1946. *Organic nitrogen compounds as nitrogen nutrition for higher plants*. *Nature* 158, 515–515.
- VON WIREN N., GAZZARRINI S., FROMMER W. B., 1997. *Regulation of mineral nitrogen uptake in plants*. *Plant Soil* 196, 191–199.
- VON WIREN N., GAZZARRINI S., GOJON A., FROMMER W. B., 2000. *The molecular physiology of ammonium uptake and retrieval*. *Cur. Opin. Plant Biol.* 3, 254–261.
- WALLENTA T., READ D. J., 1999. *Kinetics of amino acid uptake by ectomycorrhizal roots*. *Plant Cell Environ.* 22, 179–187.
- WANG M. Y., SIDDIQI M. Y., RUTH T. J., GLASS A. D. M., 1993. *Ammonium uptake by rice roots. II. Kinetics of <sup>13</sup>NH<sub>4</sub><sup>+</sup> influx across the plasmalemma*. *Plant Physiol.* 103, 1259–1267.
- WATSON C. J., MILLER H., POLAND P., KILPATRICK D. J., ALLEN M. D. B., GARRET M. K., CHRISTIANSON C. B., 1994. *Soil properties and the ability of the urease inhibitor N-(N-butyl) thiophosphoric triamide (NBPT) to reduce ammonia volatilization from surface – applied urea*. *Soil Biol. Biochem.* 26, 1165–1171.
- WATT M., EVANS J. R., 1999. *Proteoid roots. Physiology roots. Physiology and development*. *Plant Physiol.* 121, 317–323.
- WEIGELT A., BOL R., BARDGETT R. D., 2005. *Preferential uptake of soil nitrogen forms by grassland plant species*. *Oecologia* 142, 627–635.
- WEN F., VANËTTEEN H. D., TSAPRALLIS G., HAWES M. C., 2007. *Extracellular proteins in pea root tip and border cell exudates*. *Plant Physiol.* 143, 773–783.
- WIELAND G., NEUMANN R., BACKHAUS H., 2001. *Variation of microbial communities in soil, rhizosphere, and rhizoplane in response to crop species, soil type, and crop development*. *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 5849–5854.