

MONIKA NAPRZAŁ, ALBERT JANOTA, MICHAŁ SZOPIŃSKI, KRZYSZTOF SITKO,  
EUGENIUSZ MAŁKOWSKI

Uniwersytet Śląski w Katowicach  
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska  
Katedra Fizjologii Roślin  
Jagiellońska 28, 40-032 Katowice  
E-mail: [mnaprzal@us.edu.pl](mailto:mnaprzal@us.edu.pl)  
[ajanota@us.edu.pl](mailto:ajanota@us.edu.pl)  
[mszopinski@us.edu.pl](mailto:mszopinski@us.edu.pl)  
[krzysztof.sitko@us.edu.pl](mailto:krzysztof.sitko@us.edu.pl)  
[eugeniusz.malkowski@us.edu.pl](mailto:eugeniusz.malkowski@us.edu.pl)

## POBIERANIE I TRANSPORT JONÓW AZOTANOWYCH W ROŚLINACH ORAZ ICH WPŁYW NA ARCHITEKTURĘ KORZENI

### WPROWADZENIE

Azot to makroelement niezbędny do prawidłowego wzrostu i rozwój roślin. Jest składnikiem białek, kwasów nukleinowych, chlorofilu, koenzymów, fitohormonów oraz wtórnych metabolitów (BLOOM 2006). Jest jednym z głównych składników mineralnych w tkankach roślinnych i stanowi około 2% do 4% całkowitej suchej masy roślin (MENGEL i współaut. 2001). W glebie występuje w wielu różnych formach, ale spośród nich rośliny w największych ilościach pobierają go jako jony  $\text{NO}_3^-$  oraz  $\text{NH}_4^+$  (MILLER i CRAMER 2004). Niska dostępność azotu lub spadek zdolności jego pobierania przez komórki korzeni negatywnie wpływają na produktywność roślin oraz na konkurencję wewnątrz- i międzygatunkową. Ponadto, deficyt azotu powoduje karłowatość roślin, wytwarzanie wąskich liści oraz chlorozę, która zazwyczaj jest widoczna na liściach starszych, ponieważ zasoby tego pierwiastka są przemieszczane do młodszych części pędu (RICHARD-MOLARD i współaut. 2008).

Ilość azotu w glebie, w obrębie systemu korzeniowego jednej rośliny, może być bardzo zróżnicowana, w związku z czym rośliny, aby uniknąć niedoborów tego pierwiastka, wytworzyły szereg przystosowań metabolicznych, fizjologicznych i rozwojowych

(RICHARD-MOLARD i współaut. 2008), które w dużym stopniu zależą od zmiany poziomu ekspresji genów. W odpowiedzi na różne stężenie azotu poziom ekspresji niektórych genów może zmieniać się nawet w ciągu kilku minut. Wykazano, że u *Arabidopsis thaliana* całkowity brak lub silne ograniczenie dostępności azotu prowadzi do skoordynowanej represji genów zaangażowanych w fotosyntezę, syntezę chlorofilu i syntezę białek plastydowych, z jednoczesną indukcją genów wtórnego metabolizmu i degradacji białek (HAWKESFORD i współaut. 2012, SCHLÜTER i współaut. 2012).

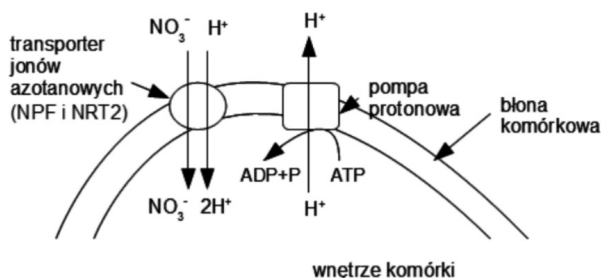
### POBIERANIE I TRANSPORT $\text{NO}_3^-$

Na dostępność dla roślin różnych form azotu w glebie ma wpływ wiele czynników, takich jak skład granulometryczny, aktywność mikroorganizmów, czy wilgotność i pH gleby (HAWKESFORD i współaut. 2012). W związku z tym, rośliny wyższe wytworzyły mechanizmy zwiększające efektywność pobierania tego pierwiastka, w szczególności szereg systemów transportujących  $\text{NO}_3^-$  i  $\text{NH}_4^+$ , różniących się specyficznością i powinowactwem (WILLIAMS i MILLER 2001). W przypadku, gdy w środowisku zewnętrznym stężenie jonów azotanowych lub amonowych jest wysokie (powyżej  $0,5 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ ), pobieranie

odbywa się głównie przez system transportujący o niskim powinowactwie (ang. low-affinity transport system, LATS), umożliwiającą intensywny wpływ azotu do komórek. Drugim typem systemów transportujących wykształconym przez rośliny są systemy transportujące o wysokim powinowactwie (ang. high-affinity transport system, HATS), których aktywność uwidacznia się w niskich stężeniach tych jonów w środowisku (poniżej  $0,5 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ ) (HAWKESFORD i współaut. 2012). HATS zostały dalej podzielone, w zależności od czynników decydujących o ich ekspresji, na konstytutywne (ang. constitutive high-affinity transport system, CHATS) oraz indukowane (ang. inducible high-affinity transport system, IHATS) (VIDMAR i współaut. 2000).

Jony azotanowe występują w glebie w większej koncentracji niż jony amonowe i są bardziej mobilne, co skutkuje większą ich dostępnością dla roślin (MILLER i CRAMER 2004). U roślin wyższych istnieją współdziałające ze sobą systemy transportujące  $\text{NO}_3^-$ , odpowiedzialne za pobieranie tego jonu z gleby oraz jego dystrybucję w roślinie. Są to transportery należące do rodziny NPF (ang. nitrate peptide family; wcześniej NRT1, ang. nitrate transporter 1) (LÉRAN i współaut. 2014), NRT2 (ang. nitrate transporter 2) (DANIEL-VEDELE i współaut. 2010) oraz kanały anionowe CLC (ang. chloride channels) i SLAC1 (ang. slow anion channels 1). Wszystkie te rodziny białek są kodowane przez 73 geny, a dla 24 spośród nich wykazano udział w transporcie azotanów (KRAPP i współaut. 2014, LÉRAN i współaut. 2014).

Niezależnie od typu transportera, pobieranie jonów azotanowych przez błonę komórkową odbywa się wbrew gradientowi potencjału elektrycznego (ASSMANN 2006). Ujemnie naładowane jony  $\text{NO}_3^-$  muszą pokonać barierę energetyczną związaną z ujemnie naładowaną wewnętrzną powierzchnią błony, dlatego też transportery z rodzin NPF i NRT2 pobierają azotany przez błonę komórkową w



Ryc. 1. Schemat pobierania jonów azotanowych przez komórkę roślinną z udziałem transporterów NPF i NRT2.

symporcie z protonami (Ryc. 1). W związku z tym, funkcjonowanie tych transporterów wymaga pośrednio nakładu energii w postaci ATP. W rzeczywistości ATP zużywane jest przez plazmolemową pompę protonową ( $\text{H}^+$ -ATPazę), która aktywnie wyrzuca proton na zewnątrz komórki, aby w poprzek błony wytworzyć i utrzymać gradient pH niezbędny do funkcjonowania symporterów (Ryc. 1) (HAWKESFORD i współaut. 2012).

## NPF (DAWNIEJ NRT1)

U *A. thaliana* rodzina transporterów NPF składa się z 53 białek, z których 16 bierze udział w transporcie jonów azotanowych (TSAY i współaut. 2007, KRAPP i współaut. 2014). Oprócz azotanów, transportery z rodziny NPF mogą również transportować inne substraty, takie jak aminokwasy, peptydy, auksynę czy kwas abscysynowy (ABA). Kilka białek rodziny NPF wykazuje niską specyficzność i może transportować więcej niż jeden substrat. NPF pośredniczy w transporcie wyłącznie w systemie LATS (DANIEL-VEDELE i współaut. 2010), z wyjątkiem transportera *AtNPF6.3* (dawniej *AtNRT1.1*; *CHL1*), który może funkcjonować zarówno jako LATS, jak i HATS (LIU i współaut. 1999). *AtNPF6.3* ulega ekspresji w komórkach epidermy młodych korzeni oraz wierzchołkach korzeni, co wskazuje na jego rolę w pobieraniu azotanów z gleby. Gen ten również ulega ekspresji w korze pierwotnej i endodermie, co może świadczyć o udziale transportera w dalszym przemieszczaniu  $\text{NO}_3^-$  w poprzek korzenia (HAWKESFORD i współaut. 2012). Powinowactwo *AtNPF6.3* do jonów azotanowych jest regulowane przez fosforylację reszty treoninowej. Fosforylowany *AtNPF6.3* pełni funkcję transportera o wysokim powinowactwie, natomiast jeśli nastąpi jego defosforylacja, to działa on jako transporter o niskim powinowactwie (TSAY i współaut. 2007, CHAPMAN i MILLER, 2011). Transporter ten, oprócz azotanów, może również transportować do wnętrza komórki auksynę (KRAPP i współaut. 2014).

Kolejnym ważnym białkiem tej rodziny przekaźników jest *AtNPF4.6* (dawniej *AtNRT1.2*), który również ulega ekspresji w komórkach epidermy korzenia oraz wierzchołku korzenia i jest zaangażowany w pobieranie jonu azotanowego z gleby. Produkt tego genu jest transporterem o niskim powinowactwie, odpowiedzialnym za konstytutywny pobór  $\text{NO}_3^-$  (HAWKESFORD i współaut. 2012).

## NRT2

Siedem genów rodziny NRT2 jest obecnych w genomie *A. thaliana*, a do najważniejszych dla pobierania jonu azotanowego

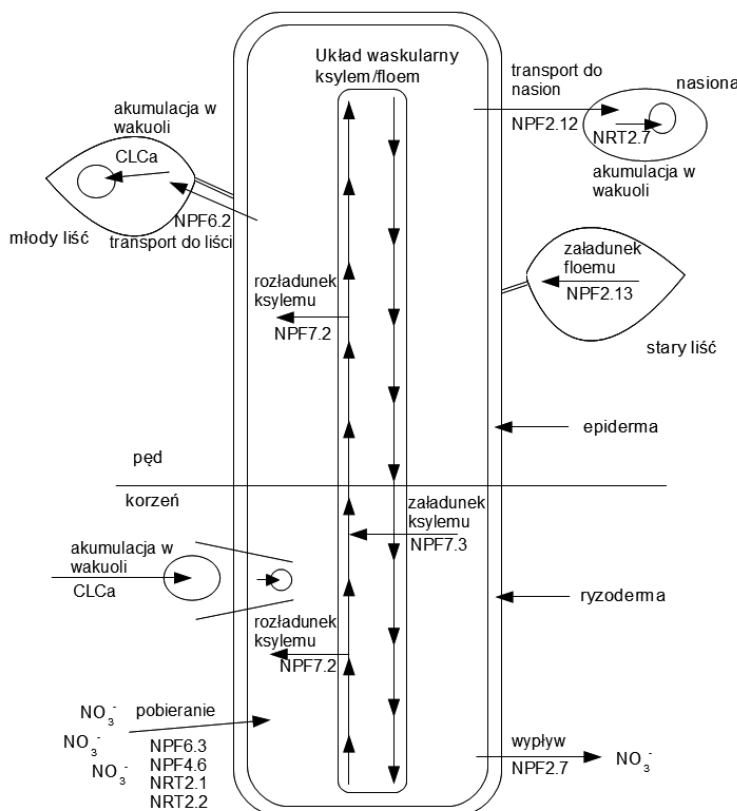
przez korzenie możemy zaliczyć *AtNRT2;1* i *AtNRT2;2*. Oba geny są indukowane obecnością jonów azotanowych w środowisku i wpływają na strukturę korzeni, przez uczestnictwo w ścieżce transdukcji sygnału wywołanego obecnością  $\text{NO}_3^-$ . Wszystkie białka należące do tej rodziny działają wyłącznie w systemie HATS i nie transportują żadnego innego substratu niż azotany, w przeciwieństwie do wcześniej omawianej grupy NPF (CHAPMAN i MILLER 2011). Do swej aktywności transportery te wymagają dodatkowego składnika białkowego, NRT3. Jest to białko z pojedynczą domeną transbłonową, która bezpośrednio oddziałuje z NRT2. Jeśli występują osobno, żadne z tych białek nie może pośredniczyć w transporcie jonów azotanowych (ORSEL i współaut. 2006). W jęczmieniu i ryżu, w odróżnieniu od rzodkiewnika, zidentyfikowano po 4 geny należące do rodziny transporterów NRT2 (VIDMAR i współaut. 2000, ARAKI i HASEGAWA 2006).

## SLAC I CLC

Wolne kanały anionowe SLAC są produktem 5 genów: *SLAC1* i *SLAH1-SLAH4* (będącymi homologami *SLAC1*), które zlo-

kalizowane są w komórkach szparkowych różnych gatunków roślin. Wykazano, że utrata aktywności białka SLAC1 w komórkach szparkowych uniemożliwia zamknięcie szparek, w odpowiedzi na niską wilgotność w środowisku czy wysokie stężenie  $\text{CO}_2$ . Białko SLAC1 uczestniczy przede wszystkim w przepływie jonów chloru oraz jonów azotanowych, natomiast jego przepuszczalność dla jabłczanu jest znikoma. Kanał SLAH3 wykazuje największe powinowactwo do jonów  $\text{NO}_3^-$ , których obecność w środowisku zewnątrzkomórkowym jest niezbędna do jego aktywacji. SLAC1 i SLAH3 zlokalizowane są w komórkach szparkowych, co sugeruje, że razem pośredniczą w usuwaniu jonów chlorowych i azotanowych podczas zamykania szparki (ROB i współaut. 2012, KRAPP i współaut. 2014).

U *A. thaliana* zidentyfikowano 7 białek należących do rodziny CLC (a-f oraz s) (ang. chloride channels), różniących się powinowactwem do substratu. Ta różnica wynika głównie z różnej liczby reszt prolinowych występujących w tych białkach. Podstawową funkcją CLC jest transport jonów chloru w antyporcie z protonami, co świadczy o tym, że są antyporterami  $1\text{H}^+/2\text{Cl}^-$ , a więc ich mechanizm działania jest niezgodny z pierwotną nazwą całej rodziny. Ponadto okazało się, że te antyportery wykazują również duże powinowactwo do jonów azotanowych. CLCa jest jednym z przedstawicieli tej rodziny cechującym się wysokim powinowactwem do  $\text{NO}_3^-$ . Zlokalizowany jest w tonoplazmie i bierze udział w transporcie jonów azotanowych do wakuoli w antyporcie z protonami. CLCa jest głównym transporterem odpowiedzialnym za akumulację jonów azotanowych w wakuolach (KRAPP i współaut. 2014).



Ryc. 2. Schemat przedstawiający udział różnych systemów transportujących w pobieraniu i dystrybucji jonów azotanowych w roślinie (wg HAWKESFORD i współaut. 2012, zmodyfikowana)

## DROGA JONÓW AZOTANOWYCH W ROŚLINIE

Drogę jonów  $\text{NO}_3^-$  w roślinie oraz biorące w tym udział transportery, począwszy od pobrania przez komórki korzenia, załadunek i rozładunek ksylemu, transport w liściach, transport do nasion, jak również recyrkulację do korzeni i uwalnianie jonów azotanowych do gleby przedstawiono na Ryc. 2.

W pobieraniu azotanów z gleby uczestniczą białka NPF6.3, NPF4.6, NRT2.1 i NRT2.2, obecne w plazmolemie komórek ryzodermy. Działają one na zasadzie symportu z protonami. Po pobraniu azotanów dochodzi do ich załadunku do ksylemu, w czym uczestniczą białka transportujące NPF7.3. Następnie azotany transportowane są ksylemem w kierunku pędów. Ponadto, azotany w korzeniach mogą być akumulowane w wakuolach, w czym uczestniczą antyporterowe białka tonoplastowe CLCa, cechujące się wysokim powinowactwem do  $\text{NO}_3^-$ . Po dotarciu do pędów, w dalszym transporcie azotanów uczestniczą białka symporterowe: NPF7.2 odpowiedzialne za rozładunek ksylemu oraz NPF6.2. uczestniczące w transporcie  $\text{NO}_3^-$  do liści. W pędach jony azotanowe mogą być magazynowane w wakuolach komórek młodych liści, skąd mogą zostać przetransportowane do nasion. Analogicznie jak ma to miejsce w korzeniach, azotany są akumulowane w wakuolach komórek liści dzięki aktywności tonoplastowych białek CLCa. Z kolei do rozwijających się nasion azotany są transportowane poprzez białka symporterowe NPF2.12. Po dotarciu do komórek nasion, za akumulację azotanów w ich wakuolach odpowiada białko NRT2.7 (DECHORGNAT i współaut. 2011, HAWKESFORD i współaut. 2012).

W niewielkiej ilości jony  $\text{NO}_3^-$  mogą zostać wycofane ze starych liści dzięki aktywności białka NPF2.13 poprzez załadunek floemu, mogą również wypływać z korzenia poprzez transporter NPF2.7 (dawniej NAXT1). Jest to białko zlokalizowane w plazmolemie komórek kory korzeni odpowiedzialne za długotrwały eksport jonów azotanowych w odpowiedzi na zakwaszenie środowiska (DECHORGNAT i współaut. 2011, LÉRAN i współaut. 2014).

#### WPLYW JONÓW AZOTANOWYCH NA ARCHITEKTURĘ KORZENI

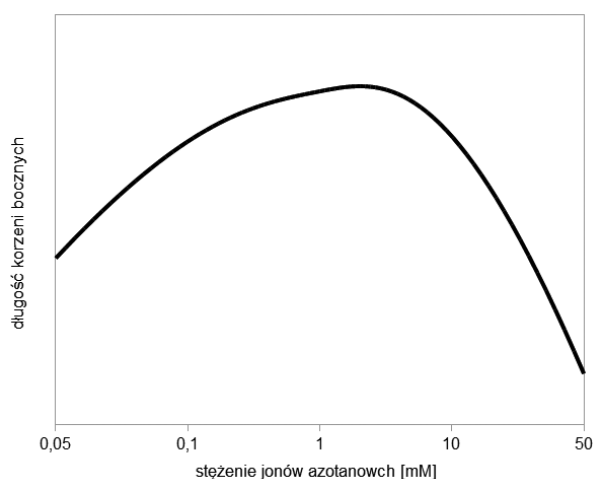
Po pobraniu przez korzeń, jony azotanowe nie tylko podlegają asymilacji i wbudowaniu w związki organiczne, ale także biorą udział w regulacji wzrostu i rozwoju całej rośliny. Podczas czasowego niedoboru azotanów w środowisku glebowym rośliny wykazują odpowiedź dwufazową. W trakcie pierwszej fazy tempo elongacji liści ulega redukcji, co przebiega jednak bez negatywnego wpływu na fotosyntezę (HAWKESFORD i współaut. 2012, SCHLÜTER i współaut. 2012). Równocześnie dotychczasowy wzrost i rozwój korzenia jest utrzymany na tym samym poziomie lub jest nawet stymulowany, dzięki zwiększonemu eksportowi asymilatów do tego organu. W konsekwencji zmniejsza się

biomasa pędu w stosunku do biomasy korzenia. Zawartość azotu w tkankach roślinnych, w szczególności w formie jonów azotanowych, widocznie obniża się na początku występowania deficytu azotanów w środowisku, co dowodzi, że te jony są mobilizowane w celu utrzymania metabolizmu azotu na odpowiednim poziomie. Ponadto zwiększa się zdolność systemu korzeniowego do pobierania  $\text{NO}_3^-$  z gleby (RICHARD-MOLARD i współaut. 2008). W drugiej fazie, gdy nadal występuje niedobór jonów azotanowych, dochodzi do zaburzeń w syntezie białek i kwasów nukleinowych, głównie w starzejących się liściach (GRYFFITHS i współaut. 2014). Spadek aktywności enzymu RUBISCO (karboksylaza/oksygenaza rybulozo-1,5-bisfosforanu) prowadzi do ograniczenia fotosyntezy, co z kolei powoduje zahamowanie wzrostu całej rośliny (RICHARD-MOLARD i współaut. 2008, KANT i współaut. 2011).

Jedną z najbardziej widocznych zmian zachodzących w odpowiedzi na zróżnicowane zasoby azotanów jest zmiana architektury korzenia. Jeśli w glebie występują równomiernie rozmieszczone, wysokie zasoby tych jonów, wówczas obserwuje się zahamowanie rozgałęziania systemu korzeniowego (HAWKESFORD i współaut. 2012). Wysokie stężenia  $\text{NO}_3^-$  wywołują systemową odpowiedź rośliny w postaci inhibicji rozwoju korzeni bocznych (Ryc. 3), która najczęściej występuje w początkowej fazie ich rozwoju (zatrzymując rozwój korzenia bocznego na etapie tworzenia zawiązków), widocznie opóźniając aktywację merystemu w korzeniach bocznych (ZHANG i współaut. 1999). Takie zatrzymanie rozwoju na etapie zawiązków jest ułatwieniem dla szybszego wytworzenia korzeni bocznych w razie wystąpienia niedoborów jonów azotanowych (MALAMY 2005). Ten sygnał głównie spowodowany jest akumulacją jonów azotanowych i metabolitów azotu w roślinie (KANT i współaut. 2011).

Dla większości roślin optymalnymi stężeniami jonów azotanowych dla stymulacji rozwoju korzeni bocznych są stężenia w przedziale od 0,1 do 10  $\text{mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$  (Ryc. 3). Ponadto, ze zwiększającym się stężeniem jonów azotanowych związana jest wyższa aktywność enzymu reduktazy azotanowej, który jest najważniejszym enzymem szlaku metabolizmu azotu w roślinach (ZHANG i współaut. 1999, AVERINA i współaut. 2014).

W przypadku ograniczenia dostępności azotanów ( $0,01 \text{ mmol}\cdot\text{dm}^{-3} \text{ NO}_3^-$ ) następuje stymulacja rozwoju korzeni bocznych w kierunku obszarów gleby zasobniejszych w azot ( $1,0 \text{ mmol}\cdot\text{dm}^{-3} \text{ NO}_3^-$ ). W doświadczeniu przeprowadzonym na jęczmieniu wykazano, że gdy  $\text{NO}_3^-$  były obecne tylko w jednej z trzech stref środowiska korzeni, obserwowana



Ryc. 3. Wpływ stężenia jonów azotanowych na długość korzeni bocznych (wg ZHANG i współaut. 1999)

no największy rozwój korzeni bocznych właśnie w strefie bogatej w azot. Natomiast w wariancie kontrolnym, gdzie jony azotanowe były równomiernie rozmieszczone w środowisku, korzenie boczne były obecne na całej długości systemu korzeniowego (DREW 1975).

Badania na *A. thaliana* nad zmianami w morfologii korzeni w odpowiedzi na ograniczenie zasobów  $\text{NO}_3^-$  wykazały istotne różnice w biomase pędów, długości korzeni głównych i bocznych oraz liczbie korzeni bocznych. Rośliny, które początkowo rosły na podłożu ze stosunkowo wysokim stężeniem jonów azotanowych, a następnie zostały przeniesione do podłoża o śladowej ilości  $\text{NO}_3^-$  wykazały się gorszym rozwojem pędów oraz korzeni głównych, z jednoczesnym wyraźnym zwiększeniem długości i liczby korzeni bocznych. Zmiany w architekturze korzeni przebiegają bez znaczących zmian w biomase korzeni, gdyż rozwój korzeni bocznych jest równoważony skracaniem korzeni głównych. Wyczerpywanie zasobów jonów azotanowych jest sygnałem do rozbudowania systemu korzeniowego, podczas gdy wysokie zawartości tego pierwiastka są odczytywane jako sygnał do rozwoju pędów (DE PESSEMIER i współaut. 2013). Ponadto, po przeniesieniu roślin początkowo rosnących w obecności wysokiego stężenia  $\text{NO}_3^-$  do podłoża o optymalnym stężeniu tych jonów obserwowano normalny rozwój korzeni, tak jak w warunkach kontrolnych. U takich roślin występuje również wyraźnie większe stężenie IAA (kwas indolilo-3-octowy), co sugeruje, że auksyna jest zaangażowana w odpowiedź rośliny na niedobór jonów azotanowych (WALCH-LIU i współaut. 2006). Również egzogenny ABA (kwas abscysynowy) może powodować

zahamowanie rozwoju korzeni bocznych we wczesnej fazie ich tworzenia (MALAMY 2005). Takie reakcje roślin podkreślają, że azot jest makroelementem warunkującym zarówno prawidłowy wzrost, jak i rozwój roślin (DE PESSEMIER i współaut. 2013).

#### STRESZCZENIE

W odpowiedzi na zróżnicowaną dostępność azotu w glebie rośliny wytworzyły mechanizmy zwiększające efektywność pobierania tego pierwiastka, w szczególności szereg systemów transportujących  $\text{NO}_3^-$ . Należą do nich systemy transportowe NPF (daw. NRT1), NRT2, CLC i SLAC1. NPF (symporter) są aktywne, gdy stężenie  $\text{NO}_3^-$  w środowisku zewnętrznym jest większe niż  $0,5 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ , ponadto dzięki niskiej specyficzności mogą transportować inne substraty niż jony azotanowe np. aminokwasy. Białka rodziny NRT2 (symporter) transportują wyłącznie azotany i działają, gdy zewnętrzne stężenia  $\text{NO}_3^-$  wynoszą poniżej  $0,5 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Białka SLAC1 (kanały anionowe) zlokalizowane są w komórkach szparkowych i uczestniczą w usuwaniu jonów chlorkowych i azotanowych podczas zamykania szparek. Rodzina CLC oprócz transportu chloru wykazuje duże powinowactwo do  $\text{NO}_3^-$ . Jednym z przedstawicieli tych białek jest CLCa, który zlokalizowany jest w tonoplaście i bierze udział w transporcie jonów azotanowych do wakuoli w antyporcie z protonami.

Po pobraniu przez komórki korzenia, jony azotanowe podlegają dystrybucji do różnych tkanek i organów rośliny, dzięki aktywności kolejnych transporterów należących do wyżej wymienionych rodzin białek.

Jedną z najbardziej widocznych zmian zachodzących w odpowiedzi na zróżnicowane zasoby azotanów w podłożu jest zmiana architektury korzenia. Wysokie stężenia  $\text{NO}_3^-$  ( $50 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ ) powodują zahamowanie rozgałęziania systemu korzeniowego. W przypadku ograniczenia dostępności azotanów ( $0,01 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ ) następuje stymulacja rozwoju korzeni bocznych w kierunku obszarów gleby o wyższych zawartościach azotanów ( $1,0 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ ). U *A. thaliana* zmiany w architekturze korzeni przebiegają bez znaczących zmian w biomase korzeni, gdyż rozwój korzeni bocznych jest równoważony skracaniem korzeni głównych. Wyczerpywanie zasobów jonów azotanowych jest sygnałem do rozbudowania systemu korzeniowego, podczas gdy wysokie zawartości tego jonu jest odczytywane, jako sygnał do rozwoju pędów.

#### LITERATURA

- ARAKI R., HASEGAWA H., 2006. *Expression of rice (Oryza sativa L.) genes involved in high-affinity nitrate transporting during the period of nitrate induction*. *Breed. Sci.* 56, 295-302.
- ASSMANN S. M., 2006. *Solute transport*. [W:] *Plant Physiology*. TAIZ L., ZEIGER E. (red.). Sinauer Associates, Inc., Sunderland, USA, 95-121.
- AVERINA N. G., BEYZAEI Z., SHCHERBAKOV R. A., USATOV A. V., 2014. *Role of metabolism in the development of salt tolerance in barley plants*. *Rus. J. Plant Physiol.* 61, 97-104.
- BLOOM A. J., 2006. *Mineral nutrition*. [W:] *Plant Physiology*. TAIZ L., ZEIGER E. (red.). Sinauer Associates, Inc., Sunderland, USA, 73-93.
- CHAPMAN N., MILLER T., 2011. *Nitrate transporters and root architecture*. [W:] *Signaling and communication in plants*. BALUŠKA F., VIVANCO J. (red.). Springer-Verlag, Germany, 165-190.

- DANIEL-VEDELE F., KRAPP A., KAISER W. M., 2010. *Cellular biology of nitrogen metabolism and signaling*. [W:] *Plant cell monographs (17)*. ROBINSON D. G. (red.). Germany, 145-172.
- DE PESSEMIER J., CHARDON F., JURANIEC M., DELAPLACE P., HERMANS C., 2013. *Natural variation of the root morphological response to nitrate supply in Arabidopsis thaliana*. *Mech. Develop.* 130, 45-53.
- DECHORGANT J., NGUYEN C. T., ARMENGAUD P., JOSSIER M., DIATLOFF E., FILLEUR S., DANIEL-VEDELE F., 2011. *From the soil to the seeds: the long journey of nitrate in plants*. *J. Exp. Botan.* 62, 1349-1359.
- DREW M. C., 1975. *Comparison of the effects of a localized supply of phosphate, nitrate, ammonium and potassium on the growth seminal root system, and the shoot, in barley*. *New Phytol.* 75, 479-490.
- GRIFFITHS C. A., GAFF D. F., NEALE A. D., 2014. *Drying without senescence in resurrection plants*. *Front. Plant Sci.* 5, 1-18.
- HAWKESFORD H., HORST W., KICHEY T., LAMBERS H., SCHJOERRING J., SKRUMSAGER-MÖLLER I., WHITE P., 2012. *Functions of macronutrients*. [W:] *Marschner's mineral nutrition of higher plants*. MARSCHNER P. (red.). Elsevier, 135-189.
- KANT S., BI Y. M., ROTHSTEIN S. J., 2011. *Understanding plant response to nitrogen limitation for the improvement of crop nitrogen use efficiency*. *J. Exp. Botan.* 62, 1499-1509.
- KRAPP A., DAVID L. C., CHARDIN C., GIRIN T., MARMAGNE A., LEPRINCE A. S., CHAILLOU S., FERRARIO-MERY S., MEYER C., DANIEL-VEDELE F., 2014. *Nitrate transport and signalling in Arabidopsis*. *J. Exp. Botan.* 65, 789-798.
- LÉRAN S., VARALA K., BOYER J. C., CHIURAZZI M., CRAWFORD N., DANIEL-VEDELE F., DAVID L., DICKENSTEIN R., FERNANDEZ E., FORDE B., GASSMANN W., GEIGER D., GOJON A., GONG J. M., HALKIER B. A., HARRIS J. M., HENDERICH R., LIMAMI A. M., RENTSCH D., SEO M., TSAY Y. F., ZHANG M., CORUZZI G., LACOMBE B., 2014. *A unified nomenclature of NITRATE TRANSPORTER1/PEPTIDE TRANSPORTER family members in plants*. *Trends Plant Sci.* 19, 5-9.
- 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* 11, 865-874.
- MALAMY J. E., 2005. *Intrinsic and environmental response pathways that regulate root system architecture*. *Plant Cell Environ.* 28, 67-77.
- MENDEL K., KIRKBY E. A., KOSEGARTEN H., APPEL T., 2001. *Principles of plant nutrition*. Kluwer Academic Publisher, The Netherlands.
- MILLER A. J., CRAMER M. D., 2004. *Root nitrogen acquisition and assimilation*. *Plant Soil* 274, 1-36.
- ORSEL M., CHOPIN F., LELEU O., SMITH S. J., KRAPP A., DANIEL-VEDELE F., MILLER A. J., 2006. *Characterization of a two-component high-affinity nitrate uptake system in Arabidopsis. Physiology and protein-protein interaction*. *Plant Physiol.* 142, 1304-1317.
- RICHARD-MOLARD C., KRAPPA A., BRUN F., NEY B., DANIEL-VEDELE F., CHAILLOU S., 2008. *Plant response to nitrate starvation is determined by N storage capacity matched by nitrate uptake capacity in two Arabidopsis genotypes*. *J. Exp. Botan.* 59, 779-719.
- ROB M., ROELFSEMA G., HEDRICH R., GEIGER D., 2012. *Anion channels: master switches of stress responses*. *Trends Plant Sci.* 17, 221-229.
- SCHLÜTER U., MASCHER M., COLMSEE C., SCHOLZ U., BRÄUTIGAM A., FAHNENSTICH H., SONNEWALD U., 2012. *Maize source leaf adaptation to nitrogen deficiency affects not only nitrogen and carbon metabolism but also control of phosphate homeostasis*. *Plant Physiol.* 160, 1384-1406.
- 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.
- VIDMAR J. J., ZHUO D., SIDDIQI M. Y., SCHJOERRING J. K., TOURAINE B., GLASS A. D. M., 2000. *Regulation of high-affinity nitrate transporter genes and high-affinity nitrate influx by nitrogen pools in roots of barley*. *Plant Physiol.* 123, 307-318.
- WALCH-LIU P., IVANOV I. I., FILLEUR S., GAN Y., REMANS T., FORDE B. G., 2006. *Nitrogen regulation of root branching*. *Ann. Botan.* 97, 875-881.
- WILLIAMS L. E., MILLER A. J., 2001. *Transporters responsible for the uptake and partitioning of nitrogenous solutes*. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 52, 659-88.
- ZHANG H., JENNINGS A., BARLOW P. W., FORDE B. G., 1999. *Dual pathways for regulation of root branching by nitrate*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96, 6529-6534.

**KOSMOS Vol. 65, 3, 411–417, 2016**

## UPTAKE AND TRANSPORT OF NITRATE IONS IN PLANTS AND THEIR EFFECT ON ROOT ARCHITECTURE

MONIKA NAPRZAŁ, ALBERT JANOTA, MICHAŁ SZOPIŃSKI, KRZYSZTOF SITKO, EUGENIUSZ MAŁKOWSKI

University of Silesia in Katowice, Faculty of Biology and Environmental Protection, Department Plant Physiology, Jagiellońska 28, 40-032 Katowice; e-mail: mnaprzal@us.edu.pl, ajanota@us.edu.pl, mszopinski@us.edu.pl, krzysztof.sitko@us.edu.pl, eugeniusz.malkowski@us.edu.pl

## Summary

In response to varied availability of nitrogen in the soil plants developed mechanisms to improve the efficiency of uptake of this element, in particular several  $\text{NO}_3^-$  transport systems. These transport systems belong to the following protein families: NPF (formerly NRT1), NRT2, CLC and SLAC1. NPF (symporters) are active when the  $\text{NO}_3^-$  concentration in the environment is higher than  $0,5 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$  and due to its low specificity for nitrate ions it also may transport other substrates such as e.g. amino acids. NRT2 protein family (symporters) transports nitrates and operates only when the external  $\text{NO}_3^-$  concentrations are below  $0,5 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ . SLAC1 proteins (anion channels) are located in the guard cells and are involved in the efflux of chloride and nitrate ions during the closing of stomata. CLC family apart from transporting  $\text{Cl}^-$  has a high affinity for  $\text{NO}_3^-$ . One of the members of these proteins, CLCa, is located in the tonoplast and is involved in the transport of nitrate ions to the vacuole in antiport with protons.

After uptake by root cells, nitrate ions are distributed to various tissues and organs of the plant due to activity of other transporters belonging to the above-mentioned protein families.

One of the most visible changes in response to the diverse resources of nitrates is a change in the architecture of roots. High concentrations of  $\text{NO}_3^-$  ( $50 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ ) in a substrate cause inhibition of branching of the root system. In the case of limited availability of nitrates ( $0,01 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ ) stimulation of lateral root development occurs towards soil areas with higher  $\text{NO}_3^-$  content ( $1,0 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ ). In *A. thaliana* modifications of roots architecture occur without significant alteration in the biomass of roots, because the development of laterals is balanced by shortening of the main root. The low content of nitrate ions is a signal to expand the root system, while a high content of this ions is the signal to develop shoots.