

Mechanizmy dostosowawcze roślin do warunków niedoboru fosforu*

Edyta Łukaszuk, Iwona Ciereszko

Zakład Fizjologii Roślin, Instytut Biologii, Uniwersytet w Białymstoku,

Świerkowa 20B, 15-950 Białystok

e-mail: edyतालuk@uwb.edu.pl; icier@uwb.edu.pl

Słowa kluczowe: deficyt Pi, adaptacja, fosfor w glebie, pobieranie Pi

Wprowadzenie

Fosfor jest istotnym makroelementem niezbędnym do prawidłowego wzrostu i rozwoju roślin. Jest on składnikiem związków takich jak kwasy nukleinowe, związki wysokoenergetyczne (np. ATP), wchodzi w skład błon komórkowych, jako składnik fosforanów cukrów uczestniczy w procesie fotosyntezy i oddychania, powoduje aktywację lub inhibicję enzymów (poprzez fosforylację) oraz wpływa na ekspresję genów [10, 51, 54]. Stężenie fosforu w roztworze glebowym wynosi, jak donoszą różne źródła, od 1 do 100 μM , natomiast w komórkach korzenia może być nawet od kilkuset do tysiąca razy wyższe [19, 49, 50, 58]. Tak duża różnica stężeń powoduje trudności w pobieraniu fosforu, ponieważ znaczna część transportu fosforu z gleby do korzenia odbywa się na zasadzie dyfuzji. Niski poziom fosforu dostępnego roślinom jest przyczyną obniżenia produktywności zbóż na obszarze ponad 5,7 miliardów hektarów [36, 49]. Niedobór fosforu jest przyczyną znacznego ograniczenia światowej produkcji roślin uprawnych, głównie zbóż, i dotyczy zwłaszcza obszary tropikalne [49]. Badania agrochemiczne gleb w województwie podlaskim i rejonach podgórskich wskazują, że ponad 40% gleb uprawnych i trwałych użytków zielonych jest niezasobna w fosfor z tendencją do zmniejszania jego zawartości [31, 69]. Pomiary dostępności i eksploatacji fosforanów w glebach sugerują znaczny wzrost zużycia nawozów fosforanowych. Konieczne jest znalezienie rozwiązań, pozwalających na utrzymanie produkcji roślin użytkowych, ponieważ obniżenie plonowania roślin w wyniku niedoboru fosforu w szerszej perspektywie może spowodować zmniejsze-

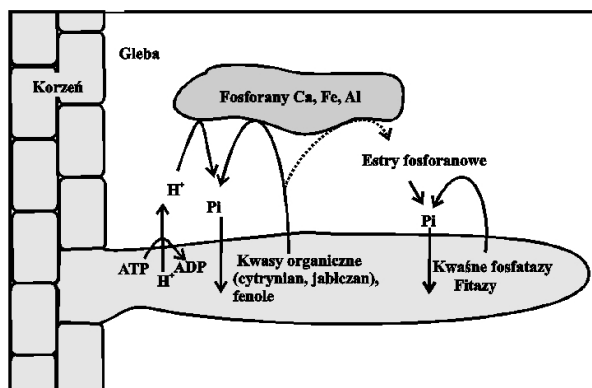
* Praca powstała w trakcie realizacji grantu MNiSW nr N N303 3764 33.

nie produkcji bydła [69]. Istotne jest stworzenie systemu monitoringu niedoboru fosforu, opracowanie zabiegów zwiększających dostępność fosforu dla roślin, poznanie mechanizmów umożliwiających przystosowanie się do warunków deficytu tego pierwiastka oraz efektywniejsze wykorzystanie fosforu z gleby [31]. Nawożenie wprawdzie zwiększa pobieranie fosforu przez rośliny, jednak większość dostarczanych zasobów pozostaje w glebie spływając w jej głębsze warstwy oraz powoduje eutrofizację wód. Ponadto produkcja oraz wykorzystywanie nawozów fosforowych jest procesem kosztownym. Tylko 15–25% fosforu z nawozów wykorzystywane jest przez rośliny, dlatego istotne jest poznanie mechanizmów dostosowawczych pozwalających na efektywniejsze wykorzystanie fosforu zawartego w glebie [30]. Współczesne metody, stosowane zarówno w biologii jak i w rolnictwie, związane z rozwojem biologii molekularnej, umożliwiają odpowiedź na wiele pytań dotyczących mechanizmów pobierania, transportu fosforu nieorganicznego (Pi) i adaptacji i aklimatyzacji roślin do warunków niedoboru fosforu w środowisku.

Pobieranie i transport Pi w roślinie a mechanizmy reakcji na deficyt fosforu

Rośliny pobierają Pi z roztworu glebowego głównie w formie jonów H_2PO_4^- , jak również jonów HPO_4^{2-} [10, 55, 56]. Istotną trudność stanowi ujemny ładunek ściany komórkowej, wytwarzany przez grupy karboksylowe pektyn [58]. Jony fosforanowe odpychane są przez te ładunki w kierunku porów w apoplacie [58]. Strefa merystematyczna korzenia, w której fibrylle są ciasniej upakowane, jest pierwszą przeszkodą w pobieraniu i transporcie Pi w drodze do apoplastu, a dalszy transport jonów w kierunku walca osiowego utrudniony jest przez wysyczone suberyną pasma Caspary'ego [58]. W śródkórni jony wraz z wodą transportowane są przez komórki przepustowe, a w obrębie walca osiowego przepływ jonów odbywa się drogą symplastyczną [49, 56, 58].

Aby pozyskać fosfor związany w kompleksach, np. z wapniem, żelazem czy manganem, rośliny wydzielają związki organiczne do ryzosfery, takie jak cytryniany, jabłczan, szczawian, bursztynian oraz pochodne fenoli [49, 66]. W łubinie rosnącym w warunkach deficytu fosforu zaobserwowano nawet 40-krotne zwiększenie wydzielania cytrynianu i jabłczanu [66]. Ponadto badania transgenicznego tytoniu z nadekspresją bakteryjnego genu syntazy cytrynianowej wykazały, że rośliny te wydzielają znacznie więcej cytrynianu, co poprawiało ogólne warunki ich wzrostu [16]. Zakwaszanie roztworu glebowego sprzyja przechodzeniu fosforanów trudnorozpuszczalnych, pochodzących np. z fosforanów glinu, żelaza, w związki łatwo rozpuszczalne (rys. 1). Rośliny takie jak *Brassica napus*, *Fagopyrum esculentum* i strączkowe, a zwłaszcza łubin, szczególnie efektywnie korzystają z tego mechanizmu [49]. Wiadomo, że rośliny wytwarzające korzenie proteidowe mają szczególne zdolności



Rysunek 1. Mechanizm wydzielania kwasów organicznych i enzymów przez korzenie do ryzosfery [zmodyfikowane wg 66]

do silnego zakwaszania gleby i wydzielania kwasów. Dotychczas niewiele wiadomo, jakie białka biorą udział w ich sekrecji – sugeruje się, że najprawdopodobniej wydzielanie związków organicznych następuje przez kanały anionowe, akwaporyny i przy udziale białek MATE (ang. multidrug extrusion proteins) [66].

Fosfor może być również uwalniany ze związków organicznych. Kwas fitynowy, stanowiący nawet 80% puli fosforu organicznego zawartego w glebie, musi zostać rozłożony enzymatycznie. Grupą enzymów, która przeprowadza ten proces są fosfatazy [18, 75]. Zaobserwowano u roślin wyraźny wzrost ekspresji genów kodujących te enzymy, jak również gwałtowny wzrost ich aktywności w warunkach deficytu fosforu [42, 61]. Proces uruchamiania fosfataz jest charakterystyczną reakcją roślin na deficyt fosforu [61].

Kwaśne wewnątrzkomórkowe fosfatazy, specyficzne substratowo, zaangażowane są w hydrolizę monoestrów fosforu, proces zależny od pH wakuoli [2, 3, 18, 64, 74]. Zewnątrzkomórkowe fosfatazy mają szeroki zakres specyficzności substratowej [18, 49, 75]. Badania przeprowadzone m.in. na *Arabidopsis*, łubinie, tytoniu, pomidorze, fasoli, owsie czy pszenżycie wskazują na syntezę nowych izoform fosfataz zewnątrzkomórkowych [64, 66]. Ponadto rośliny transgeniczne z nadekspresją genów kodujących fosfatazy wykazywały efektywniejsze pobieranie Pi i utrzymywały homeostazę fosforanową na bardziej stabilnym poziomie [75 i literatura tam cytowana]. Do fosfataz niespecyficznych substratowo zalicza się wiele purpurowych kwaśnych fosfataz (PAP – ang. purple acid phosphatase), których zasadnicza rola polega na uwalnianiu fosforu ze związków organicznych [64]. Zaobserwowano wyraźny wzrost aktywności fosfataz sekrecyjnych i związanych z błonami komórkowymi w warunkach niedoboru fosforu [64, 74, 75]. Dodatkowo wykazano, że niektóre PAP mogą hydrolizować fitynę w nasionach, oraz usuwać reaktywne formy tlenu [75]. Do fosfataz wysokospecjalizowanych zalicza się fitazy, których zasadnicza rola polega na hydrolizie kwasu fitynowego i jego soli. Enzymy te występują w nasionach i w pyłku, chociaż niewielką aktywność wykryto również w korzeniach

niektórych roślin [75]. Spełniają one istotną rolę w kiełkowaniu nasion uwalniając nie tylko fosfor, ale również wapń, magnez czy mioinozytol niezbędny do prawidłowego wzrostu i rozwoju roślin [75]. Do fosfataz występujących w środowisku glebowym zalicza się fosfomonoesterazy (w tym fitazy), fosfodiesterazy, fosfortriesterazy, polifosfatazy i P-N hydrolazy [2]. Fosfatazy w glebie występują nie tylko wskutek wydzielania ich przez korzenie roślin. Źródłem tych enzymów są również mikroorganizmy glebowe. Fosfatazy wyizolowano m.in. z *E. coli*, *Neurospora crassa*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*, *Rhizobium* sp. [3, 52]. Aktywność enzymów wydzielanych przez te mikroorganizmy jest szczególnie istotna w warunkach niesprzyjających roślinom, np. podczas suszy [52].

Stężenie jonów fosforanowych w apoplacie jest bardzo niskie, poniżej 2 μM , natomiast w cytozolu wynosi 5–17 mM [58]. Tak duża różnica stężeń wraz z ujemnym ładunkiem ścian komórkowych powoduje, że rośliny musiały wykształcić transportery o wysokiej specyficzności do substratu [61]. Do najlepiej poznanych transporterów fosforanowych zalicza się Pht1 oraz Pht2, które znajdują się w błonach komórkowych [50, 58, 76]. Zbudowane są z 12 domen transmembranowych o dużym obszarze hydrofilowym między domeną 6 i 7. Transportery te umożliwiają symplastyczny transport fosforu, w poprzek korzenia. Związane jest to z transmembranową H^+ -ATP-azą, która przenosi protony na zewnątrz błony komórkowej, a następnie na zasadzie symportu P_i wraz z jonami H^+ przenoszone są do komórki [50, 76]. Transportery Pht1 charakteryzują się wysokim powinowactwem do P_i i ulegają aktywacji podczas deficytu fosforu. Transportery z rodziny Pht2 cechuje niższa specyficzność do P_i .

Po przedostaniu się P_i do symplastu fosfor może zostać włączony do związków organicznych niezbędnych w metabolizmie, w tym zasilić pulę ATP [50, 64]. Niewielka ilość P_i zostaje włączona w biosyntezę fosfolipidów, DNA, RNA i związków strukturalnych. Część fosforu zostaje utracona w wyniku wypływu fosforu z komórki, następuje to jednak tylko w warunkach optymalnego zaopatrzenia rośliny w ten składnik. Część fosforu magazynowana jest w wakuolach, jako rezerwuuar P_i [64]. U roślin rosnących w warunkach niedoboru fosforu następuje remobilizacja brakującego składnika zgromadzonego w wakuolach i związanego w puli organicznej w starszych liściach [28, 50]. Mechanizm gromadzenia i uwalniania fosforu z wakuoli jest wciąż słabo poznany [64].

Dalszy transport P_i odbywa się symplastem do komórek parenchymatycznych ksylemu, do naczyń i tą drogą dalej do pędów oraz liści [50]. Znaczna część fosforu transportowana jest ksylemem, jakkolwiek organiczne związki fosforu takie jak fosforany heksoz, nukleotydy, nośniki energii, np. ATP, transportowane są również floemem.

Przystosowanie morfologiczne roślin do niedoboru fosforu

Niedobór fosforu w środowisku powoduje zaburzenia w prawidłowym wzroście i rozwoju rośliny. Następuje zahamowanie wzrostu pędu, stymulacja wzrostu korzenia, zmniejszenie masy rośliny, zmniejszenie powierzchni liści [14, 22, 33, 54]. Długotrwały niedobór fosforu powoduje ciemnozielone lub fioletowe zabarwienie liści wskutek gromadzenia antocyjanów, dalszą redukcję przyrostu pędu oraz zahamowanie wzrostu korzenia [66]. Fosfor jest pierwiastkiem łatwo reutilizowanym, zatem efekty niedoboru widoczne są zwłaszcza w liściach starszych [33, 54].

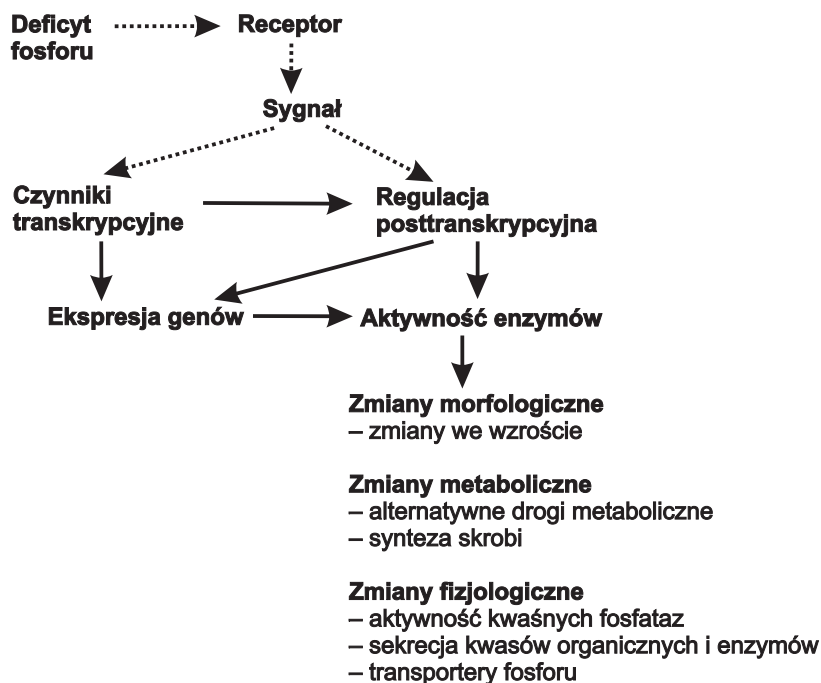
Typowym przystosowaniem roślin do niedoboru fosforu są zmiany morfologii, geometrii i architektury korzenia [13, 24, 32, 50, 53, 68]. Zaobserwowano wyraźne rozgałęzianie się korzenia, zwiększenie ilości włóśników i tworzenie tzw. korzeni proteidowych [5, 24]. Ostatnie badania wykazały, że proteidy korzeniowe mają odmienny metabolizm węgla niż zwykłe korzenie umożliwiające wydzielanie dużej ilości kwasów organicznych (rys. 1) [66]. Sekrecja cytrynianu związana jest ze wzrostem ekspresji i aktywności niektórych enzymów cyklu Krebsa takich jak dehydrogenaza jabłczanowa czy syntaza cytrynianowa [66]. Modyfikacje dotyczą również zmiany stosunku korzeń : pęd – korzeń jest znacznie dłuższy niż u roślin optymalnie zaopatrzonych w ten pierwiastek [14, 22, 33]. System korzeniowy ma wyższy stosunek powierzchni zewnętrznej do objętości. Umożliwia to efektywniejszą penetrację gleby, zwłaszcza warstw powierzchniowych, gdzie znajduje się najwięcej fosforu dostępnego roślinom [24, 32, 66]. Rośliny rosnące w warunkach niedoboru fosforu wytwarzają stosunkowo dużo tkanki powietrznej, najprawdopodobniej ze względu na niższe koszty energetyczne wydłużania korzeni [13].

Grzyby mikoryzowe umożliwiają 3–5-krotnie wyższe pobieranie Pi z gleby [5, 55]. Dotyczy to zwłaszcza symbiozy z grzybami z rodzaju *Glomus*, np. *G. versiforme* (KARST.) BERCH, *G. intraradices* SCHENCK & SM. Mikoryza umożliwia wykorzystanie fosforu zawartego w związkach organicznych gleby niedostępnych samym roślinom [5, 13, 23, 50, 55]. Roślina żyjąca w symbiozie z grzybem może wygrywać w konkurencji o zasoby fosforu z mikroorganizmami glebowymi. Zważywszy na to, że ponad 90% roślin lądowych żyje w symbiozie z grzybami może być to ciekawa ścieżka badań dotyczących poprawy pobierania fosforu, zwłaszcza przez rośliny uprawne [23].

Mikroorganizmy glebowe, zwłaszcza bakterie, uczestniczą w mineralizacji, rozpuszczaniu i usprawnianiu pobierania fosforu przez rośliny [40]. Do bakterii, które w największym stopniu uczestniczą w uwalnianiu związanego w glebie fosforu zalicza się *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Burkholderia*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Micrococcus*, *Aerobacter*, *Flavobacterium* [52]. Zaobserwowano znacznie wyższe skupienie tych bakterii w obszarze ryzosfery niż poza nią. Liczne badania wskazują na korzystny wpływ bakterii na ogólną kondycję m.in. pomidora, cebuli, sałaty, zbóż oraz poprawę ich parametrów wzrostowych [52 i literatura tam cytowana].

Przystosowania metaboliczne roślin do deficytu fosforu w środowisku

Niedobór fosforu powoduje duże zmiany w funkcjonowaniu szlaków metabolicznych rośliny. Rośliny aktywują zastępcze drogi metaboliczne, aby zminimalizować negatywny wpływ niedoboru fosforu. Uruchamiana jest alternatywna droga glikolizy wykorzystująca fosfofruktofosfotransferazę zależną od pirofosforanu zamiast fosfofruktokinazy zależnej od ATP [60, 66]. W wyniku tego szlaku możliwe jest odzyskanie Pi podczas niedoboru fosforu [14]. Innym alternatywnym szlakiem uruchamianym w warunkach niedoboru fosforu jest niefosforylująca, cyjanoodporna droga transportu elektronów podczas oddychania [14, 28, 54]. We wczesnym i umiarkowanym deficycie fosforu nie zaobserwowano obniżenia fotosyntezy. Długotrwały stres powodował ograniczenie tego procesu w wyniku zmian w błonach tylakoidów dotyczących systemów transdukcji energii, zmiany pH w poprzek błony tylakoidów, redukcji aktywności syntazy ATP, inhibicji enzymów związanych z cyklem Calvina



Rysunek 2. Reakcja roślin na czynnik stresowy spowodowany niedoborem fosforu [zmodyfikowane wg 27, 45]. Rośliny odbierają sygnał o deficycie fosforu w środowisku (najprawdopodobniej receptorem jest czapeczka korzenia). Uruchamiane są czynniki transkrypcyjne (np. PHT1) oraz regulatory posttranskrypcyjne (np. mikroRNA), które wpływają na zmianę ekspresji genów i aktywność enzymów. W reakcji na niedobór Pi następują zmiany morfologiczne, fizjologiczne i metaboliczne mające na celu przystosowanie roślin do życia w stresowych warunkach

oraz Rubisco [28, 34, 68]. Podczas deficytu fosforu w środowisku istotną rolę odgrywa fotooddychanie, ponieważ rozkład fosfoglikolanu w tym procesie jest źródłem Pi [28, 39]. W warunkach deficytu fosforu fotooddychanie jest mechanizmem usprawniającym odtwarzanie ortofosforanu nieorganicznego. Zmniejszenie stężenia fosforu w cytoplazmie powoduje remobilizację P z rezerwy wakuolarnej, w celu zasilenia puli cytoplazmatycznej [28, 60]. Niskie stężenie Pi sprzyja również wytwarzaniu skrobi, ponieważ triozofosforany powstałe w cyklu Calvina nie są kierowane do cytozolu, do szlaku syntezy sacharozy, a pozostają w chloroplastach [9, 12, 28]. W warunkach deficytu P zaobserwowano również wzrost zawartości sacharozy, zwłaszcza w korzeniach, co może być związane ze zwiększonym transportem asymilatów z pędu do korzenia, jak również wysoką aktywnością enzymów syntetyzujących sacharozę (syntazy sacharozy, syntazy sacharozo-fosforanowej, pirofosforylazy UDP-glukozy) [9, 12, 28, 29, 38].

Molekularne mechanizmy reakcji roślin na niedobór fosforanów

Współczesne badania dotyczące mechanizmów adaptacji roślin do niedoboru fosforu skupiają się, w znacznej mierze, na poznaniu odpowiedzi roślin na poziomie molekularnym [6, 35, 61, 71]. W tym celu zbadano ponad 30 odmian *Arabidopsis thaliana*, wiele odmian ryżu, fasoli i innych roślin użytkowych [6, 20, 44]. Na podstawie badań wykorzystujących techniki qPCR (ang. **q**uantitative **p**olymerase **c**hain **r**eaction) i mikromacierze DNA zidentyfikowano u *Arabidopsis* całą rodzinę czynników transkrypcyjnych PHR1 (ang. phosphate starvation response), która jest indukowana w warunkach deficytu fosforu i która reguluje ekspresję genów kodujących białka zaangażowane w metabolizm lipidów, transportery fosforanów oraz geny PSI (ang. phosphate starvation induced genes) [35, 53, 56, 71].

Nowo poznany mechanizm związany z reakcją roślin na deficyt fosforu jest uruchomienie puli mikroRNA, miR399, oraz małych interferujących RNA, siRNA [8, 51, 56]. miR399 reguluje ekspresję genów posttranskrypcyjnie łącząc się z sekwencją homologiczną mRNA [8, 37]. miR399 oddziałuje z czynnikiem transkrypcyjnym PHR1 zmniejszając ekspresję genu kodującego koniugazę E2 ubikwitynową (ang. ubiquitin E2 conjugase), powodując w efekcie akumulację fosforu [8, 21, 46, 51, 56]. Koniugaza ubikwitynowa wpływa na zmniejszenie zawartości Pi w pędzie i remobilizację Pi przez mechanizm, który dotąd jest słabo poznany [21]. Sugeruje się również rolę miR399, jako długodystansowej cząsteczki sygnałowej w warunkach deficytu Pi, która (wraz z cukrami) transportowana jest floemem z pędów do korzeni [37, 45, 46]. Najnowsze badania wskazują również na inne miRNA, których ekspresja jest indukowana w warunkach deficytu fosforu, takich jak miR447, miR778, miR827, miR211 [45, 53 i literatura tam cytowana].

W warunkach niedoboru fosforu zaobserwowano indukcję ekspresji wielu genów [6, 35, 42, 61]. Badania z wykorzystaniem mikromacierzy przeprowadzone przez Misson i in. [42] wskazują na zmianę ekspresji wielu spośród przebadanych ponad 22 000 genów *Arabidopsis* po 3 i 4 dniach niedoboru P. Zmiany te w większości dotyczą indukcji ekspresji genów. W warunkach deficytu fosforu zaobserwowano zwiększenie ekspresji 612 genów, a represji uległy 254 geny. Modyfikacje te dotyczyły zwłaszcza liści, w mniejszym stopniu korzeni, i obejmowały geny związane z pobieraniem i transportem Pi, np. geny kodujące transportery rodziny Pht1 [42]. Zaobserwowano również indukcję genów związanych z transporterami siarki i żelaza, co wyjaśnia zwiększony poziom tych pierwiastków u roślin rosnących w warunkach deficytu fosforu [42, 56]. Znaczej indukcji uległy geny związane z purpurowymi kwaśnymi fosfatazami, które odpowiedzialne są za uwalnianie fosforu ze związków organicznych [6, 42, 61, 64]. Zaobserwowano również wyraźne zmiany w ekspresji genów związanych ze szlakiem metabolizmu lipidów – ekspresja około 50% genów związanych z tym szlakiem uległa indukcji po 2 dniach deficytu Pi. Zmianom uległa również ekspresja genów związanych z ogólną reakcją roślin na warunki stresowe, np. ze stresem oksydacyjnym czy genów odporności na patogeny [6, 42, 61]. Zdziwiające jest to, że w niewielkim stopniu zmieniła się ekspresja genów związanych z czynnikami transkrypcyjnymi. Wskazuje to na wysoce specyficzną reakcję roślin na tym poziomie, zarówno w krótkotrwałym jak i długotrwałym deficycie P [42].

Mutanty fosforanowe i rośliny transgeniczne

W ostatnich latach podjęto wiele badań nad stworzeniem i wyborem właściwych metod udoskonalenia roślin pod względem pobierania Pi [5, 27, 63, 70]. Poszukiwane są odmiany roślin, które przystosowały się do wzrostu w warunkach niedoboru fosforu. Wprowadzane są nowe odmiany poprzez tworzenie krzyżówek z roślinami odpornymi na niedobór fosforu. Nasiona lub korzenie roślin inokulowane są propagulami grzybów mikoryzowych lub szczepami bakteryjnymi uczestniczącymi w udostępnianiu fosforu roślinom [5, 10, 11, 25]. Poprzez wprowadzanie nowych genów do roślin tworzone są rośliny transgeniczne, które efektywniej pobierają Pi z gleby. Wbudowane geny odpowiadają za np. zwiększenie systemu korzeniowego, wydzielanie kwasów organicznych lub enzymów hydrolizujących organiczne formy fosforu w glebie [4, 10, 26, 57, 70]. Tworzone są również rośliny transgeniczne, określane jako „smart plants”, dzięki którym możliwe jest szybkie rozpoznanie deficytu Pi w tkankach poprzez wizualizację ekspresji genu *SQD1*, specyficznego dla niedoboru fosforu [26].

Dogodnym narzędziem w poznaniu zmian związanych z deficytem fosforu są mutanty roślin, zwłaszcza *Arabidopsis* [47, 50, 63]. Mutanty związane z deficytem fosforu można podzielić na dwie klasy: mutanty związane z pozyskiwaniem i dystrybucją Pi w roślinie oraz mutanty związane z percepcją i reakcją na czynnik stresowy

[47]. Do pierwszej grupy mutantów należy np. *pho1*, *pho2*, *cue1*, *pht2;1-1* (tab. 1). Do drugiej klasy zaliczyć można np. *pho3*, *pup1*, *phr1*, *lpr1-1*, *lpr1-2* (tab. 1). Modyfikacje genomu tych roślin poprzez włączanie lub wyłączanie określonych genów pozwalają zrozumieć mechanizmy aklimatyzacyjne związane np. z niedoborem pierwiastków. Badania opublikowane w 2007 roku w *Nature Genetics*, przeprowadzone na mutantach *A. thaliana lpr1-1* i *lpr1-2*, wskazują na rolę czapeczki korzenia w odbiorze sygnału o deficycie fosforu i stymulacji wzrostu korzenia (tab. 1) [59]. Zaobserwowano, że tylko w warunkach niedoboru fosforu w środowisku otaczającym korzeń, następowała zmiana architektury korzeni, nawet, jeśli liście były optymalnie zaopatrzone w ten pierwiastek. Sygnał odbierany przez czapeczkę korzenia powodował zmianę ekspresji genów *LPR1* i *LPR2* kodujących oksydazę miedziową MCO (ang. **multicopper oxidase**). Powodowało to zmianę homeostazy hormonalnej (stymulacja syntezy zwłaszcza auksyn i etylenu) i stymulację wydłużania korzeni [59, 66].

Tabela 1. Wybrane mutanty *Arabidopsis thaliana* wykorzystywane w poznaniu wpływu deficytu fosforu na rośliny

Grupa	Mutant	Charakterystyka	Literatura
Mutanty związane z pozyskiwaniem i dystrybucją Pi w roślinie	<i>pho1</i>	<ul style="list-style-type: none"> • fenotyp charakterystyczny dla deficytu fosforu [47, 48] • z obniżoną zawartością Pi w liściach 	
	<i>pho2</i>	<ul style="list-style-type: none"> • 2–4-krotnie wyższy poziom Pi w liściach 	[17, 47]
	<i>pdr2</i>	<ul style="list-style-type: none"> • niezdolny do rozkładu Pi z puli organicznej • wysoki poziom Pi w warunkach deficytu fosforu 	[62]
	<i>pht2</i>	<ul style="list-style-type: none"> • zredukowany poziom Pi • małe rozety • transportery Pi o niskim powinowactwie 	[35]
	<i>siz1-1</i> <i>sos3-1</i> SALK_065397	<ul style="list-style-type: none"> • bardzo wrażliwy na deficyt Pi, objawy widoczne zwłaszcza architekturze i rozwoju korzeni 	[43]
	Mutanty związane z percepcją i odpowiedzią na deficyt Pi	<i>pho3</i>	<ul style="list-style-type: none"> • zmieniona zawartość fosfataz • zredukowany poziom całkowitego Pi w roślinie
<i>pup1</i>		<ul style="list-style-type: none"> • zmieniona zawartość i aktywność fosfataz • niski poziom całkowitego Pi w roślinie 	[65]
<i>phr1</i>		<ul style="list-style-type: none"> • zablokowany specyficzny gen <i>GUS</i> (gen odpowiedzi na deficyt fosforu) 	[35]
<i>lpr1-1</i> , <i>lpr1-2</i>		<ul style="list-style-type: none"> • długi korzeń główny • zablokowany gen oksydazy MCO 	[59]
<i>pht1;1</i> <i>pht1;4</i>		<ul style="list-style-type: none"> • transportery Pi o dużym powinowactwie • zredukowany poziom Pi w pędzie 	[7, 27, 28]
<i>sqd2</i>		<ul style="list-style-type: none"> • zaangażowany w biosyntezę sulfolipidów • zredukowany wzrost w deficycie P 	[72]
SALK_019289.36.20.X SAIL_739_F03.V1		<ul style="list-style-type: none"> • zmieniona aktywność transporterów PHT4;2 	[1, 41]

Podsumowanie

Fosfor jest pierwiastkiem niezbędnym do prawidłowego wzrostu i rozwoju roślin. Zważywszy na niewielką zawartość tego pierwiastka w glebie oraz niską przyswajalność przez rośliny, wydaje się, że niezbędne jest poznanie mechanizmów aklimatyzacji roślin do niedoboru fosforu w glebie i zwiększenia efektywności pobierania Pi. Współczesne metody fizjologii, biochemii, a zwłaszcza biologii molekularnej pozwalają na wyjaśnienie niektórych zagadnień związanych z pobieraniem, transportem i metabolizmem Pi w roślinie. Rośliny przystosowały się do niedoboru fosforu przez wydłużenie korzeni, wytworzenie korzeni proteidowych, mikoryzę, wydzielanie kwasów organicznych przez korzenie. W warunkach niedoboru fosforu uruchomiane są alternatywne drogi metaboliczne mające na celu regenerację Pi, zostaje uwolniona pula wakuolarna Pi, następuje aktywacja fosfataz i transporterów Pi. Pomimo poznania niektórych mechanizmów związanych z pobieraniem, transportem i wykorzystywaniem Pi w szlakach metabolicznych, ciągle pozostaje wiele niewiadomych związanych z metabolizmem tego pierwiastka. Nieocenionym narzędziem poznania procesów związanych z adaptacjami do deficytu fosforu jest wykorzystanie mutantów.

Literatura

- [1] Alonso J.M., Stepanova A.N., Leisse T.J., Kim C.J., Chen H., Shinn P., Stevenson D.K., Zimmerman J., Barajas P., Cheuk R., Gadrinab C., Heller C., Jeske A., Koesema E., Meyers C.C., Parker H., Prednis L., Ansari Y., Choy N., Deen H., Geralt M., Hazari N., Hom E., Karnes M., Mulholland C., Ndubaku R., Schmidt I., Guzman P., Aguilar-Henonin L., Schmid M., Weigel D., Carter D.E., Marchand T., Risseuw E., Brogden D., Zeko A., Crosby W.L., Berry C., Zecker J.R. 2003. Genome – wide insertional mutagenesis of *Arabidopsis thaliana*. *Science* 301(5633): 653–657.
- [2] Bielińska E. 2005. Oznaczanie aktywności fosfataz. *Acta Agrophysica* 3: 63–74.
- [3] Bielińska E., Mocek-Płóćiniak A. 2009. Fosfatazy w środowisku glebowym. Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu: 1–40.
- [4] Brinch-Pedersen H., Sørensen L.D., Holm P.B. 2002. Engineering crop plants: getting a handle on phosphate. *Trends Plant Sci.* 7: 118–126.
- [5] Bucher M. 2007. Functional biology of plant phosphate uptake at root and mycorrhiza interfaces. *New Phytologist* 173: 11–26.
- [6] Calderon-Vazquez C., Ibarra-Laclette E., Caballero-Perez J., Herrera-Estrella L. 2008. Transcript profiling of *Zea mays* roots reveals gene responses to phosphate deficiency at the plant- and species-specific levels. *J. Exp. Bot.* 59(9): 2479–2497.
- [7] Catarecha P., Segura M., Franco-Zorrilla J.M., García-Ponce B., Lanza M., Solano R., Paz-Ares J., Leyva A. 2007. A mutant of the *Arabidopsis* phosphate transporter PHT1;1 displays enhanced arsenic accumulation. *Plant Cell* 19:1123–1133.
- [8] Chiou T.J. 2007. The role of microRNAs in sensing nutrient stress. *Plant Cell Environ.* 30: 323–332.
- [9] Cierieszko I. 2006. Kontrola metabolizmu sacharozy u roślin w odpowiedzi na zmienne warunki środowiska. *Kosmos* 55: 229–241.
- [10] Cierieszko I. 2005. Czy można usprawnić pobieranie fosforanów przez rośliny? *Kosmos* 269: 391–400.
- [11] Cierieszko I. 2003. Molekularne podstawy odpowiedzi roślin na niedobór fosforu. *Post. Biol. Kom.* 30: 647–665.
- [12] Cierieszko I. 2000. Wzrost i metabolizm roślin w warunkach deficytu fosforu. *Kosmos* 49: 179–189.

- [13] Ciereszko I., Kozłowska-Szerenos B., Leśniewska J., Siegień I. 2008. Dostosowania roślin do niekorzystnych warunków środowiska. W: Różnorodność badań botanicznych – 50 lat działalności Białostockiego Oddziału Polskiego Towarzystwa Botanicznego 1958–2008 (red. K. Kolanko): 147–167.
- [14] Ciereszko I., Rychter A.M. 1995. Zmiany metaboliczne w korzeniach wywołane deficytem fosforu. *Wiad. Bot.* 39: 81–90.
- [15] Cordell D., Drangert J.O., White S. 2009. The story of phosphorus: global food security and food for thought. *Global Environ. Change* 19: 292–305.
- [16] de la Fuente J.M., Ramirez-Rodriguez V., Cabrera-Ponce J.L., Herrera-Estrella L. 1997. Aluminium tolerance in transgenic plants by alteration of citrate synthesis. *Science* 276: 1566–1568.
- [17] Delhaize D., Randall P.J. 1995. Characterization of a phosphate – accumulator mutant of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol.* 107: 207–213.
- [18] Duff S.M.G., Sarath G., Plaxton W.C. 1994. The role of acid phosphatases in plant phosphorus metabolism. *Physiol. Plant.* 90: 791–800.
- [19] Fang Z., Shao C., Meng Y., Wu P., Chen M. 2009. Phosphate signaling in *Arabidopsis* and *Oryza sativa*. *Plant Sci.* 176:170–180.
- [20] Franco-Zorrilla J.M., González E., Bustos R., Linhares F., Leyva A., Paz-Ares J. 2004. The transcriptional control of plant responses to phosphate limitation. *J. Exp. Bot.* 55: 285–293.
- [21] Franco-Zorrilla J.M., Valli A., Todesco M., Mateos I., Puga M.I., Rubio-Samoza I., Leyva A. 2007. Target mimicry provides a new mechanism for regulation of microRNA activity. *Nat. Genet.* 39: 1033–1037.
- [22] Gahoonia T.S., Nielsen N.E. 2004. Barley genotypes with long root hairs sustain high grain yields in low-P field. *Plant Soil* 262: 55–62.
- [23] Gluszek S., Sas-Paszt L., Sumorok B., Derkowska Ż. 2008. Wpływ mikoryzy na wzrost i plonowanie roślin ogrodniczych. *Post. Nauk Rol.* 6: 11–22
- [24] Gregory P. 2006. Plant roots. Growth, activity and interaction with soils. Blackwell Publishing LTD, Oxford, UK: 1–318.
- [25] Grotz N., Guerinet M.L. 2002. Limiting nutrients: an old problem with new solutions? *Curr. Opin. Plant Biol.* 5: 158–163.
- [26] Hammond J.P., Bennett M.J., Bowen H.C., Broadley M.R., Eastwood D.C., May S.T., Rahn C., Swarup R., Woolaway K.E., White P.J. 2003. Changes in gene expression in *Arabidopsis* shoots during phosphate starvation and the potential for developing smart plants. *Plant Physiol.* 132: 578–596.
- [27] Hammond J.P., Broadley M.R., White P.J. 2004. Genetic responses to phosphorus deficiency. *Ann. Bot.* 94: 323–332.
- [28] Hammond J.P., White P.J. 2008. Sucrose transport in the phloem: integrating root responses to phosphorus starvation. *J. Exp. Bot.* 59: 93–109.
- [29] Hermans C., Hammond J.P., White P.J., Verbruggen N. 2006. How do plants respond to nutrient shortage by biomass allocation? *Trends Plant Sci.* 11: 610–617.
- [30] Ibrahim S.S., El-Midany A.A., Boulos T.R. 2010. Effect of intensive mechanical stresses on phosphate chemistry as a way to increase its solubility for fertilizer application. *Physicochem. Probl. Miner. Process* 44: 79–92.
- [31] Kacorzyk P., Kasperczyk M. 2006. Ocena nawożenia naturalnego na łące w rejonie podgórskim. Część II. Zawartość składników mineralnych. *Acta Agrar. Silvestria* 48: 33–40.
- [32] Karthikeyan A.S., Varadarajan D.K., Jain A., Held M.A., Carpita N.C., Raghothama K.G. 2007. Phosphate starvation responses are mediated by sugar signaling in *Arabidopsis*. *Planta* 225: 907–918.
- [33] Kochian L.V., Hoekenga O.A., Pineros M.A. 2004. How do crop plants tolerate acid soils? Mechanisms of aluminium tolerance and phosphorus efficiency. *Annu. Rev. Plant Biol.* 55: 459–493.
- [34] Kondracka A., Rychter A.M. 1997. The role of P; recycling processes during photosynthesis in phosphate – deficient bean plants. *J. Exp. Bot.* 48(312): 1461–1468.
- [35] Lin W.Y., Lin S.Y., Chiou T.J. 2009. Molecular regulators of phosphate homeostasis in plants. *J. Exp. Bot.* 60(5): 1427–1438.
- [36] Lityński T., Jurkowska H. 1982. Żyzność gleb i odżywianie się roślin. PWN, Warszawa: 1–642.
- [37] Liu J.Q., Allan D.L., Vance C.P. 2010. Systemic signaling and local sensing of phosphate in common bean: cross-talk between photosynthate and micro RNA399. *Mol. Plant* 3(2): 428–437.
- [38] Łukaszuk E., Ciereszko I. 2010. Roślinna pirofosforylaza UDP-glukozy – enzym niedoceniany. *Post. Biol. Kom.* 37(2): 279–295.
- [39] Maleszewski S., Kozłowska B. 1995. Czy fotooddychanie jest marnotrawnym procesem? *Kosmos* 44: 653–668.

- [40] Marschner P., Rengel Z., Crowley D. 2005. Role of rhizosphere microorganisms in iron and phosphorus uptake by plants. W: *Plant Nutrition for Food Security, Human Health and Environmental Protection*, Li C.J., Zhang F.S., Dobermann A., Hinsinger P., Lambers H., Li X.L., Marschner P., Maene L., McGrath S., Oenema O., Peng S.B., Rengel Z., Shen Q.R., Welch R., von Wiren N., Yan X.L., Zhu Y.G. (red.), Tsinghua University Press, Beijing: 52–53.
- [41] McElver J., Tzafirir I., Aux G., Rogers R., Ashby C., Smith K., Thomas C., Schetter A., Zhou Q., Cushman M.A., Tossberg J., Nickle T., Levin J.Z., Law M., Meinke D., Patton D. 2001. Insertional mutagenesis of genes required for seed development in *Arabidopsis thaliana*. *Genetics* 159(4):1751–1763.
- [42] Misson J., Raghothama K.G., Jain A., Jouhet J., Block M.A., Bligny R., Ortet P., Creff A., Somerville S., Rolland N., Doumas P., Nacry P., Herrerra-Estrella L., Nussaume L., Thibaud M.C. 2005. A genome – wide transcriptional analysis using *Arabidopsis thaliana* Affymatrix gene chips determined planta responses to phosphate deprivation. *PNAS* 102: 11934–11939.
- [43] Miura K., Rus A., Sharkhuu A., Yokoi S., Karthikeyan A.S., Raghothama K.G., Baek D., Koo Y.D., Jin J.B., Bressan R.A., Yun D.J., Hasegawa P.M. 2005. The *Arabidopsis* SUMO E3 ligase SIZ1 controls phosphate deficiency responses. *PNAS* 102(21): 7760–7765.
- [44] Narrang R.A., Bruene A., Altmann T. 2000. Analysis of phosphate acquisition efficiency in different *Arabidopsis* accessions. *Plant Physiol.* 124: 1786–1799.
- [45] Nilsson L., Muller R., Nielsen T.H. 2010. Dissecting the plant transcriptome and the regulatory responses to phosphate deprivation. *Physiol. Plantarum* 139(2): 129–143.
- [46] Pant B.D., Buhtz A., Kehr J., Scheible W.R. 2008. MicroRNA 399 is a long – distance signal for the regulation of plant phosphate homeostasis. *Plant J.* 53: 731–738.
- [47] Poirier Y., Bucher M. 2002. Phosphate transport and homeostasis in *Arabidopsis*. W: *The Arabidopsis Book*. Am. Soc. Plant Biol.: 1–35.
- [48] Poirier Y., Thoma S., Somerville C., Schiefelbein J. 1991. A mutant of *Arabidopsis* deficient in xylem loading of phosphate. *Plant Physiol* 97: 1087–1093.
- [49] Raghothama K.G., Karthikeyan A.S. 2005. Phosphate acquisition. *Plant Soil* 274: 37–49.
- [50] Rausch C., Bucher M. 2002. Molecular mechanisms of phosphate transport in plants. *Planta* 216: 23–37.
- [51] Richardson A.E. 2009. Regulating the phosphorus nutrition of plants: molecular biology meeting agronomic needs. *Plant Soil* 322: 17–24.
- [52] Rodríguez H., Fraga R. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnol. Adv.* 17: 319–339.
- [53] Rouached H.R., Bulak Arpat A., Poirier Y. 2010. Regulation of phosphate starvation responses in plants: signaling players and cross-talks. *Mol. Plant* 3(2): 288–299.
- [54] Rychter A.M., Rao I.M. 2005. Role of phosphorus in photosynthetic carbon metabolism. W: *Handbook of Photosynthesis*, Pessaraki M. (red.), 2nd edition, Marcel Dekker, Inc., New York: 123–148.
- [55] Schachtman D.P., Reid R.J., Ayling S.M. 1998. Phosphorus uptake by plants: from soil to cell. *Plant Physiol.* 116: 447–453.
- [56] Schachtman D.P., Shin R. 2006. Nutrient sensing and signaling: NPKS. *Ann. Rev. Plant Biol.* 58: 47–69.
- [57] Shenoy V.V., Kalagudi G.M. 2005. Enhancing plant phosphorus use efficiency for sustainable cropping. *Biotechnol. Adv.* 23: 501–513.
- [58] Smith F.W., Mudge S.R., Rae A.L., Glassop D. 2003. Phosphate transport in plants. *Plant Soil* 248: 71–83.
- [59] Svistoonoff S., Cref A., Reymond M., Sigoillot-Claude C., Ricaud L., Blanchet A., Nussaume L., Desnos T. 2007. Root tip contact with low-phosphate media reprograms plant root architecture. *Nat. Genet.* 39(6): 792–796.
- [60] Theodoru M.E., Plaxton W.C. 1993. Metabolic adaptations of plant respiration to nutritional phosphate deprivation. *Plant Physiol.* 101: 339–344.
- [61] Tian J., Venkatachalam P., Liao H., Yan X., Raghothama K. 2007. Molecular cloning and characterization of phosphorus starvation responsive genes in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Planta* 227: 151–165.
- [62] Ticconi C.A., Delatorre C.A., Lahner B., Salt D.E., Abel S. 2004. *Arabidopsis* *pdv2* reveals a phosphates-ensitive checkpoint in root development. *Plant J.* 37: 801–814.
- [63] Tomscha J.L., Trull M.C., Deikman, J., Lynch, J.P., Guiltinan, M.J. 2004. Phosphatase under-producer mutants have altered phosphorus relations. *Plant Physiol.* 135: 334–345.
- [64] Tran H.T., Hurlley B.A., Plaxton W.C. 2010. Feeding hungry plants: the role of purple acid phosphatases in phosphate nutrition. *Plant Sci.* 179(1–2): 14–27.

- [65] Trull M.C., Deikman J. 1998. An *Arabidopsis* mutant missing one acid phosphatase isoform. *Planta* 206: 544–550.
- [66] Vance C.P., Uhde-Stone C., Allan D.L. 2003. Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. *New Phytologist* 157: 423–447.
- [67] Wasaki J., Yonetani R., Kuroda S., Shinano T., Yazaki J., Fujii F., Shimbo K., Yamamoto K., Sakata K., Sasaki T., Kishimoto N., Kikuchi S., Yamagishi M., Osaki M. 2003. Transcriptomic analysis of metabolic changes by phosphorus stress in rice plant roots. *Plant Cell Environ.* 26: 1515–1523.
- [68] Wissuwa M., Gamat G., Ismail A.M. 2005. Is root growth under phosphorus deficiency affected by source or sink limitations? *J. Exp. Bot.* 56: 1943–1950.
- [69] Wyniki badań agrochemicznych gleb w województwie podlaskim w latach 2006–2009 oraz realizacja zadań w 2009 r. Raport Wojewódzkiej Stacji Chemiczno-Rolniczej w Białymstoku: 1–32.
- [70] Xiao K., Katagi H., Harrison M., Wang Z.Y. 2006. Improved phosphorus acquisition and biomass production in *Arabidopsis* by transgenic expression of a purple acid phosphatase gene from *M. truncatula*. *Plant Sci.* 170: 191–202.
- [71] Yang X.J., Finnegan P.M. 2010. Regulation of phosphate starvation responses in higher plants. *Ann. Bot.* 105(4): 513–526.
- [72] Yu B., Xu C., Benning C. 2002. *Arabidopsis* disrupted in SQD2 encoding sulfolipid synthase is impaired in phosphate-limited growth. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99: 5732–5737.
- [73] Zakhleniuk O.V., Raines C.A., Lloyd J.C. 2001. *Pho3*: a phosphorus – deficient mutant of *Arabidopsis thaliana* (L.) HEYNH. *Planta* 212: 529–534.
- [74] Żebrowska E., Antoniuk A., Ciereszko I. 2008. Aktywność kwaśnych fosfataz i wzrost dwóch odmian pszenżyta w warunkach niedoboru fosforu. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 524: 273–279.
- [75] Żebrowska E., Ciereszko I. 2009. Udział kwaśnych fosfataz w gospodarce fosforanowej komórek roślinnych. *Post. Biol. Kom.* 36: 1–17.
- [76] Żebrowska E., Ciereszko I. 2007. Pobieranie i transport fosforanów w komórkach roślin. *Post. Biol. Kom.* 34: 283–298.

Mechanisms of plant's adjustment to phosphorus deficiency

Key words: Pi deficit, adjustment, phosphate in soil, Pi absorption

Summary

Phosphorus is an essential plant macronutrient. It is a component of nucleic acids, energy donors, phospholipids. Deficit of this nutrient is the cause of low productivity of plants. As agrochemical research show, the total phosphate concentration in soil is low and is still decreasing. Moreover, the whole phosphate in soil is not available to plants. The forms of phosphate, which are preferred by plants are H_2PO_4^- and HPO_4^{2-} . It is important to understand the mechanisms, which are connected with phosphorus collection and transport. Plants have developed a range of regulatory mechanisms to increase phosphate acquisition from soil. During phosphate starvation roots are long and proteoid roots are formed. Plants also exude a wide variety of organic compounds including organic acids, enzymes (phosphatases, phytases) and activate transporters of Pi (especially Pht1). Recent studies demonstrate the novel mechanism of adjustment to phosphate starvation, which involve microRNA, especially miR399. Moreover

reduced concentration of Pi in cytoplasm release vacuolar pool of phosphate. Also alternative metabolic processes are activated. Under P-starvation plants accumulate sugars and starch. Specific genes are repressed or activated e.g. genes which encode acid phosphatases, Pi transporters, transcription factors, nucleases and genes of general response to stress factors. This review looks at plant's adjustment processes to phosphate limiting conditions.