

NÖVÉNYGENETIKA

Az Agrármérnöki MSc szak tananyagfejlesztése
TÁMOP-4.1.2-08/1/A-2009-0010



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

A NITROGÉN TÁPLÁLKOZÁS GENETIKAI ALAPJAI

előadás áttekintése

A növények N-ellátása és a mezőgazdasági termelés fenntarthatósága közötti összefüggés

A növények nitrogén forrásai és felvételének szabályozása

A kis- és nagy affinitású NO_3^- transzportereket kódoló géncsaládok

NH_4^+ - transzporterek és génjeik jellemzése

A nitrogén **hiánya:**

termés mennyiség- és
minőségromlás

de: sörárpa

A nitrogén **többlete:**

környezetszennyezés

(gyártása és felhasználása során)

→ költségnövekedés

→ élelmiszerbiztonsági kérdés

(friss fogyasztásra kerülő, zöld növényi részek
NO₃⁻ tartalma!)

A növények N-igénye

fajonként jelentős eltérés

- nem termesztett növényfajok
- termesztett fajok /szelekciós környezet!
nagy termőképességű fajták

az **egyedfejlődés** során is jelentősen változik

- vegetatív fázis: magas N-igény
- reprodukzív fázis (remobilizáció)

A növényi N-táplálkozás genetikai szabályozásának megismerése

- a mezőgazdasági termelés fenntarthatósága,
- a termék mennyisége és minősége,
- élelmiszerbiztonsági kérdések miatt

nagy jelentőségű

A növények nitrogén forrásai

A szervesetlen nitrogén mind **anion** (NO_3^-),
mind **kation** (NH_4^+) formában rendelkezésre áll

Mérsékelt éghajlaton, jó szerkezetű talajokban

a **N főként NO_3^- formában** található:

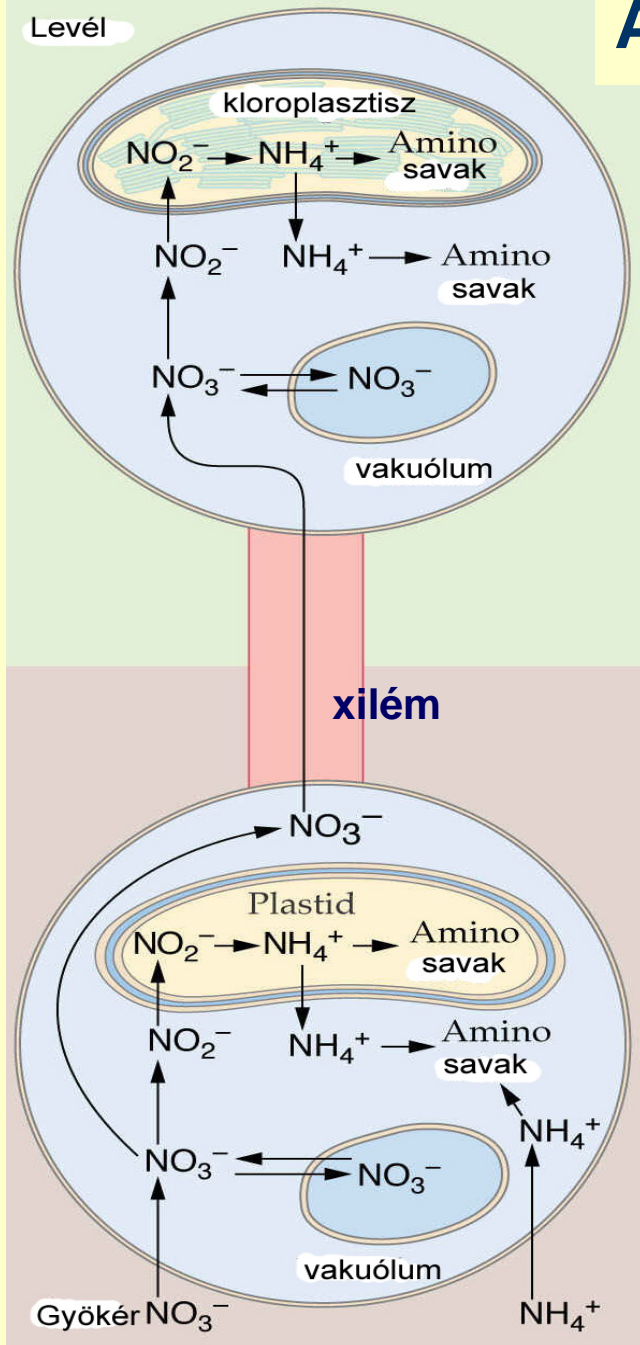
a gyors nitrifikáció miatt az NH_4^+ koncentrációja igen alacsony.

Savanyú, vagy vízzel borított területeken azonban az
ammónium a meghatározó N-forma

Egyéb nitrogénforrások :

- molekuláris nitrogén (N_2) - szimbióta baktériumok
- szerves N (aminosavak, amidok, urea)

A nitrát és az ammónium transzportja



A **nitrátnak** különböző membránokon kell áthaladnia, **energiaigényes** folyamat.

A vakuólumban a **NO_3^-** akkumulációja magas koncentrációt (40-70 mM) érhet el \rightarrow N-homeosztázis!

ozmotikum, jelátviteli szerep....

Az ammónium származhat:

helyben keletkezik

- primér NH_4^+ felvételtől
- a nitrát redukciójából,
- foto-respirációból,
- a proteinek lebomlásából,
- transzaminációs folyamatokból

Az ammónium

energiaigényes redukciós lépések nélkül

beépülhet az aminosavakba

A nitrát redukció lépései:



(NR: nitrát reduktáz; NiR: nitrit reduktáz)

A legtöbb növényfaj a NO_3^- -ot preferálja, mint N-forrást.

Ellentmondás ?

Adaptáció:

a N főként a szerves N mineralizációjából ered
→ NO_3^- formában található a legtöbb aerob talajban.

Az NH_4^+ magas koncentrációban
toxikus lehet a sejtekre.

**Az ionok felvételének és transzportjának
specifitása és affinitása
transzkripciós és
poszt-transzkripciós
szinten szabályozott.**

A nitrát felvételének szabályozása:

két független rendszer

HATS (high-affinity transportes system)

LATS (low-affinity transportes system)

ha a környezet N szolgáltató képessége kicsi,

$$[\text{NO}_3^-]_{\text{ext}} < 1 \text{ mM}$$

a nagy affinitású transzporterek aktiválódnak

HATS csoporton belül két típus létezik

- a konstitutív (cHATS)

 - először lép működésbe,

 - lassú ütemű NO_3^- felvételt biztosít

- az indukálható (iHATS)

 - gyorsabb felvételt biztosít

ha a környezet N szolgáltató képessége jó,

$$[\text{NO}_3^-]_{\text{ext}} > 500 \mu\text{M}$$

a LATS (kis affinitású transzporter)

rendszer működik

A növény N-igénye és a N-felvétel közötti összhang megteremtésében szerepet játszik:

- a redukált N-formák (NH_4^+ , aminosavak)
- a nitrát felhalmozódása a szövetekben

Egyéb tényezők:

- napi ciklus és a fény intenzitása,
 - hormonok (pl. citokininek)
- is befolyásolják a NO_3^- felvételét.

- az ammónium, v. a **glutamin** felhalmozódása a transzkripció csillapítását, **gátlás**át eredményezi.

A **NO₃⁻ transzporter** rendszerhez tartozó proteineket két géncsalád kódolja:

- kis affinitású (*NRT1*)
- nagy affinitású (*NRT2*)

A két transzporter család szerkezetében vannak hasonlóságok, de aminosav szinten nincs homológia

Az *NRT1* nitrát transzporter géncsalád tagjai

AtNRT1.1 590 aminosavból álló proteint kódol
(feltehetően 12 domén)

NRT1 gének	Szabályozás ^a	Azonosság ^b
<i>AtNRT1.1</i>	indukálható	100 %
<i>AtNRT1.2</i>	konstitutív	36 %
<i>AtNRT1.3</i>	konstitutív	49 %
<i>AtNRT1.4</i>	konstitutív	54 %
<i>BnNRT1.2</i>	indukálható	91 %

a = nitrátra adott reakció

b = az *AtNRT1.1*-hez viszonyítva, aminosav szinten

Bn = *Brassica napus*

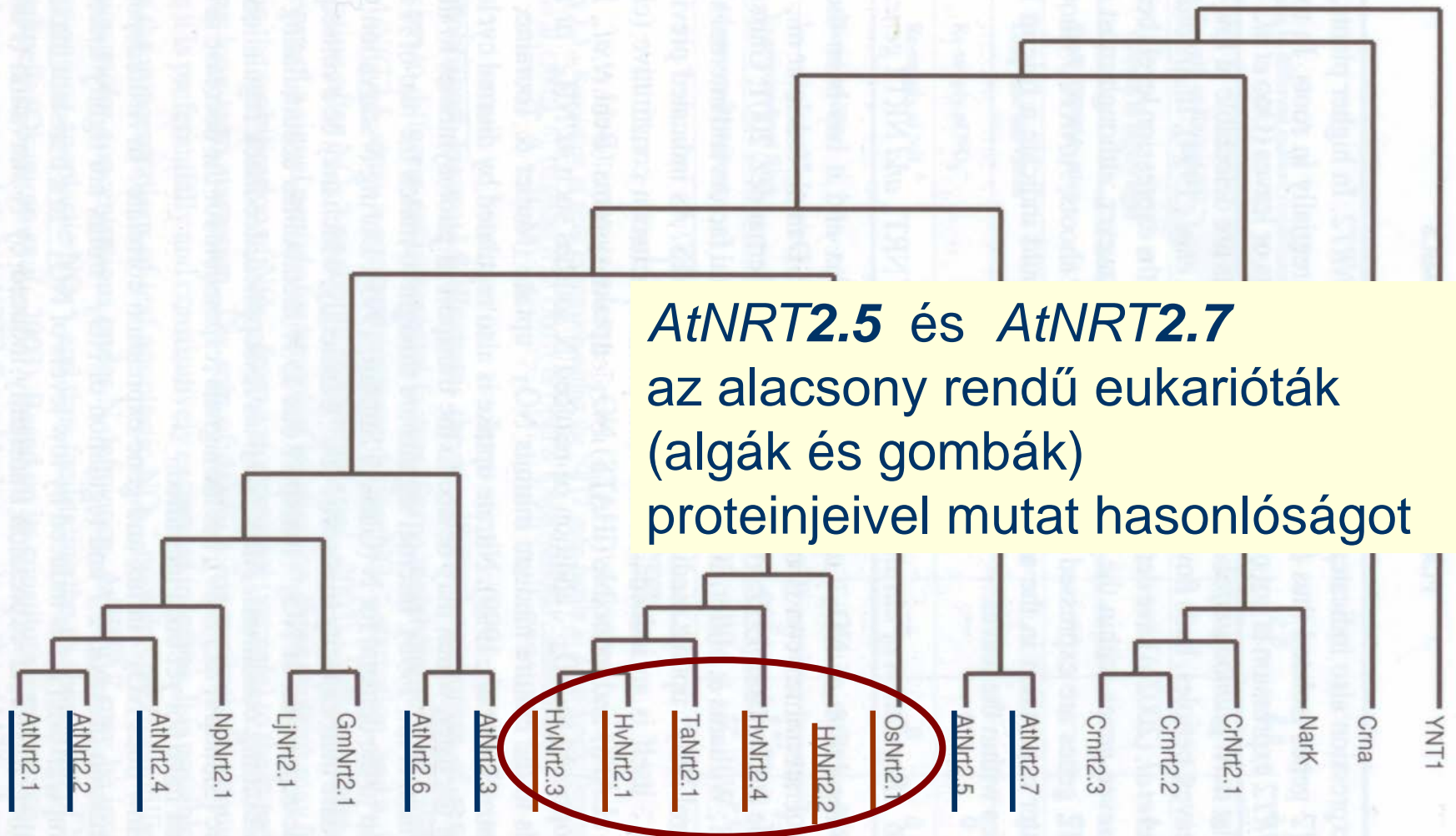
***NRT2* géncsalád:**

A magasabb rendű növényekben NRT2 gént először Trueman et al. (1996) azonosította árpában

A magasabb rendű növényekben az *NRT2* gének főként a gyökerekben aktívak.

NRT2 családba **hét** gén tartozik

NRT2 géncsalád



AtNRT2.1 gén indukálása:

- alacsony $[\text{NO}_3^-]_{\text{ext}}$ koncentráció,
- a növényben jelentkező N-hiány
- cukrok (szacharóz: C-forrás)

AtNRT2 gének mind pozitív, mind negatív visszacsatolással szabályozottak.

Az *Arabidopsis* NRT2 géncsalád expressziójának szabályozása

Környezeti hatások	<i>NRT</i> gének					
	2.1	2.2	2.4	2.5	2.6	2.7
Korlátozott NO ₃ ⁻ tartalmú táptalajon növekedve	+	++	+	++	0	0
Rövid idejű N-éhezés	+++	++	++	++	-	0
Hosszú idejű N-éhezés	0	0	++	++	-	0
NO ₃ ⁻ adagolás után	+++	++	-	--	++	0
NH ₄ ⁺ adagolás után	0	0	-	--	0	0
Szövet specifikusság	Gy	Gy	Gy/H	Gy	Gy/H	Gy/H
Expressziós szint gyökérben	++++++	+	++	+	++	++
Expressziós szint hajtásban			+		++	+++

(+ : indukálva, - : represszáva, 0 : változatlan)

Az ammónium felvétele

Felvétele:

$[\text{NH}_4^+]_{\text{ext}} < 1\text{mM}$ nagy affinitású (HATS)
transzporterrel

$[\text{NH}_4^+]_{\text{ext}} > 1\text{mM}$ kis affinitású (LATS)
transzporterrel

NH_4^+ - transzporterek génjeinek felfedezése:

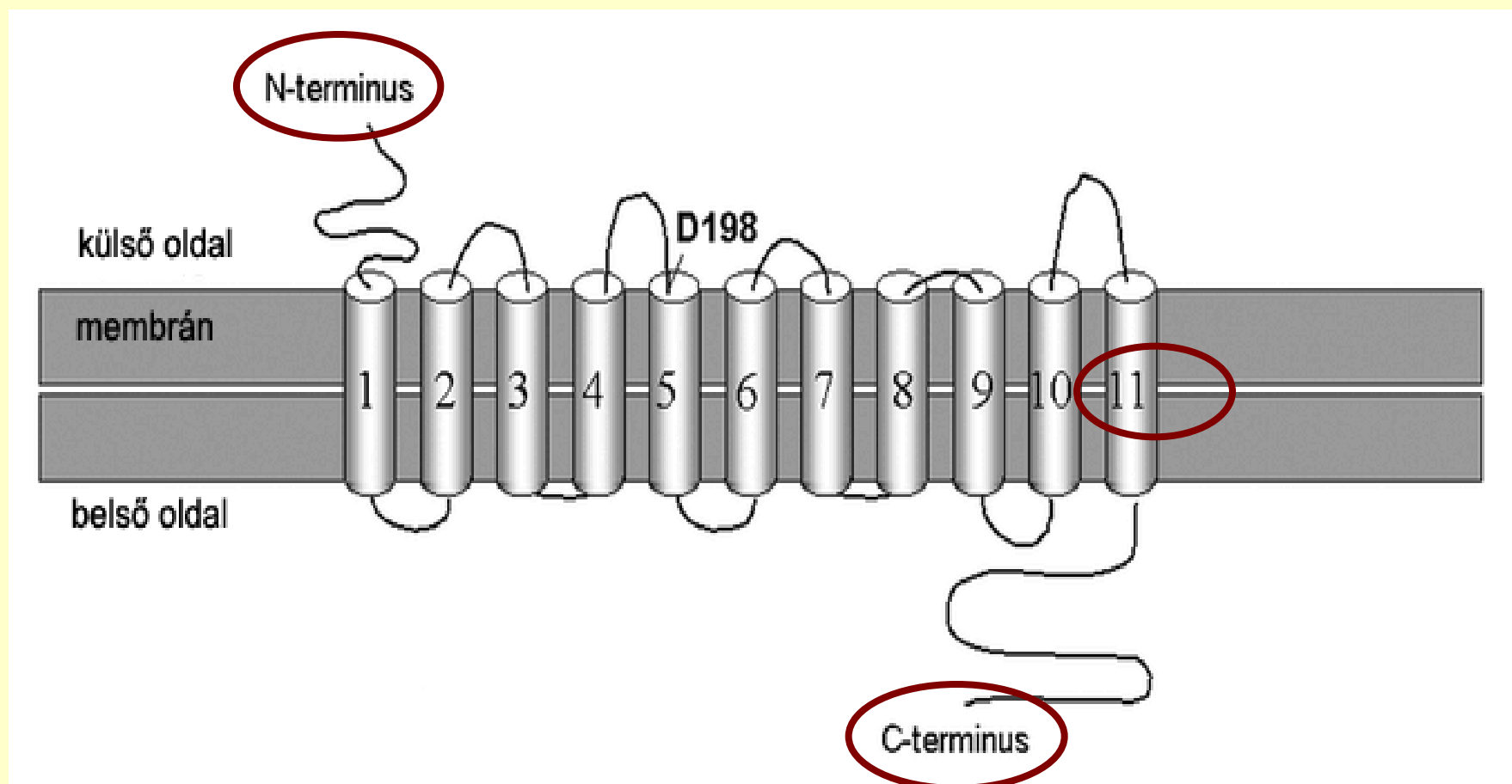
Metilammóniumra (NH_4^+ toxikus homológja) rezisztens mutánsok izolálása vezetett az első NH_4^+ transzporter génjének felfedezéséhez.

Az *Arabidopsis* genom megszekvenálása

AtAMT1 géncsalád **öt homológ** tagból, valamint egy távolabbi „rokon” *AtAMT2* génből áll.

Az ***AtAMT2*** 500 aminosavból álló, hidrofób fehérjét kódol a baktériumoktól a gombákon és növényeken keresztül az állatokig ***minden fajban megtalálható***

Az *AtAMT1.1* ammónium transzporter modellje (Thomas *et al.*, 2000.) a D-198-nál található aszparagin az NH_4^+ kötés feltételezhető helye



A géncsalád tagjainak funkcionális különbségét mutatja

- *AtAMT1;1* kifejeződést a N-hiány szabályozza,
- *AtAMT1;2* és *AtAMT1;3* mRNS szintje
alig változott N-hiányos növényekben
(„belső” ammónium transzport)

Az NH_4^+ felvételét maga az NH_4^+ ion befolyásolja

- a transzporterek szintézisének gátlásával,
- a transzporter aktivitásának csökkentésével

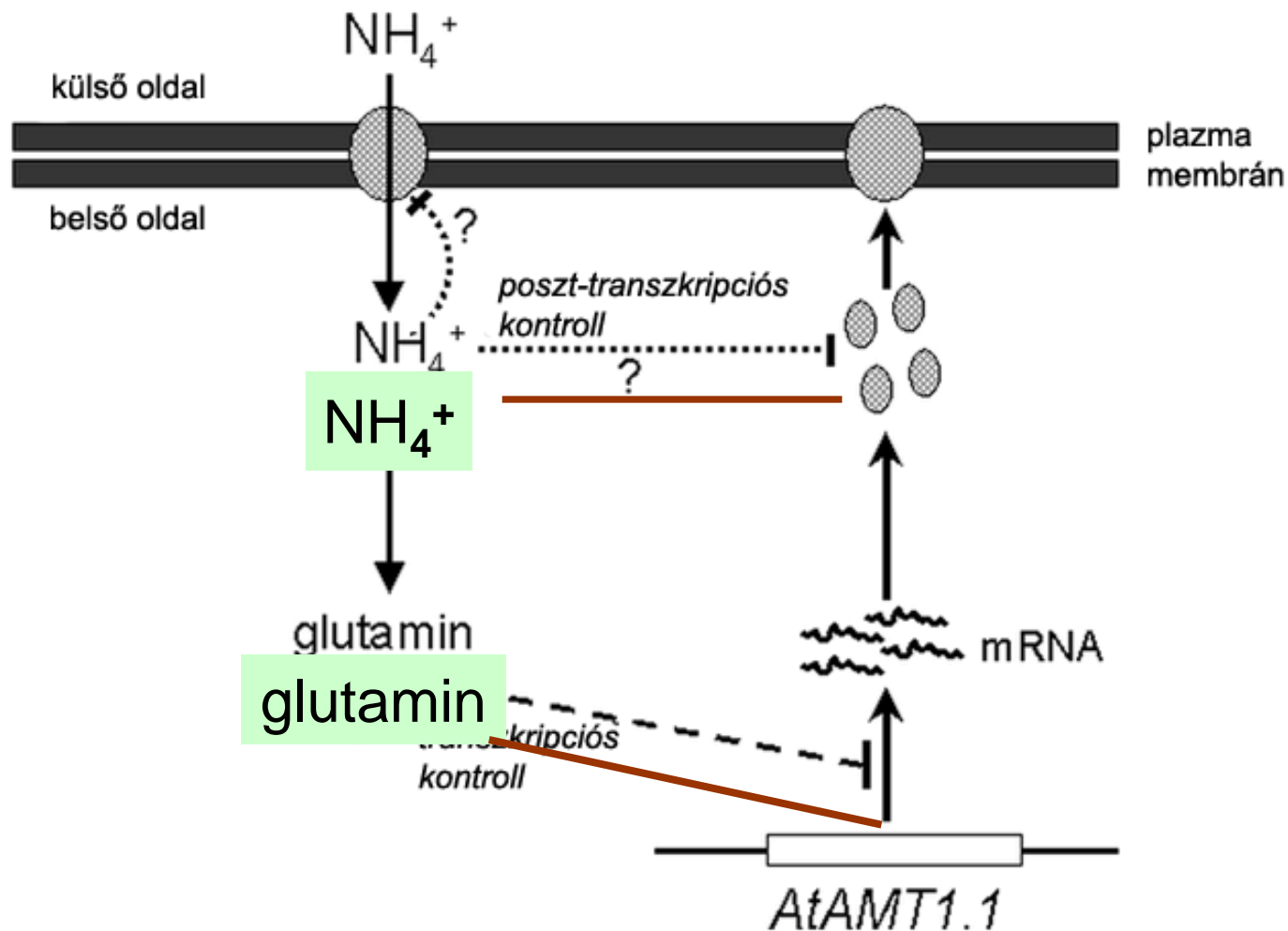
továbbá a fény, ill. a fotoszintézis:

csúcsidőszak: a fényszakasz vége

(a fotoszintézis szolgáltatja a szénvázat

a N-asszimilációhoz)

Az *AtAMT1.1* transzporter visszacsatolós (feedback) szabályozás (Rawat *et al.*, 1999).



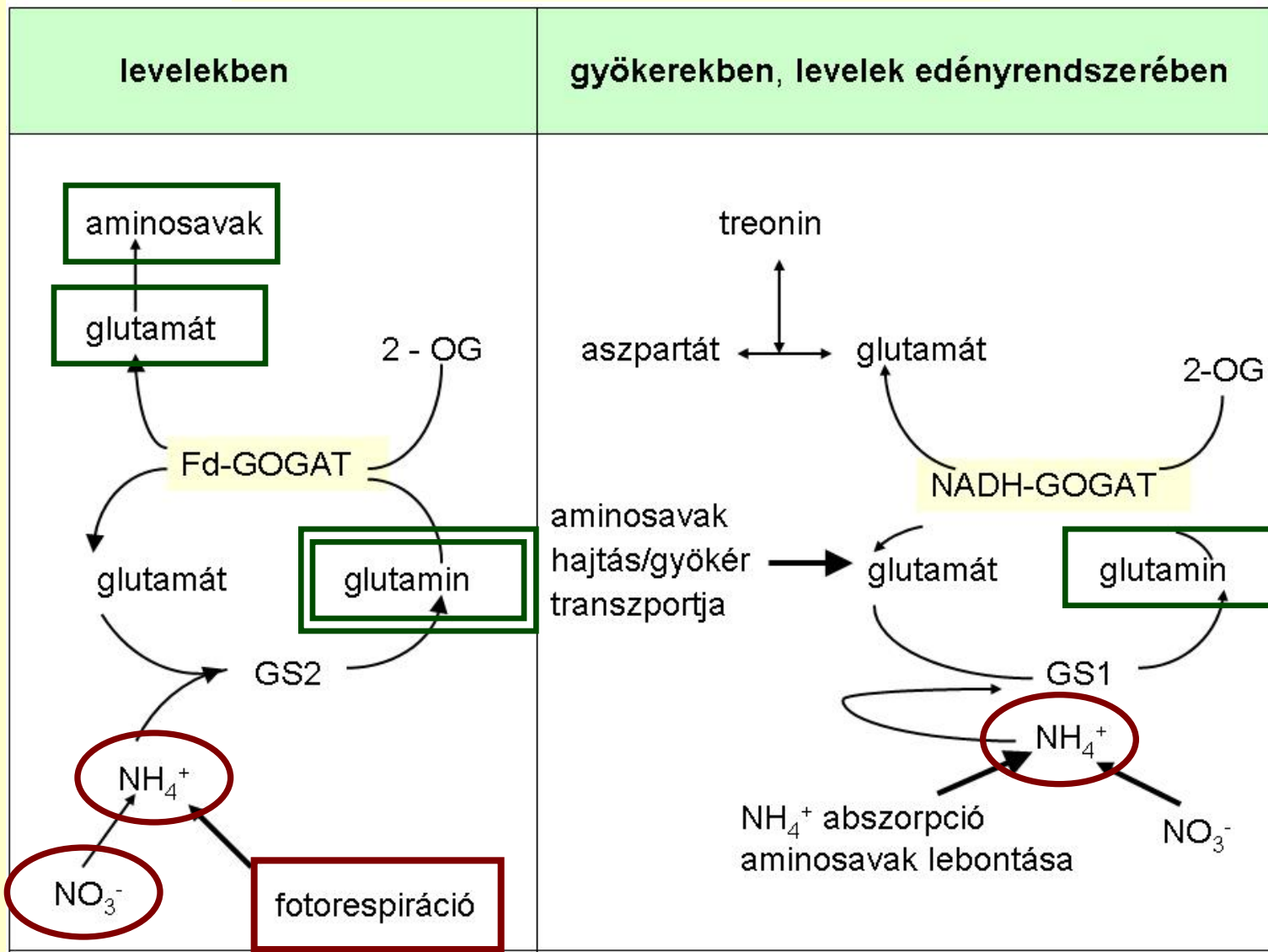
A nitrogén asszimiláció útvonalai

Az N asszimiláció 3 fő folyamata:

- **elsődleges** N-asszimiláció ($\text{NO}_3^- \longrightarrow \text{NH}_4^+$)
- **fotorespirációból** származó N asszimilációja
- a **visszanyert** (recycled) N asszimilációja

az anyagcsereút genetikai hátterét
lépésenként kell elemeznünk

A N-asszimiláció útvonalai



GS: glutamin szintáz

GOGAT: glutamát szintáz

2-OG: 2-oxoglutarát

A nitrogén asszimiláció enzimei, génjei és előfordulásuk helye

as	Enzim	Gén	Organelum
glutamin		<i>GLN 2</i>	kloroplasztisz
	GS	<i>GLN 1.1</i>	citoplazma
	g.i szintáz	<i>GLN 1.2</i>	citoplazma
		<i>GLN 1.3</i>	citoplazma
glutamát	Fd-GOGAT	<i>GLU 1</i>	kloroplasztisz
	g.á szintáz	<i>GLU 2</i>	kloroplasztisz
	NADH-GOGAT	<i>GLT 1</i>	kloroplasztisz
	GDH	<i>GDH 1</i>	mitokondrium
	gá dehidro.	<i>GDH 2</i>	mitokondrium
aszparát		<i>ASP 1</i>	mitokondrium
	AAT	<i>ASP 2</i>	citoplazma
	aszparát	<i>ASP 3</i>	peroxiszóma
		<i>ASP 4</i>	citoplazma
	a.trans.áz	<i>ASP 5</i>	kloroplasztisz
aszparagin		<i>ASN 1</i>	citoplazma
	asp.sintáz	<i>ASN 2</i>	citoplazma
		<i>ASN 3</i>	citoplazma

A tápelem asszimilációja magában foglalja:

- a tápelem felvételét
- ~ tárolását
- ~ transzlokációját
- ~ redukcióját
- ~ beépülését kül. vegyületekbe

A magasabb rendű növények N-asszimilációjának fontosabb lépéseit katalizáló géneket már megismertük, a **teljes folyamat és annak szabályozása** azonban még sok ismeretlent tartalmaz.

A **genomikai** kutatások eszköztára lehetővé teszi ezek megismerését.

Az előadás összefoglalása

A nitrogén hiányának, illetve többletének meghatározó szerepe van a mezőgazdasági termelés ökonómiai és ökológiai következményeiben.

A szervesen nitrogén mind anion (NO_3^-), mind kation (NH_4^+) formában a növények rendelkezésre áll.

Az ionok felvételének és transzportjának specifikitása és affinitása transzkripciós és poszt-transzkripciós szinten szabályozott.

A nitrát felvételét szabályozó kis- és nagy affinitású transzporterek génjeinek jellemzése.

Az előadás összefoglalása II.

Az ammónium felvételét szabályozó kis- és nagy affinitású transzporterek génjeinek jellemzése.

A magasabb rendű növények N-asszimilációjának fontosabb lépéseit katalizáló gének expressziója transzkripciós szinten szabályozott.

Az előadás ellenőrző kérdései

- Ismertesse a nitrát és az ammónium ion transzport útvonalait.
- Ismertesse a nitrát felvételét szabályozó kis- és nagy affinitású transzporterek génjeit.
- Ismertesse az ammónium felvételét szabályozó kis- és nagy affinitású transzporterek génjeit.
- Ismertesse a nitrát redukció lépéseit katalizáló enzimek génjeit és előfordulási helyüket.
- Hogyan segíti a növényi N-táplálkozás genetikai szabályozásának megismerése a mezőgazdasági termelés fenntarthatóságát és az élelmiszerbiztonságot?

A következő előadás címe:

**A NITROGÉN HASZNOSÍTÓ KÉPESSÉG
GENETIKAI ALAPJAI**

KÖSZÖNÖM A FIGYELMÜKET

Az előadás anyagát készítette: Dr. Hoffmann Borbála