

POBIERANIE I TRANSPORT FOSFORANÓW W KOMÓRKACH ROŚLIN

PHOSPHATE UPTAKE AND TRANSPORT IN PLANT CELLS

Ewa ŻEBROWSKA, Iwona CIERESZKO

Streszczenie: Rośliny wykształciły szereg przystosowań do powszechnego w przyrodzie niedoboru fosforu. Szczególnie ważne jest sprawne pobieranie i dystrybucja jonów fosforanowych (Pi) w obrębie rośliny, a także pomiędzy przedziałami komórkowymi. System transportu Pi jest skomplikowany – świadczy o tym liczba i różnorodność transporterów uczestniczących w tym procesie. W pracy szczegółowo scharakteryzowano poznane ostatnio błonowe przENOŚniki Pi uczestniczące w procesie pobierania fosforanów z podłoża (Pht1), w transporcie Pi z korzenia do pędu oraz w dystrybucji Pi w pędzie (Pht2). Opisano również białka mogące pełnić funkcje transporterów lub ich regulatorów. Ponadto, scharakteryzowano translokatory Pi biorące udział w rozdziale Pi pomiędzy różne przedziały komórkowe (Pht3, pPT).

Słowa kluczowe: komórki korzenia, mikoryza, Pi, transportery Pht, pPT.

Summary: Plants have evolved various strategies to cope with common in nature phosphorus deficiency. Efficient inorganic phosphate (Pi) acquisition and distribution system within the plant and between cellular compartments is the most important of them. Amount and variety of transporters involved in this process indicates the complicity of Pi transport system in plants. In this work membrane transporters involved in Pi acquisition from soil (Pht1), Pi transport from root to shoot (Pht2) are characterized. Some proteins which seem to take part, or regulate this process, are also described. Moreover, Pi translocators involved in Pi distribution within a plant cell (Pht3, pPT) are characterized.

Key words: mycorrhiza, root cells, Pht, pPT transporters, Pi.

Wykaz skrótów: **AMF** (ang. *Arbuscular Mycorrhizal Fungi*) – arbuskularne grzyby mikoryzowe; **MSD** (ang. *Membrane-Spanning Domain*) – domeny transbłonowe; **Pht** (ang. *Phosphate Transporter*) – transportery jonów fosforanowych; **Pi** (ang. *inorganic Phosphate*) – jony fosforanowe; **pPT** (ang. *plastidic Phosphate Translocator*) – plastydowe translokatory Pi.

1. WSTĘP

Fosfor jest pierwiastkiem niezbędnym do prawidłowego wzrostu i rozwoju roślin. Pełni zarówno funkcje strukturalne (fosfolipidy i inne związki fosforu), zapasowe (fityna)

i regulacyjne (regulacja ekspresji genów). Uczestniczy w metabolizmie komórkowym bezpośrednio (np. fosforany cukrów) i pośrednio (np. regulacja aktywności enzymów poprzez fosforylację i defosforylację). Bierze także udział w procesach przekazywania informacji genetycznej (składnik kwasów nukleinowych) oraz w magazynowaniu energii (składnik ATP, PPi) [7, 8, 60, 67, 79].

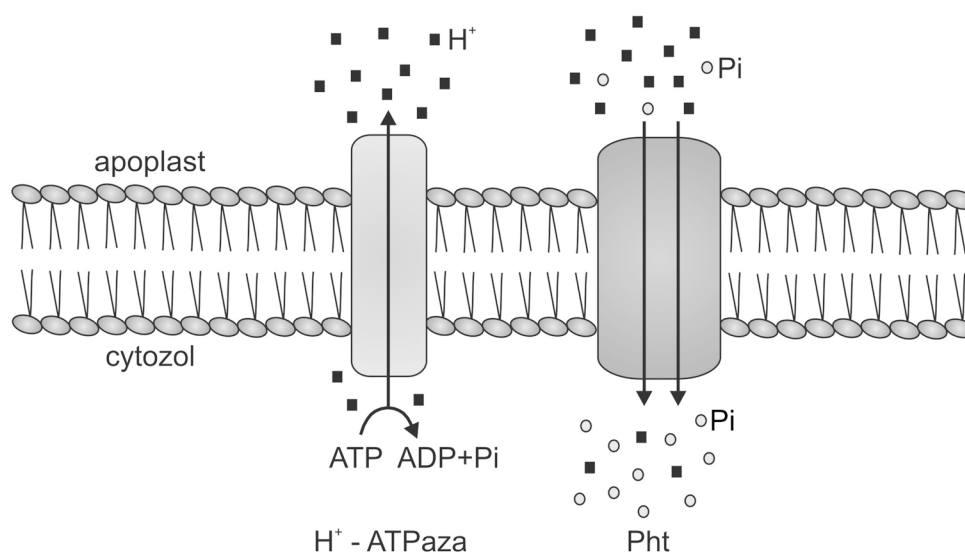
Fosfor obecny w glebie wchodzi w skład związków organicznych (kwas fitynowy) lub nieorganicznych (minerały) najczęściej niedostępnych dla roślin [28, 39, 63, 69, 81]. Bezpośrednio dostępną dla roślin formą fosforu są jedynie jony fosforanowe w roztworze glebowym (H_2PO_4^- lub HPO_4^{2-}) określane jako Pi. Zawartość Pi w glebach rzadko przekracza $10 \mu\text{M}$ [60, 74, 77]. Dostępność fosforanów zależy od wielu czynników, między innymi ich interakcji z pozostałymi składnikami gleby. Ze względu na wysoką reaktywność mogą być one pobierane przez roślinę tylko w niewielkim zakresie pH (pH 5–6) [69, 81]. W kwaśnych glebach fosforany tworzą trudno rozpuszczalne związki z glinem i żelazem, natomiast w zasadowych z wapniem i magnezem [28]. Jony Pi przemieszczają się w roztworze glebowym drogą dyfuzji, ponieważ współczynnik dyfuzji jest niewielki (10^{-12} – $10^{-15} \text{ m}^2 \text{ na } 1 \text{ s}$), wokół korzeni występuje często tzw. strefa wyczerpania [56, 64]. W większości gleb stężenie dostępnych form fosforu jest o kilka rzędów wielkości niższe niż stężenie Pi w tkankach roślin (5–20 mM) [60, 69, 81].

W warunkach niskiej dostępności Pi rośliny rozwinęły szereg przystosowań, obejmujących zmiany morfologiczne, fizjologiczne czy biochemiczne, prowadzących do zwiększenia dostępności Pi w podłożu. Reakcje te zostały szczegółowo opisane w wielu pracach przeglądowych [19, 23, 27, 56, 60, 63, 67, 81, 86], w tym także w języku polskim [7–10]. W warunkach niskiej dostępności fosforanów niezbędny jest zwłaszcza efektywny system pobierania i transportu Pi. W ostatnich latach wiele prac eksperymentalnych poświęcono badaniom różnych białek transportujących Pi. Postęp badań z tej dziedziny jest duży, m.in. dzięki zastosowaniu najnowszych technik badawczych. W niniejszej pracy przeglądowej podjęto próbę przedstawienia najważniejszych osiągnięć.

2. POBIERANIE Pi. TRANSPORT PRZEZ BŁONĘ KOMÓRKOWĄ

Jony fosforanowe są pobierane głównie przez komórki strefy włośnikowej korzenia. Szacuje się, że włosniki odpowiadają za absorpcję ok. 63% Pi pobranych w warunkach niedoboru fosforu [61]. Fosforany przemieszczają się z roztworu glebowego do przestrzeni apoplastycznych ścian komórkowych włosników drogą dyfuzji, skąd transportowane są do wnętrza komórki. Substancje mineralne po przekroczeniu bariery błony komórkowej komórek epidermy mogą się swobodnie przemieszczać dalej w kierunku walca osiowego poprzez plazmodesmy [63, 69].

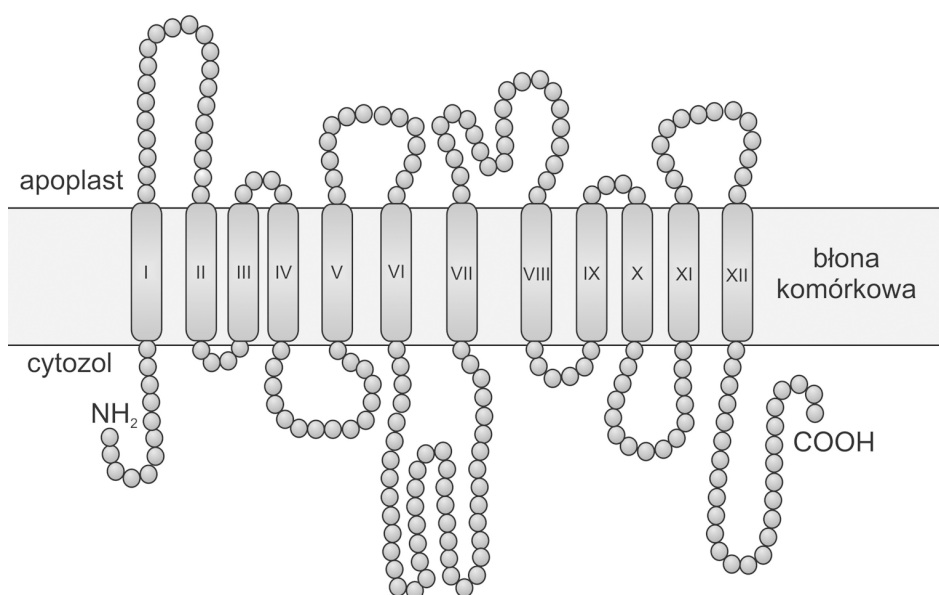
Stężenie fosforu w glebie jest około 1000–10 000 razy niższe niż w komórkach roślinnych [69, 81]. W związku z tym transport przez błonę komórkową musi odbywać się wbrew gradientowi stężeń (ryc. 1). Dodatkowo ujemnie naładowane jony Pi muszą przezwyciężyć barierę ujemnego potencjału błony komórkowej i dlatego transport Pi



RYCINA 1. Mechanizm transportu Pi przez plazmolemę komórek roślinnych, Pht – transportery Pi; zmodyfikowane wg [56]

wymaga nakładu energii i zachodzi z udziałem transbłonowych transporterów białkowych [41, 42, 56] (ryc. 1,2). Izolacja i identyfikacja białek transporterów Pi była możliwa dopiero w wyniku zastosowania technik molekularnych. Z pomocą nowoczesnej technologii w ciągu ostatniego 10-lecia zostało scharakteryzowanych wiele spośród specyficznych białek związanych z transportem Pi w roślinach oraz kodujących je genów. W transporcie fosforanów ze środowiska do komórki roślinnej biorą udział dwa systemy transportu Pi o różnych właściwościach kinetycznych: transportery o wysokim i niskim powinowactwie do fosforanów [42, 80]. System z udziałem transporterów o niskim powinowactwie do Pi wydaje się być zawsze aktywny, podczas gdy transportery o wysokim powinowactwie do Pi są aktywowane tylko w warunkach deficytu fosforu [1, 33, 42, 56, 60]. Przy stężeniu Pi poniżej 20 μM (typowym dla większości gleb uprawnych) zachodzi transport z udziałem głównie transporterów o wysokim powinowactwie [15].

Jony Pi są transportowane dzięki aktywności transmembranowej H^+ -ATPazy, która jednokierunkowo transportuje protony na zewnątrz błony, przy udziale energii pochodzącej z rozpadu ATP do ADP (transport pierwotny) [80] (ryc. 1). Powoduje to powstanie potencjału elektrochemicznego po stronie cytoplazmy w zakresie od -150 do -200 mV [56]. Przemieszczanie protonów zgodnie z różnicą stężenia i gradientem elektrochemicznym powoduje transport jonów Pi w poprzek błony do wnętrza komórki. Transport Pi zachodzi wbrew gradientowi stężeń – na zasadzie symportu z jonami H^+ (wtórny transport) [31, 42, 64]. U grzybów, oprócz transporterów zależnych od jonów H^+ , występują również transportery Na^+ -zależne (typowe dla zwierząt). U *Neurospora crassa* H^+ /transportery są aktywne w pH 4,5–6,0, natomiast Na^+ /transportery w



RYCINA 2. Schemat przedstawiający strukturę typowego transportera z rodziny Pht1, zmodyfikowane wg [56]

zasadowym środowisku o $\text{pH} > 8$ [64, 69]. Transport zależny od Na^+ obserwowano również u *Chara sp.* [81]. Do tej pory nie stwierdzono występowania takiego systemu transportu u roślin wyższych, ale nie można wykluczyć jego istnienia np. u halofitów rosnących na glebach o dużym zasoleniu [64].

Mimo intensywnych w ostatnich latach badań nad mechanizmami absorpcji Pi zarówno w korzeniach roślin, jak i w kulturach tkankowych, słabo poznana jest stechiometria pobierania fosforanów u roślin wyższych. Według niektórych badań na przetransportowanie jednego jonu H_2PO_4^- potrzeba od dwóch do czterech protonów. Ilość H^+ może być zmienna i zależy od dostępności fosforanów, stężenia Pi w tkance czy gatunku rośliny [45, 80].

Wypływ nadmiaru jonów Pi z komórki nie wymaga nakładu energii, ponieważ zachodzi zgodnie z gradientem stężeń i potencjału. Wydalanie Pi poza komórkę odbywa się na zasadzie uniportu, być może poprzez selektywne kanały jonowe [22].

W błonach komórkowych wyróżnia się obecnie dwie główne rodziny transporterów Pi : Pht1 (w większości transportery o wysokim powinowactwie do Pi) oraz Pht2 (transportery o niskim powinowactwie do Pi) [43, 52, 72, 74, 76]. Ponadto, oddzielną grupę stanowią transportery zlokalizowane w błonach mitochondrium (rodzina Pht3) [64], plastydów (pPT) [26, 35], a także niektóre białka kodowane przez geny *PHO1* (tab. 1) [2, 85].

2.1. Transportery Pht1

Roślinne transportery Pi należą do rodziny PHS (ang. *Phosphate- H^+ Symporters*) i nadrodziny MFS (ang. *Major Facilitator Superfamily*). Nadrodzina MFS jest jedną z dwóch największych grup transporterów błonowych występujących u wszystkich organizmów żywych. Białka te wykazują dużą homologię w budowie i uczestniczą w

transporcie jonów, cukrów, antybiotyków czy aminokwasów [53]. Roślinne transportery Pi są transbłonowymi białkami o masie molekularnej ok. 58 kDa. Są zbudowane z ok. 518–587 aminokwasów [60, 63], które tworzą hydrofobowe transbłonowe domeny MSD (ang. *Membrane-Spanning Domains*). Na każdą z domen przypada od 17 do 25 aminokwasów tworzących helisę przechodzącą przez błonę komórkową. W przypadku Pht1 istnieje 12 domen, ułożonych w konfiguracji 6+6 z długą centralną pętlą pomiędzy MSD6 a MSD7. Uważa się, że zarówno pętla centralna, jak i N- i C-koniec leżą po wewnętrznej stronie błony [53, 81] (ryc. 2). Mechanizm działania Pht jest najprawdopodobniej podobny do funkcjonowania pozostałych białek nośnikowych z nadrodziny MFS. Transport Pi następuje w wyniku zmian konformacyjnych białka – przenośnika Pi, czego rezultatem jest wiązanie lub uwalnianie transportowanego związku [31, 61, 62, 74, 76, 77].

Transportery z rodziny Pht1 po raz pierwszy wyizolowano z błon komórkowych drożdży [5]. Roślinne transportery z rodziny Pht1 należą głównie do transporterów o wysokim powinowactwie do Pi. Przenośniki Pht1 wykazują dużą homologię do drożdżowych transporterów Pho84 H⁺/Pi [84]. W ostatnich latach poczyniono wielki postęp w izolacji i charakterystyce wielu roślinnych transporterów z tej rodziny. Rodzina Pht1 obejmuje od dwóch do kilkunastu przedstawicieli dla danego gatunku, charakteryzujących się dużym podobieństwem sekwencji względem siebie, ale różniących się funkcją pełnioną podczas wzrostu i rozwoju rośliny [4]. U *Arabidopsis thaliana* zidentyfikowano 9 genów kodujących transportery o wysokim powinowactwie: *ARATH;Pht1;1-1;9* (*Pht1;1-1;9*) [33, 45, 47, 50, 75] (tab. 1). U innych gatunków roślin dwuliściennych również zidentyfikowano homologiczne geny np.: *LePT1* – *LePT5* (*Lycopersicon esculentum*) [12, 37], *StPT1* – *StPT5* (*Solanum tuberosum*) [21, 58], *NtPT1* – *NtPT4* (*Nicotiana tabacum*) [30], *CrPT1* (*Catharanthus roseus*) [29] i *MtPT1* – *MtPT4* (*Medicago truncatula*) [6, 24, 32, 38]. Znacznie mniej wiadomo o transporcie fosforanów u roślin jednoliściennych. U *Oryza sativa* zidentyfikowano aż 13 genów z rodziny Pht1 (*OsPT1*–*OsPT13*), wśród których tylko *OsPT11* został szczegółowo zbadany [55]. U *Hordeum vulgare* natomiast wykryto do tej pory 8 genów kodujących transportery z rodziny Pht1 (*HvPT1*–*HvPT8*) [70]. Stosowane w literaturze nazewnictwo genów kodujących transportery Pi nie jest ujednolicone, pomimo zasad ustalonych przez CPGN (ang. *Commission on Plant Gene Nomenclature*) [56]. W niniejszym opracowaniu najczęściej używa się uproszczonych nazw transporterów (i kodujących je genów) – zgodnie z cytowanymi autorami prac doświadczalnych.

Przenośniki Pht1 występują głównie w błonach komórkowych korzeni i uczestniczą w pobieraniu Pi z roztworu glebowego. Ekspresja większości tych białek indukowana jest w warunkach niedoboru fosforu [44, 61, 64, 79]. Transportery te zlokalizowane są głównie w epidermie i włosnikach [11, 37]. Niektóre z nich, np. *LePT1* u pomidora, ulegają ekspresji zarówno w epidermie, jak i w komórkach kory korzenia [46, 47].

Spośród genów kodujących transportery Pht1 u *Arabidopsis* najdokładniej zostały zbadane *Pht1;1* i *Pht1;4* (tab. 1) [43]. Badania mutantów, charakteryzujących się brakiem aktywności wyżej wymienionych genów, wskazały na istotną rolę kodowanych przez nie białek nośnikowych w pobieraniu Pi z podłoża zarówno w warunkach normalnego żywienia fosforanowego, jak i w niedoborze fosforu [72]. Z kolei gen

TABELA 1. Transportery Pi oraz geny je kodujące w tkankach *Arabidopsis thaliana*

Rodzina /grupa transporterów	Nazwa genu	Lokalizacja
Pht1	<i>ARATH;Pht1;1</i>	Głównie komórki epidermy oraz w mniejszym stopniu komórki kory korzenia, endosperm kielkujących nasion [45, 47, 52, 72, 75]
	<i>ARATH;Pht1;2</i>	Komórki epidermy i włosniki w strefie włosnikowej korzenia [47, 52, 75]
	<i>ARATH;Pht1;3</i>	Korzeń główny (walec osiowy) [47, 52]
	<i>ARATH;Pht1;4</i>	Liście, zawiesiny komórkowe, korzeń (epiderma wierzchołka wzrostu), hydatody, liścienie, pąki boczne [45, 47, 52, 72]
	<i>ARATH;Pht1;5</i>	Liścienie i hypokotyle kilkudniowych siewek, pędy, starsze liście (floem), młode pąki kwiatowe i wiązki przewodzące kwiatów [47, 52]
	<i>ARATH;Pht1;6</i>	Tapetum, pylniki, dojrzałe ziarna pyłku [47, 52]
	<i>ARATH;Pht1;7</i>	Korzenie, dojrzałe ziarna pyłku [47, 52]
	<i>ARATH;Pht1;8</i>	Korzenie [47, 56]
	<i>ARATH;Pht1;9</i>	Korzenie [47, 56]
Pht2	<i>ARATH;Pht2;1</i>	Zielone tkanki rośliny (głównie blaszka liściowa i tkanki przewodzące) [12, 83]
Trans- lokatory w mitochon- driach	<i>ARATH;Pht3;1</i> <i>ARATH;Pht3;2</i> <i>ARATH;Pht3;3</i>	Wewnętrzna błona mitochondrium [76]
Trans- lokatory w plastydach	<i>AtTPT</i>	Wewnętrzna błona plastydów [16]
	<i>AtPPT2</i>	
	<i>AtPPT10</i>	
	<i>AtGPT1</i>	
	<i>AtGPT2</i>	
	<i>AtXPT</i>	Kwiaty, liście, pędy, korzenie [16, 56]
Białka z rodziny PHO1	<i>PHO1</i> <i>PHO1;H1</i> <i>PHO1;H10</i>	Komórki epidermy i kory korzenia, ziarna pyłku [22, 83]

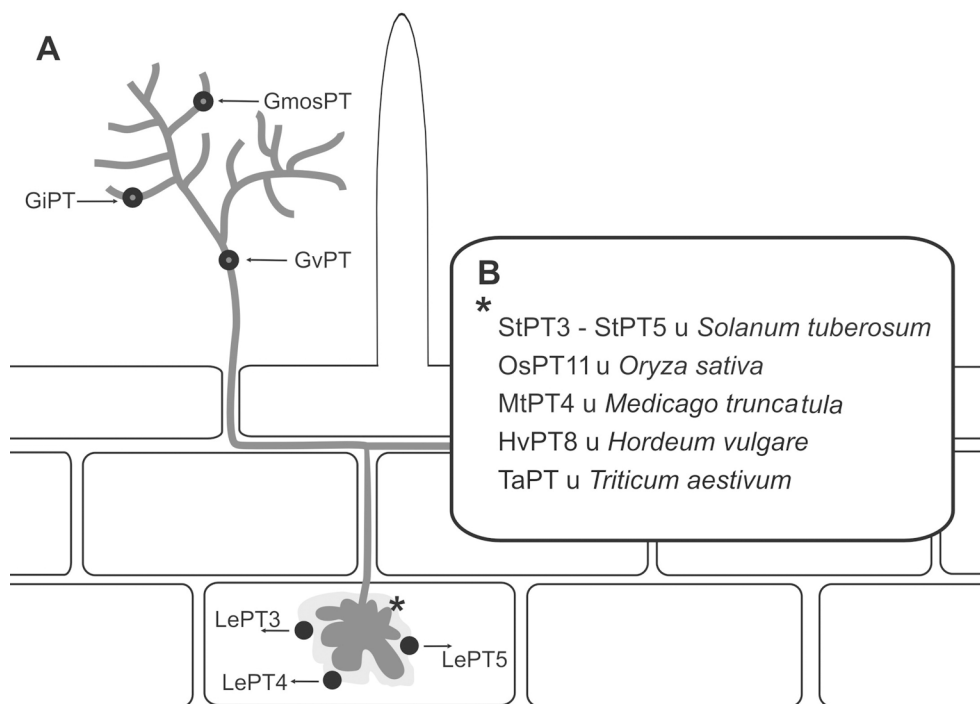
Pht1;5 ulegał ekspresji zarówno w liścieniach młodych siewek *Arabidopsis*, jak i w starzejących się dojrzałych liściach. Sugerowało to udział transportera *Pht1;5* w remobilizacji Pi z liścieni do rozwijających się liści siewek oraz ze starszych liści (tab. 1). Ponadto, najwyższą ekspresję genu *Pht1;5* obserwowano w wiążkach przewodzących, zwłaszcza we floemie, przy czym ekspresja tego genu była wyraźnie wyższa w warunkach deficytu fosforu [33, 47]. Ekspresję transporterów *Pht1* w nadziemnych częściach rośliny obserwowano również u innych roślin, np. u *Hordeum vulgare*. Analiza transportera *HvPT6* wykazała, że jest to przenośnik o niskiej specyficzności do Pi i ulega ekspresji głównie w starszych liściach (najczęściej we floemie), co wskazuje na jego udział w remobilizacji fosforu [59]. Wydaje się, że transportery z rodziny *Pht1* odgrywają o wiele szerszą rolę w transporcie Pi, niż do niedawna przypuszczano. Są one zaangażowane przede wszystkim w pobieranie Pi przez korzenie, ale mogą również uczestniczyć w translokacji Pi w obrębie rośliny.

Transportery Pi o wysokim powinowactwie, indukowane przez deficyt fosforu mogą być, obok fosfataz oraz innych enzymów udostępniających fosforany roślinom, składnikami hipotetycznego „roślinnego pho regulonu” [1, 60]. Istnienie takiego zestawu genów uczestniczących w odpowiedziach na deficyt fosforu zostało dotychczas udowodnione jedynie u mikroorganizmów. Szczegółowo opisano to m.in. w cytowanych pracach [1, 8, 64].

Mutacja genu *PHR1* (ang. *Phosphate Starvation Response*) u transgenicznych *Arabidopsis* (z genem reporterowym specyficznie indukowanym przez deficyt Pi) powoduje zahamowanie ekspresji kilku genów, które są zwykle indukowane w warunkach deficytu fosforu, np. *AtPT1*, czy genu kodującego kwaśne fosfatazy. Sklonowany gen *PHR1* okazał się czynnikiem transkrypcyjnym wykazującym duże podobieństwo do rodziny czynników transkrypcyjnych MYB i jest jednym z pierwszych elementów regulujących ekspresję wielu genów w warunkach deficytu Pi, zidentyfikowanych u roślin wyższych [68, 79].

2.2. Rola mikoryzy w pobieraniu Pi

Powierzchnia absorpcji substancji mineralnych przez korzenie roślin może być znacznie zwiększona dzięki symbiozie z grzybami mikoryzowymi. Mikoryza arbuskularna AM (ang. *Arbuscular Mycorrhiza*) jest najbardziej rozpowszechnionym typem endomikoryzy. Strzępki grzybów wytwarzają w komórkach kory korzenia charakterystyczne drzewkowate struktury, zwane arbuskulami. Szacuje się, że ponad 80% wszystkich gatunków roślin lądowych korzysta z mikoryzy [64, 81]. Symbiotyczne grzyby kolonizujące korzenie wielu roślin zwiększają dostępność składników odżywczych, zwłaszcza fosforanów, w zamian za to otrzymują od rośliny węglowodany i aminokwasy [9, 25]. Mikoryza pełni szczególną rolę w warunkach niedoboru fosforu, kiedy roślina pobieranie Pi prawie całkowicie zawdzięcza grzybnii [64]. Wyróżniono dwie drogi pobierania Pi u roślin żyjących w symbiozie z grzybami: bezpośrednią (przez epidermę korzeni i włosniki) oraz pośrednią (przez grzybnię AMF) [3, 76]. Od niedawna rozpoczęto badania mechanizmu pobierania Pi przez strzępki grzyba i transport do komórek gospodarza. Strzępki grzyba położone na zewnątrz korzenia uczestniczą w pobieraniu Pi w strefie będącej poza zasięgiem rośliny (ryc. 3). W pobieraniu Pi przez komórki grzyba uczestniczą transportery o wysokiej specyficzności do Pi, np. GvPT (u *Glomus versiforme*), GiPT (u *Glomus intraradices*) i GmosPT (u *Glomus mosseae*), wykazujące podobieństwo do roślinnych transporterów z rodziny Pht1 [2, 32, 64]. Pobrane fosforany są wbudowywane w związki organiczne (m.in. kwasy nukleinowe, fosfolipidy) albo polifosforany i transportowane są do strzępek znajdujących się wewnątrz korzenia gospodarza [31]. Mechanizm uwalniania Pi w skolonizowanych roślinach jest dotąd słabo poznany. Jony Pi przemieszczają się przez błonę komórek grzyba (wewnątrz korzenia rośliny) prawdopodobnie zgodnie z gradientem stężeń. W ich transporcie mogą uczestniczyć wyspecjalizowane przenośniki jonowe – pompy bądź kanały [3]. Uwolnione fosforany są następnie przemieszczane do komórek kory korzeni roślin z udziałem roślinnych transporterów (ryc. 3). W 2001 roku u ziemniaka zidentyfikowano transporter StPT3 aktywny jedynie w korzeniach skolonizowanych przez AMF [65]. W korzeniach wielu roślin zidentyfikowano przenośniki, które ulegały wyższej ekspresji



RYCINA 3. Pobieranie Pi w korzeniach pomidora (A) i innych roślin (B) skolonizowanych przez AMF. Grzybowe transportery Pi: GvPT (*Glomus versiforme*), GiPT (*Glomus intraradices*), GmosPT (*Glomus mosseae*) [2, 64]. (A) Transportery indukowane podczas kolonizacji przez grzyby symbiotyczne u *Lycopersicon esculentum*: LePT3 – LePT5 [58]; (B) Transportery z rodziny Pht1 u innych gatunków roślin, indukowane jedynie w warunkach mikoryzy [4, 20, 24, 31, 48, 55]

w warunkach kolonizacji AMF, m.in.: StPT4, StPT5 (u *Solanum tuberosum*) [31, 32, 48], LePT3-5 (u *Lycopersicon esculentum*) [48, 58], OsPT11 (u *Oryza sativa*) [20, 54, 55] oraz MtPT4 (u *Medicago truncatula*) [24, 32]. Poziom ich ekspresji jest skorelowany pozytywnie ze stopniem kolonizacji korzeni przez grzyby [63]. Transportery te najprawdopodobniej uczestniczą w przemieszczaniu Pi ze strzępek grzyba do komórek rośliny (ryc. 3). Ponadto, w pędach kukurydzy, której korzenie poddano kolonizacji przez grzyby symbiotyczne, również obserwowano aktywację jednego z roślinnych transporterów Pi – Pht6 [49]. Prawdopodobnie mikoryza może modyfikować nie tylko pobieranie Pi przez korzenie, ale także przemieszczanie Pi w pędzie.

3. TRANSPORTERY UCZESTNICZĄCE W ROZMIESZCZENIU Pi W ROŚLINIE

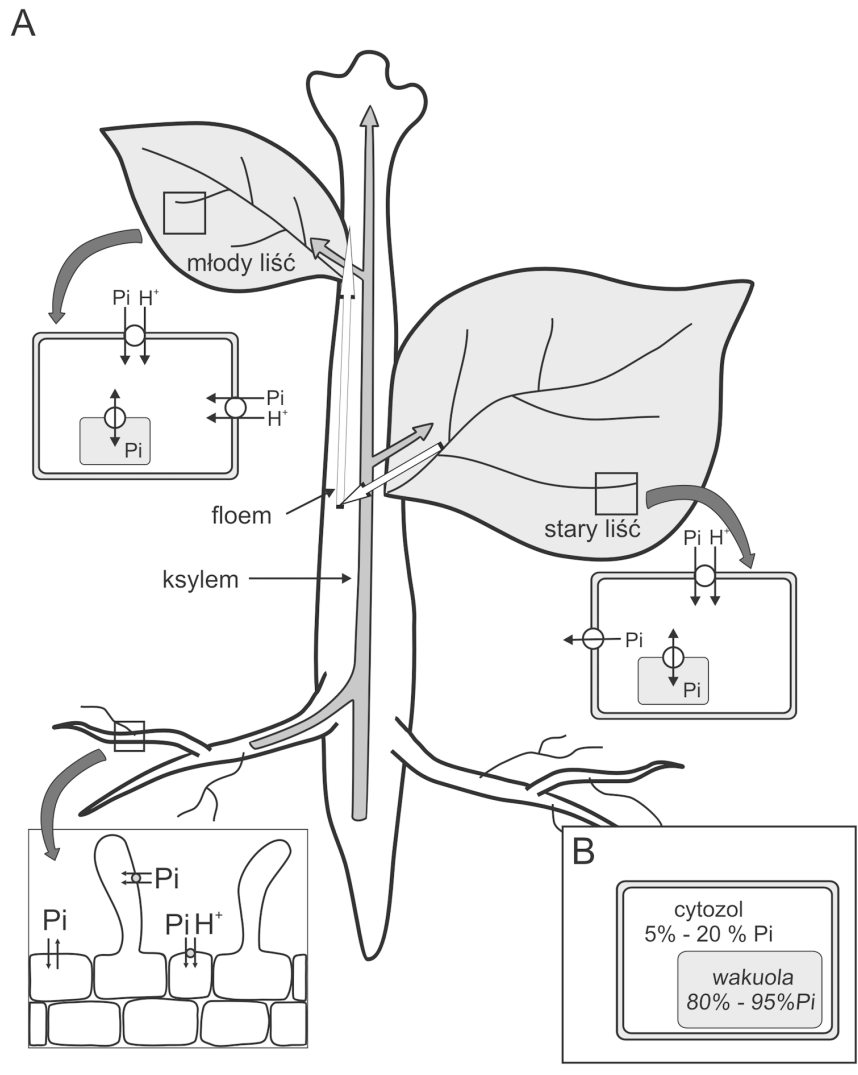
Pi pobrany z roztworu glebowego do symplastu korzenia może być wykorzystany w procesach metabolicznych na terenie korzenia, jednak większość pobranego Pi jest

transportowana ksylemem do nadziemnych części roślin [41, 42, 64]. Pi jest podstawową formą, w jakiej fosfor jest transportowany naczyniami ksylemu. W soku floemowym transportowane są także organiczne formy fosforu – nukleotydy (np. ATP), a także heksozofosforany [42, 64]. W warunkach deficytu fosforu następuje mobilizacja Pi zgromadzonego w starszych liściach i jego translokacja (rurkami sitowymi) do rosnących części rośliny – młodych liści i korzeni (ryc. 4).

Postuluje się, że w rozmieszczeniu Pi w tkankach rośliny uczestniczą przede wszystkim transportery z rodziny Pht2. Pierwszym opisanym przedstawicielem tej rodziny jest Pht2;1 (ARAt;Pht2;1) obecny w tkankach zielonych *Arabidopsis thaliana* (tab. 1) [12]. Białko to zlokalizowano, m.in. w wewnętrznej błonie plastydów, gdzie prawdopodobnie uczestniczy w transporcie Pi w poprzek błony wraz z innymi translokatorami [83]. Innymi przedstawicielami tej rodziny są MESc;Pht2;1 (*Mesembryanthemum crystallinum*) [64] i SOLtu;Pht2;1 (*Solanum tuberosum*) [66]. Transportery Pht2 są najczęściej mało specyficznymi przenośnikami błonowymi, funkcjonują jako transportery H⁺/Pi [76]. Przenośniki z tej rodziny są podobne w strukturze do transporterów z rodziny Pht1 (również 12 domen), ale mają pętlę hydrofilową pomiędzy MSD8 a MSD9. Transportery te zlokalizowane są zwłaszcza w pędzie, a u *Arabidopsis* hybrydyzacja *in situ* wykazała ich obecność głównie w liściach rozetowych, co wskazuje na udział Pht2;1 w transporcie Pi do liści i w przemieszczaniu Pi wewnątrz rośliny [23]. W badaniach nad ekspresją genu *Pht2;1* w tkankach liści u ziemniaka i rzodkiewnika wykazano pozytywną regulację tych genów przez światło [66]. Analiza filogenetyczna roślinnych transporterów Pht2 oraz pozostałych białkowych przenośników Pi z różnych organizmów wykazała, że są one bliżej spokrewnione ze sobą oraz z Na⁺ transporterami niż z transporterami z rodziny Pht1 [64].

Niewiele wiadomo na temat transporterów zaangażowanych w załadunek ksylemu i floemu. Dowodów na ich udział w tych procesach dostarczyły mutanty *Arabidopsis*: *pho1* – z obniżonym poziomem Pi w pędzie [57] oraz *pho2* – z nadmiarem Pi w pędzie [13, 14]. Mutant *pho1* wykazywał zaburzenia w załadunku Pi do ksylemu. Ostatnio udało się zidentyfikować gen *PHO1* u *Arabidopsis thaliana*, który najprawdopodobniej koduje białko nieznanego dotąd transportera uczestniczącego w załadunku ksylemu. Okazało się, że białko PHO1 nie wykazuje homologii z żadnym z dotąd poznanych transporterów, ale jest bardzo podobne do ludzkich i mysich receptorów wirusa białaczki [22, 79]. W genomie *Arabidopsis* zidentyfikowano 10 innych genów homologicznych do *PHO1* (*PHO1;H1–PHO1;H10*) (tab. 1), których ekspresja wykazała, że białka PHO1 mogą uczestniczyć również w transporcie Pi do komórek ziaren pyłku czy też komórek epidermy i kory korzenia [85].

Inne badania wykazały istnienie niewielkiej grupy genów *At4* u *Arabidopsis*, które są indukowane w warunkach niedoboru Pi i ulegają ekspresji w tkankach przewodzących [71]. Mutanty *at4 Arabidopsis* w warunkach deficytu fosforu wykazywały zaburzenia w retranslokacji Pi do korzeni, w związku z czym obserwowano wzmożoną akumulację Pi w pędach w porównaniu z roślinami dzikiego typu. Wyniki te wskazują na udział produktów białkowych *At4* w dystrybucji Pi na terenie rośliny – prawdopodobnie regulują one przemieszczanie Pi z pędu do korzenia [71].



RYCINA 4. Dystrybucja Pi w tkankach rośliny (A) i w przedziałach komórkowych (B). Przedstawiono drogi transportu Pi w obrębie rośliny: pobieranie i transport z korzeni do pędu (ksylem, kolor szary), remobilizację Pi z liści (floem, kolor biały) oraz przemieszczanie Pi przez błony komórkowe i rozdział fosforanów pomiędzy wakuolą i cytozolem

4. TRANSPORTERY Pi W BŁONACH ORGANELLI KOMÓRKOWYCH

W każdej komórce Pi jest transportowany pomiędzy przedziałami wewnątrzkomórkowymi, takimi jak: plastydy, mitochondria czy wakuola. Wszystkie białka, które uczestniczą w transporcie Pi pomiędzy organellami w komórce, różnią się znacznie pod względem struktury i funkcji od transporterów biorących udział w pobieraniu Pi z

roztworu glebowego (Pht1). Badania przeprowadzone w ciągu kilku ostatnich lat pozwoliły na identyfikację translokatorów znajdujących się w błonach plastydów i mitochondriów. Ostatnio postuluje się wyodrębnienie trzeciej rodziny transporterów Pi (oprócz Pht1 i Pht2) – Pht3 – występujących w mitochondriach [76] (tab. 1). Jako oddzielną grupę wyróżnia się również translokatory Pi występujące w plastydach – pPT [35, 36, 82].

Transport Pi do mitochondriów zachodzi z udziałem przenośników zbudowanych z sześciu transbłonowych domen (dwie transbłonowe α -helisy rozdzielone pętlą centralną, w trzech powtórzeniach) [40, 56, 64, 78]. Geny kodujące transportery Pht3 zostały sklonowane u wielu roślin, m.in. u *Arabidopsis thaliana*, *Oryza sativa* i *Zea mays* [78]. Transportery Pi w mitochondriach uczestniczą w wymianie Pi pomiędzy matriks mitochondrialną i cytozolem. Prawdopodobnie transport Pi odbywa się na zasadzie symportu z jonami H^+ lub antyportu z jonami OH^- , podobnie jak w przypadku mitochondrialnych transporterów Pi u ssaków [78, 83].

W transporcie Pi pomiędzy stromą plastydów a cytozolem uczestniczą zlokalizowane w wewnętrznej błonie plastydowej, silnie hydrofobowe białka działające na zasadzie antyportu. Białka te zbudowane są z 6–8 hydrofobowych domen, które najprawdopodobniej tworzą transmembranowe α -helisy [16]. Translokatory należące do pPT, w przeciwieństwie do innych plastydowych przenośników, funkcjonują w postaci dimerów zbudowanych z dwóch identycznych podjednostek [35]. Strukturalnie przypominają również mitochondrialne transportery. Translokatory Pi kodowane są przez genom jądrowy i transportowane do plastydów. Wśród poznanych do tej pory pPT możemy wyróżnić następujące grupy transporterów: triofofosforan/fosforan (TPT), fosfoenolopirogronian/fosforan (PPT), glukozo-6-fosforan/fosforan (GPT) oraz ksylulozo-5-fosforan/fosforan (XPT) [16, 35] (tab. 1). W genomie *Arabidopsis* zidentyfikowano 16 genów kodujących pPT. W przypadku TPT i XPT zidentyfikowano po 1 genie, natomiast dla PPT i GPT – odpowiednio osiem i sześć genów – z których większość to pseudogeny (6 PPT, 4 GPT) [35].

Jednym z najlepiej poznanych translokatorów plastydowych oraz pierwszym transporterem Pi wyizolowanym z roślin jest TPT, który ulega ekspresji niemal wyłącznie w tkankach fotosyntetyzujących [66]. Transporter ten występuje dość powszechnie w wewnętrznej błonie chloroplastowej i stanowi od 10 do 12% białek tam występujących [83]. TPT uczestniczy w rozdziale Pi i triofofosforanów (niezbędnych do syntezy skrobi i sacharozy) pomiędzy stromą chloroplastów i cytozolem [18]. Rolę tego transportera potwierdziły badania z udziałem antysensownych mutantów ziemniaka z obniżoną ekspresją TPT – wykazywały one zahamowanie syntezy sacharozy oraz wzmożoną akumulację skrobi [cyt. za 73]. Rolą PPT u roślin C_3 jest natomiast dostarczanie PEP do syntezy kwasów tłuszczowych oraz szlaku kwasu szikimowego, niezbędnego do produkcji wielu wtórnych metabolitów [17, 35]. Najszerszą specyficzność substratową spośród pPT wykazuje GPT transportujący triofofosforany oraz ufosforylowane pięcio- i sześciowęglowe produkty fotosyntezy. W heterotroficznych tkankach GPT z kolei uczestniczy w transporcie glukozo-6-fosforanu (substrat do syntezy skrobi zapasowej, kwasów tłuszczowych lub oksydacyjnego szlaku pentozofosforanowego) do plastydów. XPT uczestniczy w transporcie podobnych substancji jak GPT, z wyjątkiem glukozo-6-

fosforanu. Prawdopodobnie, XPT dostarcza szkieletów węglowych (np. w postaci ksylulozo-5-fosforanu) z cytozolu do plastydowego szlaku pentozaofosforanowego [35].

W chloroplastach roślin C_3 występują jedynie translokatory TPT i PPT, podczas gdy u roślin CAM (ang. *Crassulacean Acid Metabolism*) dodatkowo występuje GPT. Rola translokatorów Pi u roślin CAM została poznana dzięki badaniom prowadzonym na *Mesembryanthemum crystallinum* [26]. U badanych roślin CAM zaobserwowano wzmożoną ekspresję genów kodujących PPT i GPT, ekspresja genów zmieniała się w ciągu doby, w zależności od okresu świetlnego (lub ciemności). Zasugerowano specyficzną rolę tych transporterów u roślin CAM: w ciągu dnia PPT uczestniczy w eksporcie PEP z chloroplastów, a GPT – bierze udział raczej w transporcie prekursorów skrobi (na teren chloroplastów) niż w mobilizacji skrobi. W ciągu nocy natomiast wszystkie trzy transportery uczestniczą w transporcie produktów rozkładu skrobi [26].

Dla prawidłowego funkcjonowania procesów metabolicznych w komórce musi być utrzymywane stałe stężenie Pi w cytozolu (ryc. 4B). W warunkach deficytu fosforu utrzymanie homeostazy Pi w komórce jest możliwe dzięki puli fosforanów nagromadzonych w wakuoli [41, 42]. Uważa się, że w wakuoli występuje od 80% do 95% całości fosforanów obecnych w komórce (pozostałe to pula cytozolowa) [60] (ryc. 4B). Wiadomo, że transport Pi w poprzek tonoplastu zachodzi w obu kierunkach. Do tej pory nie wyizolowano i nie zidentyfikowano roślinnych tonoplastowych transporterów Pi, stąd niewiele wiadomo na temat przemieszczania Pi przez tonoplast. Natomiast zidentyfikowano i poznano ostatnio tonoplastowe transportery przenoszące inne aniony – siarczany (SULTR4;1 i SULTR4;2) u *Arabidopsis* [34]. Transport Pi do wakuoli może odbywać się dzięki energii dostarczonej przez H^+ -ATPazy bądź pirofosfatazy [60, 61]. Badania prowadzone na wakuolach izolowanych z zawieszin kultur komórkowych *Catharanthus roseus* wykazały, że pobieranie Pi w warunkach niedoboru fosforu przez wakuolę było znacznie wyższe niż w kulturach kontrolnych. Obserwowany wzrost pobierania Pi przez wakuolę może pełnić istotną rolę w utrzymaniu homeostazy fosforanowej w komórce, zwłaszcza podczas zwiększonego przemieszczania się Pi do cytoplazmy w warunkach deficytu fosforu [51].

PODSUMOWANIE

Związki fosforu są potrzebne we wszystkich organellach komórkowych oraz we wszystkich tkankach i organach rośliny do prawidłowego przebiegu procesów metabolicznych i wzrostowych rośliny. Pomimo licznych doniesień i intensywnych wieloletnich badań wiele aspektów dotyczących transportu i homeostazy Pi jest mało poznanych. Wydaje się, że najmniej poznane procesy to transport Pi na terenie rośliny (zwłaszcza załadunek i rozładunek ksylemu i floemu), a także transport Pi przez tonoplast (rodzaj transporterów) – ważny do zachowania równowagi fosforanowej w komórce. Należy oczekiwać, iż w niedługim czasie nastąpi dalszy postęp badań, między innymi dzięki zsekwencjonowaniu genomów kolejnych roślin, technikom genomiki funkcjonalnej i proteomiki oraz wyselekcjonowaniu nowych mutantów i roślin transgenicznych.

LITERATURA

- [1] ABEL S, TICCONI CA, DELATORRE CA. Phosphate sensing in higher plants. *Physiol Plant* 2002; **115**: 1–8.
- [2] BENEDETTO A, MAGURNO F, BONFANTE P, LANFRANCO L. Expression profiles of a phosphate transporter gene (GmosPT) from the endomycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. *Mycorrhiza* 2005; **15**: 620–627.
- [3] BUCHER M. Functional biology of plant phosphate uptake at root and mycorrhiza interfaces. *New Phytol* 2007; **1**: 11–26.
- [4] BUCHER M, RAUSCH C, DARAM P. Molecular and biochemical mechanisms of phosphorus uptake into plants. *J Plant Nutr Soil Sci* 2001; **164**: 209–217.
- [5] BUN-YA M, NISHIMURA M, HARASHIMA S, OSHIMA Y. The PHO84 gene of *Saccharomyces cerevisiae* encodes an inorganic phosphate transporter. *Mol Cell Biol* 1991; **11**: 3229–3238.
- [6] CHIOU T-J, LIU H, HARRISON M. The spatial expression patterns of a phosphate transporter (MtPT1) from *Medicago truncatula* indicate a role in phosphate transport at the root/soil interface. *Plant J* 2001; **25**: 281–293.
- [7] CIERESZKO I. Wzrost i metabolizm roślin w warunkach deficytu fosforu. *Kosmos* 2000; **49**: 179–189.
- [8] CIERESZKO I. Molekularne podstawy odpowiedzi roślin na niedobór fosforu. *Post Biol Kom* 2003; **30**: 647–665.
- [9] CIERESZKO I. Czy można usprawnić pobieranie fosforanów przez rośliny? *Kosmos* 2005; **269**: 391–400.
- [10] CIERESZKO I, RYCHTER AM. Zmiany metaboliczne w korzeniach wywołane deficytem fosforu. *Wiad Bot* 1995; **39**: 81–90.
- [11] DARAM P, AMRHEIN N, BUCHER M. Functional analysis and cell-specific expression of a phosphate transporter from tomato. *Planta* 1998; **206**: 225–233.
- [12] DARAM P, BRUNNER S, RAUSCH C, STEINER C, AMRHEIN N, BUCHER M. Pht 2;1 encodes a low-affinity phosphate transporter from *Arabidopsis*. *Plant Cell* 1999; **11**: 2153–2166.
- [13] DELHAIZE E, RANDALL PJ. Characterization of a phosphate-accumulator mutant of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol* 1995; **107**: 207–213.
- [14] DONG B, RENGEL Z, DELHAIZE E. Uptake and translocation of phosphate by *pho2* mutant and wild-type seedlings of *Arabidopsis thaliana*. *Planta* 1998; **205**: 251–256.
- [15] DONG B, RYAN PR, RENGEL Z, DELHAIZE E. Phosphate uptake in *Arabidopsis thaliana*: dependence of uptake on the expression of transporter genes and internal phosphate concentration. *Plant Cell Environ* 1999; **22**: 1455–1461.
- [16] EICKS M, MAURINO V, KNAPPE S, FLÜGGE U-I, FISCHER K. The plastidic pentose phosphate translocator represents a link between the cytosolic and the plastidic pentose phosphate pathways in plants. *Plant Physiol* 2002; **128**: 512–522.
- [17] FISCHER K, KAMMERER B, GUTENSOHN M, ARBINGER B, WEBER A, HÄUSLER RE, FLÜGGE U-I. A new class of plastidic phosphate translocators: a putative link between primary and secondary metabolism by the phosphoenolpyruvate/phosphate antiporter. *Plant Cell* 1997; **9**: 453–462.
- [18] FLÜGGE U-I, FISCHER K, GROSS A, SEBALD W, LOTTSPEICH F, ECKERSKORN C. The triose phosphate-3-phosphoglycerate-phosphate translocator from spinach chloroplasts: Nucleotide sequence of a full-length cDNA clone and import of the *in vitro* synthesized precursor protein into chloroplasts. *EMBO J* 1989; **8**: 39–46.
- [19] FRANCO-ZORRILLA JM, GONZALEZ E, BUSTOS R, LINHARES F, LEYVA A, PAZ-ARES J. The transcriptional control of plant responses to phosphate limitation. *J Exp Bot* 2004; **55**: 285–293.
- [20] GLASSOP D, SMITH SE, SMITH FW. Cereal phosphate transporters associated with the mycorrhizal pathway of phosphate uptake into roots. *Planta* 2005; **222**: 688–698.
- [21] GORDON-WEEKS R, TONG Y, DAVIES TG, LEGGEWIE G. Restricted spatial expression of a high-affinity phosphate transporter in potato roots. *J Cell Sci* 2003; **116**: 3135–3144.
- [22] HAMBURGER D, REZZONICO E, MC DONALD-COMBER PETÉTOT J, SOMERVILLE C, POIRER Y. Identification and characterization of the *Arabidopsis PHO1* gene involved in phosphate loading to the xylem. *Plant Cell* 2002; **14**: 889–902.
- [23] HAMMOND JP, BROADLEY MR, WHITE PJ. Genetic responses to phosphorus deficiency. *Ann Bot* 2004; **94**: 323–332.

- [24] HARRISON MJ, DEWBRE GR, LIU J. A phosphate transporter from *Medicago truncatula* involved in the acquisition of phosphate released by arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Cell* 2002; **14**: 2413–2429.
- [25] HAUSE B, FESTER T. Molecular and cell biology of arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Planta* 2005; **221**: 184–196.
- [26] HÄUSLER RE, BAUR B, SCHARTE J, TEICHMANN T, EICKS M, FISCHER KL, FLÜGGE U-I, SCHUBERT S, WEBER A, FISCHER K. Plastidic metabolite transporters and their physiological functions in the inducible crassulacean acid metabolism plant *Mesembryanthemum crystallinum*. *Plant J* 2000; **24**: 285–296.
- [27] HELL R, HILLEBRAND H. Plant concepts for mineral acquisition and allocation. *Trends Plant Sci* 2001; **12**: 161–168.
- [28] HINSINGER P. Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: a review. *Plant Soil* 2001; **237**: 173–195.
- [29] KAI M, MASUDA Y, KIKUCHI Y, OSAKI M, TADANO T. Isolation and characterization of a cDNA from *Catharanthus roseus* which is highly homologous with phosphate transporter. *Soil Sci Plant Nutr* 1997; **43**: 227–235.
- [30] KAI M, TAKAZUMI K, ADACHI H, WASAKI J, SHINANO T, OSAKI M. Cloning and characterization of four transporter cDNAs in tobacco. *Plant Sci* 2002; **163**: 837–846.
- [31] KARANDASHOV V, BUCHER M. Symbiotic phosphate transport in arbuscular mycorrhizas. *Trends Plant Sci* 2005; **10**: 22–29.
- [32] KARANDASHOV V, NAGY R, WEGMÜLLER S, AMRHEIN N, BUCHER M. Evolutionary conservation of a phosphate transporter in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; **101**: 6285–6290.
- [33] KARTHIKEYAN AS, VARADARAJAN DK, MUKATIRA UT, D'URZO MP, DAMSZ B, RAGHOTHAMA KG. Regulated expression of *Arabidopsis* phosphate transporters. *Plant Physiol* 2002; **130**: 221–233.
- [34] KATAOKA T, WATANABE-TAKAHASHI A, HAYASHI N, OHNISHI M, MIMURA T, BUCHNER P, HAWKESFORD MJ, YAMAYA T, TAKAHASHI H. Vacuolar sulfate transporters are essential determinants controlling internal distribution of sulfate in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 2004; **16**: 2693–2704.
- [35] KNAPPE S, FLÜGGE U-I, FISCHER K. Analysis of the plastidic phosphate translocator gene family in *Arabidopsis* and identification of new phosphate translocator-homologous transporters, classified by their putative substrate-binding site. *Plant Physiol* 2003; **131**: 1178–1190.
- [36] KUNZE R, FROMMER WB, FLÜGGE U-I. Metabolic engineering of plants: the role of membrane transport. *Metab Engineer* 2002; **4**: 57–66.
- [37] LIU C, MUCHHAL US, UTHAPPA M, KONONOWICZ AK, RAGHOTHAMA KG. Tomato phosphate transporter genes are differentially regulated in plant tissues by phosphorus. *Plant Physiol* 1998; **116**: 91–99.
- [38] LIU H, TRIEU AT, BLAYLOCK LA, HARRISON MJ. Cloning and characterization of two phosphate transporters from *Medicago truncatula* roots: Regulation in response to phosphate and to colonization by arbuscular mycorrhizal (AM) fungi. *Mol Plant-Microbe Interact* 1998; **11**: 14–22.
- [39] LOPEZ-BUCIO J, NIETO-JACOBO MF, RAMIREZ-RODRIGUEZ V, HERRERA-ESTRELLA L. Organic acid metabolism in plants: from adaptive physiology to transgenic varieties for cultivation in extreme soils. *Plant Sci* 2000; **160**: 1–13.
- [40] McINTOSH CA, OLIVER DJ. The phosphate transporter from pea mitochondria. Isolation and characterization in proteolipid vesicles. *Plant Physiol* 1994; **105**: 47–52.
- [41] MIMURA T. Homeostasis and transport of inorganic phosphate in plants. *Plant Cell Physiol* 1995; **36**: 1–7.
- [42] MIMURA T. Regulation of phosphate transport and homeostasis in plant cells. *Int Rev Cytol* 1999; **191**: 149–200.
- [43] MISSON J, THIBAUD MC, BECHTOLD N, RAGHOTHAMA K, NUSSAUME L. Transcriptional regulation and functional properties of *Arabidopsis* Pht1;4, a high affinity transporter contributing greatly to phosphate uptake in phosphate deprived plants. *Plant Mol Biol* 2004; **55**: 727–741.
- [44] MITSUKAWA N, OKUMURA S, SHIRANO Y, SATO S, KATO T, HARASHIMA S, SHIBATA D. Overexpression of an *Arabidopsis thaliana* high-affinity phosphate transporter gene in tobacco cultured cells enhances cell growth under phosphate-limited conditions. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; **94**: 7098–7102.
- [45] MUCHHAL US, PARDO JM, RAGHOTHAMA KG. Phosphate transporters from the higher plant *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; **93**: 10519–10523.

- [46] MUCHHAL US, RAGHOTHAMA KG. Transcriptional regulation of plant phosphate transporters. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; **96**: 5868–5872.
- [47] MUDGE SR, RAE AL, DIATLOFF E, SMITH FW. Expression analysis suggests novel roles for members of the Pht1 family of phosphate transporters in *Arabidopsis*. *Plant J* 2002; **31**: 341–353.
- [48] NAGY R, KARANDASHOV V, CHAGUE V, KATSIARYNA KALINKEVICH K, TAMASLOUKHT M'B, XU G, JAKOBSEN I, LEVY AA, NIKOLAUS AMRHEIN N, BUCHER M. The characterization of novel mycorrhiza-specific phosphate transporters from *Lycopersicon esculentum* and *Solanum tuberosum* uncovers functional redundancy in symbiotic phosphate transport in solanaceous species. *Plant J* 2005; **42**: 236–250.
- [49] NAGY R, VASCONCELOS MJV, ZHAOS, MCELVER J, BRUCEW, AMRHEIN N, RAGHOTHAMA KG, BUCHER M. Differential regulation of five Pht1 phosphate transporters from maize (*Zea mays* L.). *Plant Biol* 2006; **8**: 186–197.
- [50] NARRANG RA, BRUENE A, ALTMANN T. Analysis of phosphate acquisition efficiency in different *Arabidopsis* accessions. *Plant Physiol* 2000; **124**: 1786–1799.
- [51] OHNISHIM, MIMURA T, TSUJIMURA T, MITSUHASHI N, WASHITANI-NEMOTO S, MAESHIMA M, MARTINOIA E. Inorganic phosphate uptake in intact vacuoles isolated from suspension-cultured cells of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don under varying Pi status. *Planta* 2007; **225**: 711–718.
- [52] OKUMURA S, MITSUKAWA N, SHIRANO Y, SHIBATA D. Phosphate transporter gene family of *Arabidopsis thaliana*. *DNA Res* 1998; **5**: 261–269.
- [53] PAO SS, PAULSEN IT, SAIER MH Jr. Major facilitator superfamily. *Microbiol Mol Biol Rev* 1998; **62**: 1–34.
- [54] PASZKOWSKI U. A journey through signaling in arbuscular mycorrhizal symbioses 2006. *New Phytol* 2006; **172**: 35–46.
- [55] PASZKOWSKI U, KROKEN S, ROUX C, BRIGGS SP. Rice phosphate transporters include an evolutionarily divergent gene specifically activated in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Proc Nat Acad Sci USA* 2002; **99**: 13324–13329.
- [56] POIRIER Y, BUCHER M. Phosphate transport and homeostasis in *Arabidopsis*. W: *The Arabidopsis Book*, Am Soc Plant Biol 2002: 1–35.
- [57] POIRIER Y, THOMA S, SOMERVILLE C, SCHIEFELBEIN J. A mutant of *Arabidopsis* deficient in xylem loading of phosphate. *Plant Physiol* 1991; **97**: 1087–1093.
- [58] POULSEN KH, NAGY R, GAO L-L, SMITH SE, BUCHER M, SMITH FA, JAKOBSEN I. Physiological and molecular evidence for Pi uptake via the symbiotic pathway in a reduced mycorrhizal colonization mutant in tomato associated with a compatible fungus. *Plant Physiol* 2005; **168**: 445–453.
- [59] RAE AL, CYBINSKI DH, JARMEY JM, SMITH FW. Characterisation of two phosphate transporters from barley: evidence for diverse function and kinetic properties amongst members of the Pht1 family. *Plant Mol Biol* 2003; **53**: 27–36.
- [60] RAGHOTHAMA K G. Phosphate acquisition. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 1999; **50**: 665–693.
- [61] RAGHOTHAMA KG. Phosphate transport and signaling. *Curr Opin Plant Biol* 2000a; **3**: 182–187.
- [62] RAGHOTHAMA KG. Phosphorus acquisition; plant in the driver's seat! *Trends Plant Sci* 2000b; **5**: 412–413.
- [63] RAGHOTHAMA KG, KARTHIKEYAN AS. Phosphate acquisition. *Plant Soil* 2005; **274**: 37–49.
- [64] RAUSCH C, BUCHER M. Molecular mechanisms of phosphate transport in plants. *Planta* 2002; **216**: 23–37.
- [65] RAUSCH C, DARAM P, BRUNNER S, JANSJ, LALOIM, LEGGEWIE G, AMRHEIN N, BUCHER M. A phosphate transporter expressed in arbuscule-containing cells in potato. *Nature* 2001; **414**: 462–466.
- [66] RAUSCH C, ZIMMERMANN P, AMRHEIN N, BUCHER M. Expression analysis suggests novel roles for the plastidic phosphate transporter Pht2;1 in auto- and heterotrophic tissues in potato and *Arabidopsis*. *Plant J* 2004; **39**: 13–28.
- [67] RYCHTER AM, RAO IM. Role of phosphorus in photosynthetic carbon metabolism. W: *Handbook of Photosynthesis* Pessarakli M. (red.), 2nd edition, Marcel Dekker, Inc., New York 2005: 123–148.
- [68] RUBIO V, LINHARES F, SOLANO R, MARTIN AC, IGLESIAS J, LEYVA A, PAZ-ARES J. A conserved MYB transcription factor involved in phosphate starvation signaling both in vascular plants and in unicellular algae. *Gene Dev* 2001; **15**: 2122–2133.
- [69] SCHACHTMAN DP, REID RJ, AYLING SM. Phosphorus uptake by plants: from soil to cell. *Plant Physiol* 1998; **116**: 447–453.

- [70] SCHUNMANN PHD, RICHARDSON AE, SMITH FW, DELHAIZE E. Characterization of promoter expression patterns derived from the *Pht1* phosphate transporter genes of barley (*Hordeum vulgare* L.). *J Exp Bot* 2004; **55**: 855–865.
- [71] SHIN H, SHIN H-S, CHEN R, HARRISON MJ. Loss of *At4* function impacts phosphate distribution between the roots and the shoots during phosphate starvation. *Plant J* 2006; **45**: 712–726.
- [72] SHIN H, SHIN H-S, DEWBRE GR, HARRISON MJ. Phosphate transport in *Arabidopsis*: Pht1;1 and Pht1;4 play a major role in phosphate acquisition from both low- and high-phosphate environments. *Plant J* 2004; **39**: 629–642.
- [73] STITT M, SONNEWALD U. Regulation of metabolism in transgenic plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 1995; **46**: 341–368.
- [74] SMITH FW. The phosphate uptake mechanism. *Plant Soil* 2002; **245**: 105–114.
- [75] SMITH FW, EALING PM, DONG B, DELHAIZE E. The cloning of two *Arabidopsis* genes belonging to a phosphate transporter family. *Plant J* 1997; **11**: 83–92.
- [76] SMITH FW, MUDGE SR, RAE AL, GLASSOP D. Phosphate transport in plants. *Plant Soil* 2003; **248**: 71–83.
- [77] SMITH FW, RAE AL, HAWKESFORD MJ. Molecular mechanisms of phosphate and sulphate transport in plants. *Biochim Biophys Acta* 2000; **1465**: 236–245.
- [78] TAKABATAKE R, HATA S, TANIGUCHI M, KOUCHI H, SUGIYAMA T, IZUI K. Isolation and characterization of cDNAs encoding mitochondrial phosphate transporters in soybean, maize, rice, and *Arabidopsis*. *Plant Mol Biol* 1999; **40**: 479–486.
- [79] TICCONI CA, ABEL S. Short on phosphate: plant surveillance and countermeasures. *Trends Plant Sci* 2004; **9**: 548–555.
- [80] ULRICH-EBERIUS CI, NOVACKY A, van BEL AJE. Phosphate uptake in *Lemna gibba* G1: energetics and kinetics. *Planta* 1984; **161**: 46–52.
- [81] VANCE CP, UHDE-STONE C, ALLAN DL. Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. *New Phytol* 2003; **157**: 423–447.
- [82] VAN VOORTHUYSEN T, REGIERER B, SPRINGER F, DIJKEMAC, VREUGDENHIL D, KOSSMANN J. Introduction of polyphosphate as a novel phosphate pool in the chloroplast of transgenic potato plants modifies carbohydrate partitioning. *J Biotechnol* 2000; **77**: 65–80.
- [83] VERSAW WK, HARRISON MJ. A chloroplast phosphate transporter, PHT2;1, influences allocation of phosphate within the plant and phosphate-starvation responses. *Plant Cell* 2002; **14**: 1751–1766.
- [84] WANG Y-H, GARVIN DF, KOCHIAN LV. Rapid induction of regulatory and transporter genes in response to phosphorus, potassium, and iron deficiencies in tomato roots. Evidence for cross talk and root/rhizosphere-mediated signals. *Plant Physiol* 2002; **130**: 1361–1370.
- [85] WANG Y, RIBOT C, REZZONICO E, POIRIER Y. Structure and expression profile of the *Arabidopsis* PHO1 gene family indicates a broad role in inorganic phosphate homeostasis. *Plant Physiol* 2004; **135**: 400–411.
- [86] WISSUWA M. How do plants achieve tolerance to phosphorus deficiency? Small causes with big effects. *Plant Physiol* 2003; **133**: 1947–1958.

Redaktor prowadzący – Maria Olszewska

Otrzymano: 28.12. 2006 r.

Przyjęto: 21.02. 2007 r.

Świerkowa 20b, 15-950 Białystok

e-mail: ewaw@uwb.edu.pl