

ASSIMILAZIONE DELL'AMMONIO

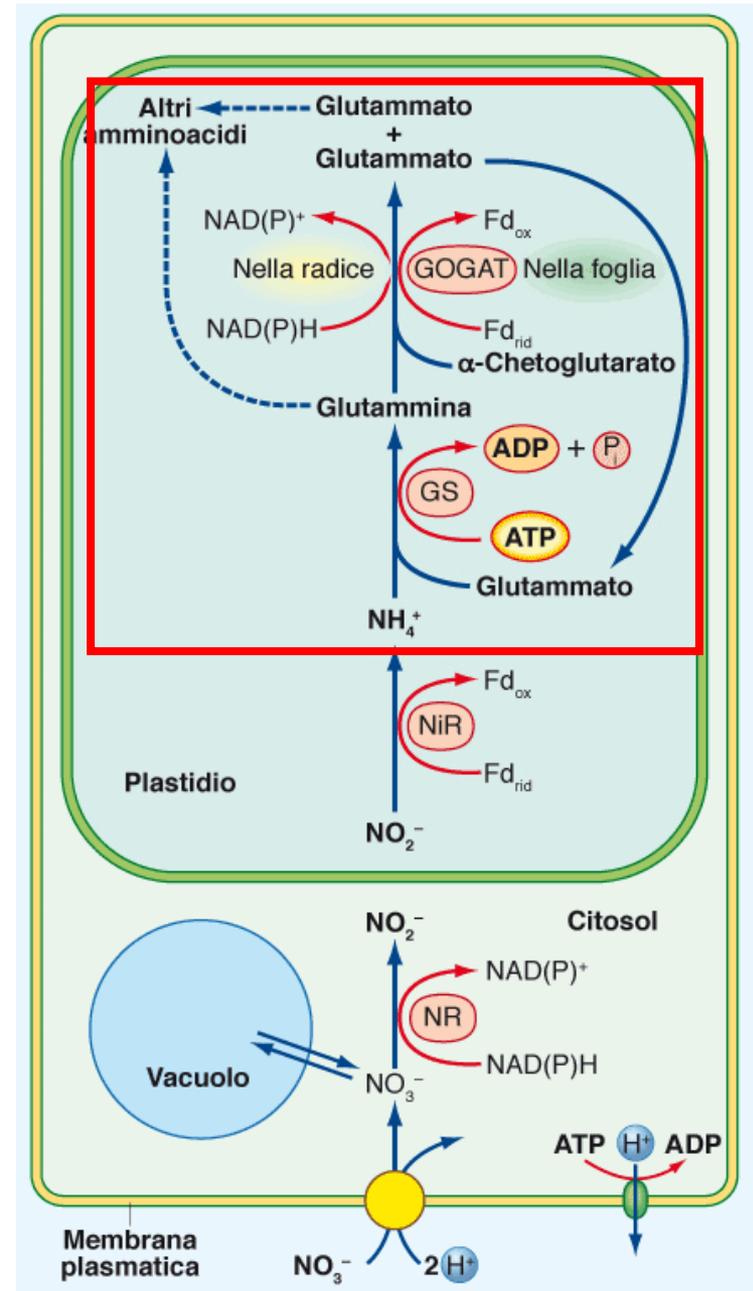
SONO NECESSARI DUE ENZIMI

GLUTAMMINA SINTETASI (GS)

GLUTAMMATO SINTASI (GOGAT)

(GOGAT = glutammato
oxoglutarato aminotransferasi)

Coinvolti nell'assimilazione primaria dell'azoto nonché nella riassimilazione (assimilazione secondaria) dello ione ammonio liberato da altri processi metabolici (es. fotorespirazione, deaminazione di amminoacidi ecc...)

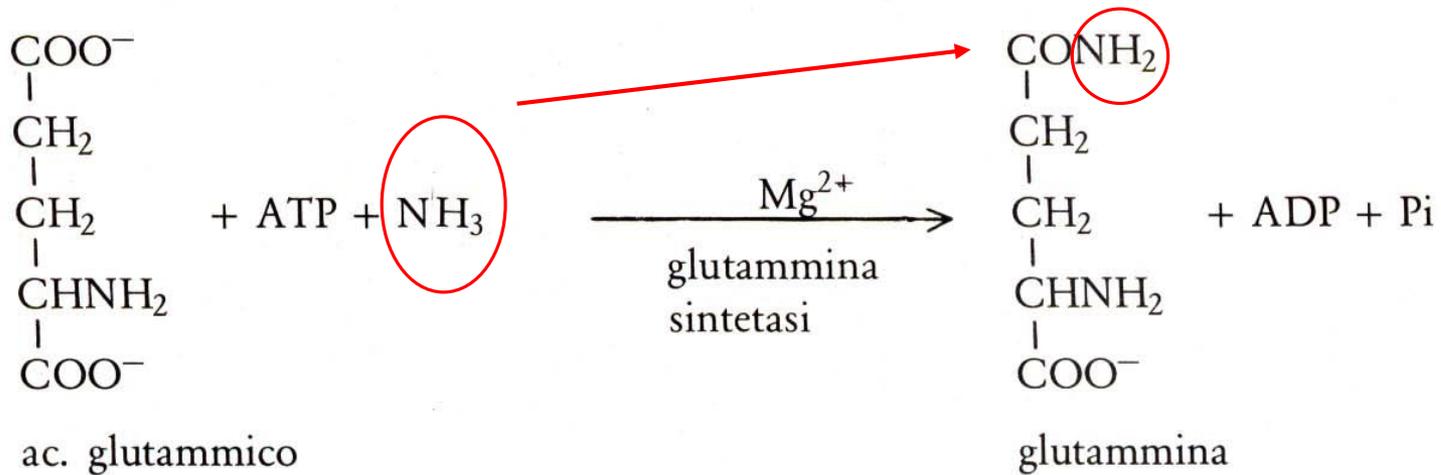


GLUTAMMINA SINTETASI (GS)

Elevata affinità per NH_4^+ , $K_m = 3\text{-}5 \mu\text{M}$

Espressione di GS stimolata da luce e alta concentrazione di carboidrati

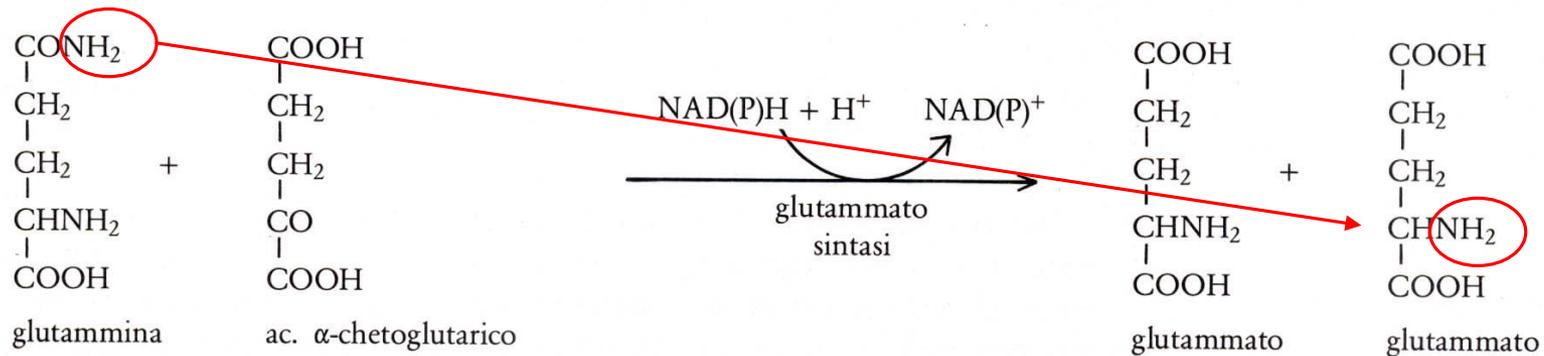
Coinvolge cofattori (cationi bivalenti)



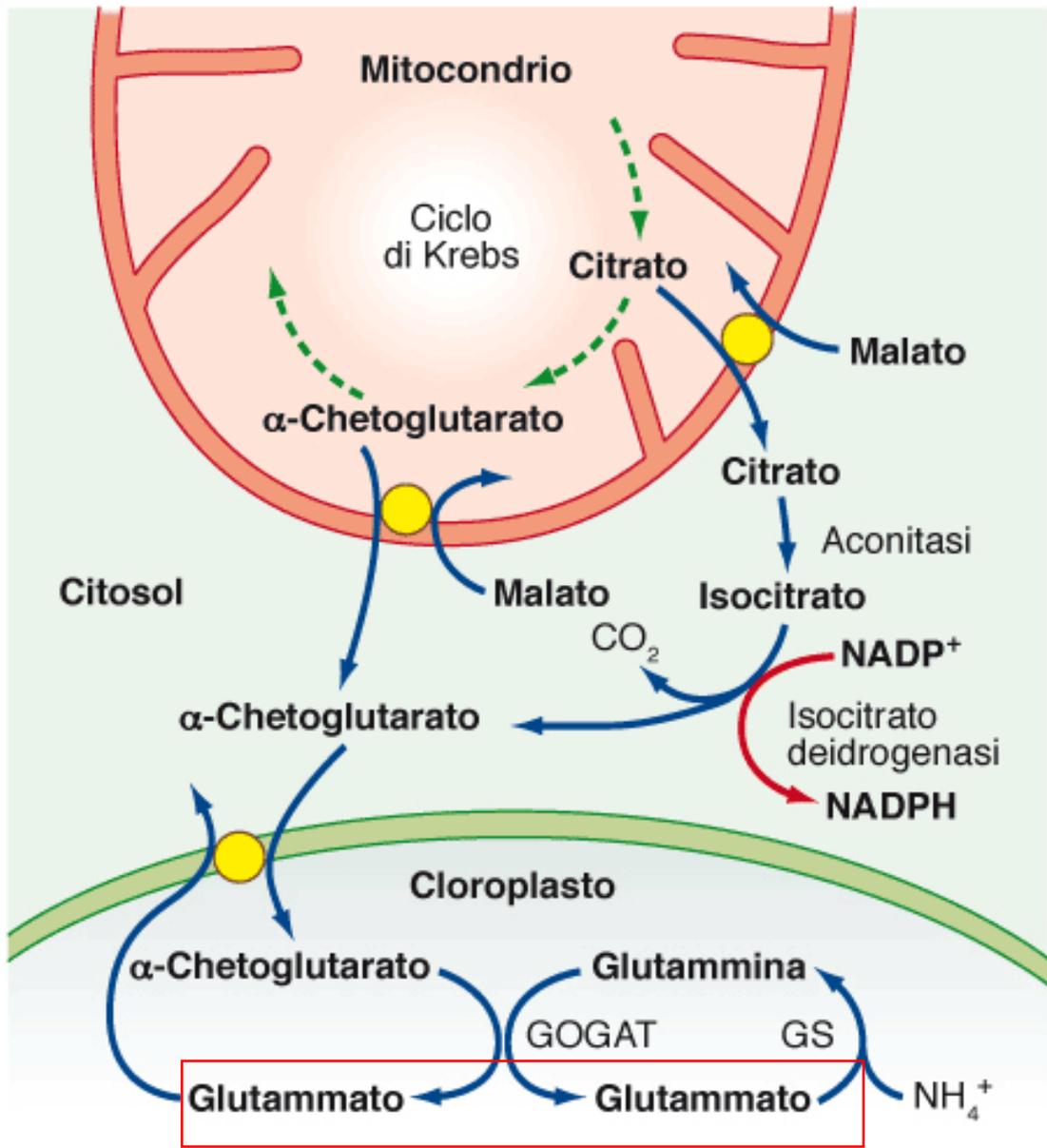
GLUTAMMATO SINTASI (GOGAT)

Trasferimento riduttivo

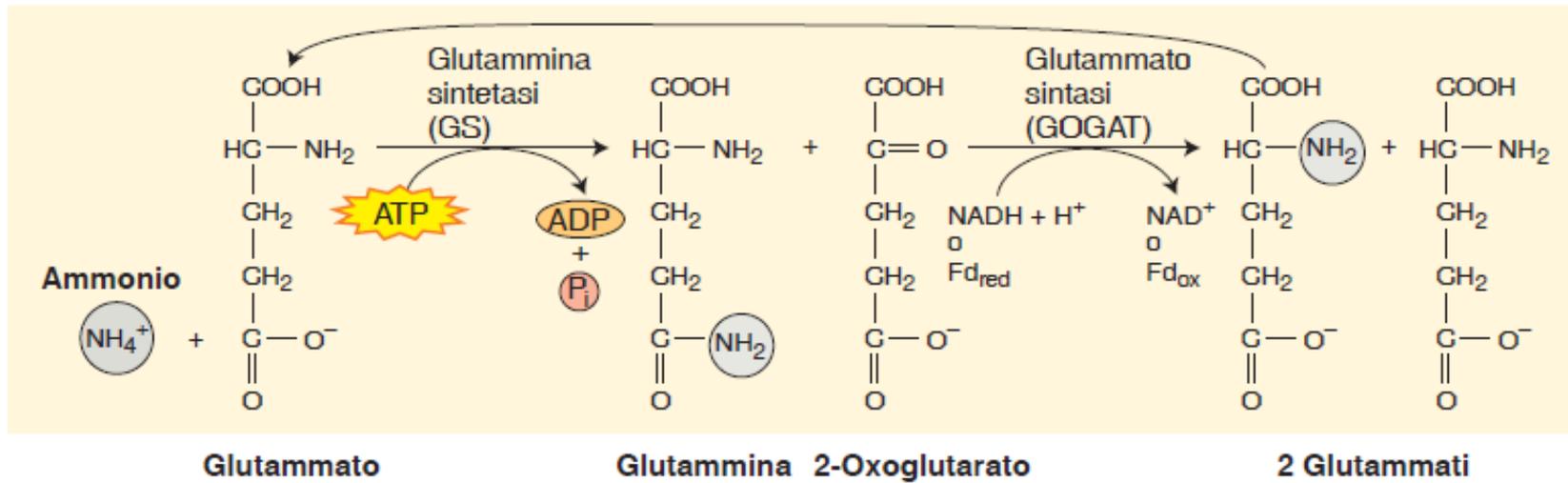
Stimolata da alta concentrazione di glutammina



Nota: nelle foglie il composto riducente è la ferredossina



Riassumendo...

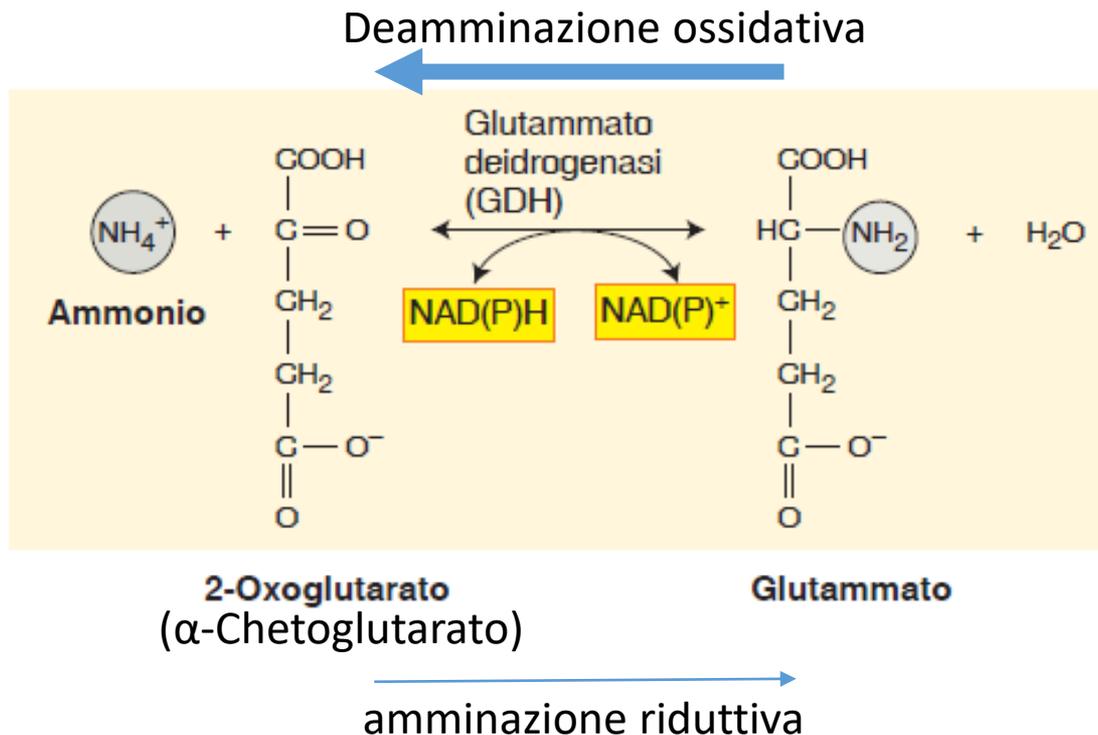


GLUTAMMATO DEIDROGENASI (GDH)

K_m per l'ammonio 10-80 mM: ruolo secondario nell'assimilazione

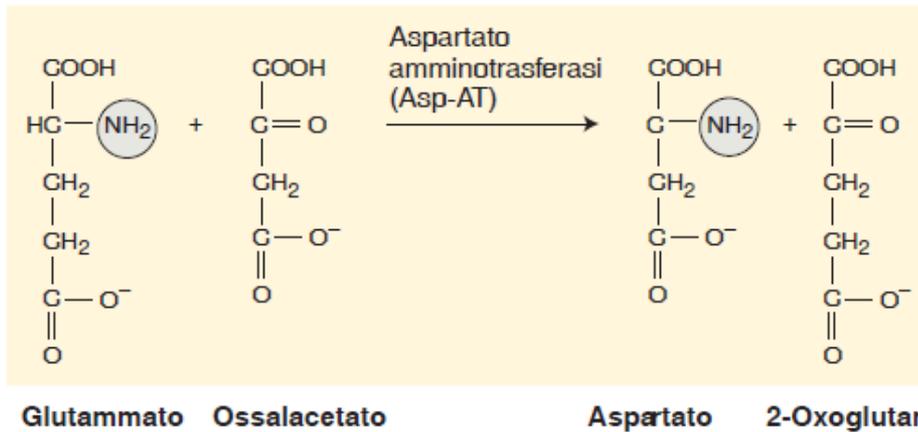
Due isoforme: presente in mitocondri (NADH) e plastidi (NADPH)

Funziona nella deaminazione del glutammato per la riallocazione dell'azoto, oppure se carenza di carbonio per il ciclo di Krebs, catabolismo aa in cellule senescenti, etc..

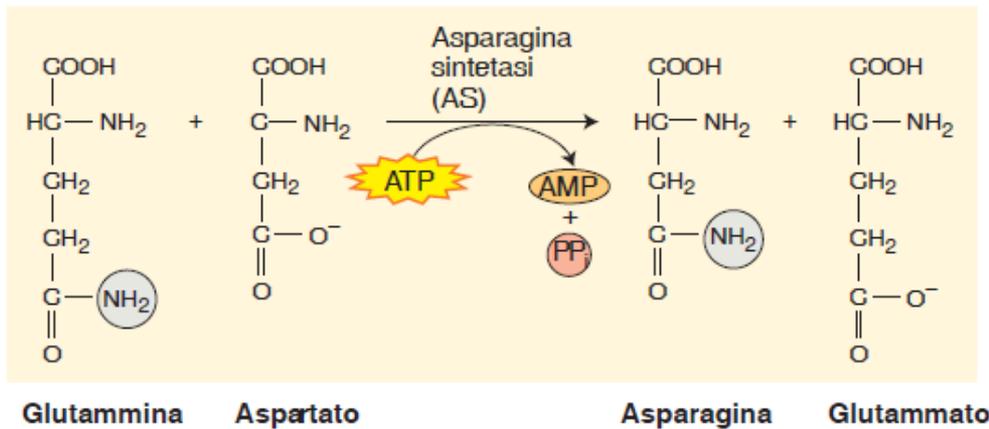


L'azoto incorporato in glutamina/glutammato può essere incorporato in altri aminoacidi

Reazioni di transaminazione (amminotransferasi)



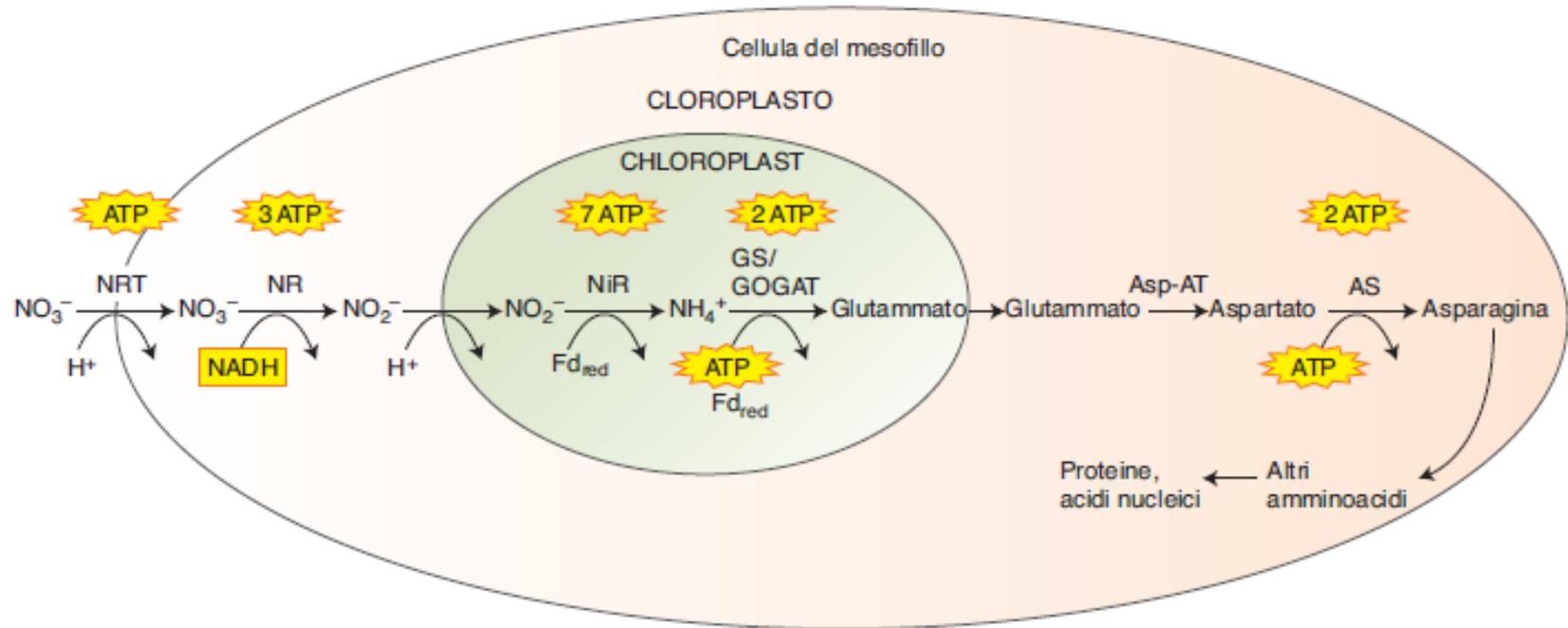
Mitocondri, cloroplasti, perossisomi.
Reazione reversibile. Asp-AT coinvolta anche nel catabolismo dell'aspartato.



Citosol di cellule radicali e fogliari

Via principale di sintesi di asparagina.
Composto chiave per trasporto e accumulo azoto (elevato rapporto N/C)

Riassumendo...



Le piante sintetizzano tutti i 20 amminoacidi

Amminoacidi essenziali (istidina, leucina, isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano, valina, arginina~)

NH₂ da reazioni di transaminazione con: Glutammato, Glutamina, Aspartato

Scheletri carboniosi derivano da:

3-P Glicerato, Fosfoenolpiruvato, Piruvato (glicolisi)

α -chetoglutarato, ossalacetato (ciclo di Krebs)

Fissazione biologica dell'azoto

Processo responsabile della maggior parte della fissazione di N_2 atmosferico

Batteri azotofissatori (procarioti diazotrofi)

- allo stato libero nel suolo
- in simbiosi con le piante

Batteri azotofissatori

TABELLA 12.2

Alcuni esempi di organismi che compiono la fissazione dell'azoto

Fissazione simbiotica dell'azoto	
Pianta ospite	Genere di procariota azoto-fissatore
Piante leguminose: <i>Parasponia</i>	<i>Azorhizobium</i> , <i>Bradyrhizobium</i> , <i>Photorhizobium</i> , <i>Rhizobium</i> , <i>Sinorhizobium</i>
Piante attinoriziche; ontano (albero), <i>Ceanothus</i> (cespuglio), <i>Casuarina</i> (albero), <i>Datisca</i> (cespuglio)	<i>Frankia</i>
<i>Gunnera</i>	<i>Nostoc</i>
<i>Azolla</i> (felce d'acqua)	<i>Anabaena</i>
Canna da zucchero	<i>Acetobacter</i>
Fissazione dell'azoto in batteri liberi	
Tipo di batterio	Genere azoto-fissatore
Cianobatteri (alghe verdazzurre)	<i>Anabaena</i> , <i>Calothrix</i> , <i>Nostoc</i>
Altri batteri	
Aerobici	<i>Azospirillum</i> , <i>Azotobacter</i> , <i>Beijerinckia</i> , <i>Derxia</i>
Facoltativi	<i>Bacillus</i> , <i>Klebsiella</i>
Anaerobici	
Non fotosintetici	<i>Clostridium</i> , <i>Methanococcus</i> (Archebatterio)
Fotosintetici	<i>Chromatium</i> , <i>Rhodospirillum</i>

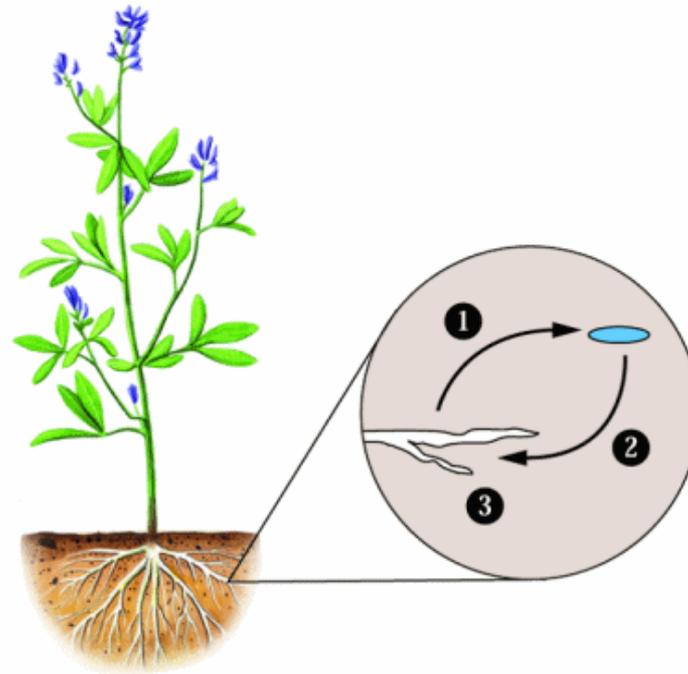
TABELLA 8.1 Alcuni esempi di specificità nelle simbiosi dei rizobii con le leguminose

Batterio	Ospite
<i>Azorhizobium</i>	<i>Sesbania</i>
<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	<i>Glycine</i> (soia)
<i>Rhizobium meliloti</i>	<i>Medicago</i> (erba medica, alfaalfa) <i>Melilotus</i> (meliloto)
<i>Rhizobium leguminosarum</i> biovarietà <i>viciae</i>	<i>Lathyrus</i> (pisello odoroso) <i>Lens</i> (lenticchia) <i>Pisum</i> (pisello) <i>Vicia</i> (fava)
biovarietà <i>trifolii</i>	<i>Trifolium</i> (trifoglio)
biovarietà <i>phaseoli</i>	<i>Phaseolus</i> (fagiolo)
<i>Rhizobium loti</i>	<i>Lotus</i> (ginestrino)



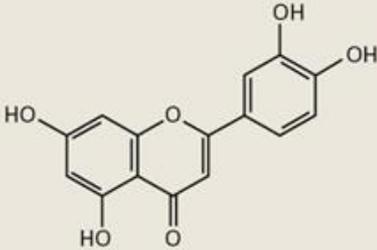
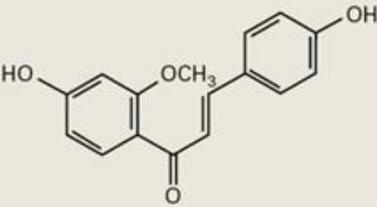
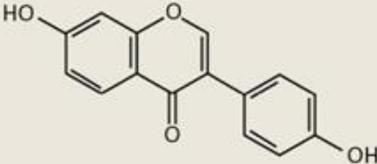
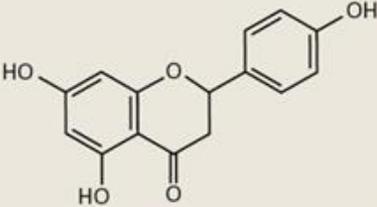
Simbiosi rhizobia/leguminose

L'instaurarsi della simbiosi richiede uno scambio di segnali tra pianta e batteri



- 1 Plant root releases elicitors of *Nod* gene expression.
- 2 Bacterium releases Nod factor.
- 3 Plant root demonstrates ion fluxes, expresses nodulin proteins, is infected, and undergoes nodule morphogenesis.

Flavonoidi: attraggono i batteri e attivano la proteina NodD

Host compounds that actively induce <i>nod</i> gene expression		
Flavonoid inducers Category	Name/activity	Specific structure
Flavone	Luteolin, a flavone inducer from <i>Medicago</i> spp., active on <i>S. meliloti</i>	
Chalcone	4,4'-Dihydroxy-2'-methoxychalcone, a chalcone inducer from <i>Medicago</i>	
Isoflavone	Daidzein, an isoflavone active on <i>B. japonicum</i>	
Flavanone	Naringenin, a flavanone active on <i>R. leguminosarum</i> bv. <i>viciae</i>	

Rizobi: geni *nod* (nodulazione)

Geni nod comuni:

nod A, nod B, nod C

Geni nod ospite specifici:

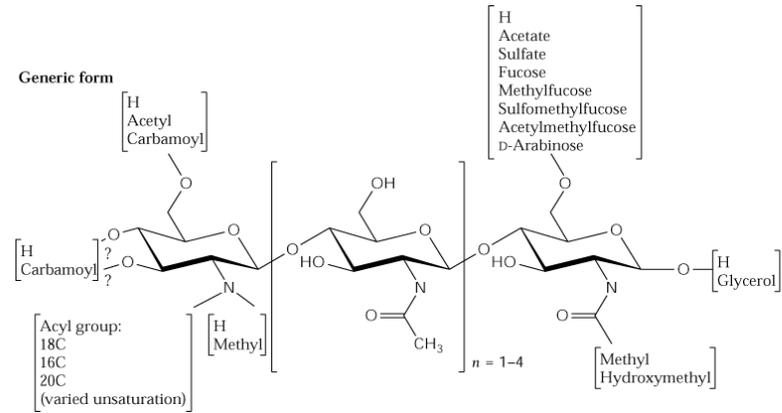
nod P, nod H, nod Q, nod E, nod F, nod L

nodD espresso costitutivamente:

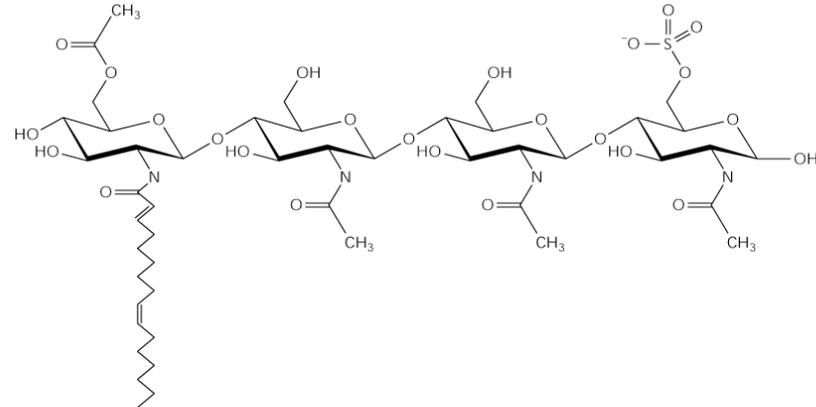
è un prodotto proteico **NodD** (batterico) che regola la trascrizione degli altri geni *nod* che codificano per proteine di nodulazione coinvolte nella produzione dei fattori Nod

I geni *nod*, attivati da NodD, codificano per enzimi di biosintesi dei fattori Nod

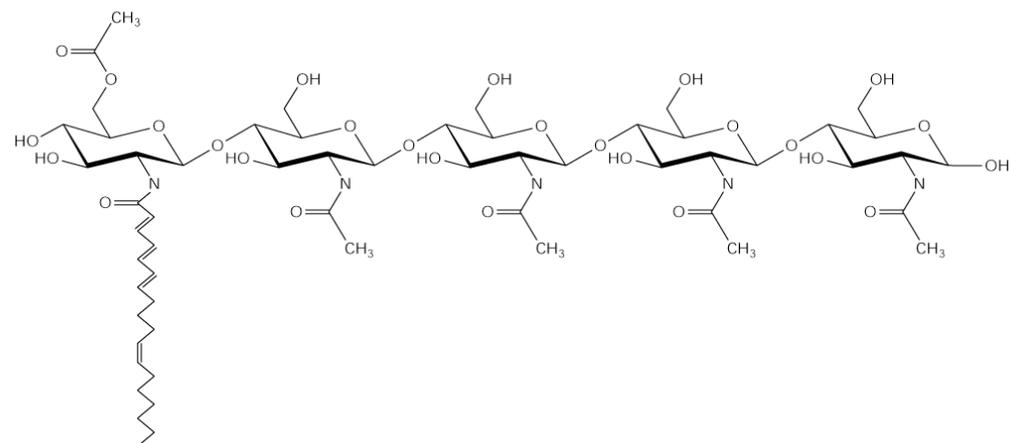
I fattori Nod sono lipo-chitin-oligosaccaridi



S. meliloti



R. leguminosarum bv. *viciae*



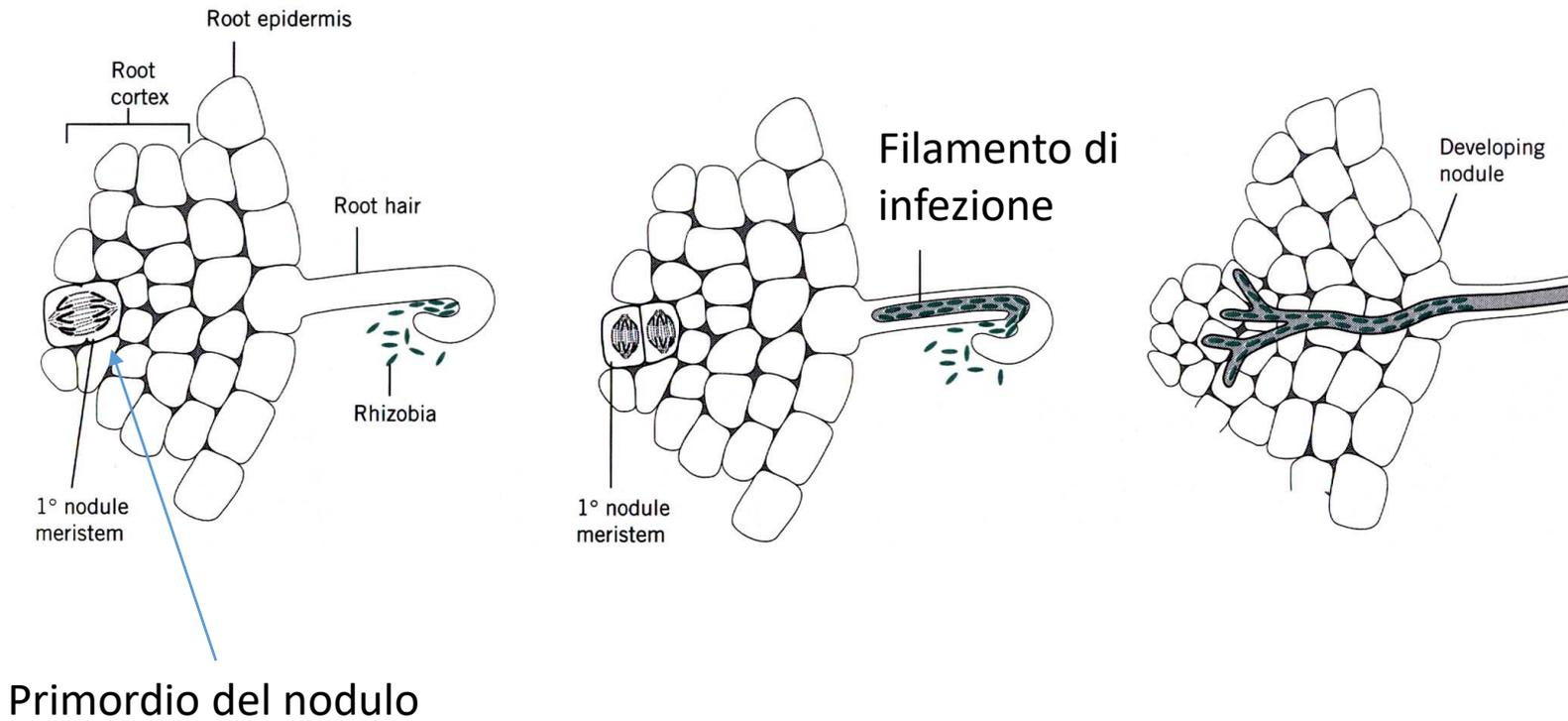
Sono segnali per la simbiosi (fattori di nodulazione)

FORMAZIONE DEL NODULO RADICALE

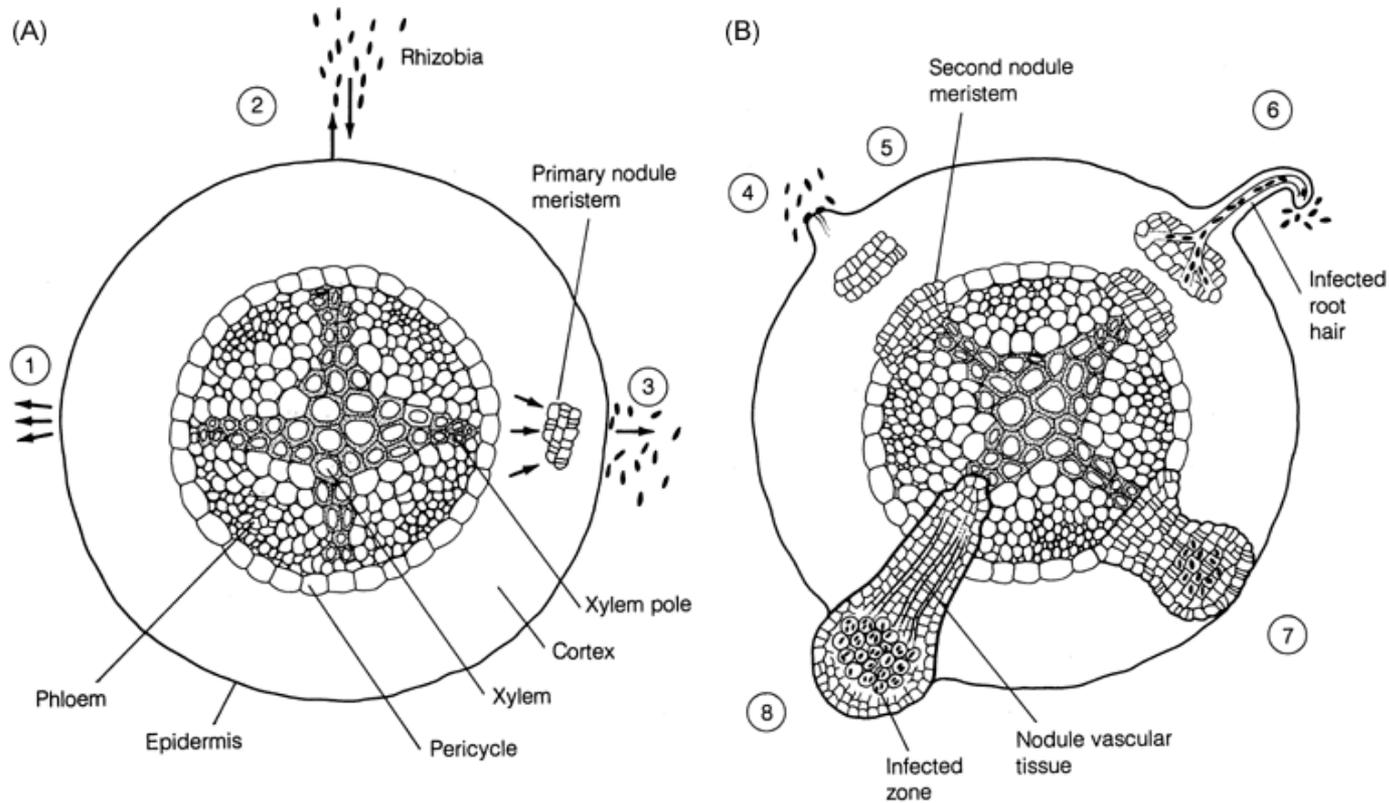
➤ INFEZIONE

➤ ORGANOGENESI

Il processo di infezione

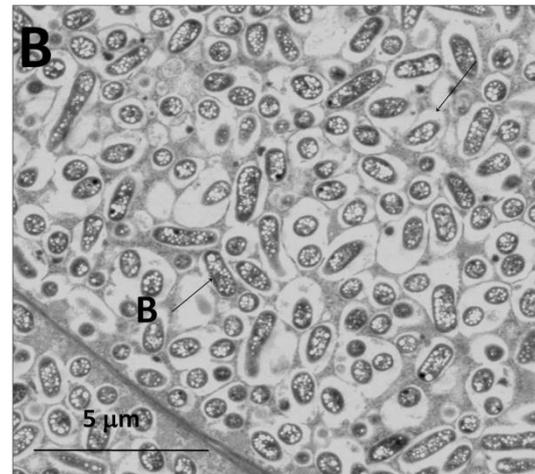
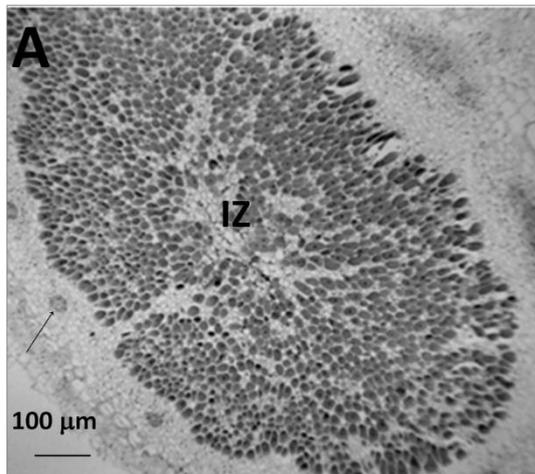
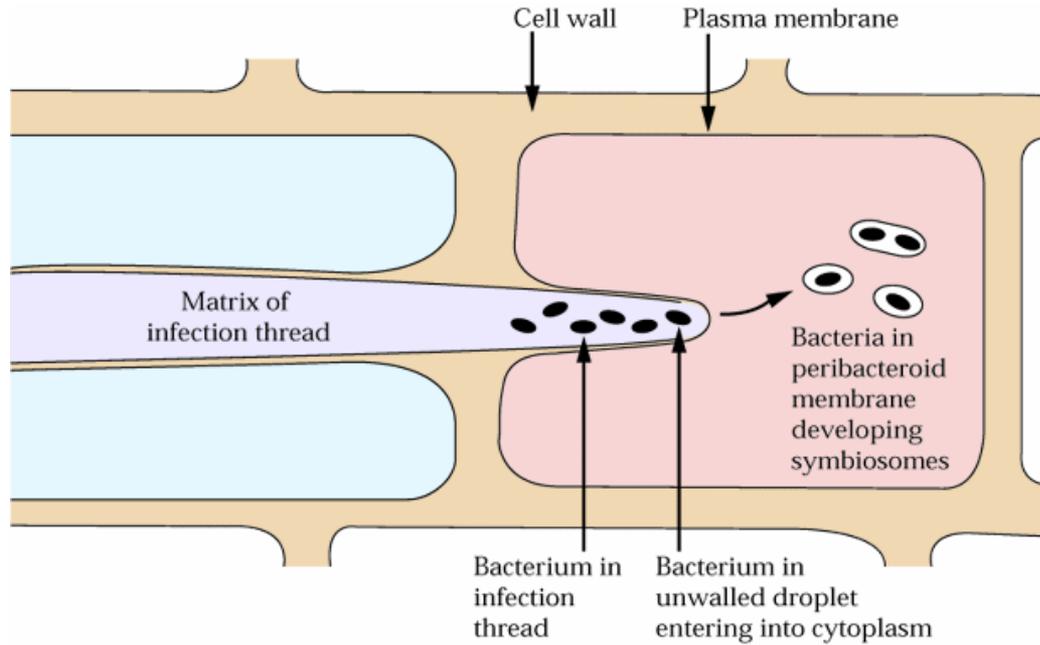


Sviluppo di un nodulo radicale di soia

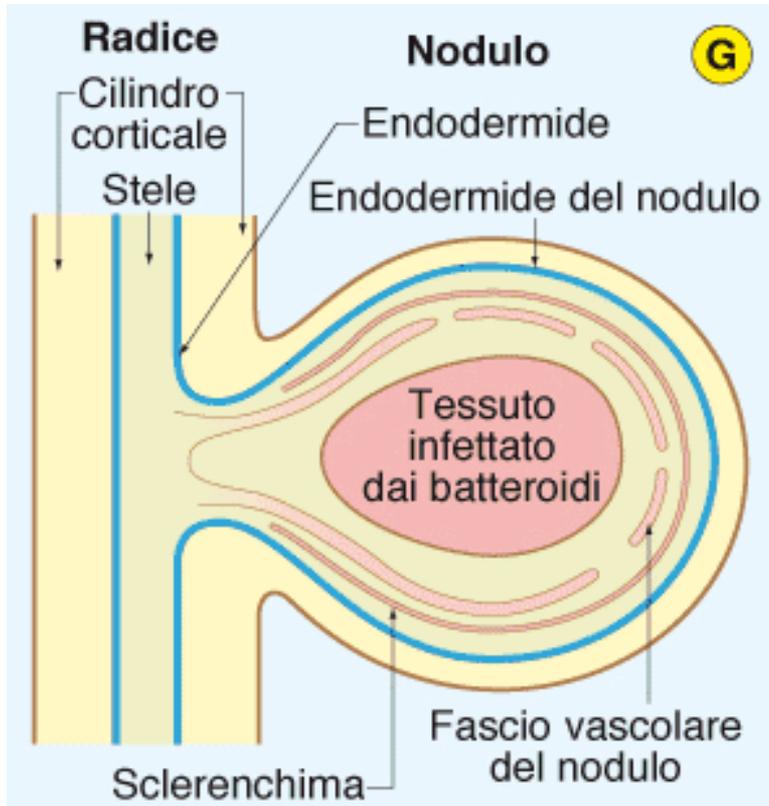


Divisioni cellulari in cellule del cortex (meristema primario del nodulo) e del periciclo (meristema secondario del nodulo)

Rilascio dei batteri dal filamento di infezione



Batteroidi +
membrana
paribatteroidea =
simbiosoma



N_2 è fissato dalla **nitrogenasi**

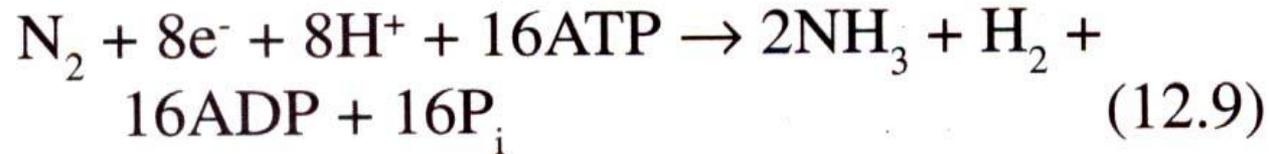


Tabella 12.4 Reazioni catalizzate dalla nitrogenasi

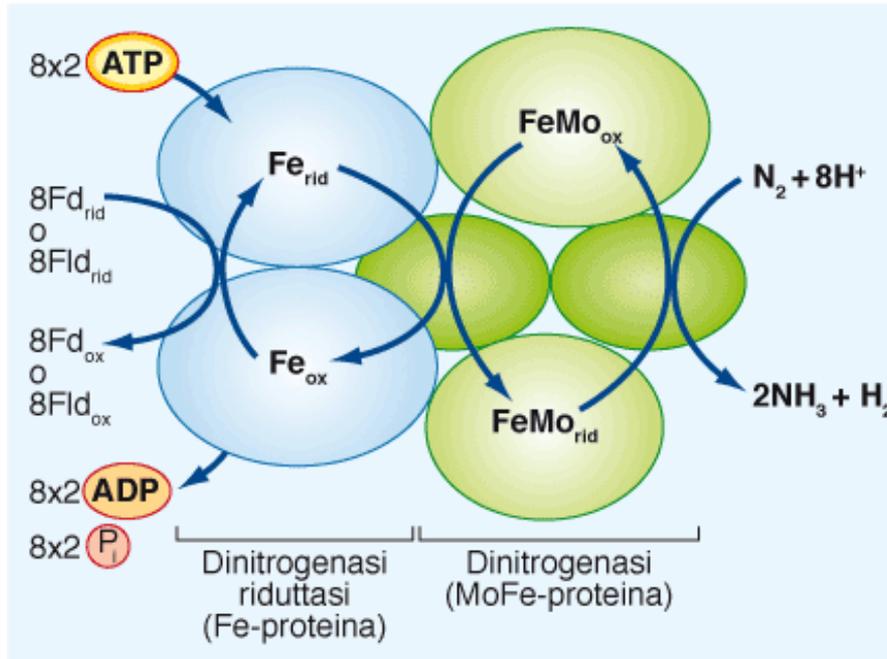
$N_2 \rightarrow NH_3$	Fissazione di azoto molecolare
$N_2O \rightarrow H_2 + H_2O$	Riduzione del protossido d'azoto
$N_3^- \rightarrow N_2 + NH_3$	Riduzione dell'azide
$C_2H_2 \rightarrow C_2H_4$	Riduzione dell'acetilene
$2H^+ \rightarrow H_2$	Produzione di H_2
$ATP \rightarrow ADP + P_i$	Attività idrolitica dell'ATP

Fonte: Da Burris 1976

Schema della reazione catalizzata dalla nitrogenasi

Donatore elettronici:

ferredossina
o
flavodossina



6 eventi di trasferimento di e⁻ per ogni N₂ da ridurre

Fe proteina (dinitrogenasi riduttasi):
omodimero
2 subunità; 40-70 kDa;
1 gruppo 4Fe-4S per ogni dimero;
inibita da O₂

MoFe proteina (dinitrogenasi):
eterotetramero
4 subunità; 250 kDa;
2 gruppi Mo-Fe-S (cofattori FeMo); 2 gruppi Fe S (gruppi P)
inibita da O₂

Richiesto un **grande input energetico** (16 ATP)

Vengono consumati **12 g di C per g di N** fissato

La resa energetica della reazione è diminuita a causa della **produzione di H₂** (perdita del 30-60% dell'energia fornita alla nitrogenasi).

Consumo di 2 elettroni e idrolisi di 4 ATP.

Alcuni batteri/piante possiedono l'enzima **idrogenasi irreversibile** che ossida H₂ a 2 H⁺ con produzione di NADH:

NADH può essere ossidato attraverso la catena respiratoria per produrre 3 ATP. Consumo di O₂

Acquisizione e assimilazione del fosforo

Dopo l'azoto, il fosforo è l'elemento più importante per la crescita delle piante

Mentre l'azoto (nitrato) è mobile nel suolo, il fosforo (fosfato) è relativamente immobile

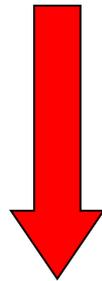
La richiesta di fosforo da parte della pianta è comunque minore di quella di azoto

Il suolo presenta due pools principali di fosforo, in equilibrio tra loro tramite una piccola quantità di P in soluzione



Organofosfati:
fosfolipidi, acidi nucleici ecc...

Fosfati di Ca, Fe, Al, insolubili!
Sostituito di gruppi OH^- adsorbito al suolo!

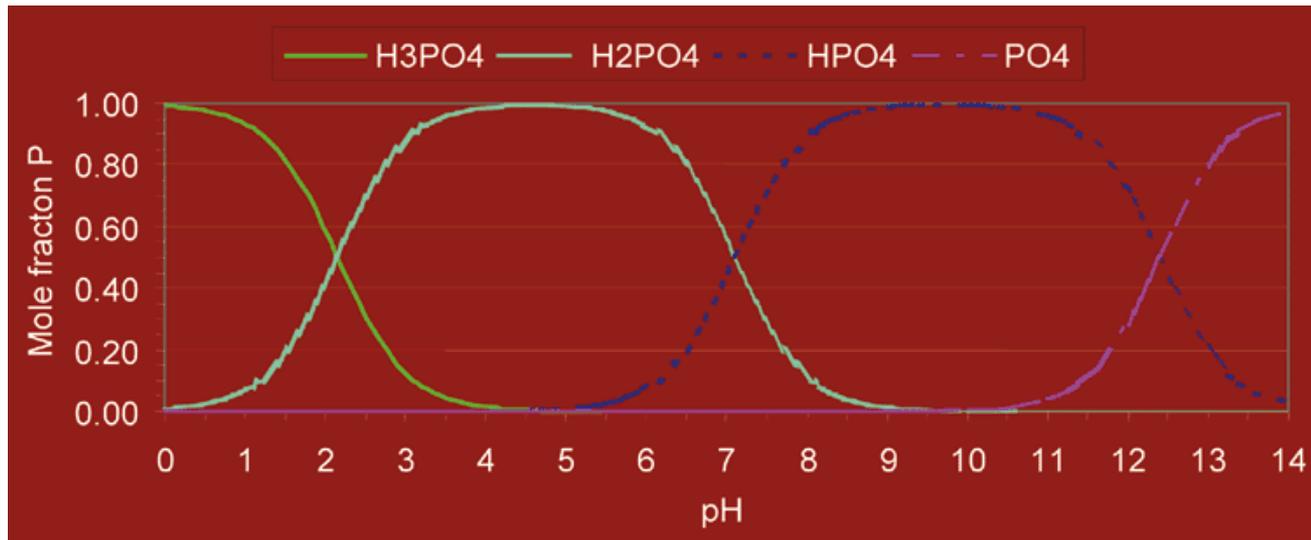


Unica forma che le piante possono utilizzare

Il fosforo è assorbito dalle piante in forma H_2PO_4^- (soprattutto) o HPO_4^{2-}

La presenza/abbondanza di questi due ioni nel suolo è funzione del pH del suolo

L'assorbimento di P solubile da parte delle piante favorisce la conversione di P organico e inorganico nella forma solubile



ASSIMILAZIONE DEL FOSFATO, P_i

Assorbito dalle radici tramite simporto con H^+

Gradiente di potenziale elettrochimico fortemente a sfavore (25-40 kJ/mol)

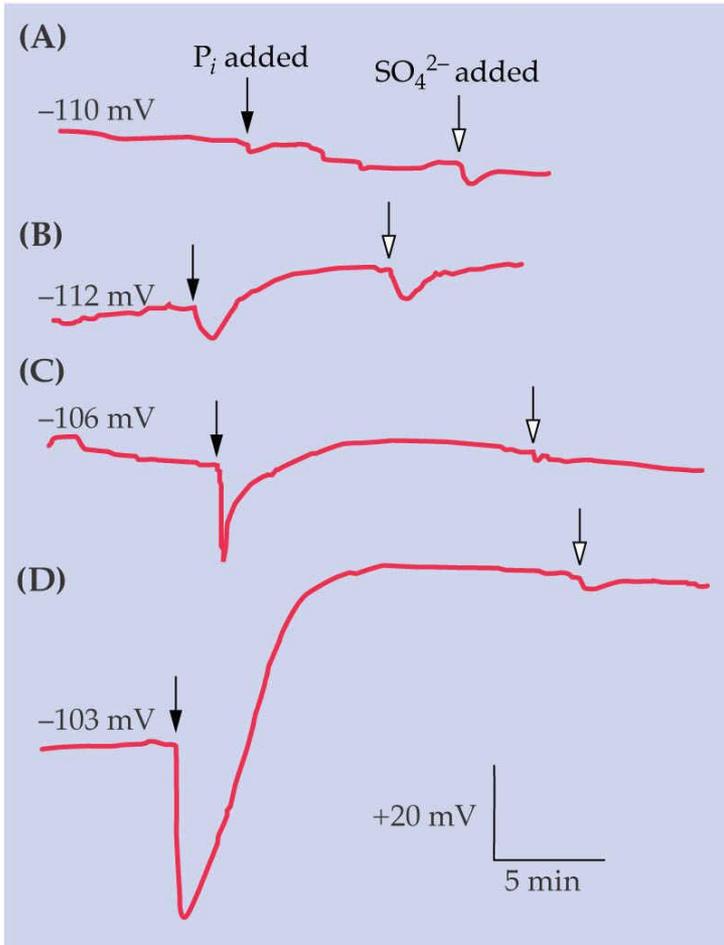
Incorporato in zuccheri fosfati, fosfolipidi, nucleotidi

Punto d'ingresso = ATP

$ADP + P_i \longrightarrow ATP$ (mitocondri e cloroplasti)

Nella glicolisi, P_i incorporato nell'1,3 bisfosfoglicerato

Assorbimento del fosfato



Assorbimento di P_i da cotrasportatori accompagnato da:

- Aumento pH della soluzione
- Depolarizzazione transiente
- Acidificazione del citoplasma (che stimola l' H^+ -ATPasi, che ripolarizza la membrana)

Co-trasporto con 2-4 H^+
Trasportatori ad alta affinità
 $K_m = 1-5 \mu M$

-> **attività regolata dal livello di sufficienza/carenza di P_i**

A: piante allevate con alta disponibilità di P

B-D: piante private di P nel suolo per periodi di tempo progressivamente crescenti

Identificati tre cotrasportatori per P_i in *Arabidopsis*

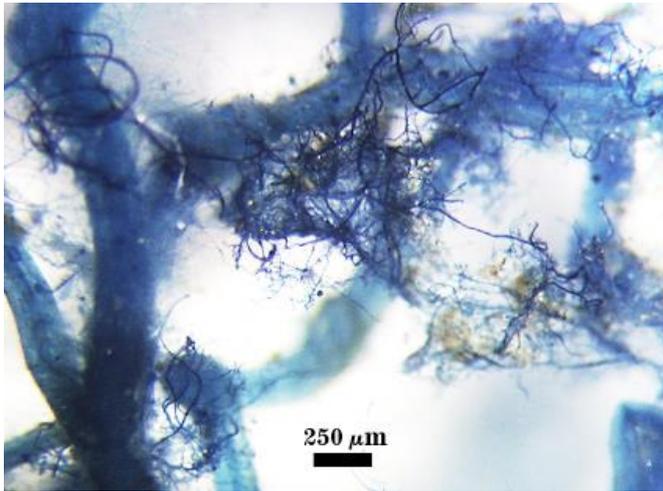
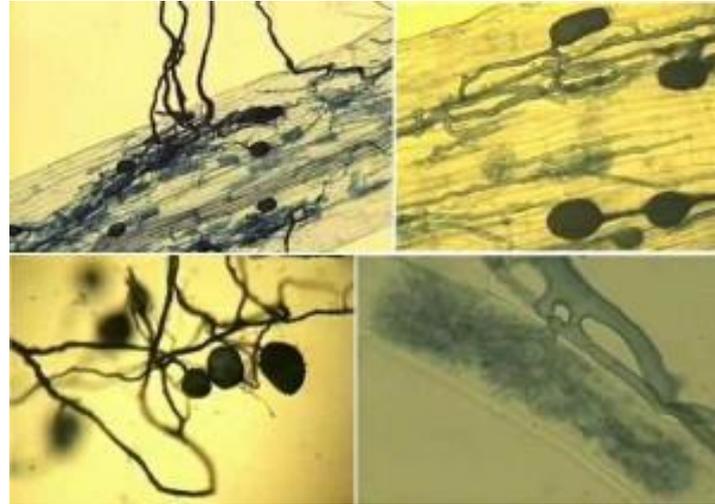
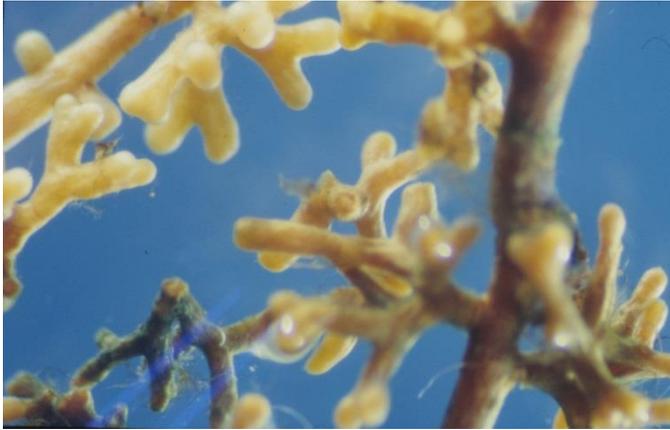
PHT1 (9 geni), PHT2, PHT3

Strategie per aumentare disponibilità e acquisizione di P:

- Aumento biomassa radicale e peli radicali
- Secrezione di fosfatasi (idrolisi di composti organici e rilascio di fosfato inorganico)
- Essudazione di composti organici quali substrati per la crescita di micro-organismi che producono fosfatasi
- Secrezione di composti acidificanti (aumentano solubilità fosfato)

Ciascuna di queste caratteristiche è un potenziale obiettivo di selezione di genotipi (con tecniche tradizionali o approcci molecolari) con aumentata capacità di assorbimento del fosfato

Micorrize



Associazioni micorriziche nell'80%
delle angiosperme



Micorrize ectotrofiche

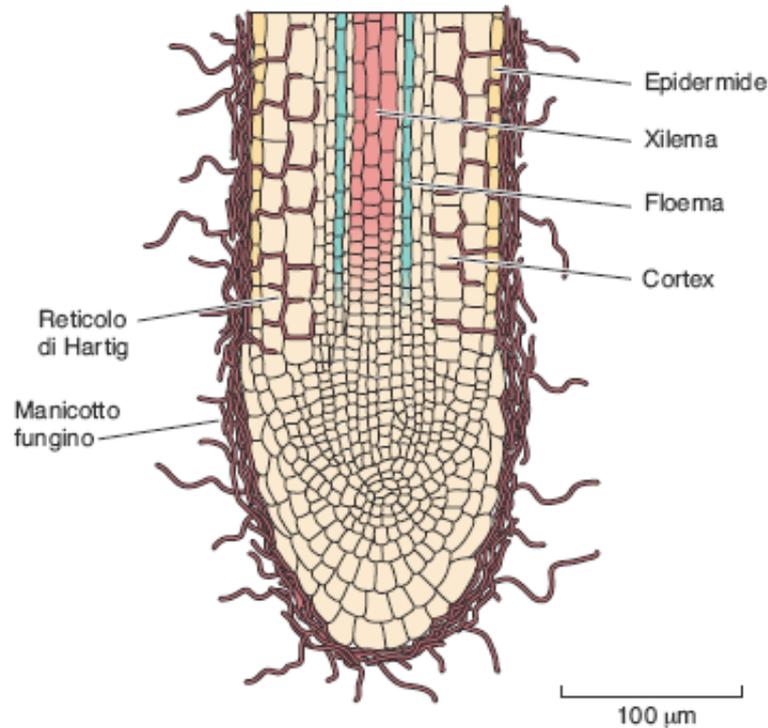


Figura 5.10 Radice infettata da funghi micorrizici ectotrofici. Nelle radici infettate le ife fungine circondano la radice per produrre una densa guaina fungina e penetrano negli spazi intercellulari del parenchima corticale per formare il reticolo di Hartig. Risulta evidente come la massa totale delle ife fungine sia paragonabile alla massa della radice stessa. (Da Rovira et al., 1983).

Micorrize arbuscolari

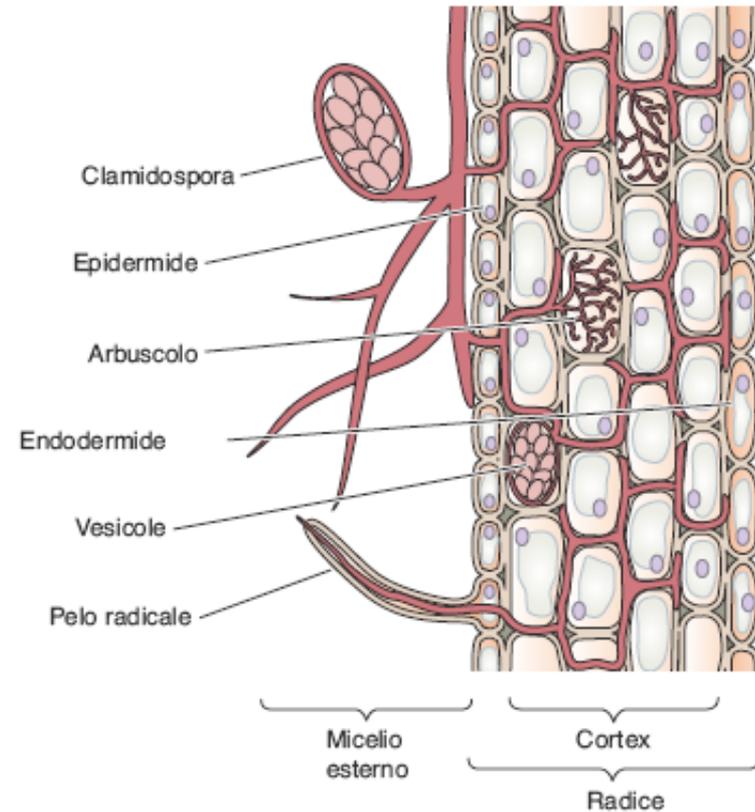


Figura 5.11 Associazione di funghi micorrizici vescicolo-arbuscolari con un segmento di radice di pianta. Le ife fungine crescono fra gli spazi intercellulari di parete del parenchima corticale e penetrano all'interno delle singole cellule. Estendendosi all'interno delle cellule, esse non rompono la membrana plasmatica o il tonoplasto della cellula ospite; al contrario l'ifa, man mano che occupa lo spazio intracellulare, è circondata da queste membrane. In questo processo l'ifa fungina può formare strutture ovoidali dette vescicole o strutture ramificate conosciute come arbuscoli. Gli arbuscoli prendono parte allo scambio ionico di elementi nutritivi fra la pianta ospite e il fungo. (Da Mauserth, 1988).

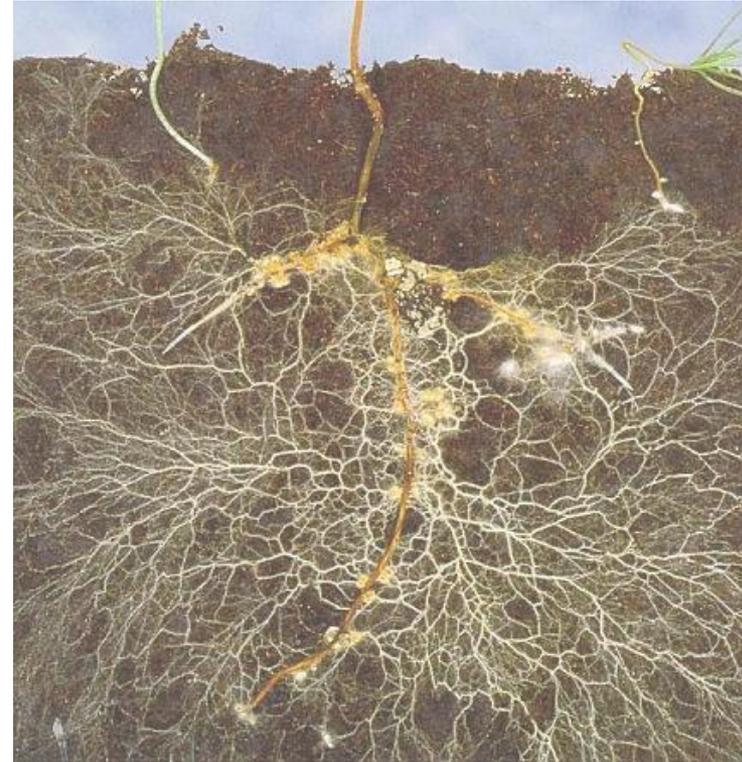
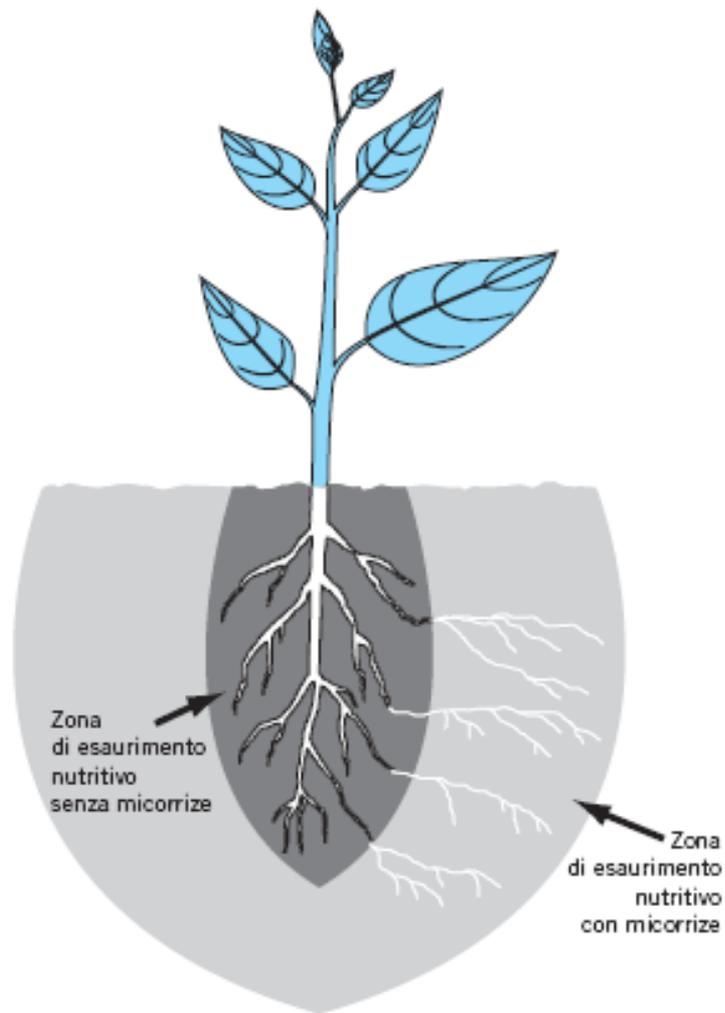
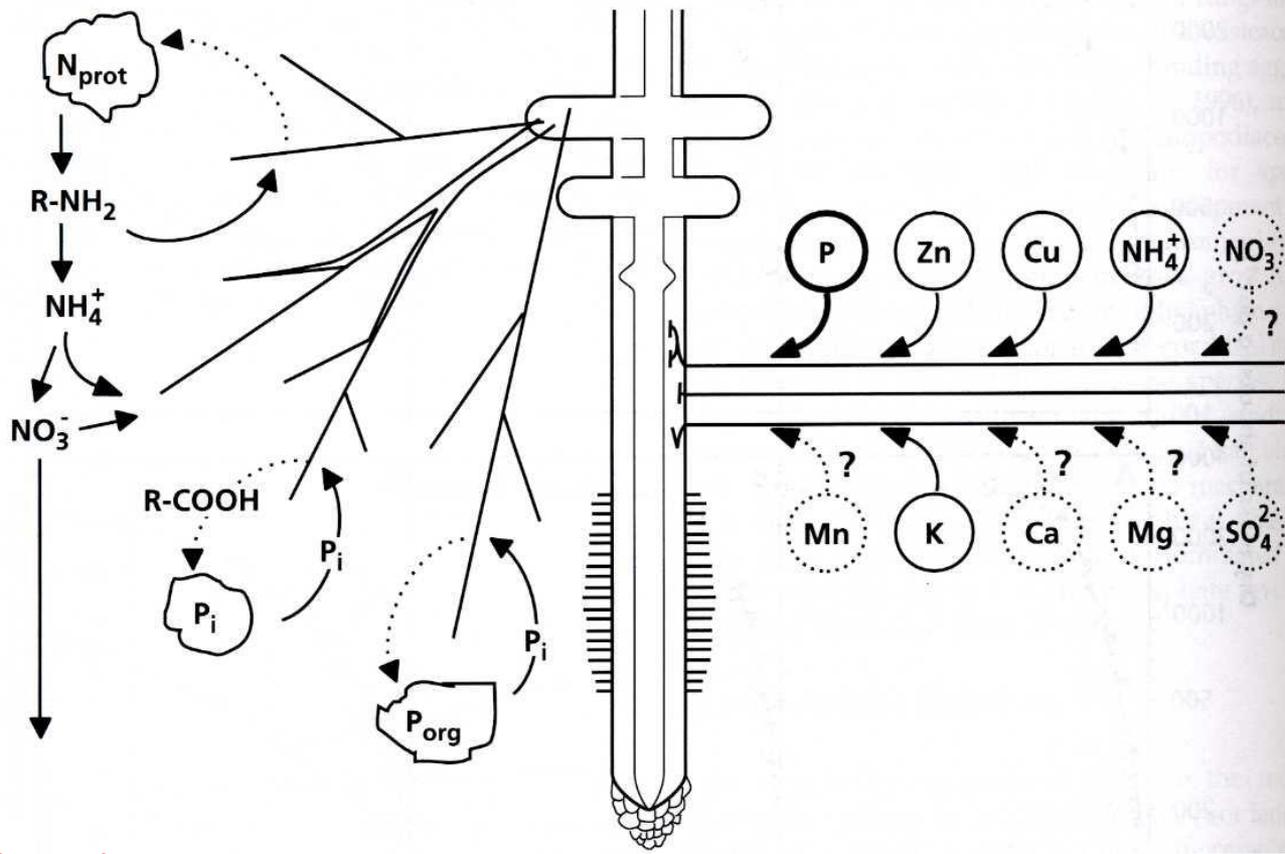


FIGURA 13.16 Una infezione di radici con funghi micorrizici estende la zona di esaurimento nutritivo per una pianta. Questa zona rappresenta il volume di terreno da cui il sistema radicale trae i nutrienti.



Pompe protoniche molto attive

Secrezione di fosfatasi

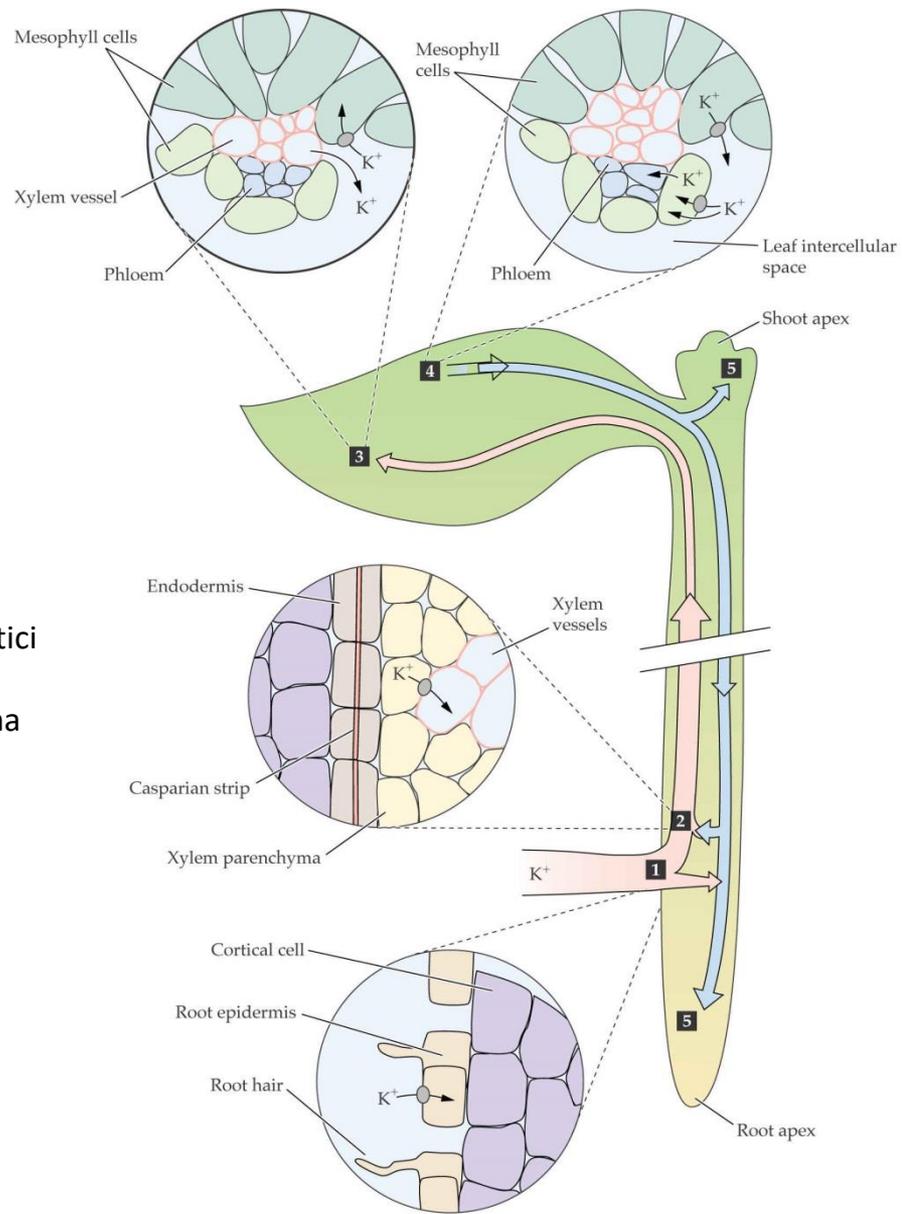
Le micorrize aumentano l'assorbimento di P da parte delle radici da 3-4 a 50-60 volte rispetto a quelle non micorrizzate

In carenza di azoto inorganico, sintesi e rilascio di esoenzimi idrolitici (rilascio di NH_4^+ / aa)

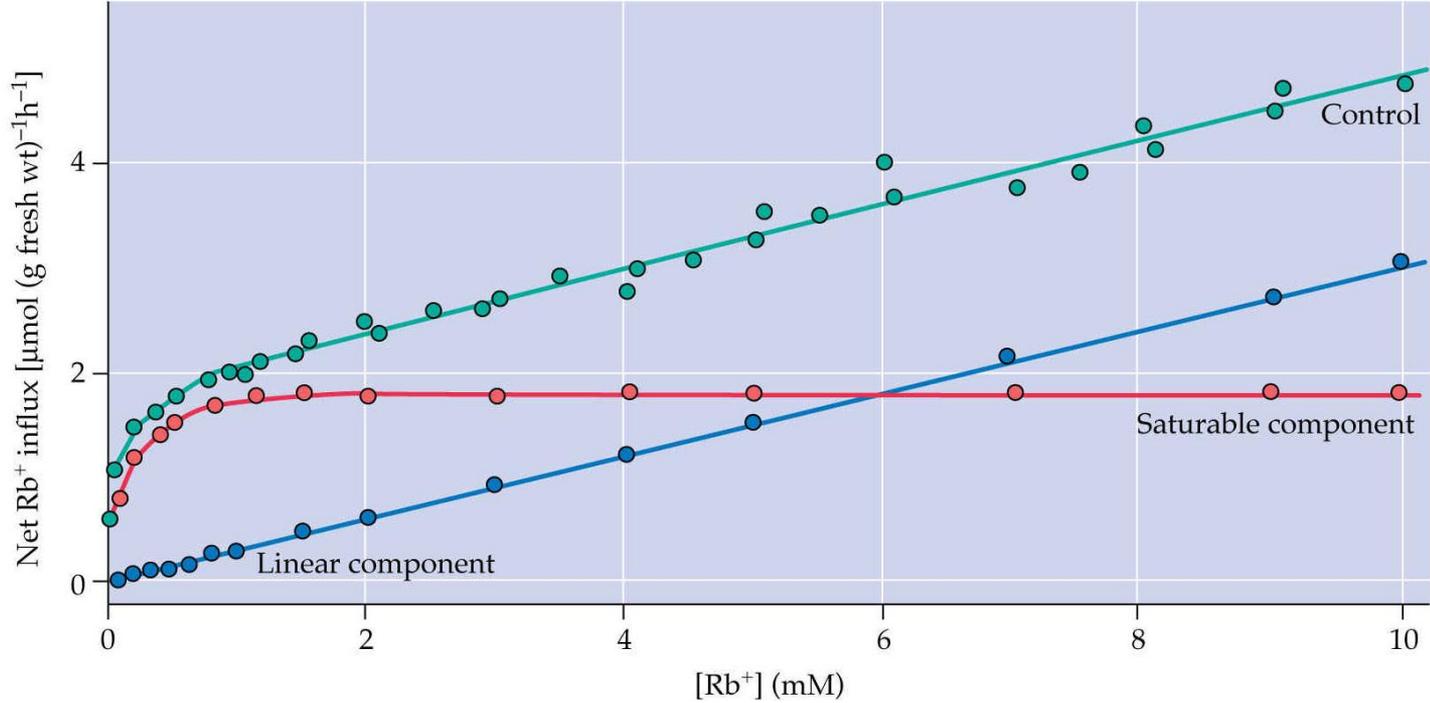
Nelle radici micorrizzate i trasportatori per P_i diventano quasi del tutto inattivi. Il fungo trasferisce direttamente P_i alla pianta. La pianta rifornisce il fungo di carboidrati (fino al 30% del C fissato durante la fotosintesi)

Acquisizione del potassio

- 1) Assorbito attraverso il plasmalemma delle cellule radicali
- 2) Trasportato all'interno dei condotti xilematici
- 3) Traslocato al germoglio attraverso lo xilema
- 4) Caricato nel floema a livello della foglia
- 5) Esportato verso l'apice vegetativo (del germoglio e della radice)

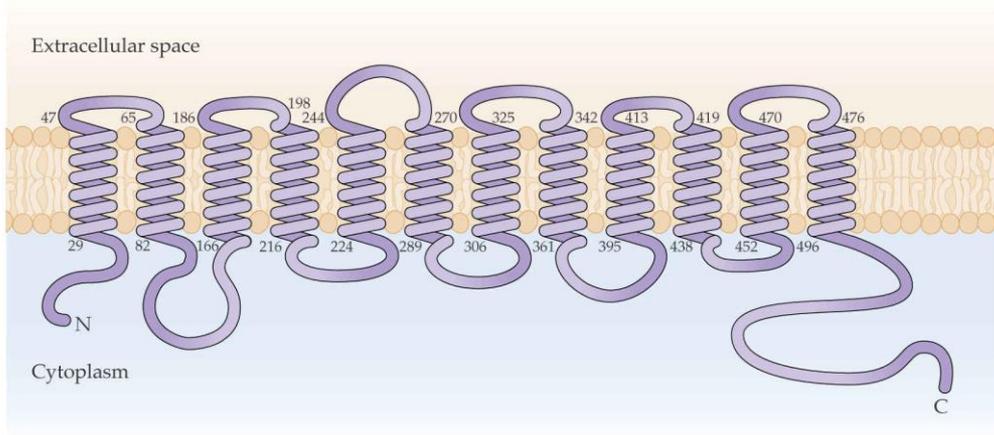


(A)

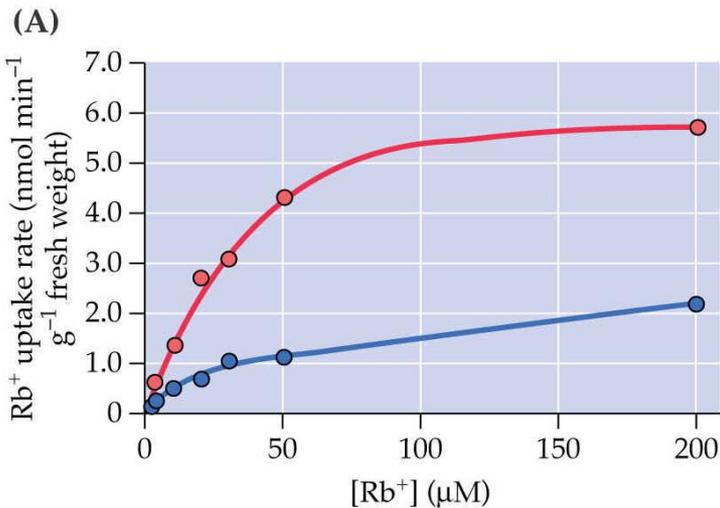


Meccanismo I - alta affinità – simporto K⁺/H⁺

Meccanismo II - bassa affinità – canale per K⁺



<- AtKUP1, traslocatore di simporto H^+/K^+ 79 kDa, espresso sia nella radice che nelle foglie. Possiede affinità duale (alta e bassa)



In rosso: cinetica di assorbimento di un analogo dello ione potassio in cellule di *Arabidopsis* transgeniche che sovraesprimono AtKUP1, confrontate con cellule wild type (blu)

Acquisizione del ferro

Fe abbondante nella crosta terrestre, ma bassa disponibilità per le piante

Solo lo ione ferroso (Fe^{2+}) può essere assorbito dalle radici, ma a pH del suolo tra 6.0 e 8.0 predomina la forma Fe^{3+} (ione ferrico). La maggior parte di questo ferro forma ossidi insolubili a pH neutro.

A pH acido la solubilità di Fe^{2+} aumenta.

Fe^{2+} maggiormente disponibile in condizioni anaerobiche

Le piante utilizzano 3 strategie per solubilizzare e assorbire il ferro:

- Acidificazione della rizosfera
- Riduzione di Fe^{3+} (eventualmente legato a chelanti prodotti da batteri e funghi) a Fe^{2+} . È pH dipendente
- Sintesi di chelanti (fitosiderofori, solo nelle graminacee): legano e solubilizzano Fe^{3+} . Non è pH dipendente

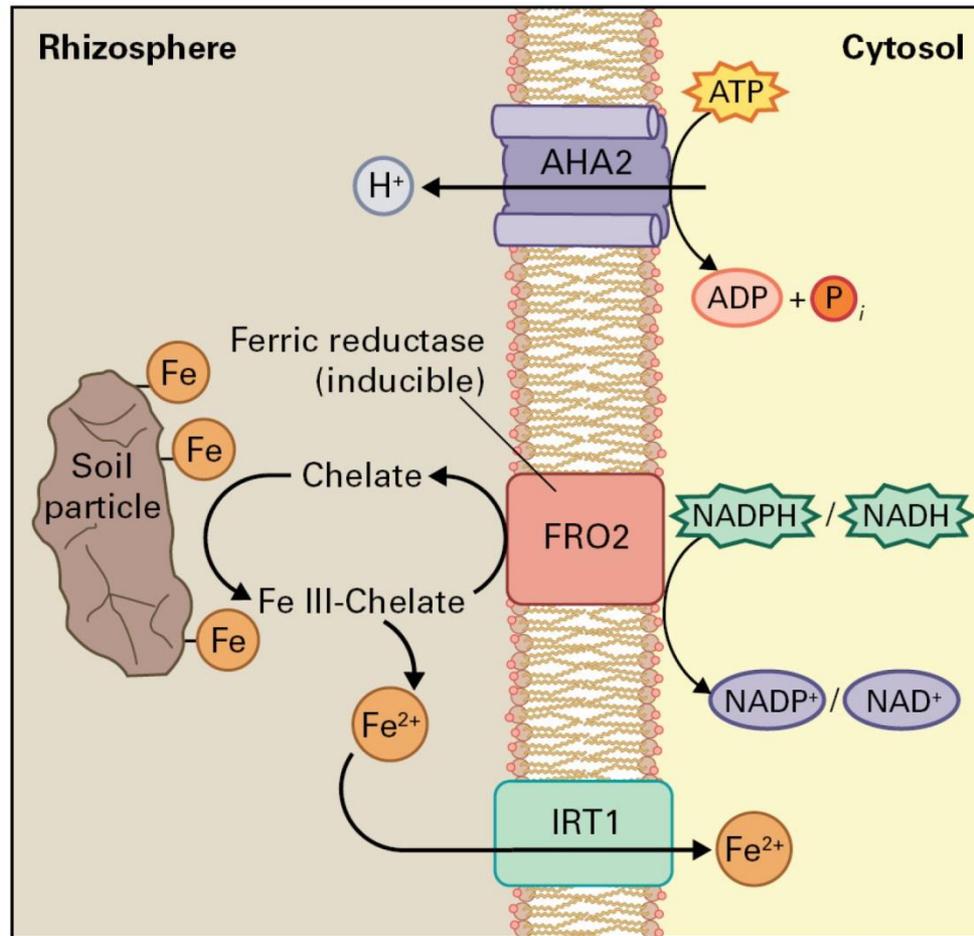
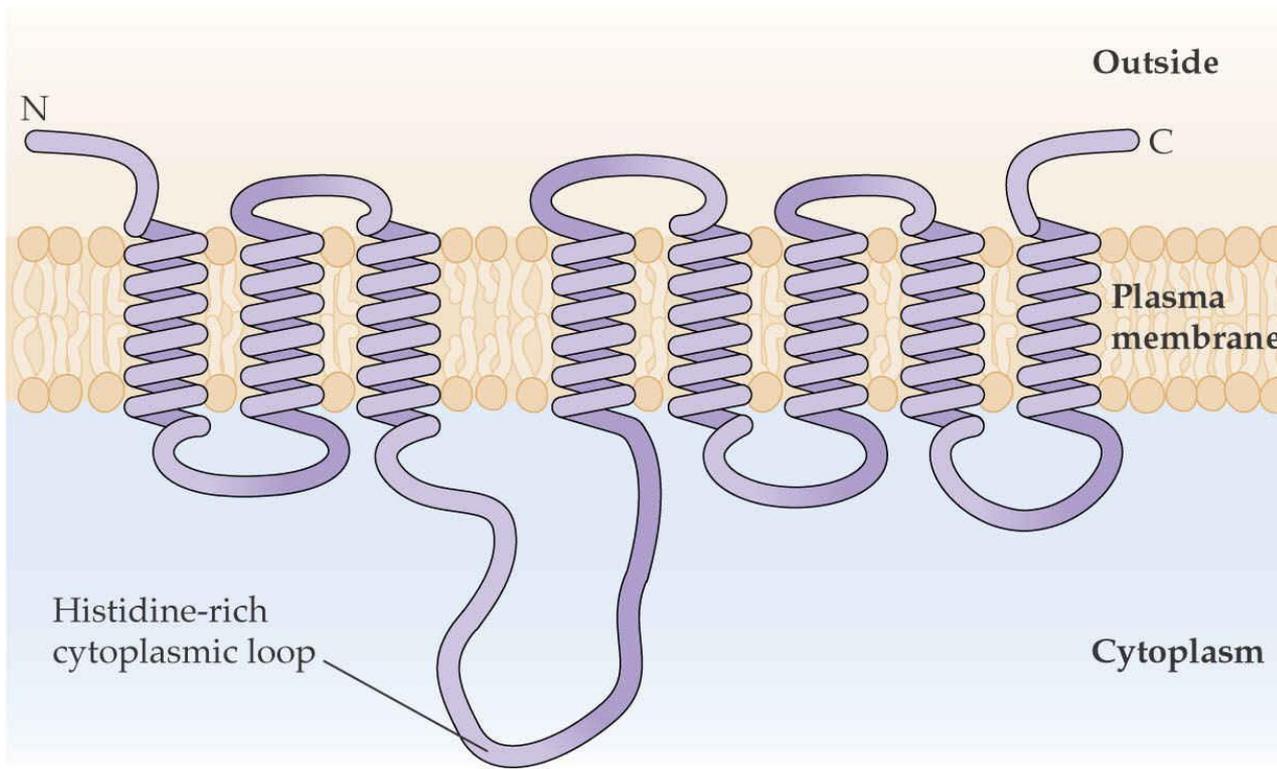


FIGURE 23.14 Model of Fe uptake by eudicots and nongrass monocots. The model depicts the key plasma membrane-localized components that are induced in roots by Fe deficiency in Arabidopsis. These include a plasma membrane H^+ -ATPase (AHA2) which acidifies the rhizosphere and increases Fe solubility, the ferric reductase FRO2 that reduces Fe(III) chelates in the rhizosphere releasing Fe(II), and the high-affinity transporter IRT1 which transports Fe(II) across the plasma membrane.



IRT1 (iron regulated transporter):
trasportatore per Fe^{2+}

Famiglia ZIP: codifica per trasportatori di micronutrienti;
presente in piante, funghi, animali e batteri

8 regioni transmembrana, loop ricco di istidina che lega Fe

Può trasportare anche Cd, con minore affinità

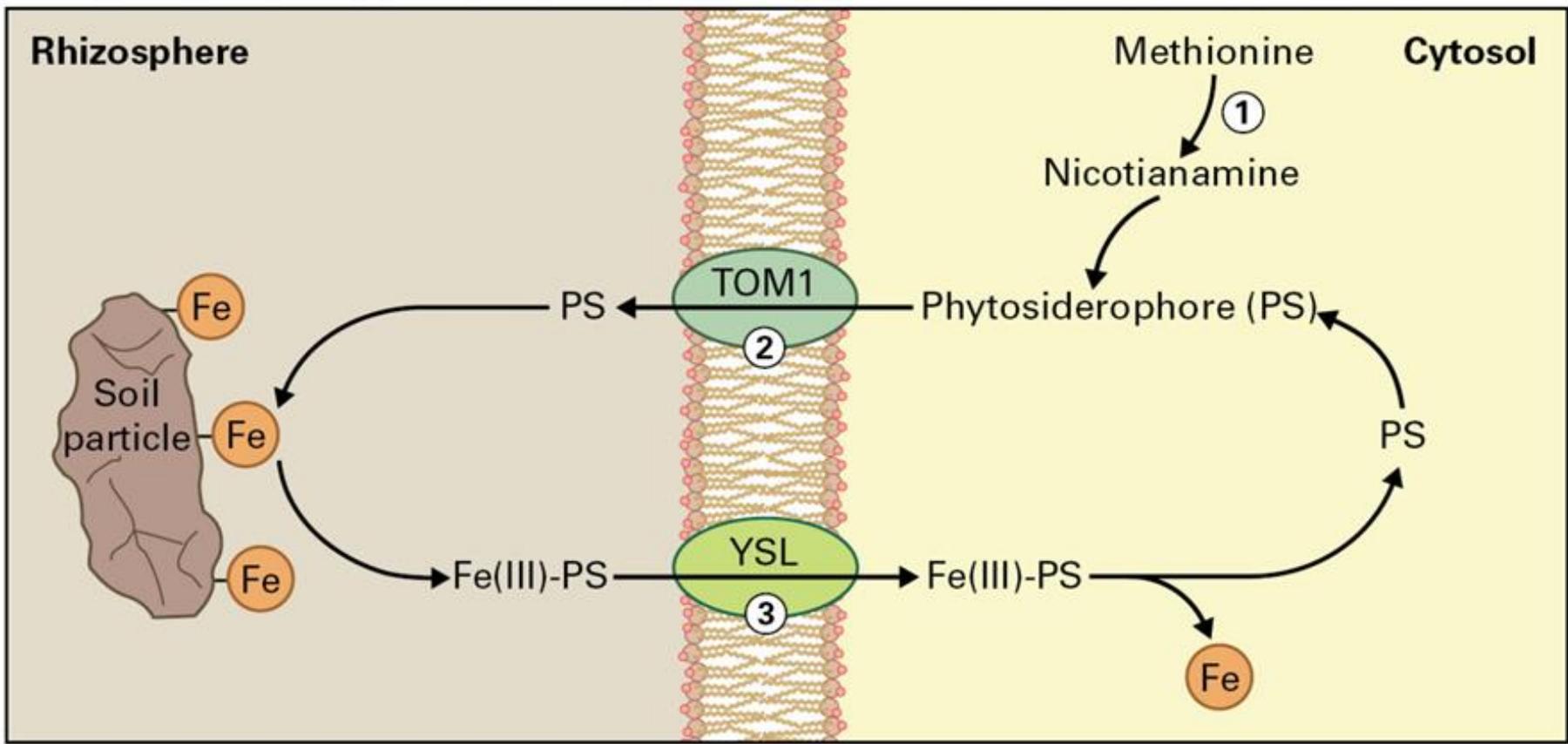


FIGURE 23.18 Model of Fe uptake by graminaceous plants. Phytosiderophores (PS) are synthesized in the cytoplasm from methionine by way of nicotianamine (1); a transporter on the plasma membrane induced by Fe deficiency (called TOM1 in rice) releases the PS into the rhizosphere (2); and a transporter belonging to the YSL family is also induced by Fe deficiency and transports the Fe(III)-PS complex into the cytoplasm (3).

Fitosiderofori:

Prodotti dalle Graminacee

Amminoacidi non proteici (acido mugineico, acido avenico)

TOM 1 (uniporto) indotto da carenza di Fe

YSL (Yellow stripe-like): simportatore H^+/Fe^{3+} -PS

Chelanti rilasciati

dalle radici:

acido malico,

acido citrico,

fenoli

Fe trasportato nella pianta nella forma ossidata (Fe^{3+}), soprattutto in un complesso chelato (es. con citrato)

Nelle foglie, Fe viene assimilato in un precursore porfirinico dei gruppi eme (presenti nei citocromi)

Reazione catalizzata dall'enzima ferrochelatasi

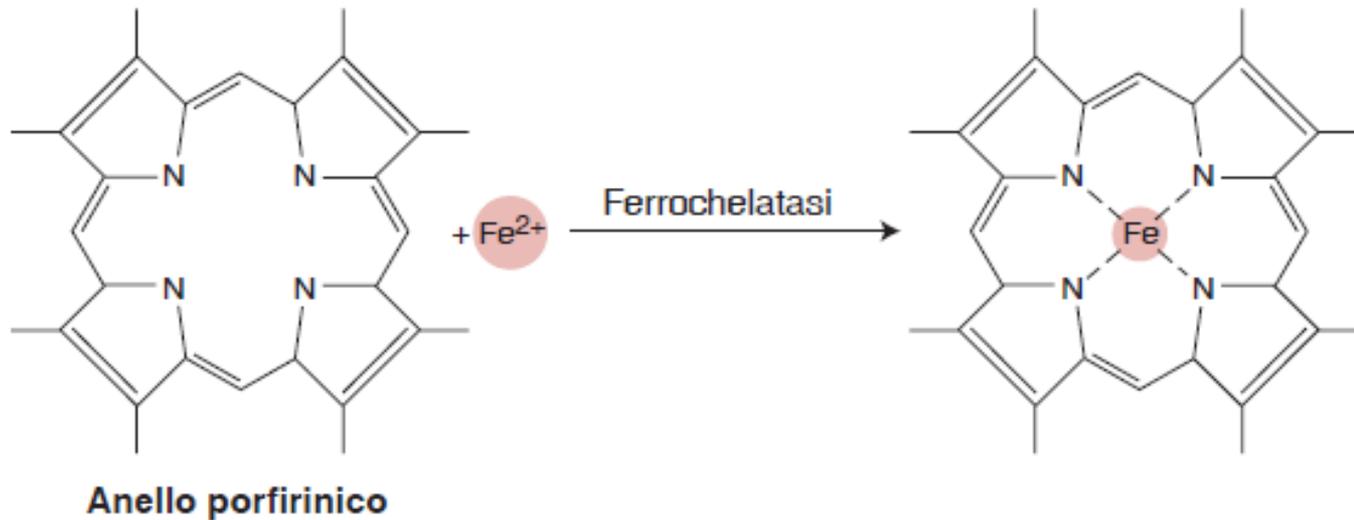


Figura 12.19 La reazione della ferrochelatasi. L'enzima ferrochelatasi catalizza l'inserimento di un atomo di ferro nell'anello porfirinico per formare un complesso di coordinazione. Vedi la Figura 7.36 per la via biosintetica dell'anello porfirinico.