Минеральное питание

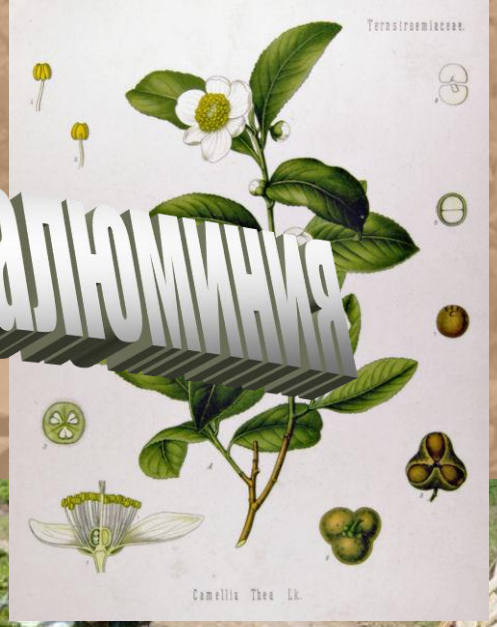
Химический состав растений

Вещество	Рожь, зерновка	Яблоня, плод	Капуста, листья
Всего золы	2.9%	1.44%	20.82%
K_2O	32.1%	35.7%	23.1%
Na_2O	1.5%	26.2%	8.9%
CaO	2.9%	4.1%	28.5%
MgO	11.2%	8.7%	4.1%
Fe_2O_3	1.2%	1.4%	1.2%
P_2O_5	47.7%	13.7%	3.7%
SO_3	1.3%	6.1%	17.4%
SiO_2	1.4%	4.3%	1.9%
Cl	0.5%	следы	12.6%

Накопление алюминия

Orites excelsa (Proteaceae), Австралия

Чайный куст *Camelia sinensis*



Содержание Al_2O_3 в золе достигает 79%!

До 27% Al_2O_3 Поступает в форме AlF_4^-, т.е. высокое содержание фторида

Накопление фтора

Около 40 видов растений из Австралии, Бразилии и Африки накапливают фтор в форме высокотоксичной <u>монофторуксусной кислоты</u>

Монофторацетил-Коэнзим А

Щавелевоуксусная кислота

Монофторлимонная кислота

ОСТАНОВКА ДЫХАНИЯ (ЦИКЛА КРЕБСА)!

Накопление никеля

***Sebertia acuminata*, Новая Каледония**

Млечный сок: 1 моль/л раствор цитрата никеля

1 – 2% Ni в золе, 26% Ni от всех сухих веществ млечного сока!

Накопление селена

Чеснок
Allium sativum
Один зубчик
содержит суточную норму селеноцистеина

Накопление селена

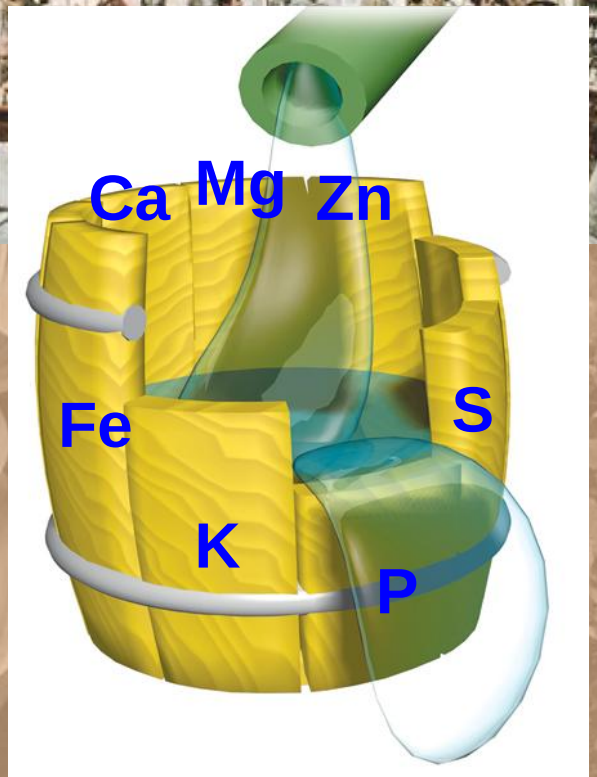
Astragalus pattersonii, Колорадо, США

До 1,2 г Se на 1 кг золы. Токсический эффект – начиная с 1 – 5 мг на кг.

Селен входит в состав селенометилцистеина – аминокислоты, которая встраивается в белки травоядных животных и нарушает их структуру.

Животным полезен селеноцистеин

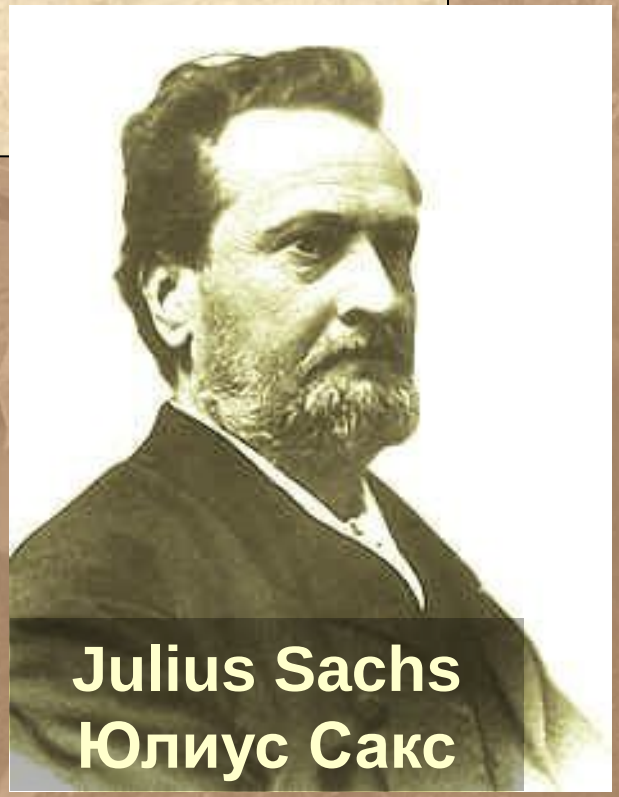
Убывающее плодородие и теория возврата, 1840



Среда Кнопа

Wilhelm Knop
Вильгельм
Кноп

?



Julius Sachs
Юлиус Сакс

1858 г. – «от семян до семян» на искусственной среде

Вещество	Концентрация г/л
$Ca(NO_3)_2$	1.00
KNO_3	0.25
KH_2PO_4	0.25
$MgSO_4*7H_2O$	0.125
$FeCl_3$	0.025

Микроэлементы содержались как примеси в реактивах и воде

Признаки дефицита К и Р

Mineral-sufficient
(control)

Potassium-deficient
(-K)

Phosphorous-deficient
(-P)

Признаки дефицита Fe, Zn, Ca

Iron-deficient
(-Fe)

Zinc-deficient
(-Zn)

Calcium-deficient
(-Ca)

Признаки дефицита Mg, Cu, Mn

Magnesium-deficient
(–Mg)

Copper-deficient
(–Cu)

Manganese-deficient
(–Mn)

Безусловно необходимые элементы

C, H, O – [illegible] элементы, которые не считаю[illegible] ле[illegible] г[illegible] минерал[illegible] и[illegible]ия

N, S, P, K, M[illegible] – [illegible]акр[illegible]ементы

Fe – макро/микроэлемент

B, Mn, Zn, Cu, Mo, Cl – микроэлементы

NPK

Полезные элементы

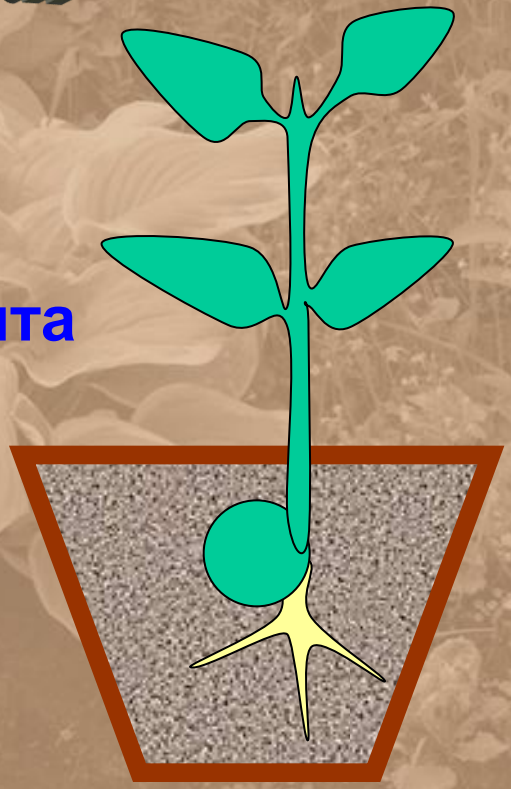
Si – злаки, осоки, хвощи и др.

Na, Cl – галофиты, свекла

АЗОТ

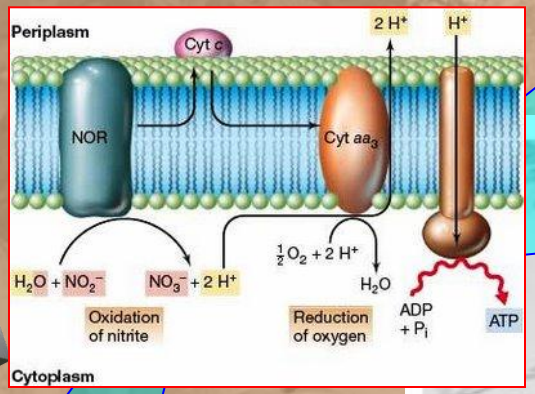
Возможна ли фиксация атмосферного азота?

Содержание азота
в почве + в семенах
до опыта = после опыта



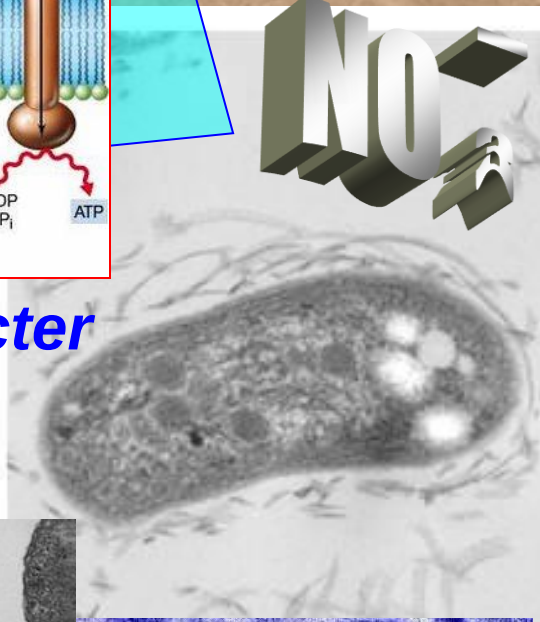
Атмосферный азот (N_2) не пригоден для минерального питания растений, нужен нитрат или аммоний!

Нитрификация

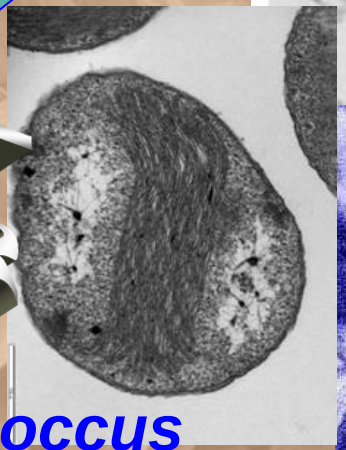


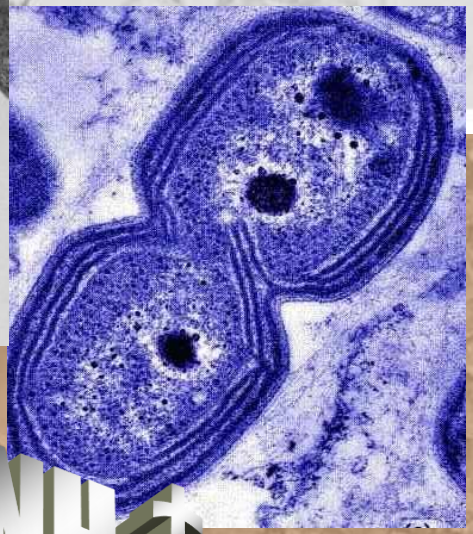
NO_2^-

Nitrobacter



NO_3^-





Nitrosococcus
Nitrosomonas

NH_4^+

Мартин Бейеринк

Накопление залежей калийной селитры

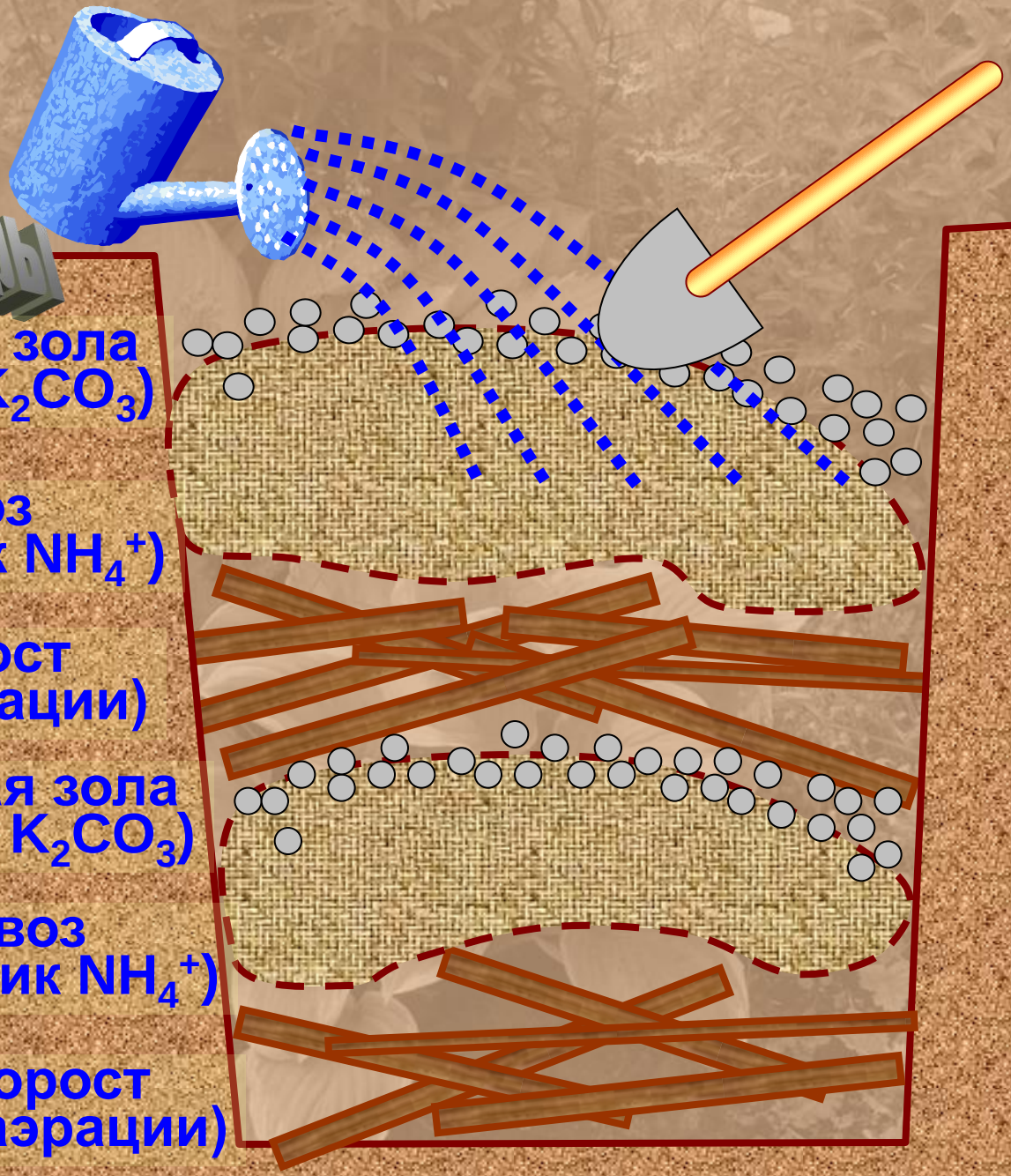
Нитрификация экскрементов в аэробных (относительно сухих) условиях

Растительная пища, богатая калием и азотом

Изобретение дымного пороха

Огнестрельное оружие.
Мушкетеры династии Минь

Получение калийной селитры



Древесная зола (источник K_2CO_3)

Навоз (источник NH_4^+)

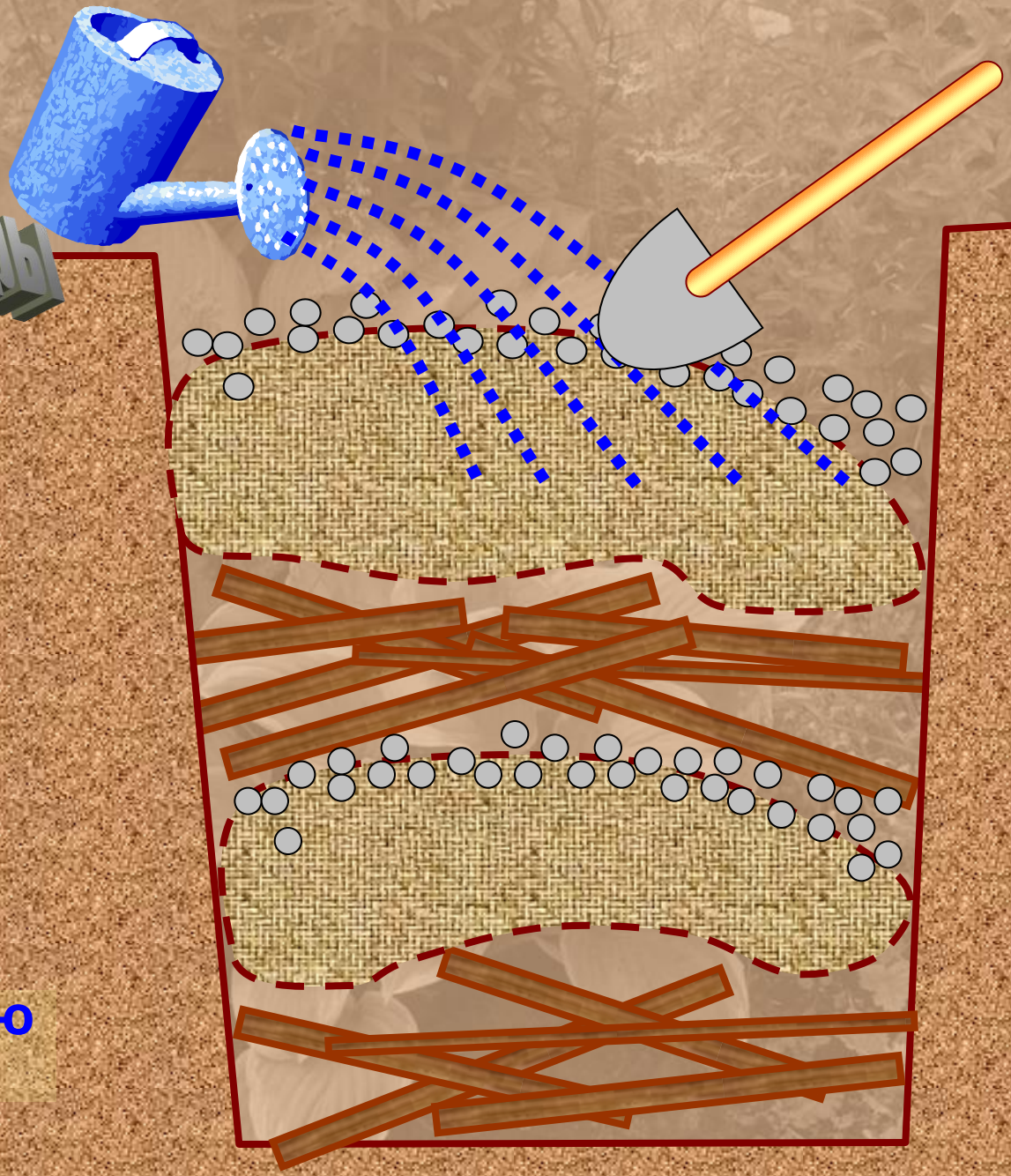
Хворост (для аэрации)

Древесная зола (источник K_2CO_3)

Навоз (источник NH_4^+)

Хворост (для аэрации)

Получение калийной селитры



После окончания ферментации (нитрификация)

1. Экстракция горячей водой
2. Упаривание
3. Кристаллизация
4. Высушивание
5. Помол с помощью медных жерновов

Война или мир?

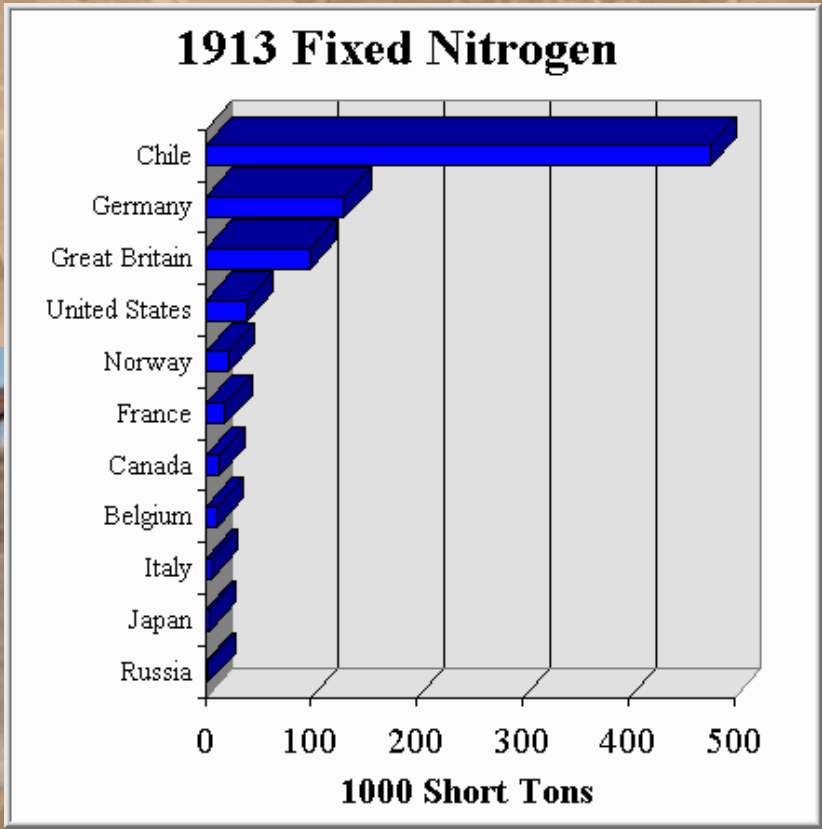
Снижение урожаев в Западной Европе, рост недовольства. Ухудшение снабжения армии

Война или мир?

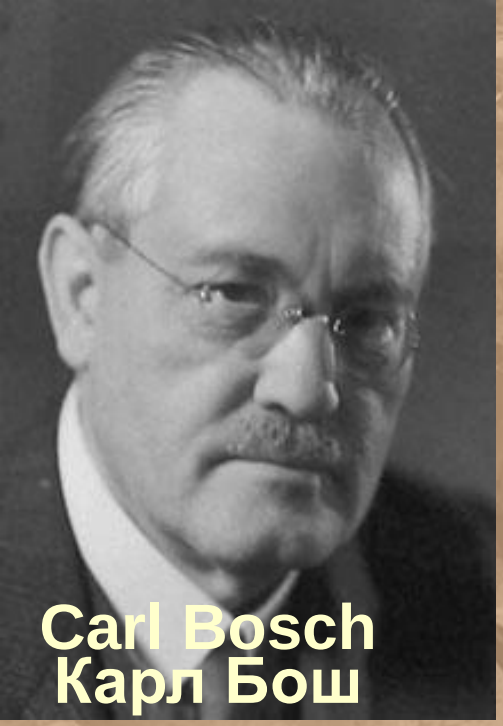
Накопление залежей натриевой селитры

Чилийская селитра $NaNO_3$

Дата	Судно	Вывезено чилийской селитры
Март 1812	Фрегат «Трэйл»	150 тонн
Май 1812	Бриг «Санта Барбара»	180 тонн
Август 1812	Фрегат «Трэйл»	161 тонна
Сентябрь 1812	Фрегат «Эспекуласьон»	209 тонн
Ноябрь 1812	Бриг «Пилар»	46 тонн
Декабрь 1812	Бриг «Канделария»	156 тонн
Всего за 1812 год		**902 тонны**

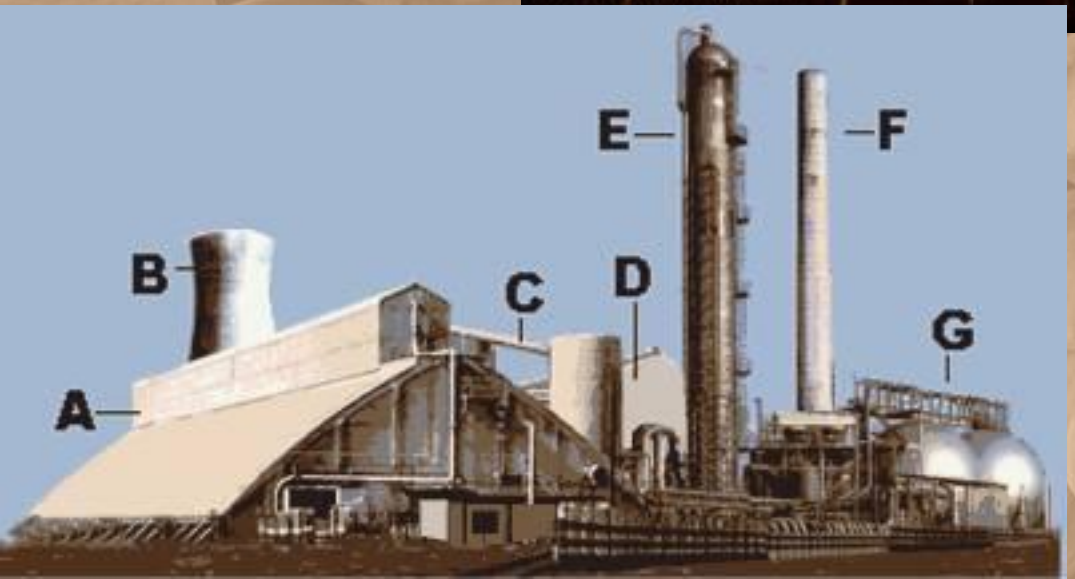


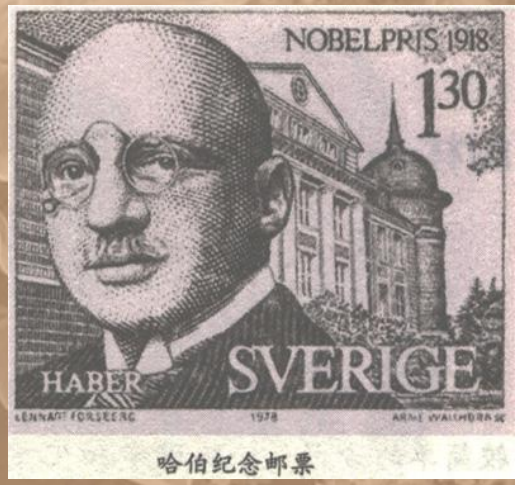
Промышленная фиксация азота



Carl Bosch
Карл Бош

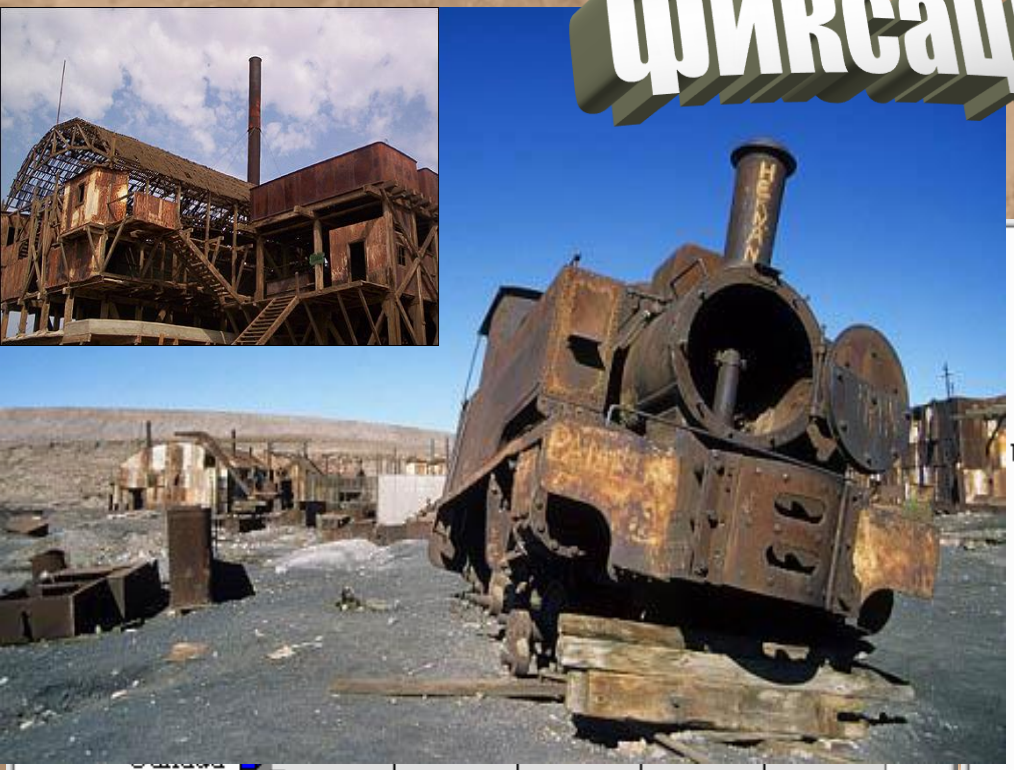
Fritz Haber
Фриц Габер

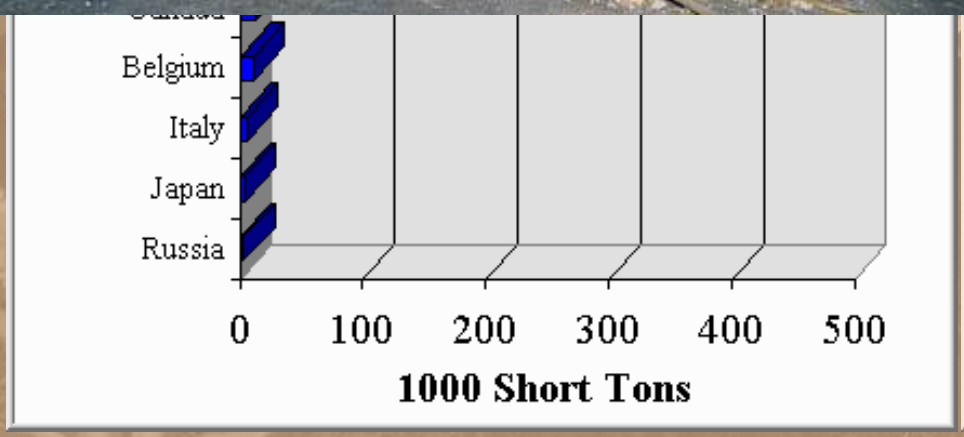


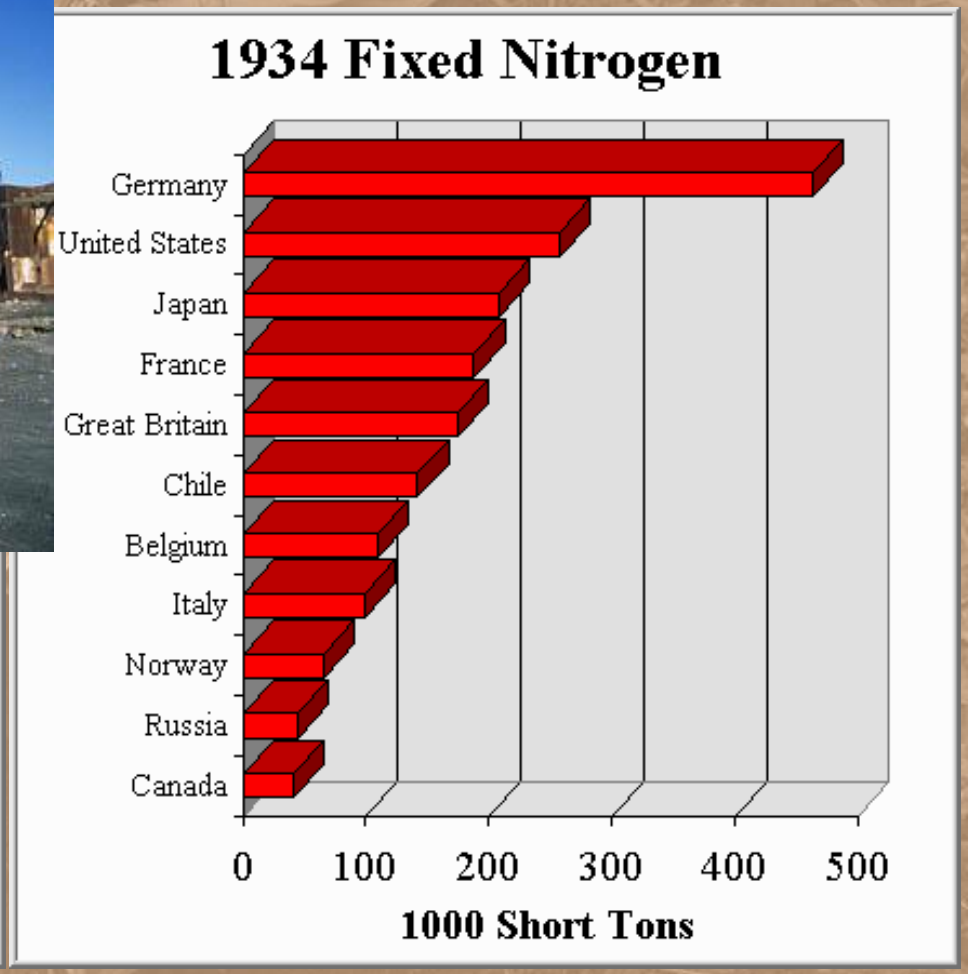


哈伯纪念邮票

Промышленная фиксация азота

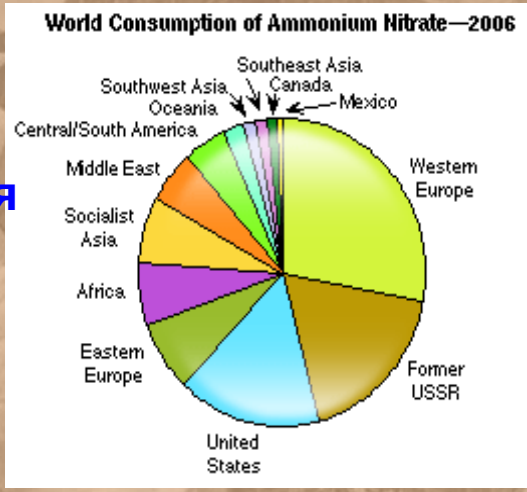






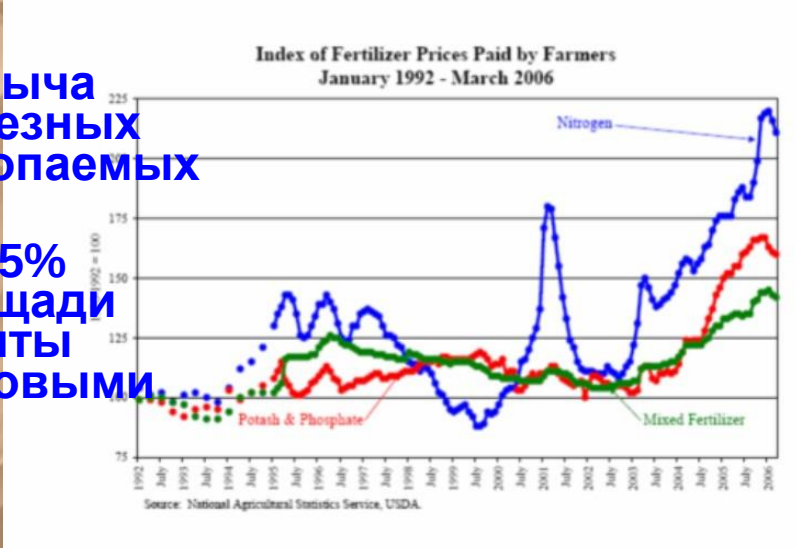
Поступление азота в наземные биоценозы

Промышленная азотфиксация: активность человека дает около 50% азота!



Добыча полезных ископаемых

20-25% площади заняты бобовыми



Симбиотическая фиксация азота

Биологическая азотфиксация

Симбиотическая фиксация молекулярного азота

Бобово-ризобиальный симбиоз (*Rhizobium*)

***Rh. leguminosarum* – бактерии гороха, вики, кормовых бобов, чечевицы,**
***Rh. phaseoli* – фасоли,**
***Rh. vigna* – вигны, маша, арахиса,**
***Rh. cicer* – нута,**
***Rh. lupini* – люпина,**
***Rh. trifolii* – клеверов,**
***Rh. meliloti* – люцерны, донника,**
***Rh. simplex* –эспарцета,**
***Rh. robinii* – акации.**

Симбиозы ольхи, облепихи
Актиномицеты из рода *Frankia*

<u>Бобовые:</u> 250 млн га (около 18% от общей площади полей) До 35 000 000 т N (около 75% от всей фиксации N_2 на полях; 23% от биосферной фиксации; примерно равно всей азотфиксации в океане!)

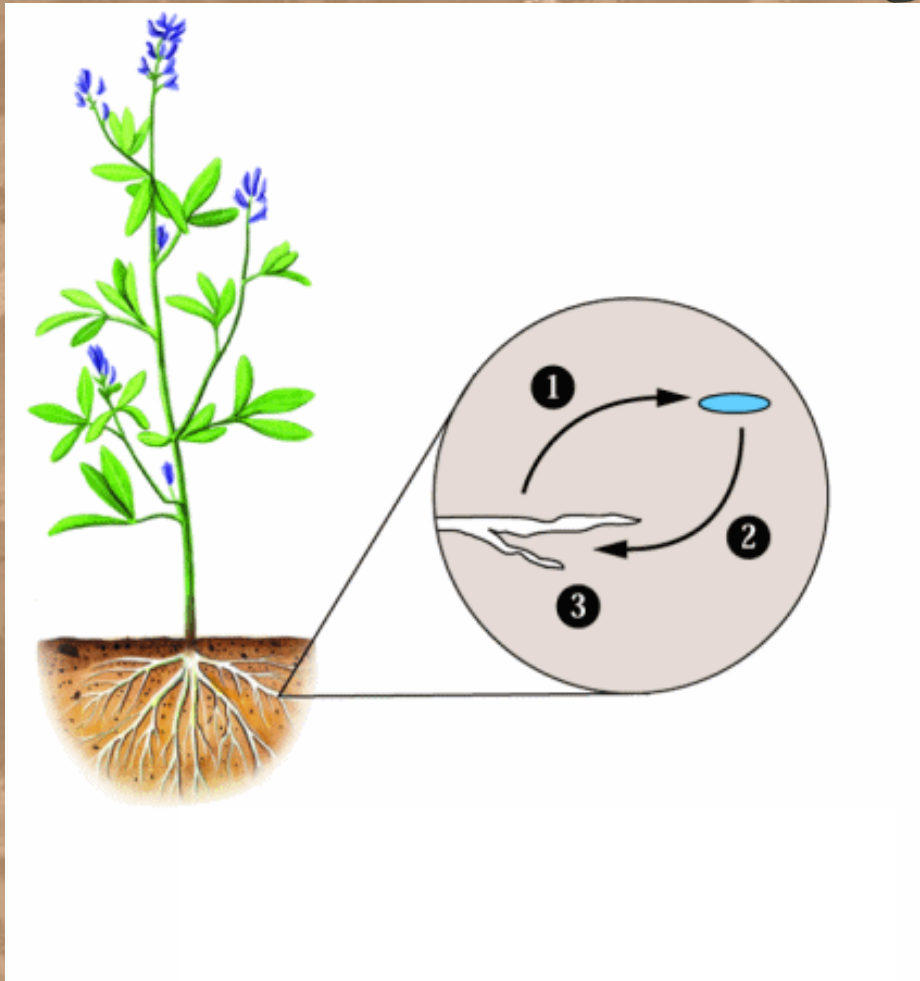
кет
мых
и
т.
ия
ый
ван

Эффективность фиксации атмосферного азота

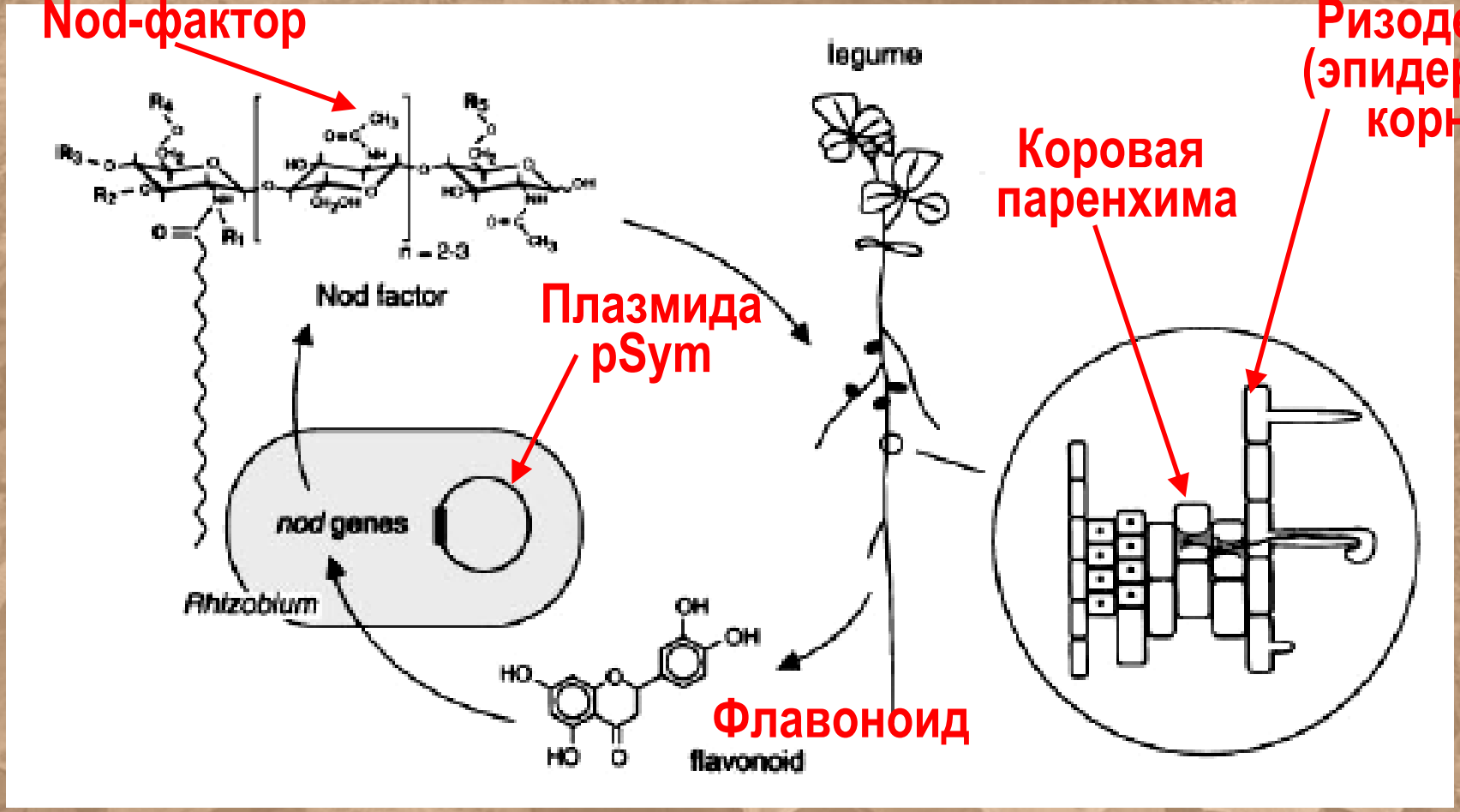
Тип фиксации азота	Примеры организмов	Объем фиксации
Свободноживущие азотфиксаторы	*Azotobacter, Azaspirillum, Clostridium pasteurianum*	15 – 25 ц/га азота в год
Симбиоз с *Azolla*	*Anabaena azollae*	95 ц/га азота в год
Симбиоз с Бобовыми	*Rhizobium*	55 – 140 ц/га азота в год
Симбиоз с ольхой	*Frankia*	200 ц/га азота в год

Каждые 10 ц/га соответствуют 10,25 см столба воздуха.
Ольшанник за год фиксирует азот из столба воздуха более 2 м!

Взаимное узнавание бактерии и хозяина

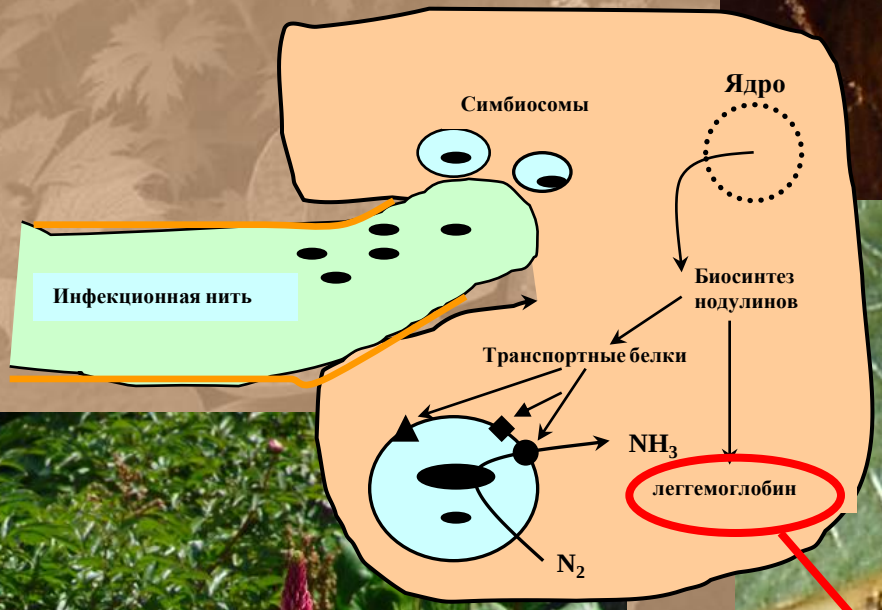


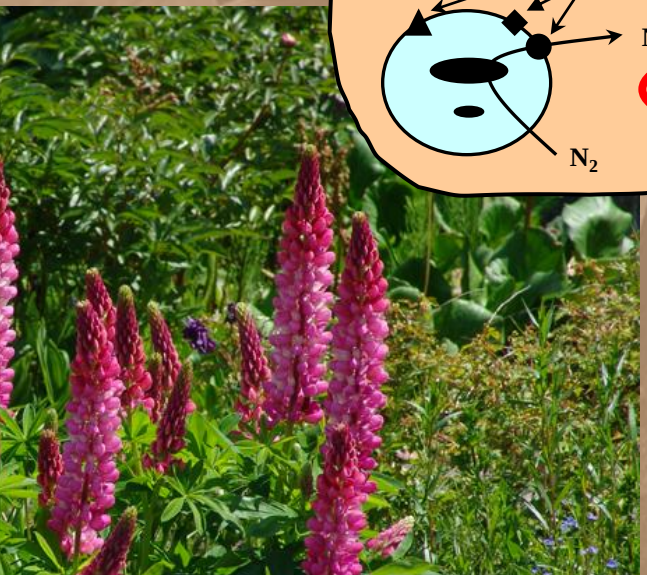
1. Химический сигнал растений - молекулы флавоноидов и бетаинов.
2. Флавоноиды взаимодействуют с ризобиальным белком Nod D.
3. NodD - активатор транскрипции генов вирулентности или *nod*-генов.
4. *nod*-гены отвечают за синтез Nod-факторов

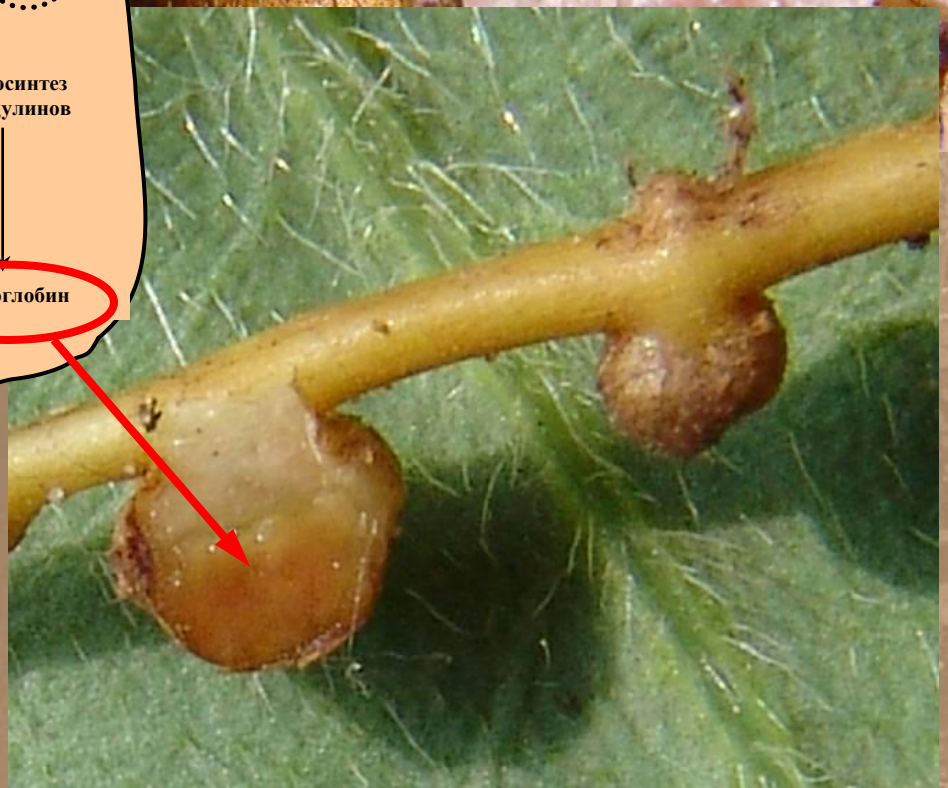


1. Nod-факторы – липохитоолигосахариды - олигомеры на основе хитина
2. «Общие» гены *nodA*, *nodB*, *nodC* кодируют 3 фермента синтеза основной структуры nod-фактора,
3. Другие *nod*-гены кодируют ферменты специфических химических модификаций липохитоолигосахаридов

Инфекционная нить







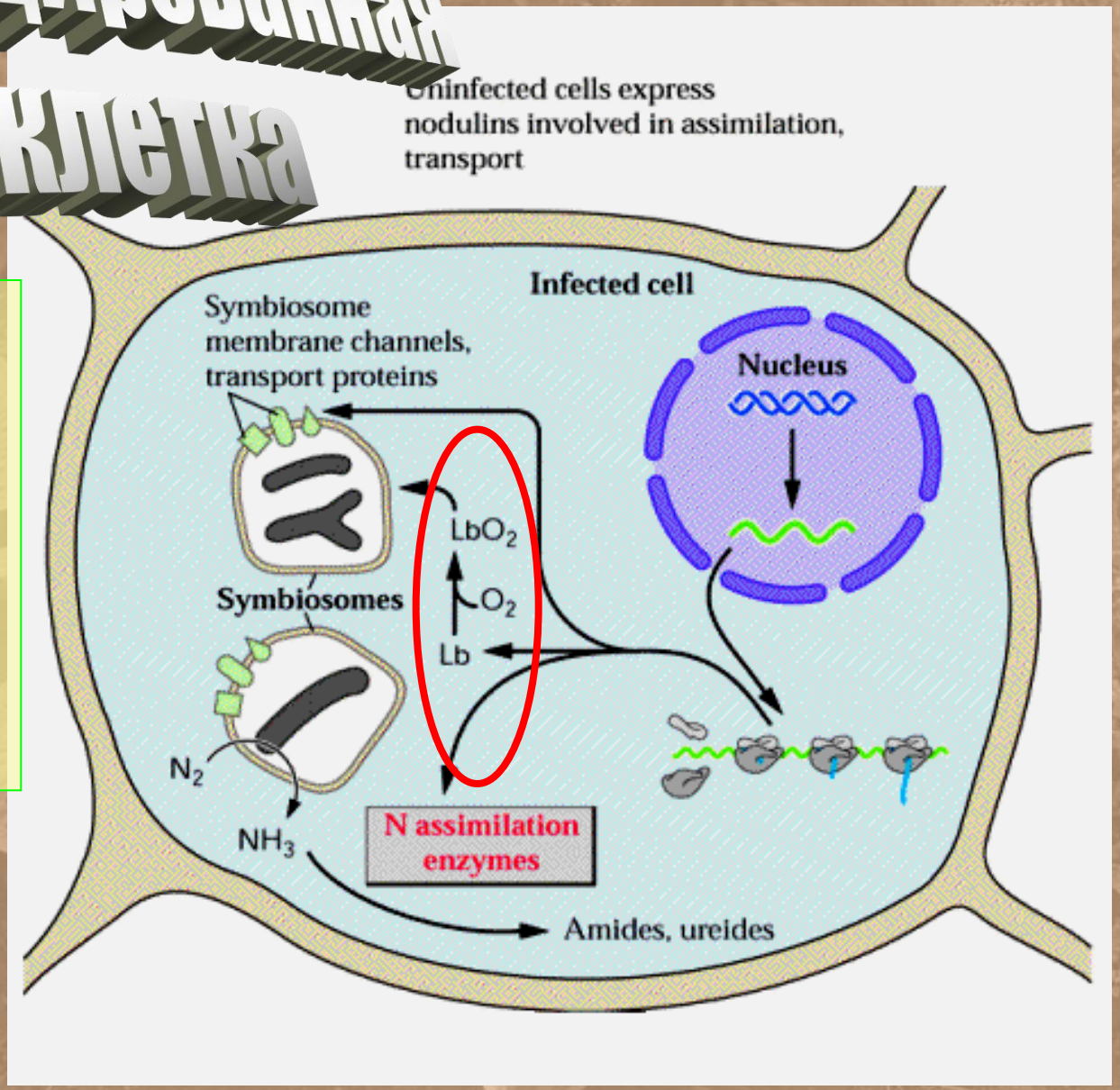
Инфицированная клетка

Нодулины:

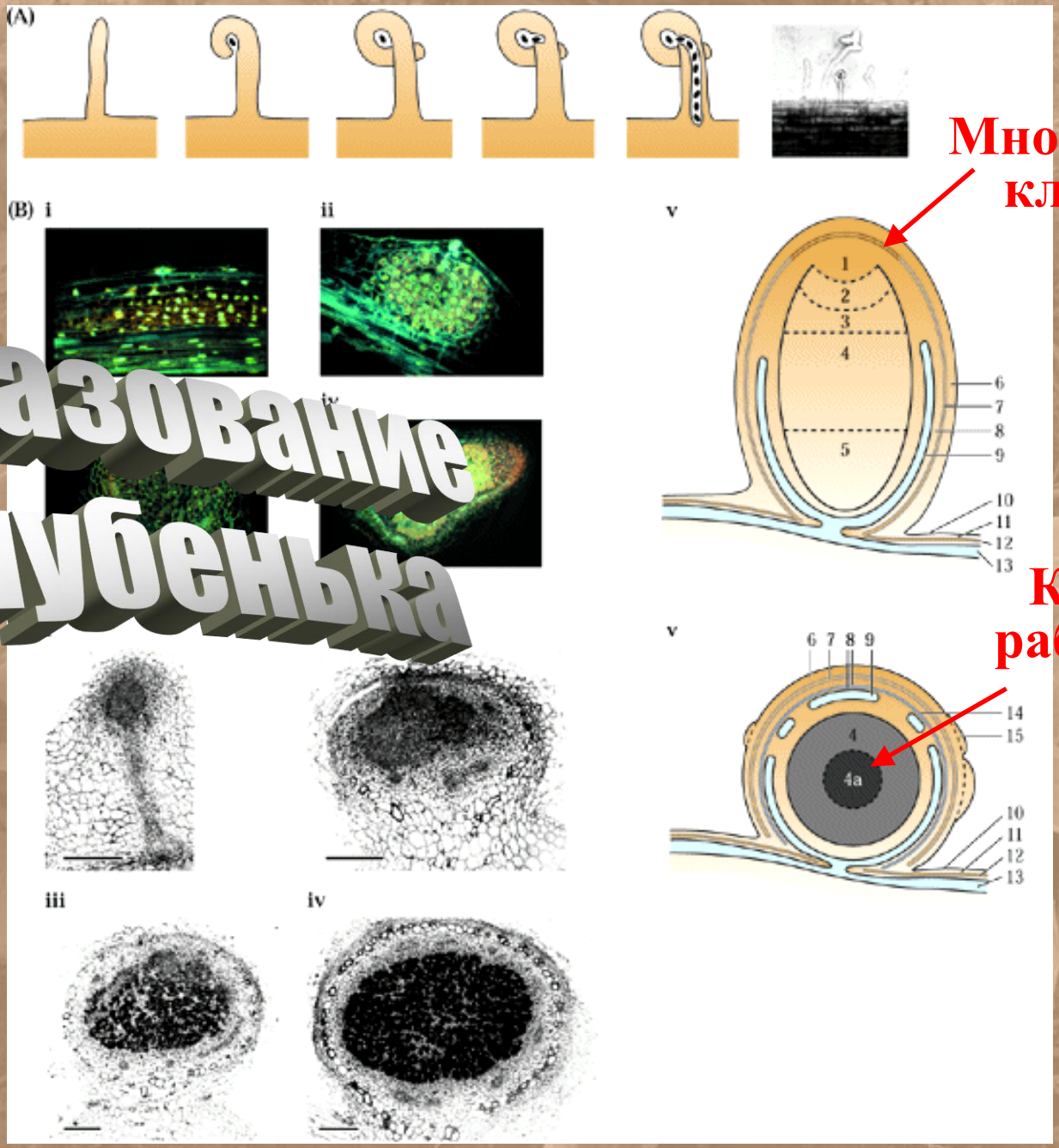
леггемоглобин

транспортные белки симбиосом

белки азотного и углеводного обменов

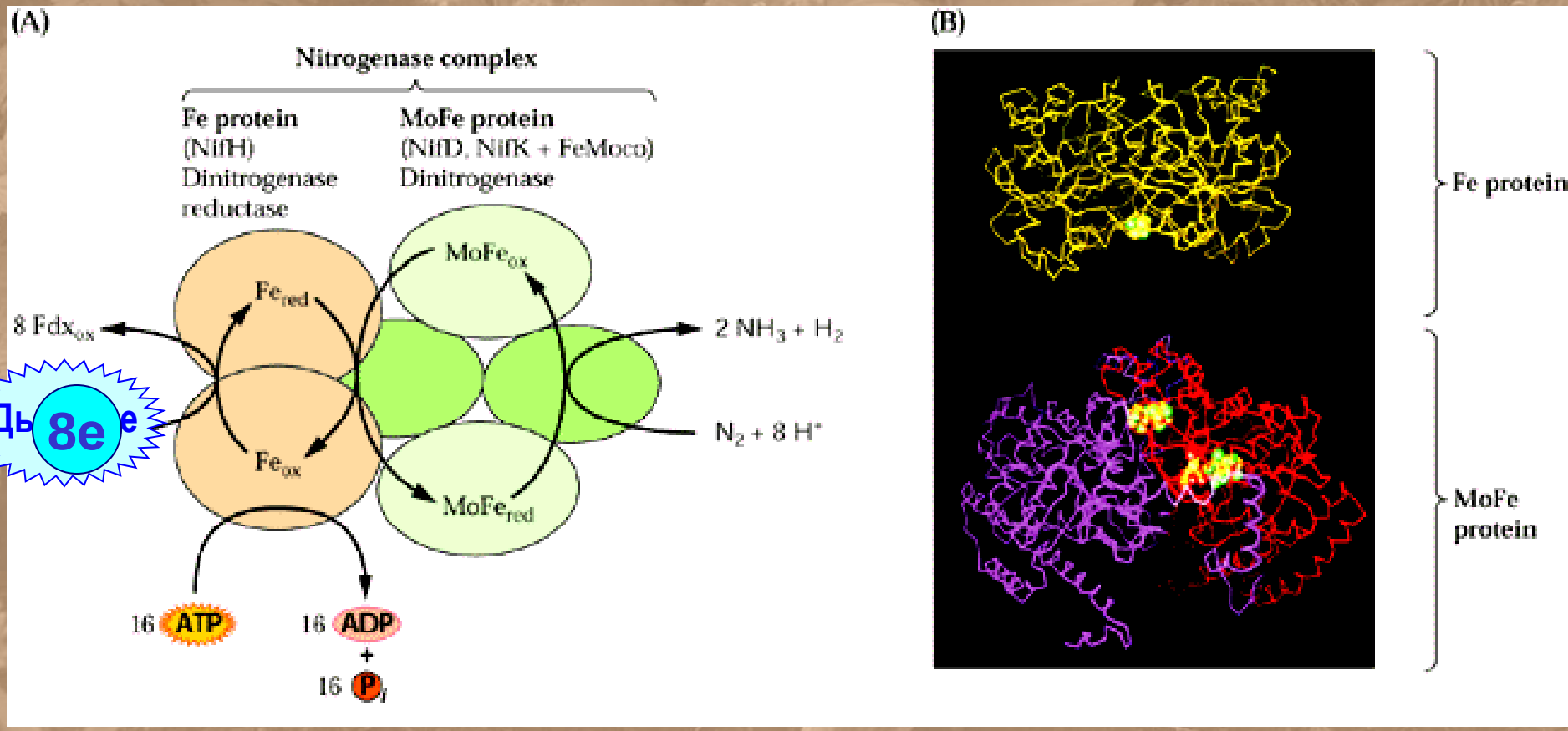


Образование клубенька

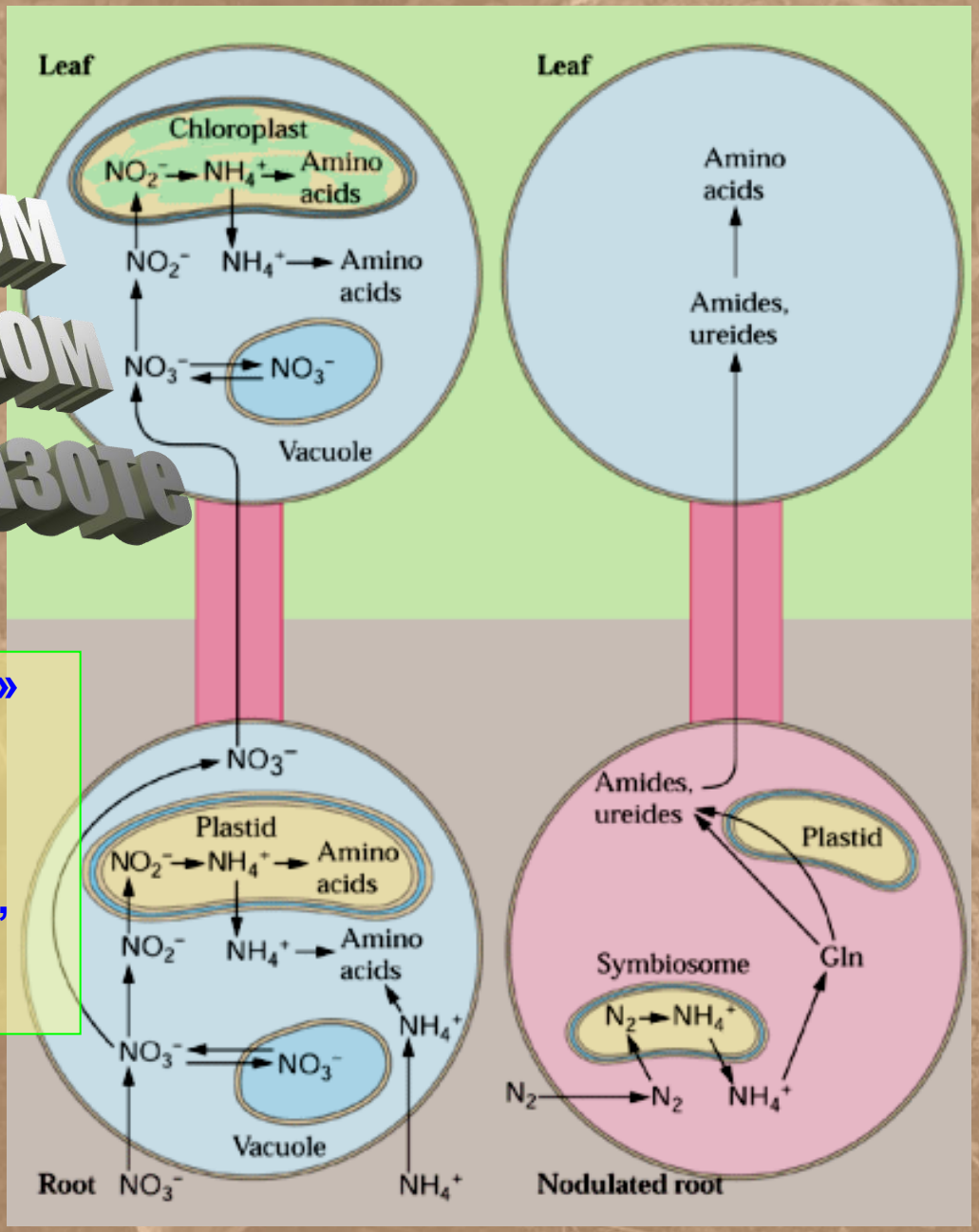


Нитрогеназа

$$N_2 + 8H^+ + 16\ MgATP + 8e^- \rightarrow 2NH_3 + H_2 + 16\ MgADP + 16\ P_i$$



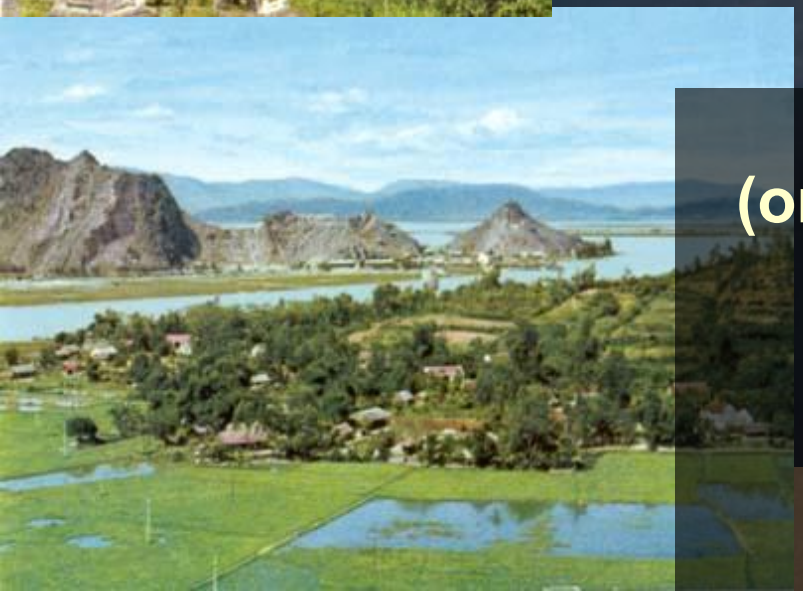
Метаболизм при доступном и недоступном почвенном азоте



<u>Азотфиксация</u> – «дорогостоящий» процесс как по энергии, так и по восстановителям.

Если есть возможность поглощения «готового» азота, то растение отказывается от симбиоза.

Симбиоз Anabaena - Azolla



Рисовые поля: 135 млн га (около 9% от общей площади полей)
Azolla – д 4 000 000 т N (около 14% от всей фиксации N_2 на полях; примерно равно всей фиксации небобовых культур:
а это 70% с/х площади!

Доступные формы азота

Минеральные формы азота, используемые растением

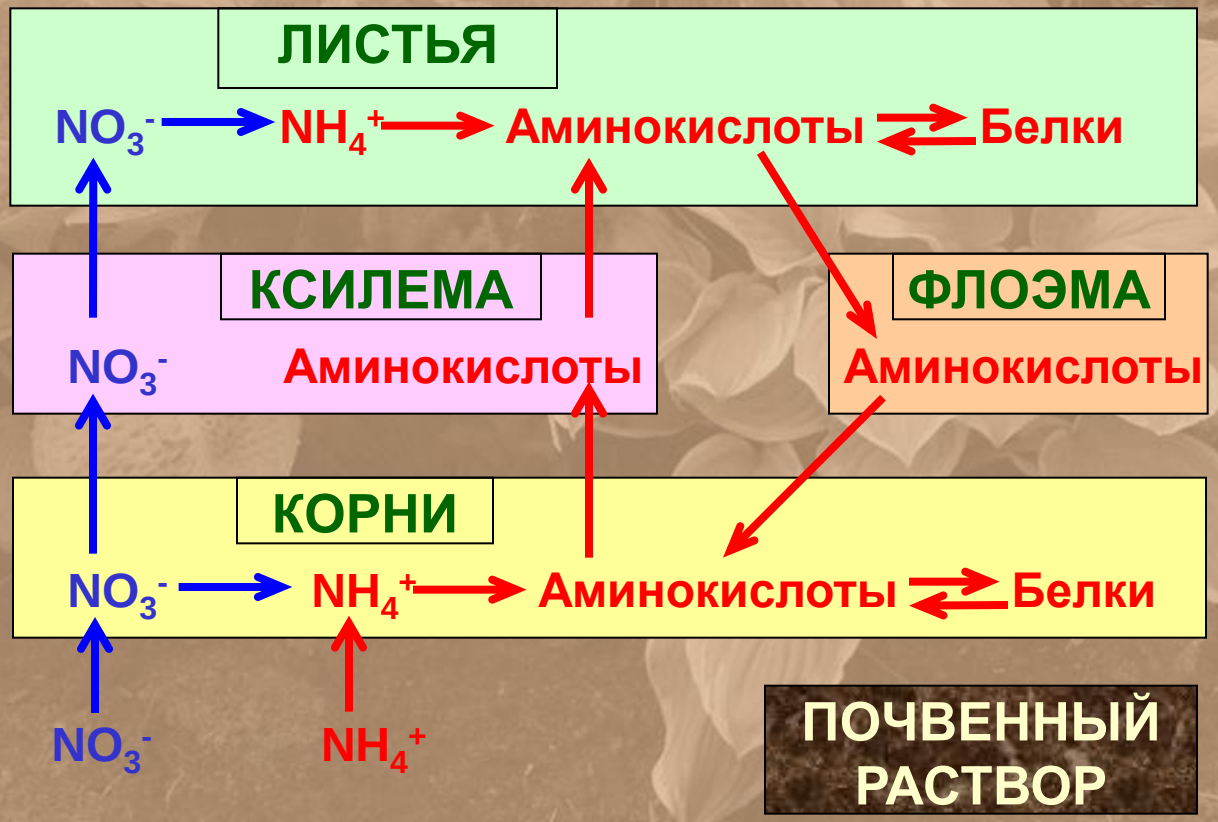
Жан-Батист Буссенго

Нитрат NO_3^-

+

Аммоний NH_4^+

Поступление окисленного и восстановленного азота из почвы



Восстановление нитрата в растениях

Нитратредуктаза

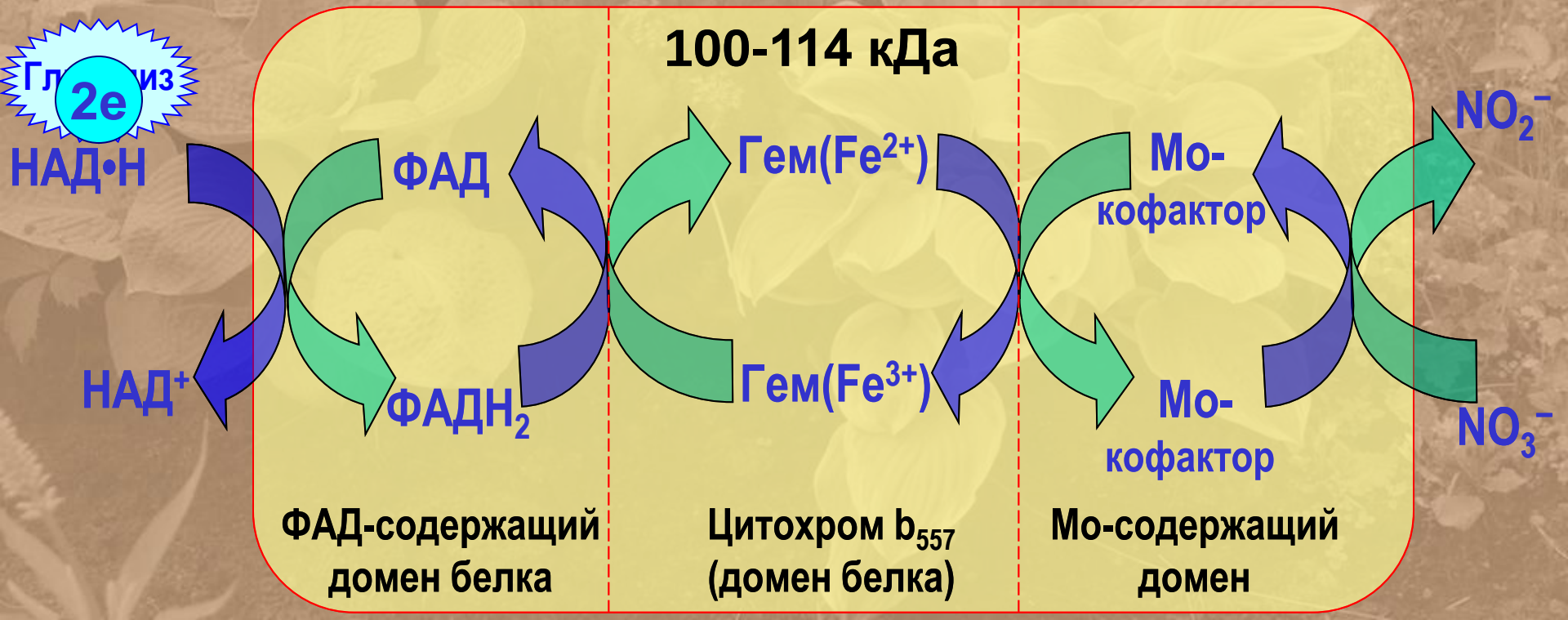
Побочные активности:

$NO_2^- \rightarrow NO$

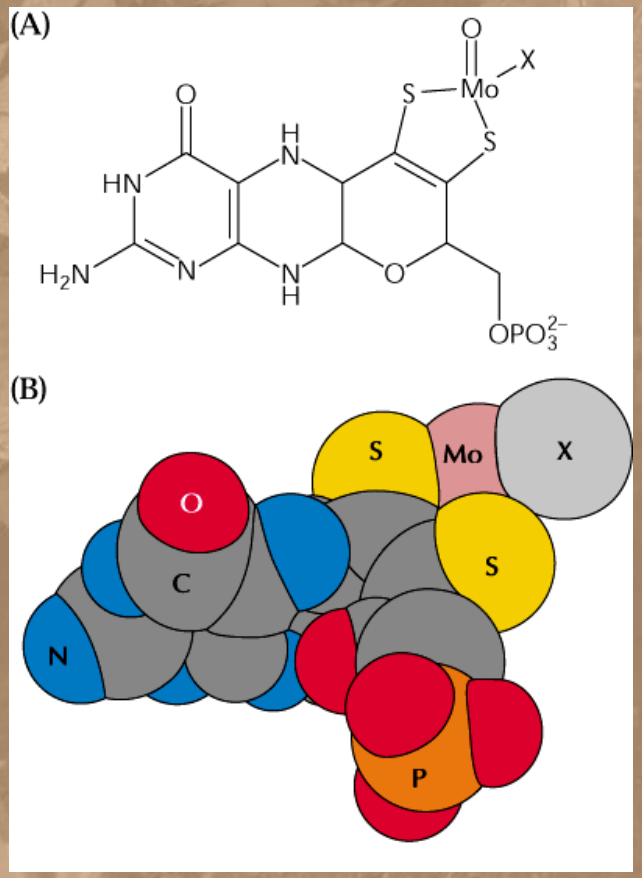
$ClO_3^- \rightarrow ClO_2^-$

Фермент локализован в цитоплазме. Работает в форме димера. Кофакторы:

1) ФАД;
2) Гем;
3) Молибдоптерин



Молибденовый кофактор (молибдоптерин)



Молибдоптерин входит в состав:

1. Нитратредуктазы

2. Сульфитоксидазы

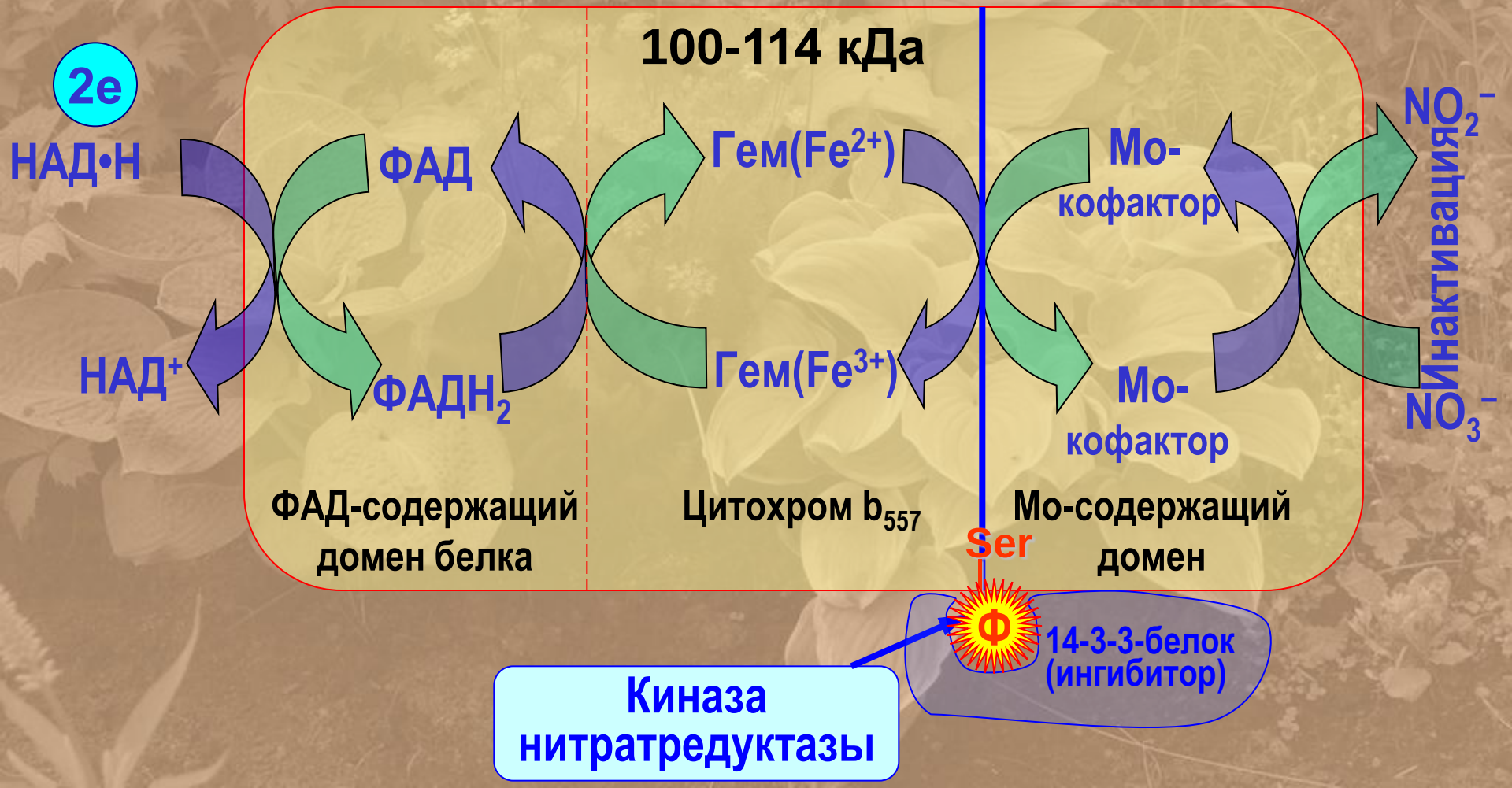
3. Альдегидоксидаз (в том числе окисляющей АБАльдегид до АБК)

4. Ксантиндегидрогеназы.

Потребности в молибдене резко возрастают при нитратном питании

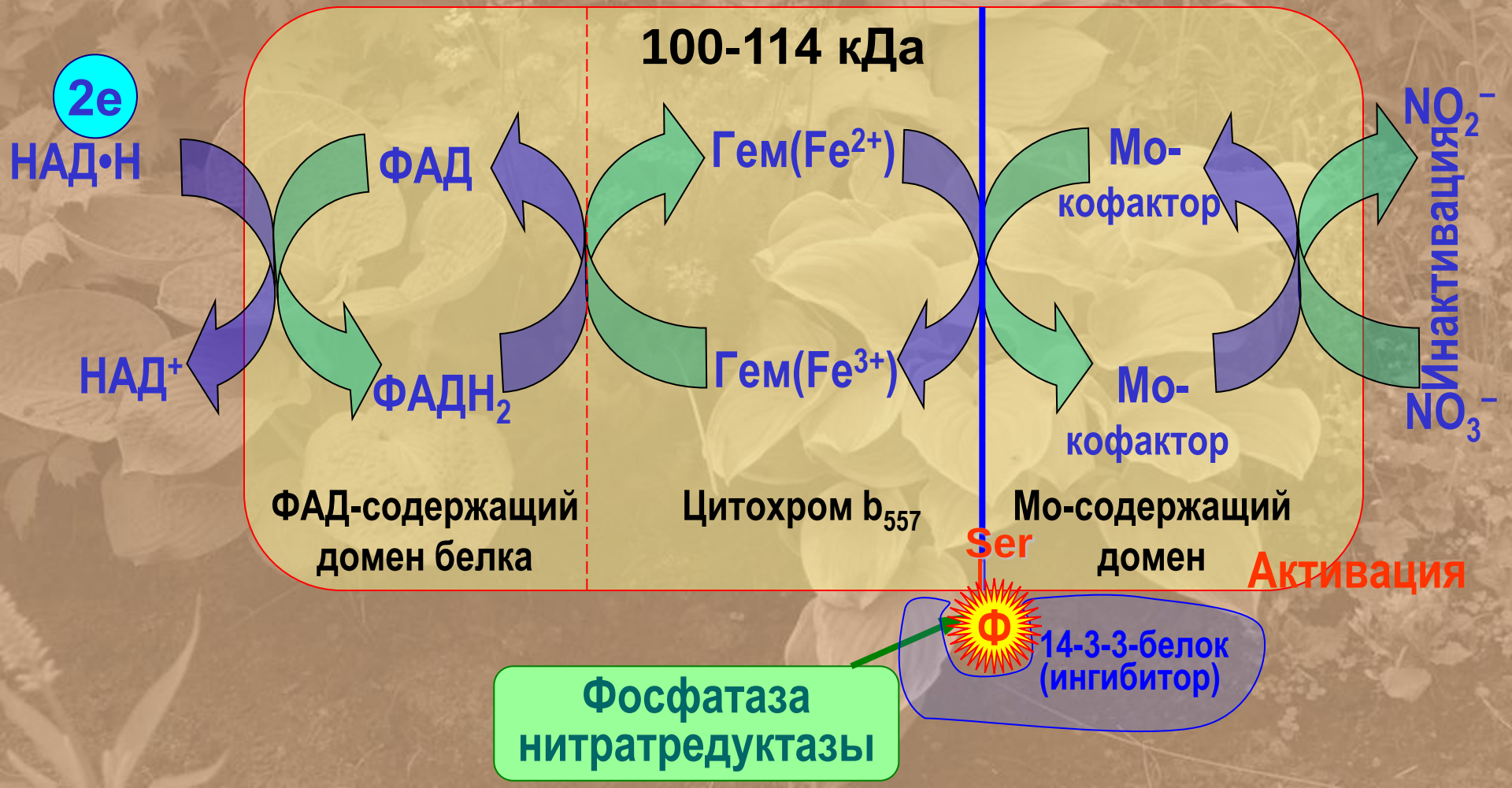
Регуляция активности нитратредуктазы

Быстрая регуляция путем фосфорилирования и присоединения 14-3-3 белков



Регуляция активности нитратредуктазы

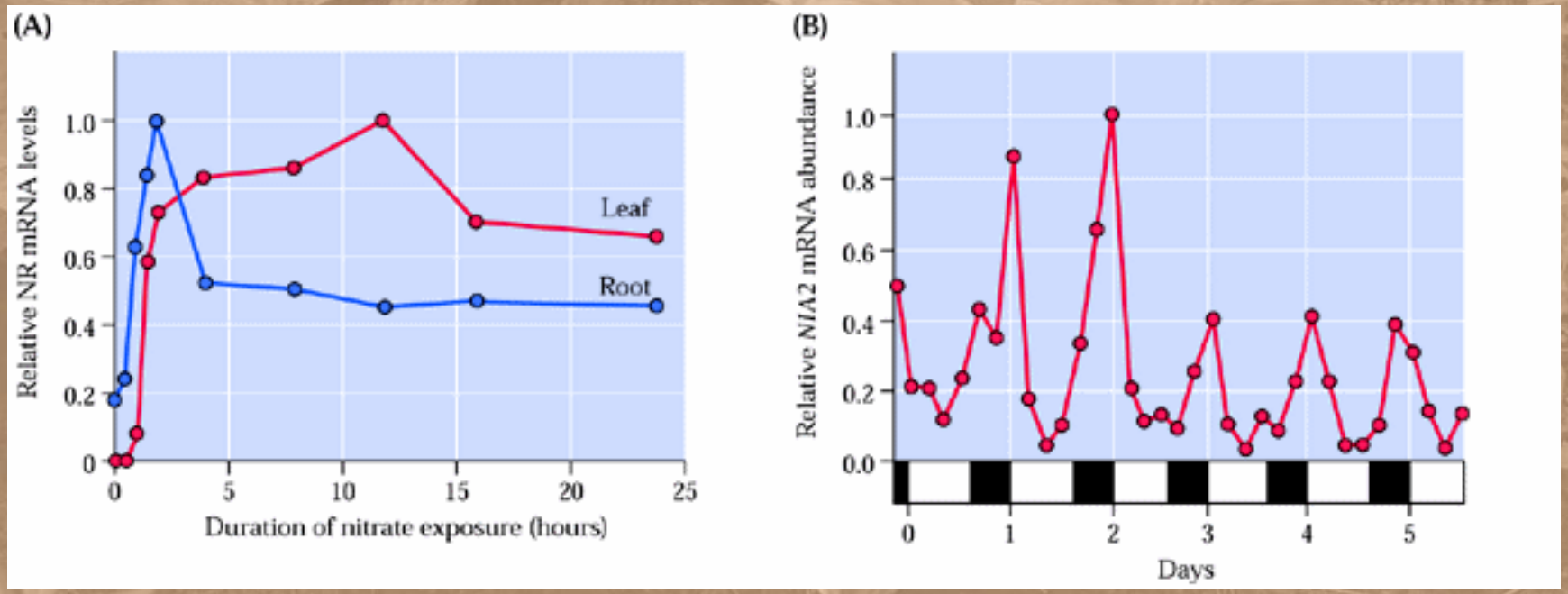
Быстрая регуляция путем фосфорилирования и присоединения 14-3-3 белков



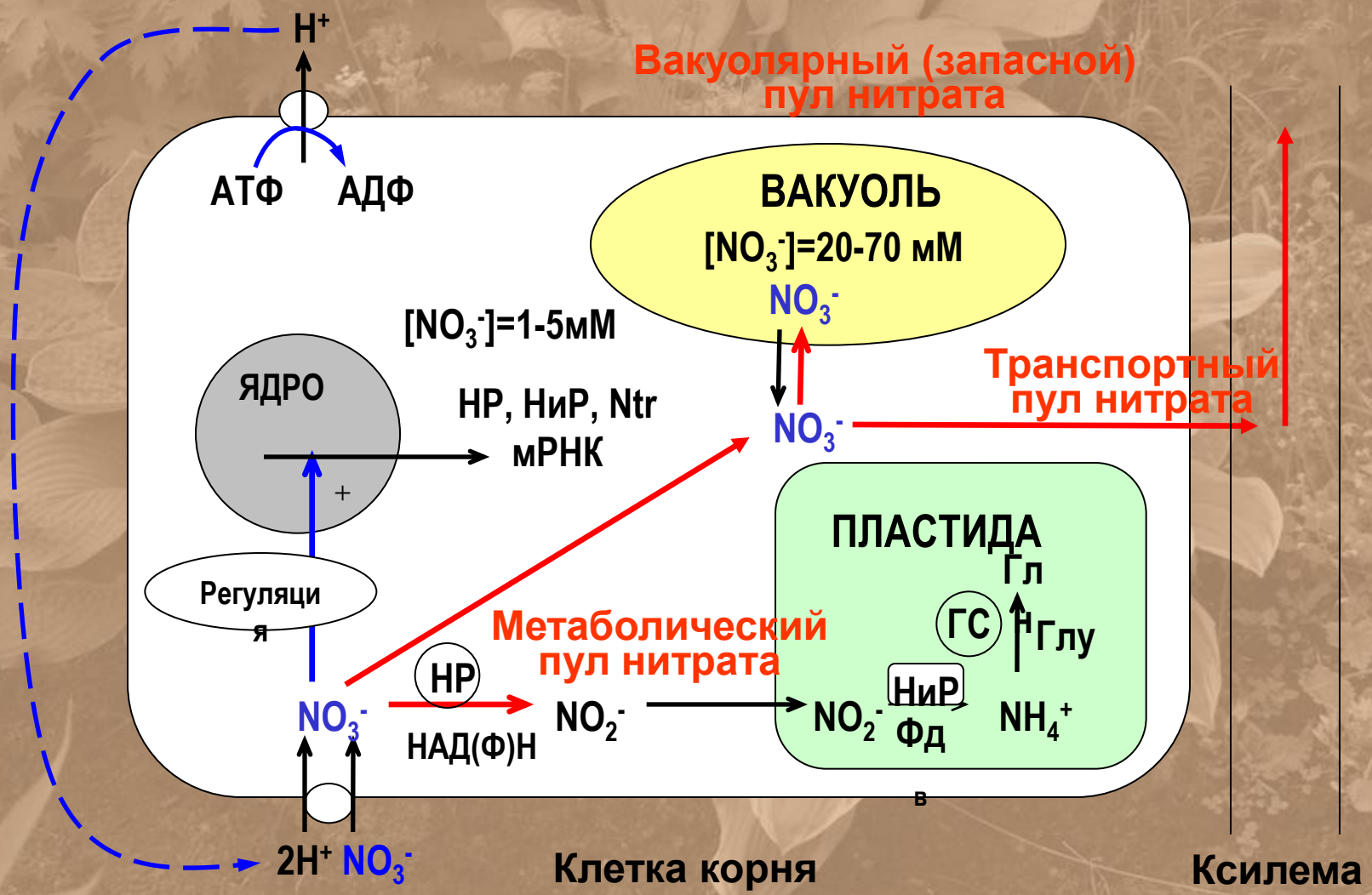
Регуляция активности нитратредуктазы

Долговременная регуляция: активация генома, трансляция

1. Транскрипционный уровень
   нитрат (↑), свет (↑), глутамин (↓), углеводы (↑),
2. Трансляционный уровень
3. Пост-трансляционный уровень
   количество белка, доступность субстратов



Метаболизм нитрата на клеточном уровне



Накопление нитрата в растениях

Усиление накопления нитрата:
1. При избыточном удобрении
2. При плохом освещении

Группа особого риска:
Корнеплодные растения с переработкой нитрата только в листьях (свекла).

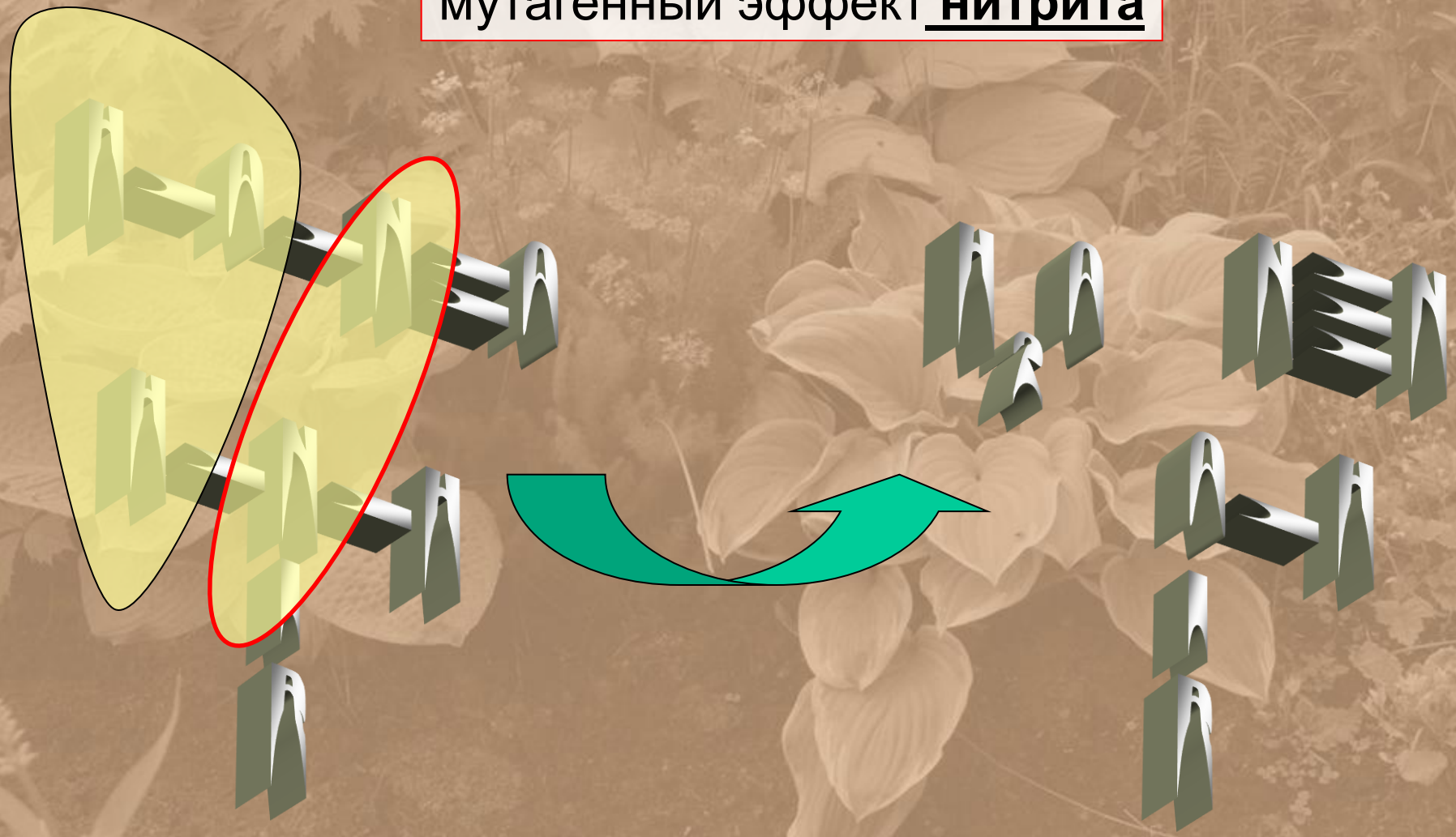
Нитрат накапливается в вакуолях и выполняет функции:
1. Запас нитрата (депо)
2. Поддержание осмотического давления

Безопасны:
1. Деревья и кустарники с переработкой нитрата только в корнях (яблоня, груша, вишня, черника, цитрусовые и др.).
2. Сухие плоды (злаки, бобовые, подсолнечник и др.).

Физиологическая функция	Гены	Белок	Регуляция в листьях	Регуляция в корнях
Поглощение нитрата	*NRT1* *NRT2*	NO_3^- транспортер высокого сродства NO_3^- транспортер низкого сродства		+ +
Ассимиляция нитрата	*NIA*	Нитратредуктаза	+	+
	NIR	нитритредуктаза	+	+
Ассимляция аммония	*DLN1*	Пластидная ГС	+	+
	GLN2	Цитозольная ГС	+	+
	GLU	ГОГАТ	+	+
Метаболизм органических к-т	*PPC*	ФЕПК	+	+
	PKs	Цитозольная пируваткиназа	+	+
	CC	Цитрат синтаза НАДФ-	+	+
	ICDH1	Изоцитратдегидрогеназа	+	+
Окислительно-восстановительный потенциал (метаболизм)	*PGD*	6-фосфоглюконатдегидрогеназа	?	+
	FNR	ферредоксин:НАДФ оксидоредуктаза	?	+
	FD	ферредоксин	?	+
Биосинтез крахмала	*AGPS*	АДФ-глюкозопирофосфорилаза (регуляторная субъединица)	-	?

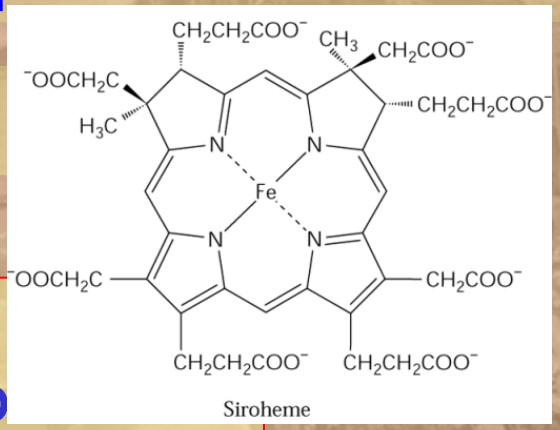
Токсичные формы азота

Повреждающий и мутагенный эффект **нитрита**

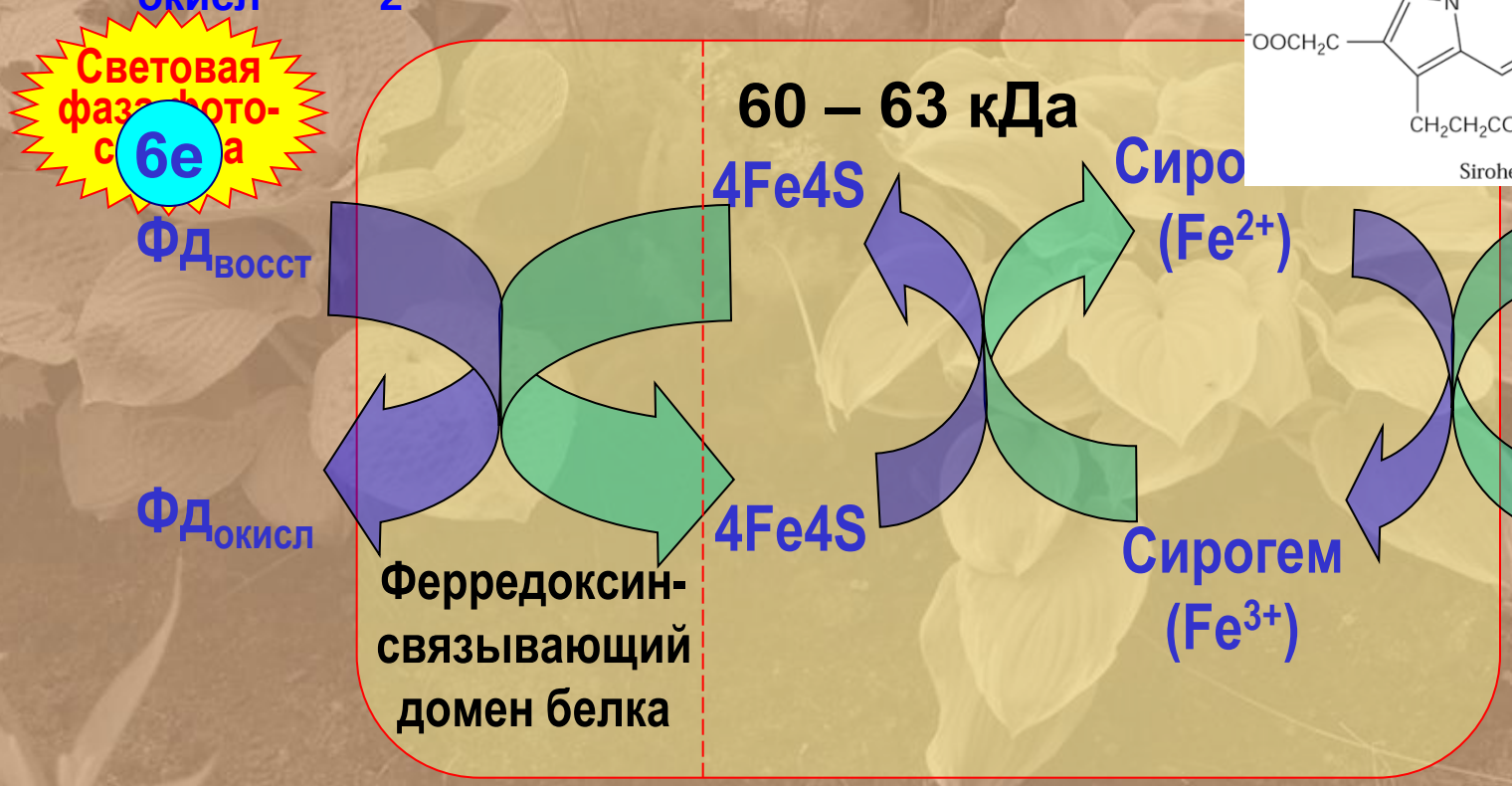


Нитритредуктаза

Фермент локализован в пластидах. Мономер. Кофакторы:
1) 4Fe-4S;
2) Сирогем



$$NO_2^- + 6Фд_{восст} + 8H^+ \rightarrow NH_4^+ + 6Фд_{окисл} + 2H_2O$$



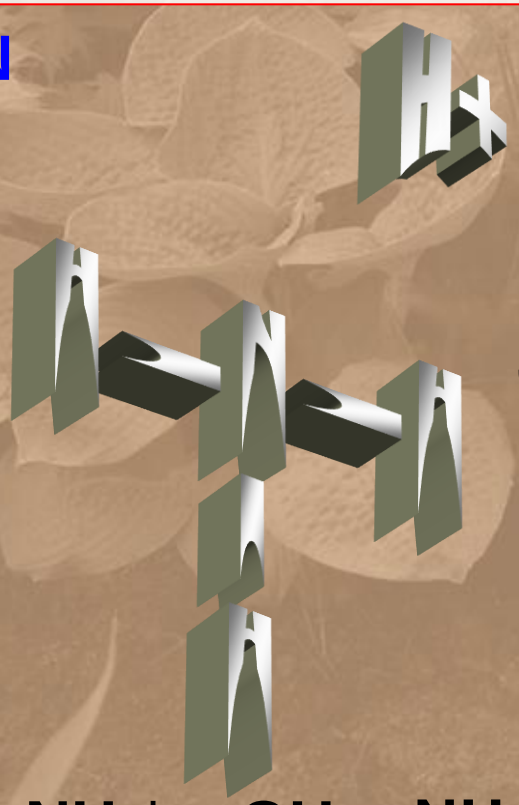
Токсичные формы азота

<u>Аммоний</u> нарушает гидратные оболочки белков и других биологических молекул

Разрядка протонного градиента на мембранах <u>аммонием</u>

IN

OUT



$ATP \leftrightarrow \Delta\mu H^+$

$NH_4^+ + OH^- \leftrightarrow NH_3 + H_2O$

$NH_3 + H^+ \leftrightarrow NH_4^+$

Пути ассимиляции аммония

Низкая концентрация аммония, цитозоль и пластиды

NH_4^+

NO_3^- → NO_2^- → NH_4^+

Глутаминовая кислота

Глутаминсинтетаза (ГС)

Глутамин

α-кетоглутарат

Глутаминоксоглутарат-аминотрансфераза (ГОГАТ)

Глутаминовая кислота (2 молекулы)

ГС/ГОГАТ путь

α-кетоглутарат

Глутаматдегидрогеназа (ГДГ)

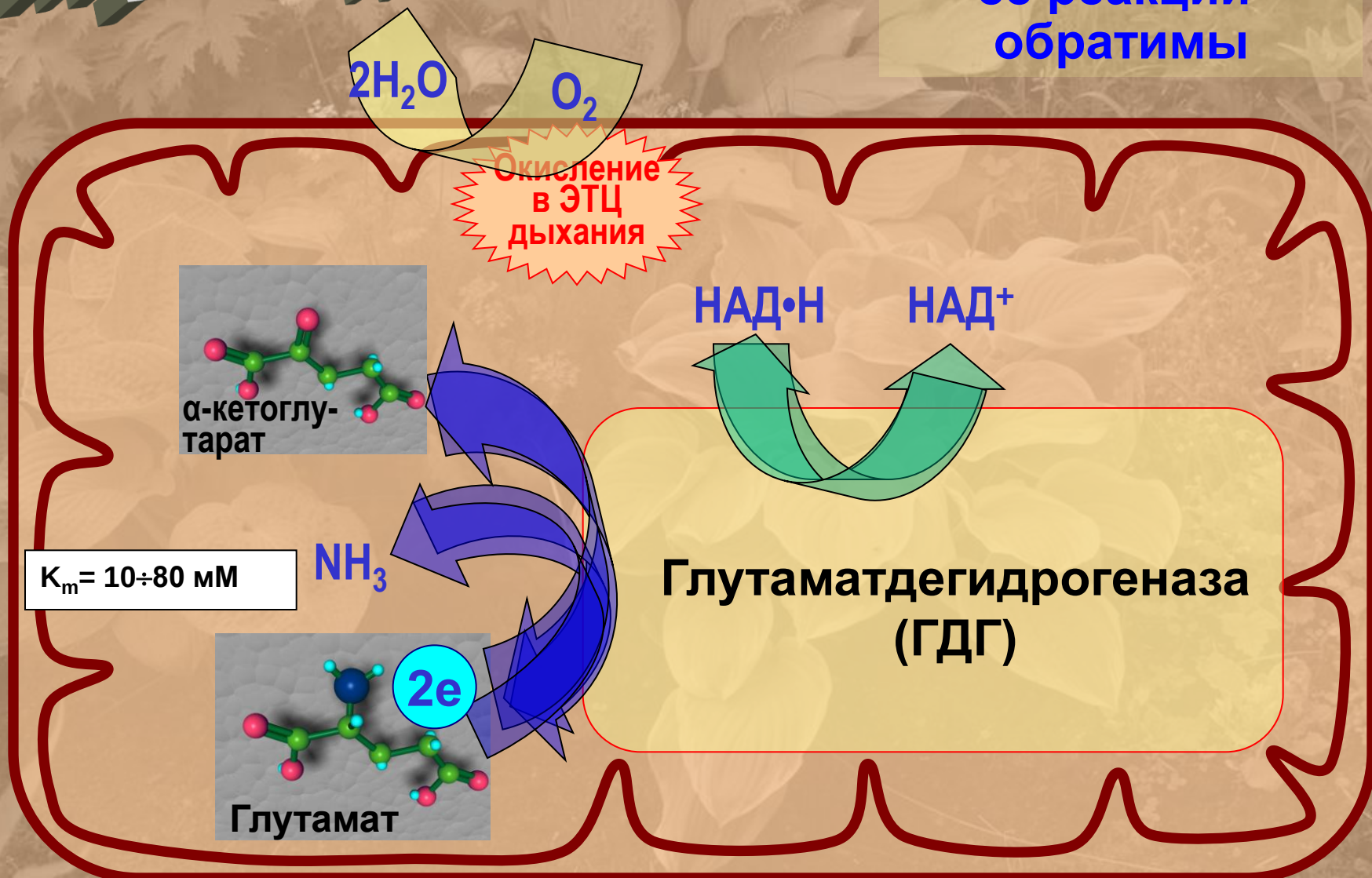
Глутаминовая кислота

Относительно высокая концентрация аммония, митохондрии

ГДГ путь

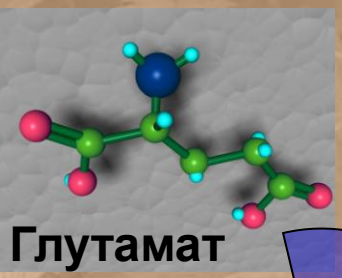
Глутаматдегидрогеназа

Глутаматдегидрогеназа находится в митохондриях, её реакции обратимы

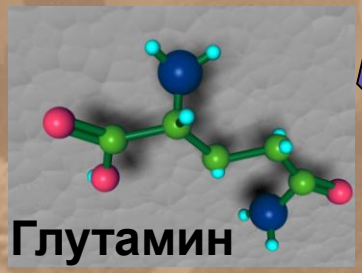


Глутаминсинтетаза

Есть две формы фермента:
1) ГС1 находится в цитоплазме;
2) ГС2 находится в пластидах

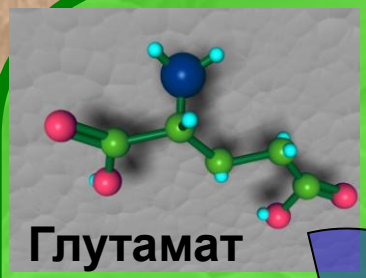


Из внешней среды NH_3



АТФ АДФ+Ф

Цитозольная глутамин-синтетаза 1 (ГС1) 41 кДа



Восстановление нитрита NH_3

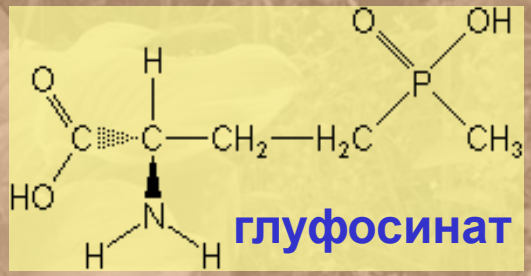
АТФ АДФ+Ф

Пластидная глутамин-синтетаза 2 (ГС2) 44 кДа

Глуфосинат как гербицид

Торговые названия глуфосината: «Liberty»®, Aventis «Basta» ®, Bayer

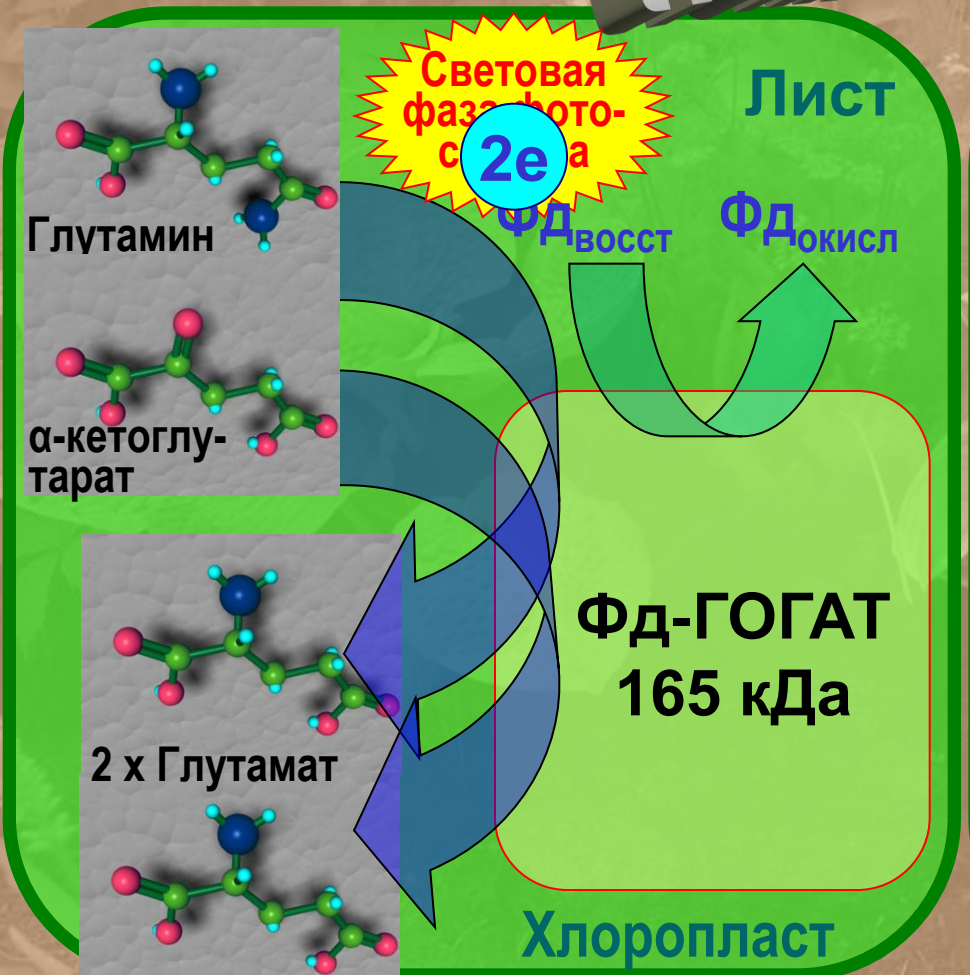
Глуфосинат – аналог глутамата, специфически ингибирующий глутаминсинтетазу

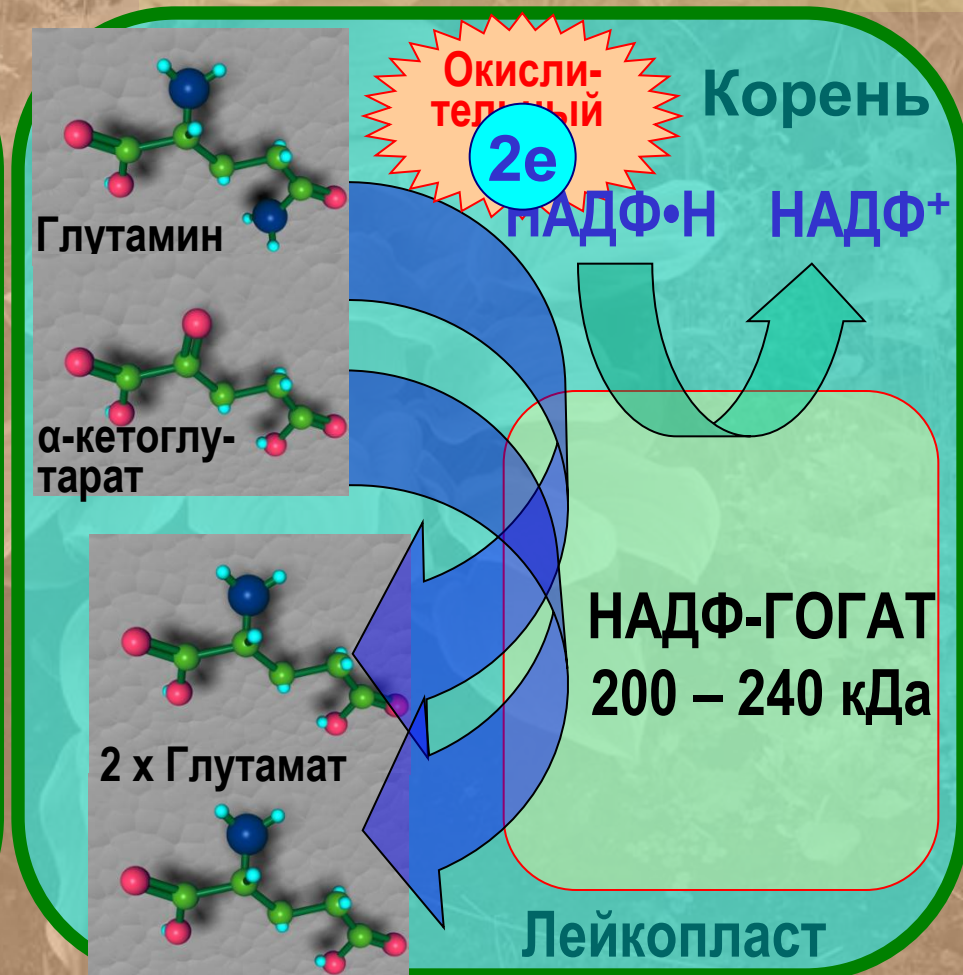


В России эти фирмы пока еще недостаточно продвинулись

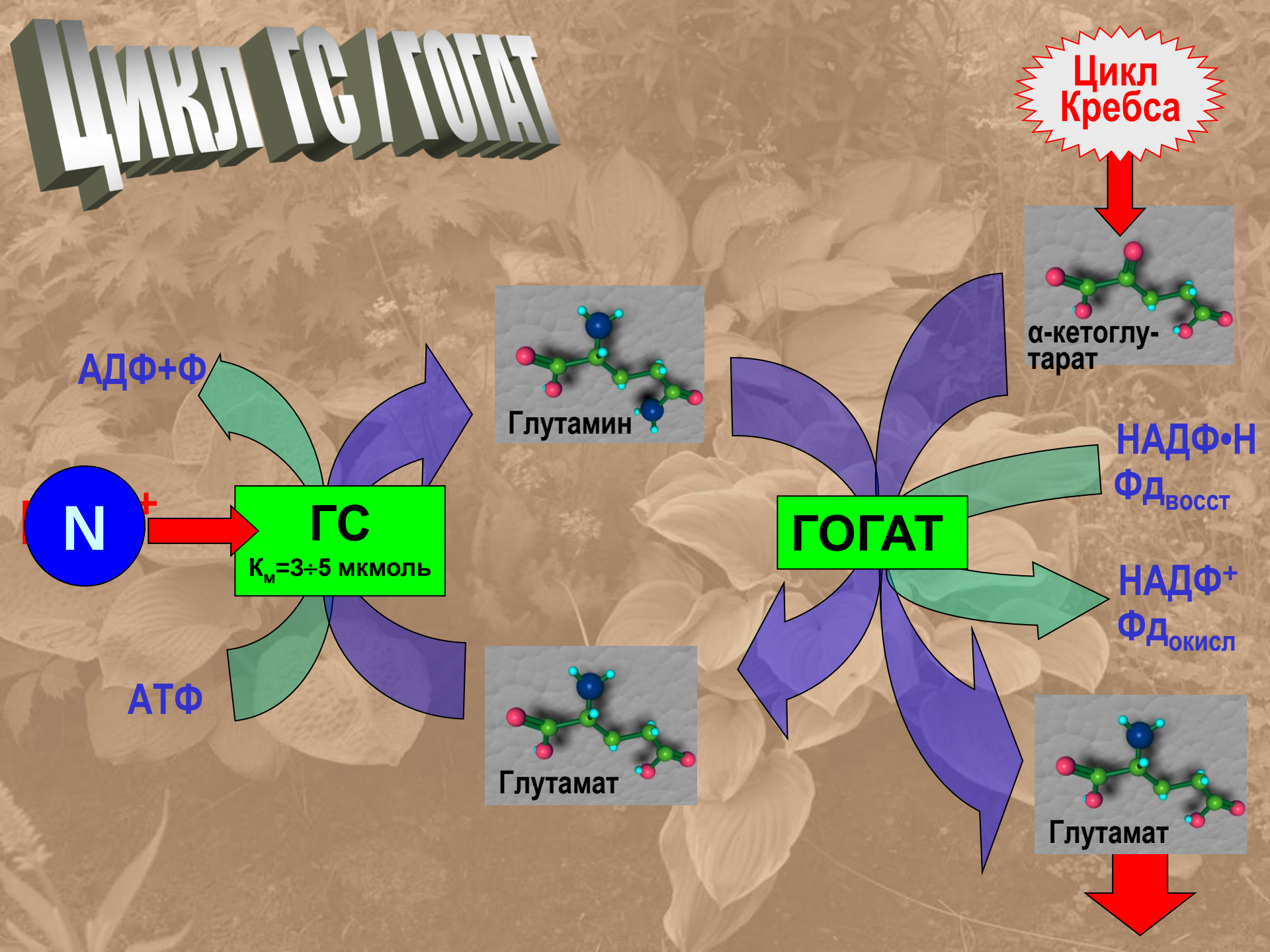
Глутаминоксоглутарат-аминотрансфераза (ГОГАТ)

ГОГАТ всегда находится в пластидах.
Есть две формы:
1) Фд-ГОГАТ находится в зеленых тканях;
2) НАДФ-ГОГАТ находится в корнях

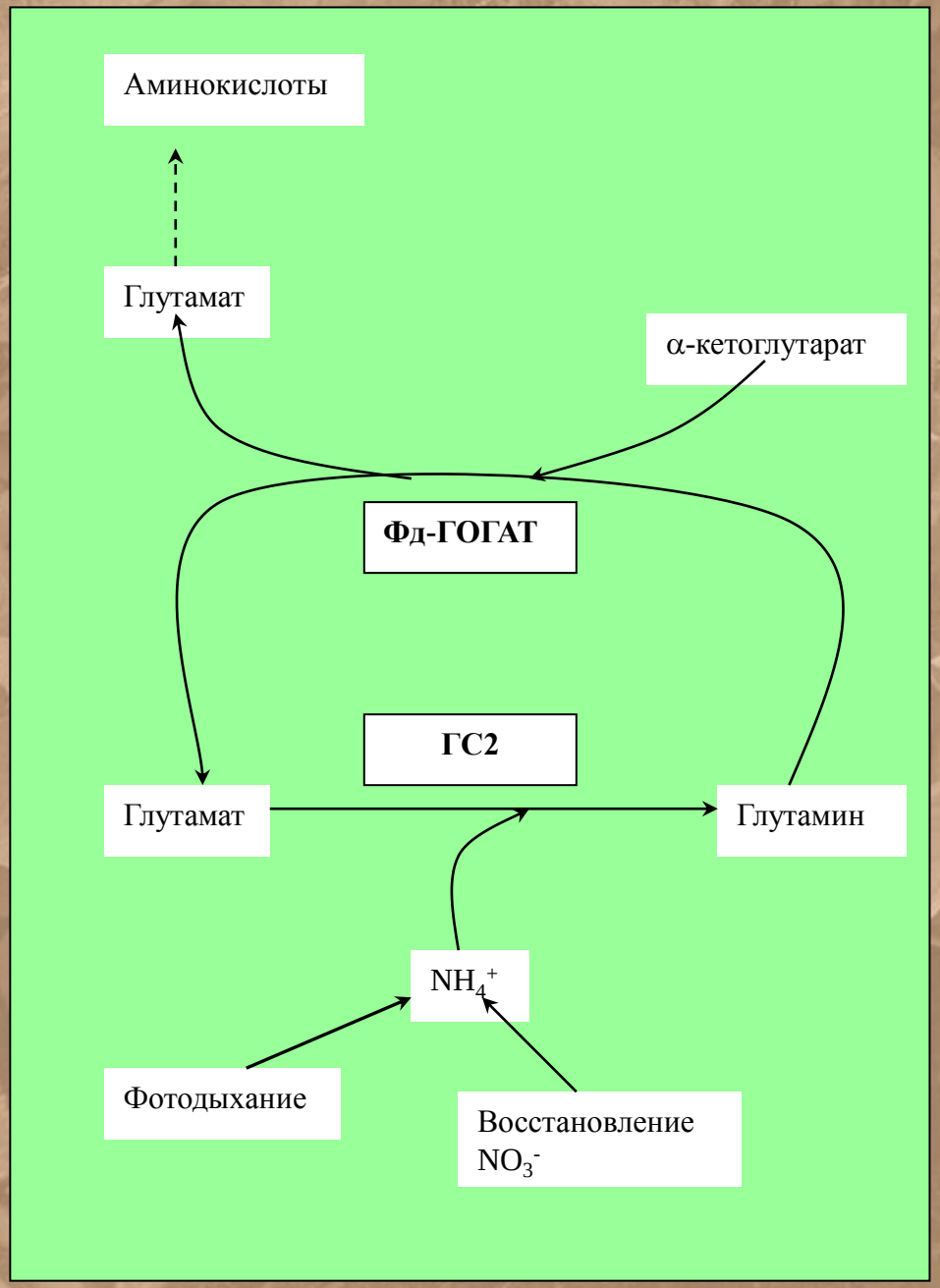




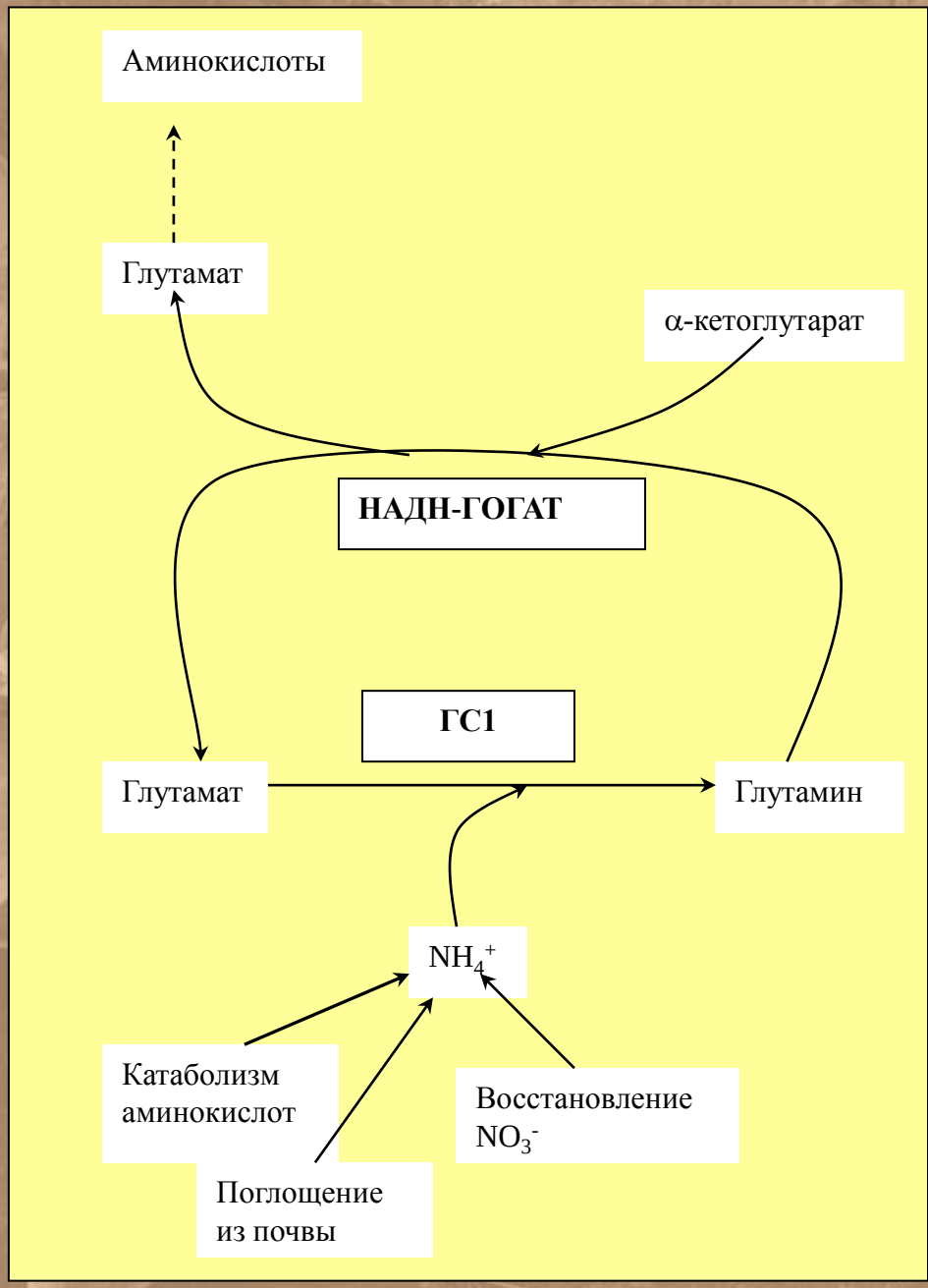
Цикл ГС / ГОГАТ



Листья



Корни



NO_3^- —НАДН→ NO_2^- —Фд восст.→ NH_4^+ —АТФ→ глутамин

глутамин + 2-оксоглутарат —Фд восст. НАД(Ф)Н→ глутамат → глутамин

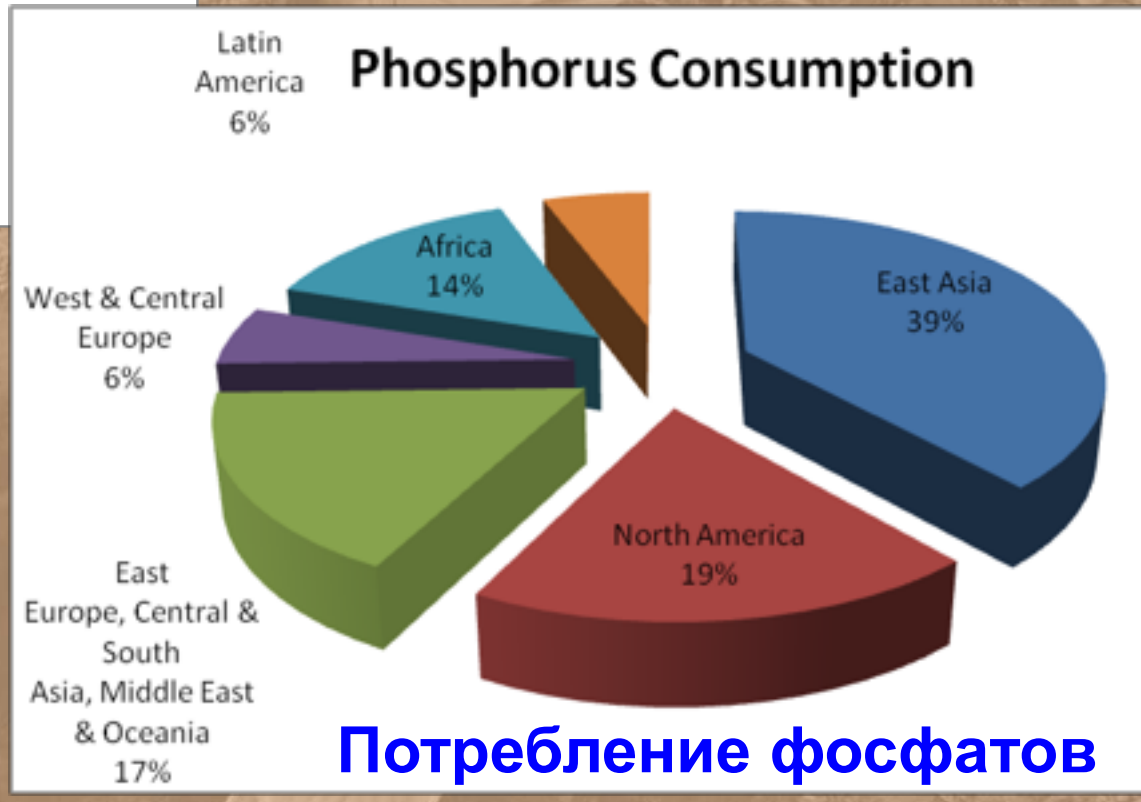
2-оксоглутарат →
- аспарагин
- уреиды
- гистидин
- карбамоил фосфат
- триптофан
- трансаминирование

глутамат →
- тетрапирролы
- орнитин /цитрулин
- аргинин
- пролин
- фитохелатины
- трансаминирование

Фосфор

Общемировой "фосфорный пирог"

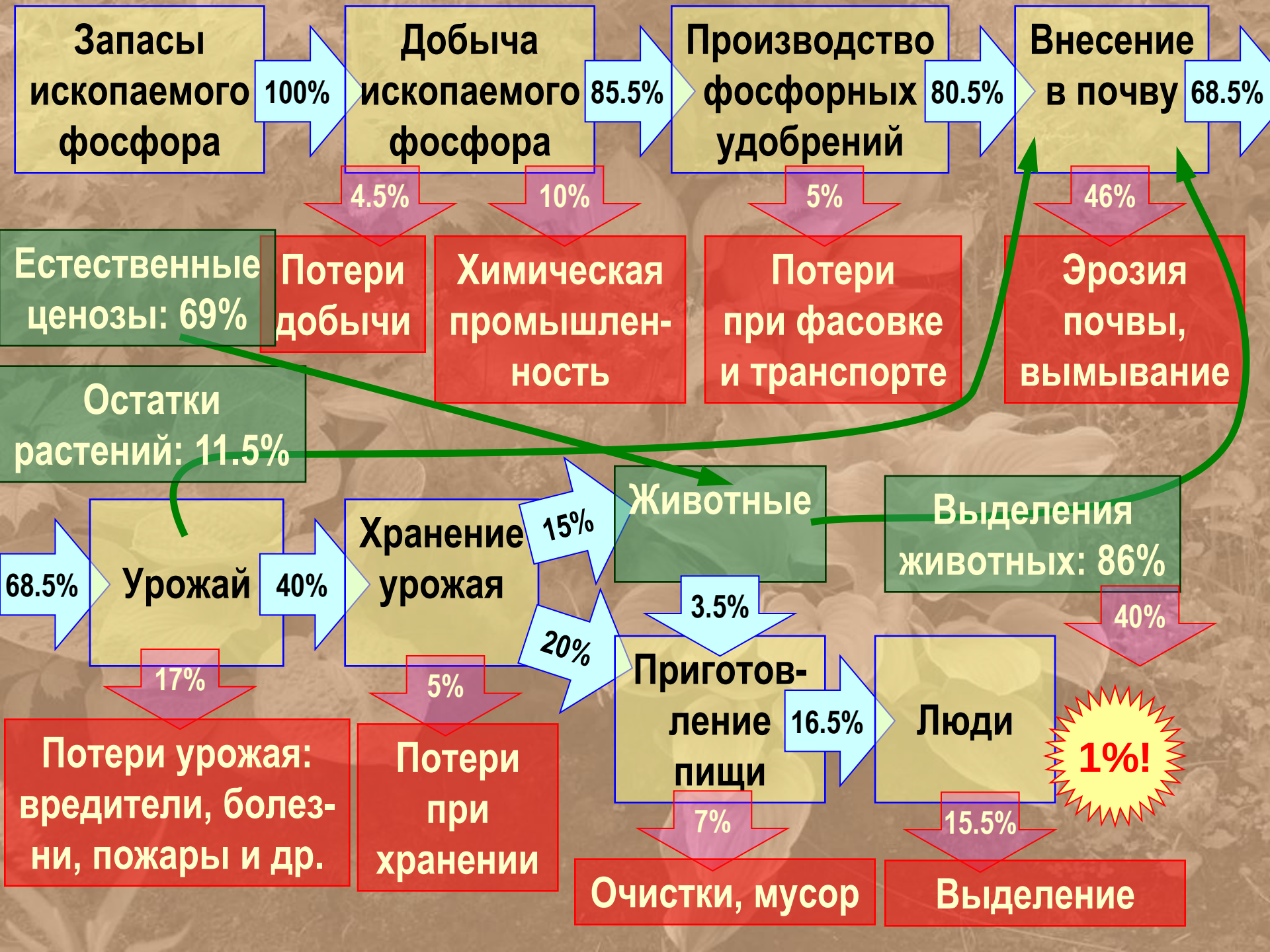
Добыча фосфатов



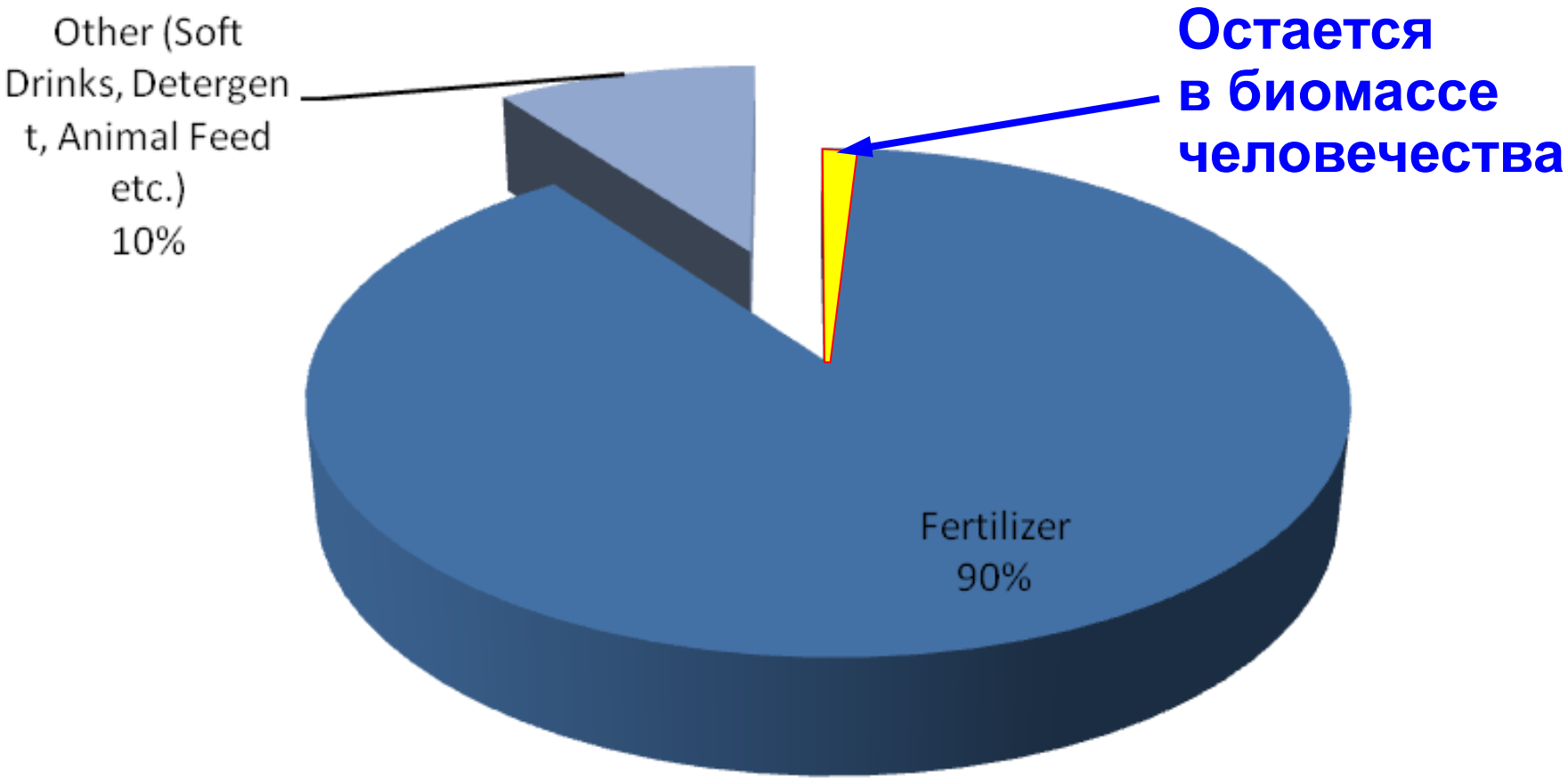
Потребление фосфатов

Фосфор – это:

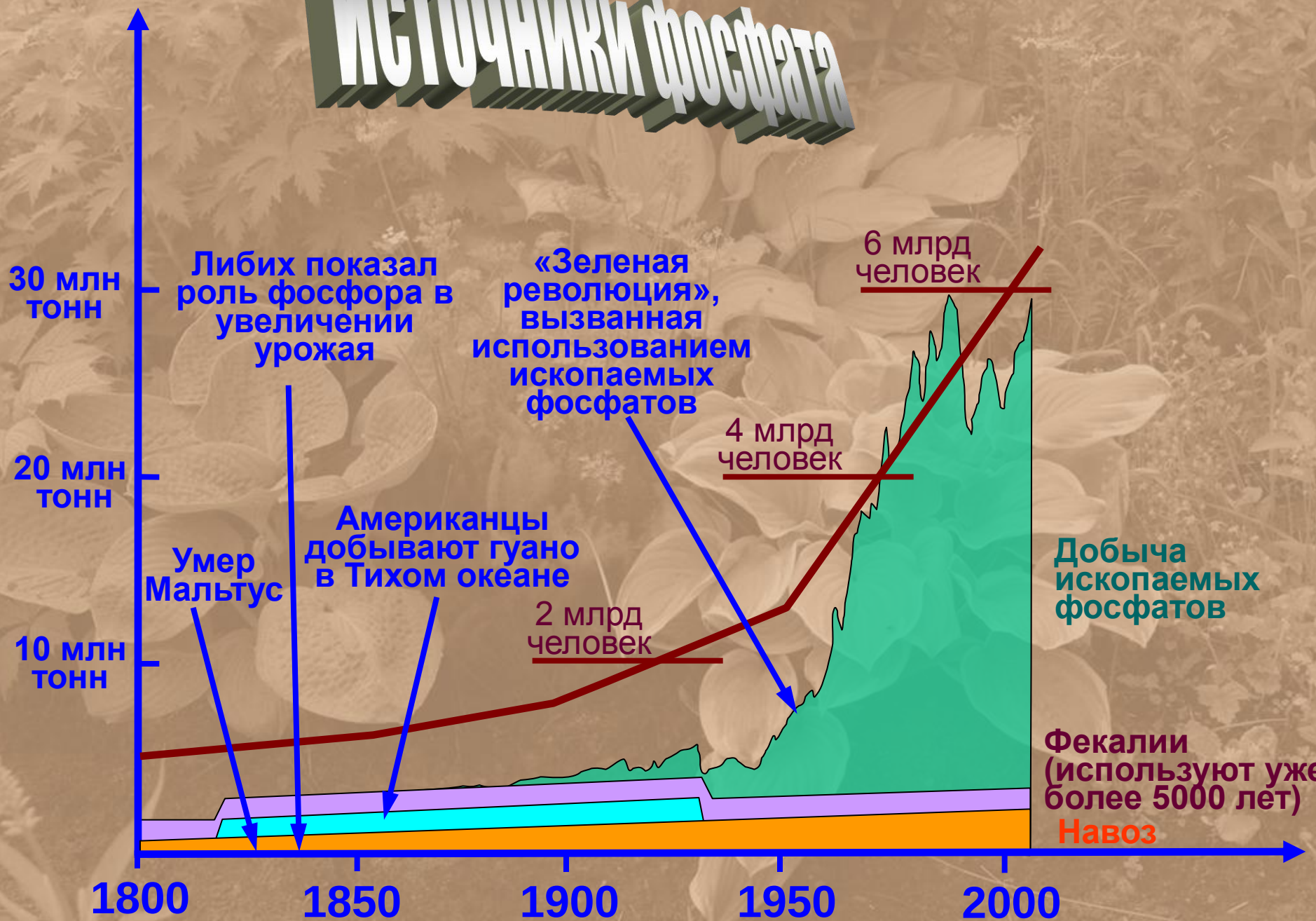
1. ДНК
2. РНК
3. АТФ, НАД и др.
4. Регуляция работы белков
5. Липиды мембран
6. (Костная ткань – межклеточное вещество)


Запасы ископаемого фосфора
100%
Добыча ископаемого фосфора
85.5%
Производство фосфорных удобрений
80.5%
Внесение в почву
68.5%
4.5%
Потери добычи
10%
Химическая промышлен-ность
5%
Потери при фасовке и транспорте
46%
Эрозия почвы, вымывание
Естественные ценозы: 69%
Остатки растений: 11.5%
68.5%
Урожай
40%
Хранение урожая
15%
Животные
Выделения животных: 86%
40%
3.5%
20%
Приготов-ление пищи
16.5%
Люди
1%!
17%
Потери урожая: вредители, болез-ни, пожары и др.
5%
Потери при хранении
7%
Очистки, мусор
15.5%
Выделение

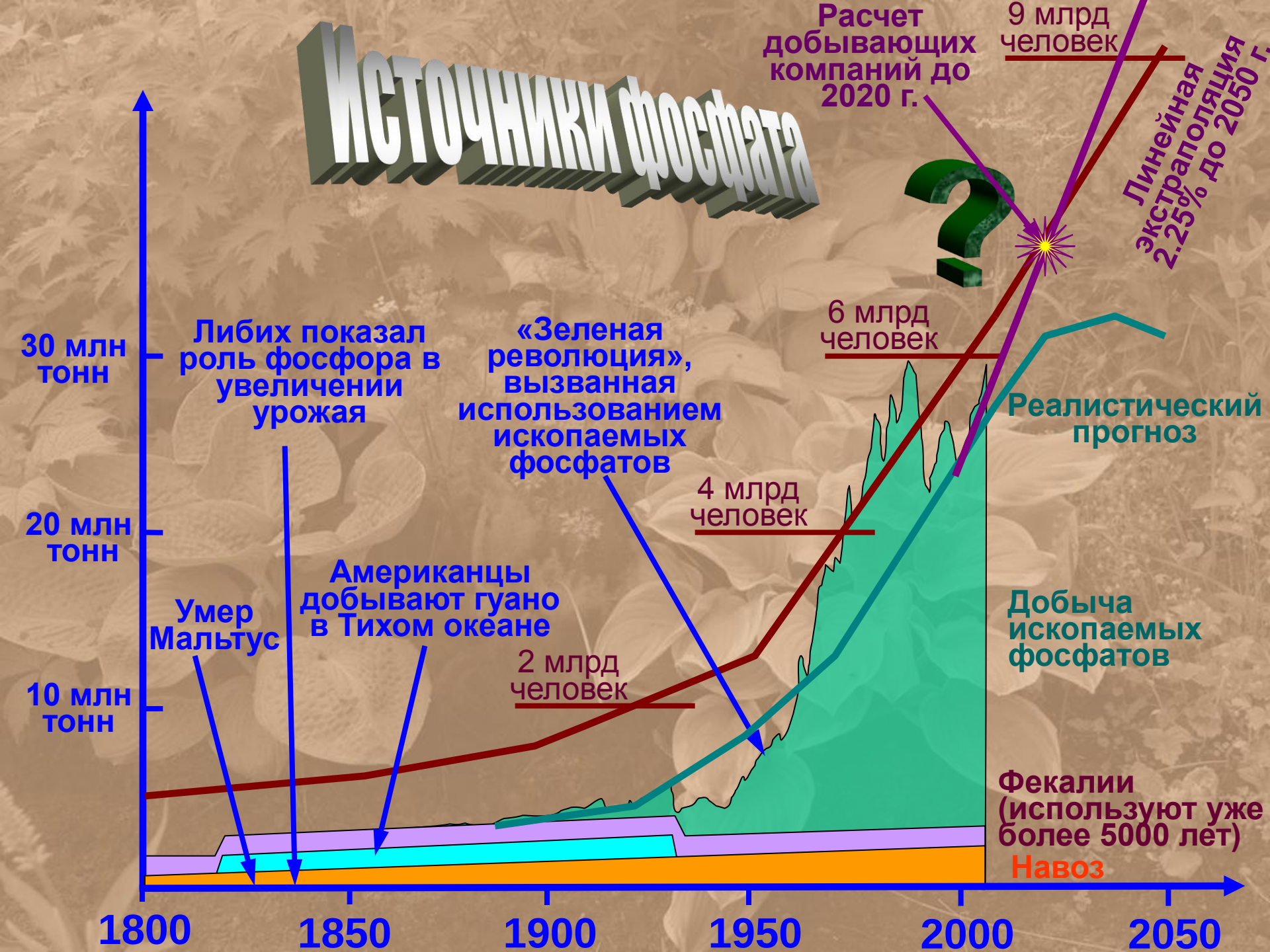
Phosphate Sector Breakdown



Источники фосфата



Источники фосфата

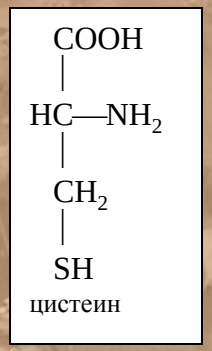


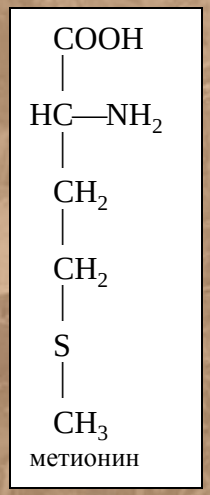
Задачи человечества

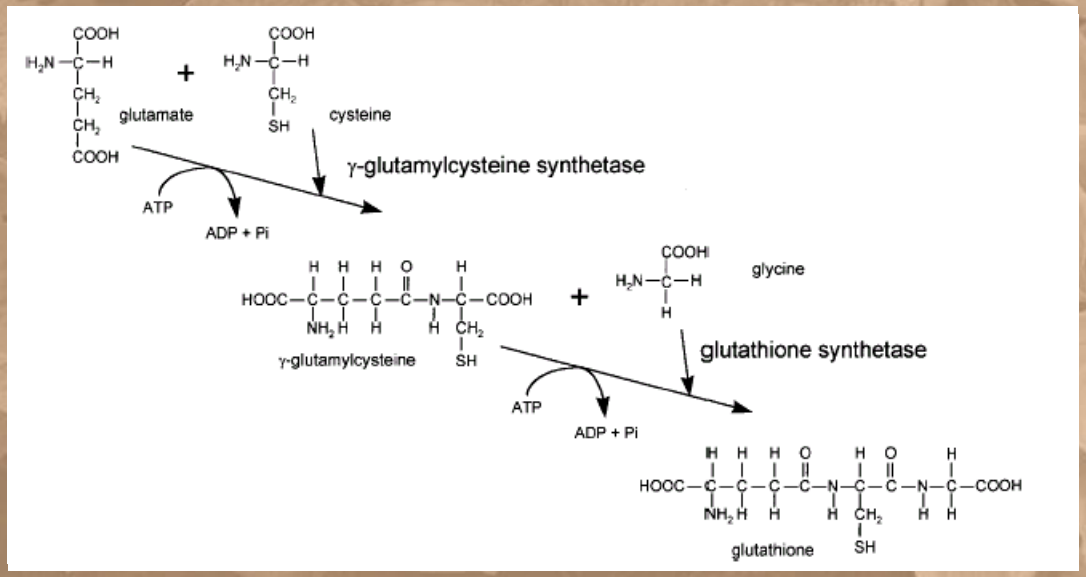
1. Контроль за геохимическими циклами элементов. В первую очередь – углерод, затем фосфор.
2. Увеличение энергообеспеченности для производства нарастающих количеств азотных удобрений
3. Увеличение и стабилизация сельскохозяйственной продукции. В первую очередь – продуктов растениеводства
4. Развитие новых технологий концентрации и обогащения элементами минерального питания

Метаболизм серы

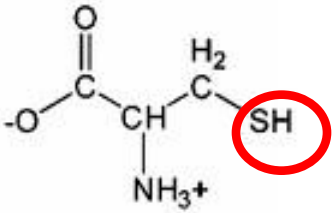
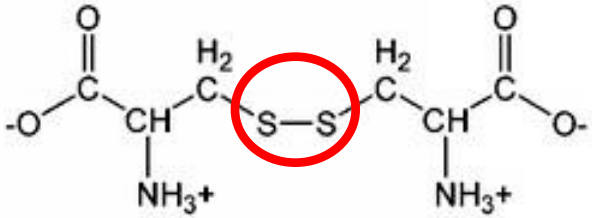
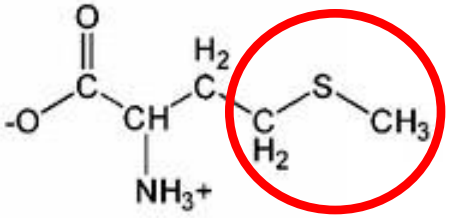
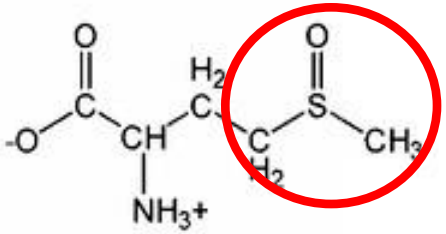
Сера

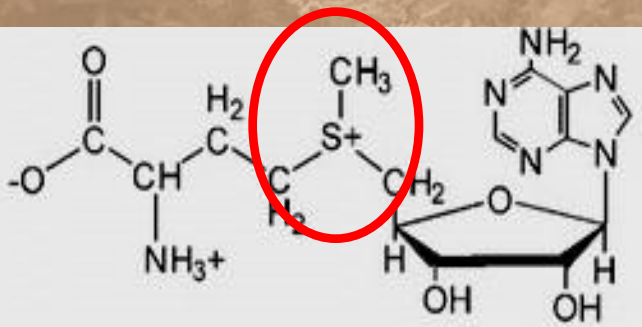
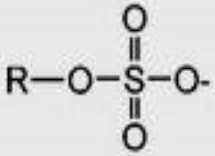
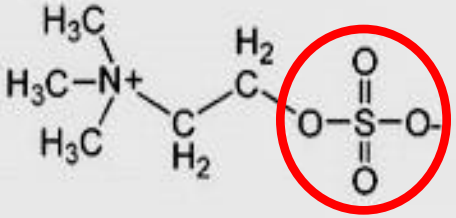
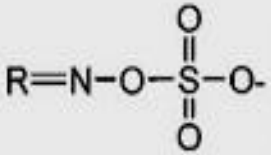
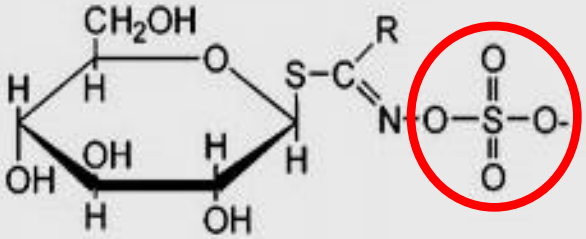
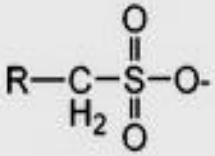
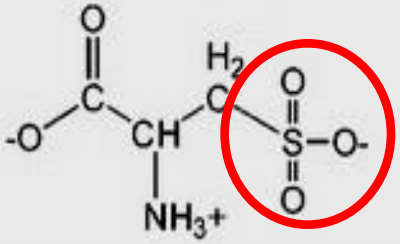






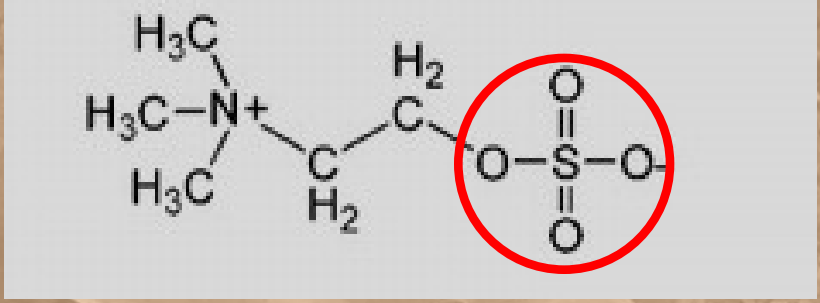
2 ГлSH ⟶ ГлS-SГл

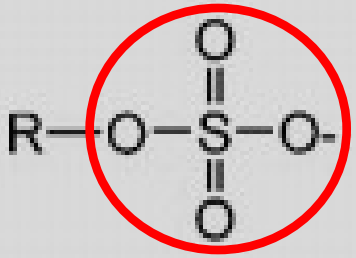
Form of Sulfur	General Structure	Example	Structure
Thiols	RSH	**cysteine** (others-coenzyme A, reduced glutathione, protein thiols)	
Disulfide	RSSR	**cystine** (others- oxidized glutathione, protein disulfides)	
Thioethers	R_1SR_2	**methionine** (others- biotin, thiamine pyrophosphate)	
Sulfoxides	R_1SOR_2	**methionine sulfoxide** (others- allicin the onion flavor compound)	

Methylsulfonium	$(H_3C)S^+(R)_2$	***S*-adenosylmethionine** (others- dimethyl-sulfoniopropionate, *S*-methylmethionine)	
Sulfate Esters		**choline-*O*-sulfate** (others- sulfated brassinosteroids)	
Sulfamates		**glucosinolate**- flavor compound of Brassica	
Sulfonic Acids		**cysteic acid** (others- sulfoquinovosyl diacylglycerol)	

Сульфатированные брассиностероиды

Sulfate Esters





choline-*O*-sulfate
(others- sulfated brassinosteroids)

Тургорин

Многие растения складывают листья на ночь (циркадный ритм)

первичный пульвинус (подушечка листа)

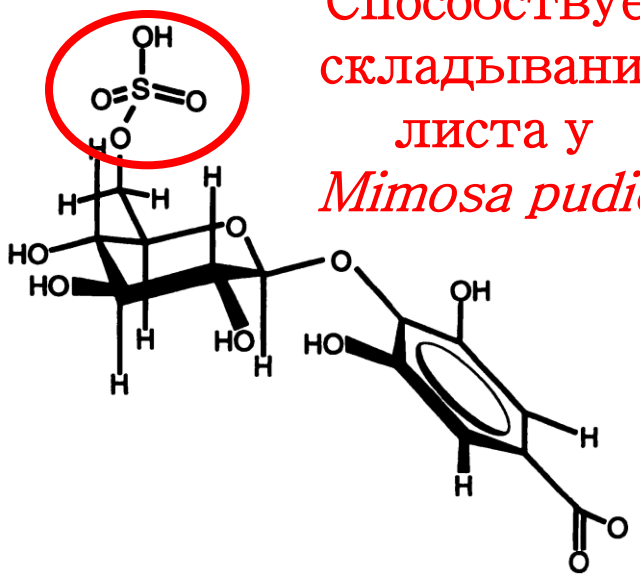
вторичный пульвину

третичный пульвину

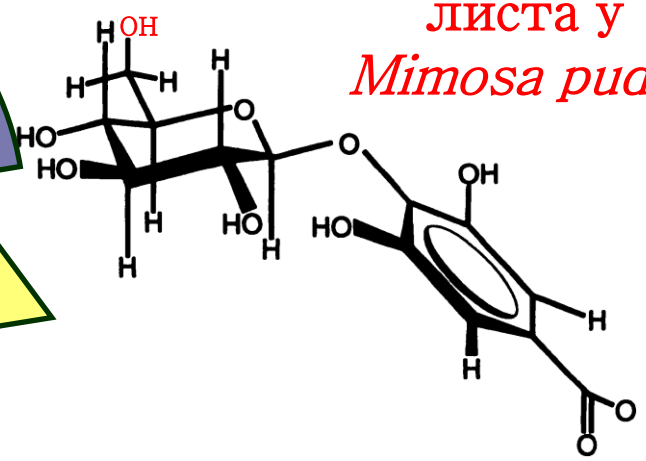
ФАФС

сульфо-трансфераза в ситовидных трубках

Способствует складыванию листа у *Mimosa pudica*



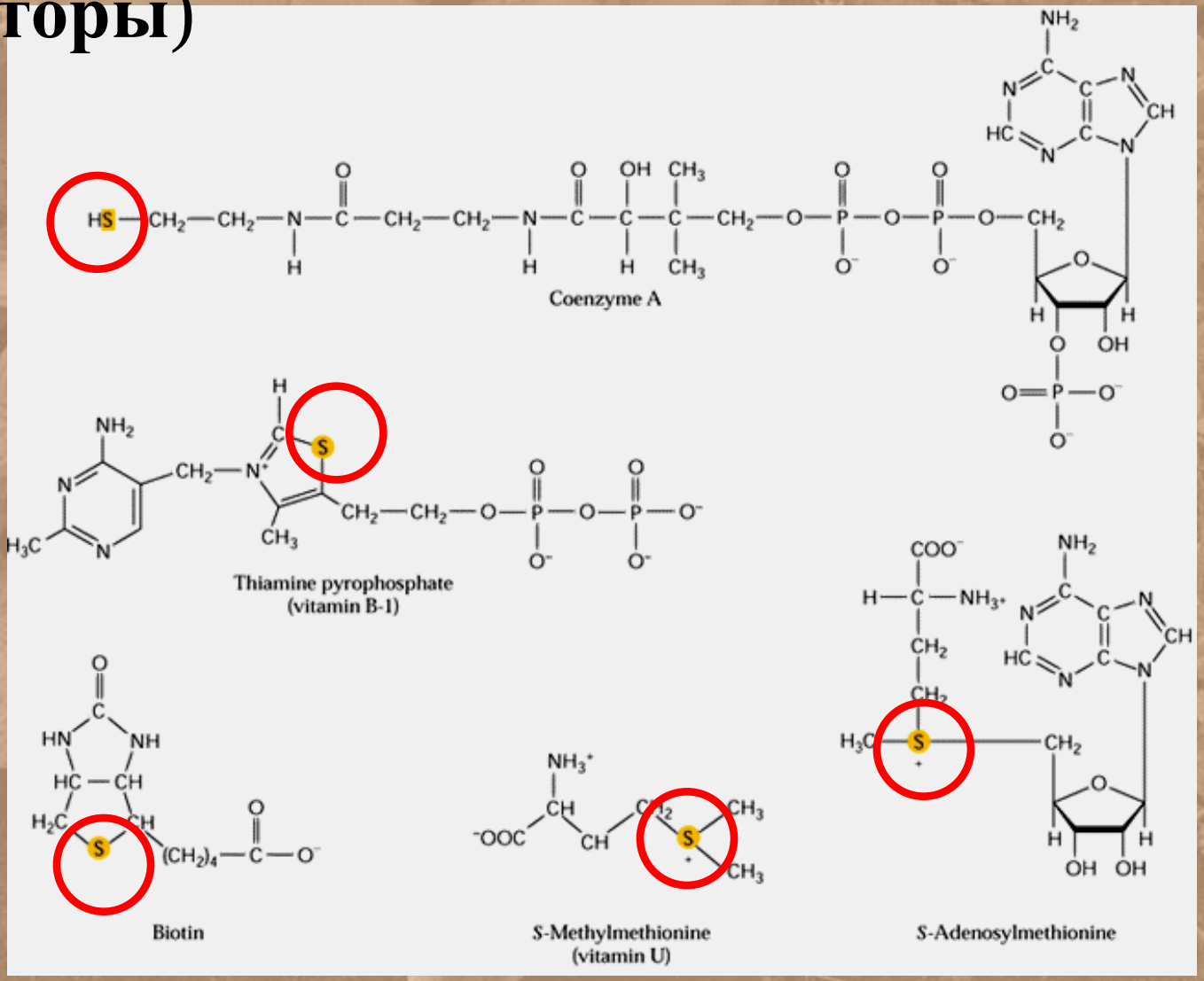
Способствует открыванию листа у *Mimosa pudica*



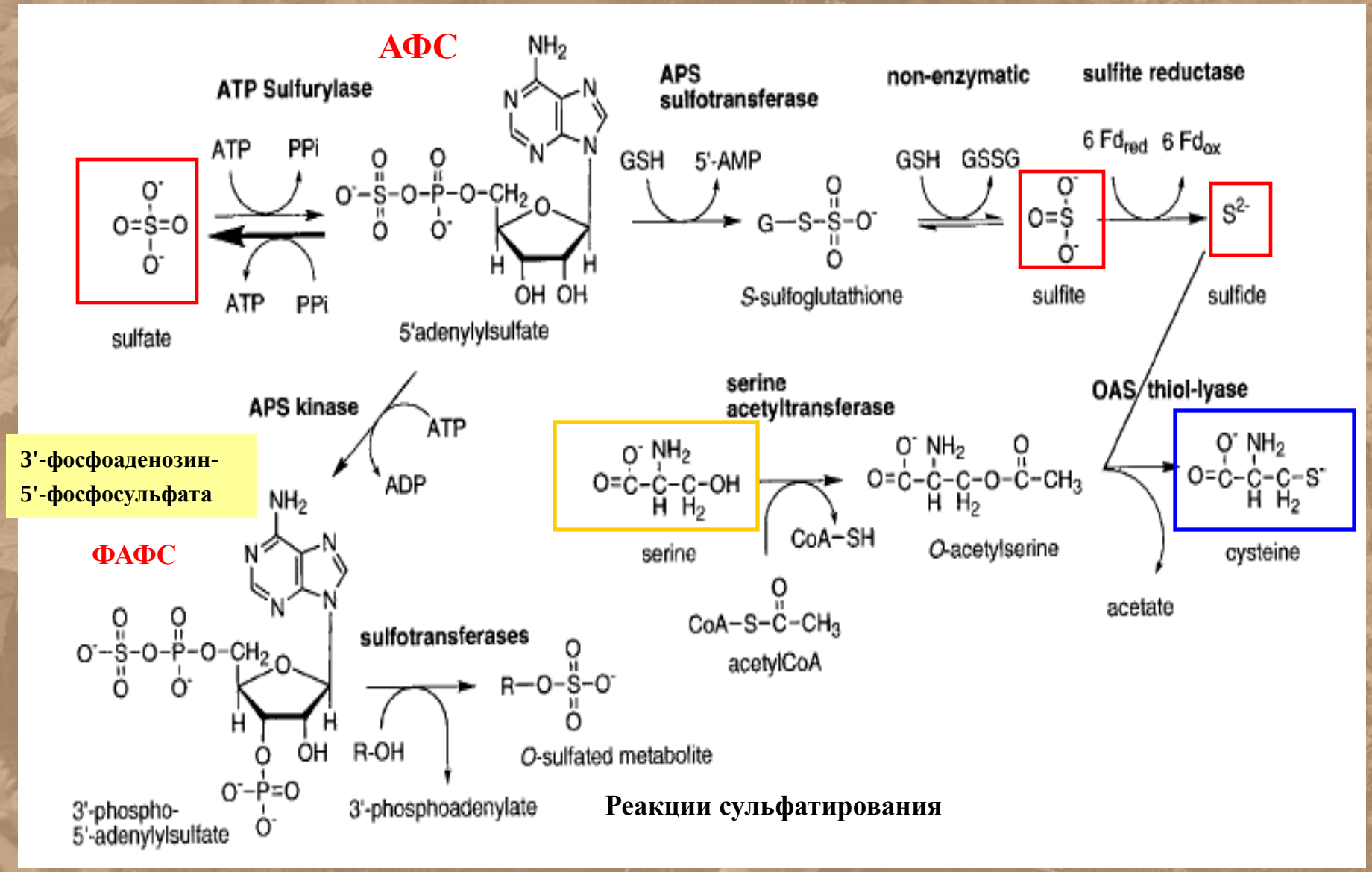
4-O-(β-D-глюкопиранозил-6'-сульфат)-галловая кислота = periodic leaf movement factor1 (PLMF-1)

Ленкоранская (мимозовые) *Albizzia lencoranica*

Важные соединения, содержащие серу (**кофакторы**)

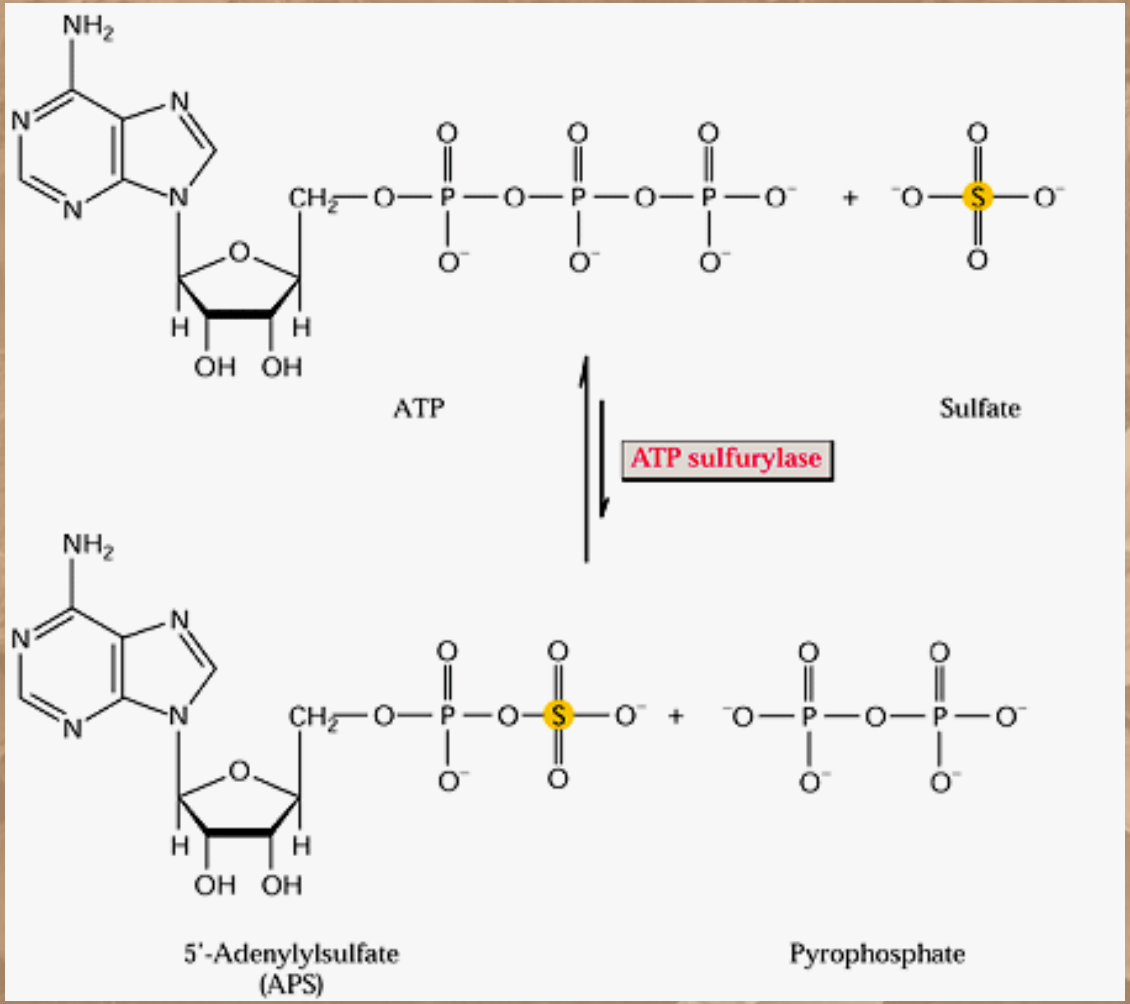


Ассимиляторное восстановление сульфата



Реакции сульфатирования

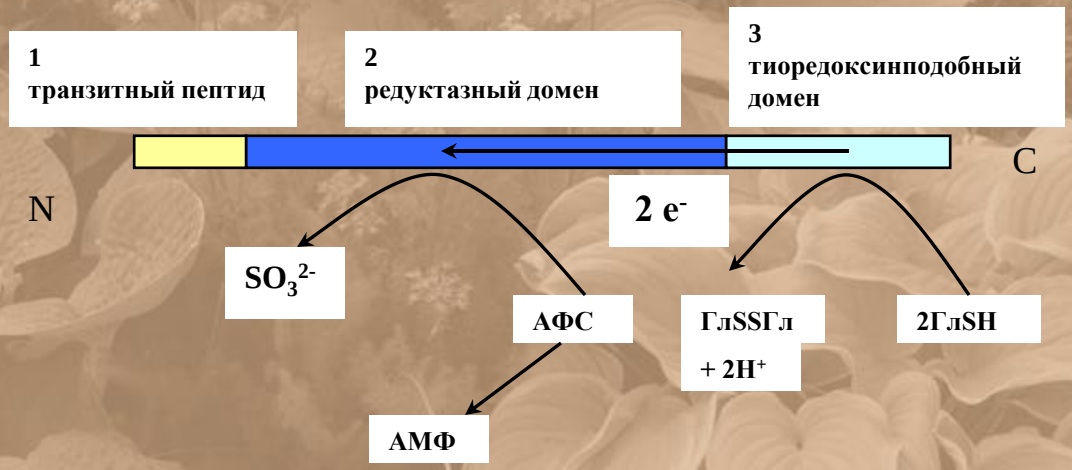
АТФ-сульфурилаза: пластидная и цитозольная изоформы



АФС: аденозин-5’-фосфофосульфат

АФС-сульфотрансфераза или АФС-редуктаза

$$АФС + 2ГлSH \longrightarrow SO_3^{2-} + 2H^+ + ГлSSГл + АМФ$$



Сульфитредуктаза

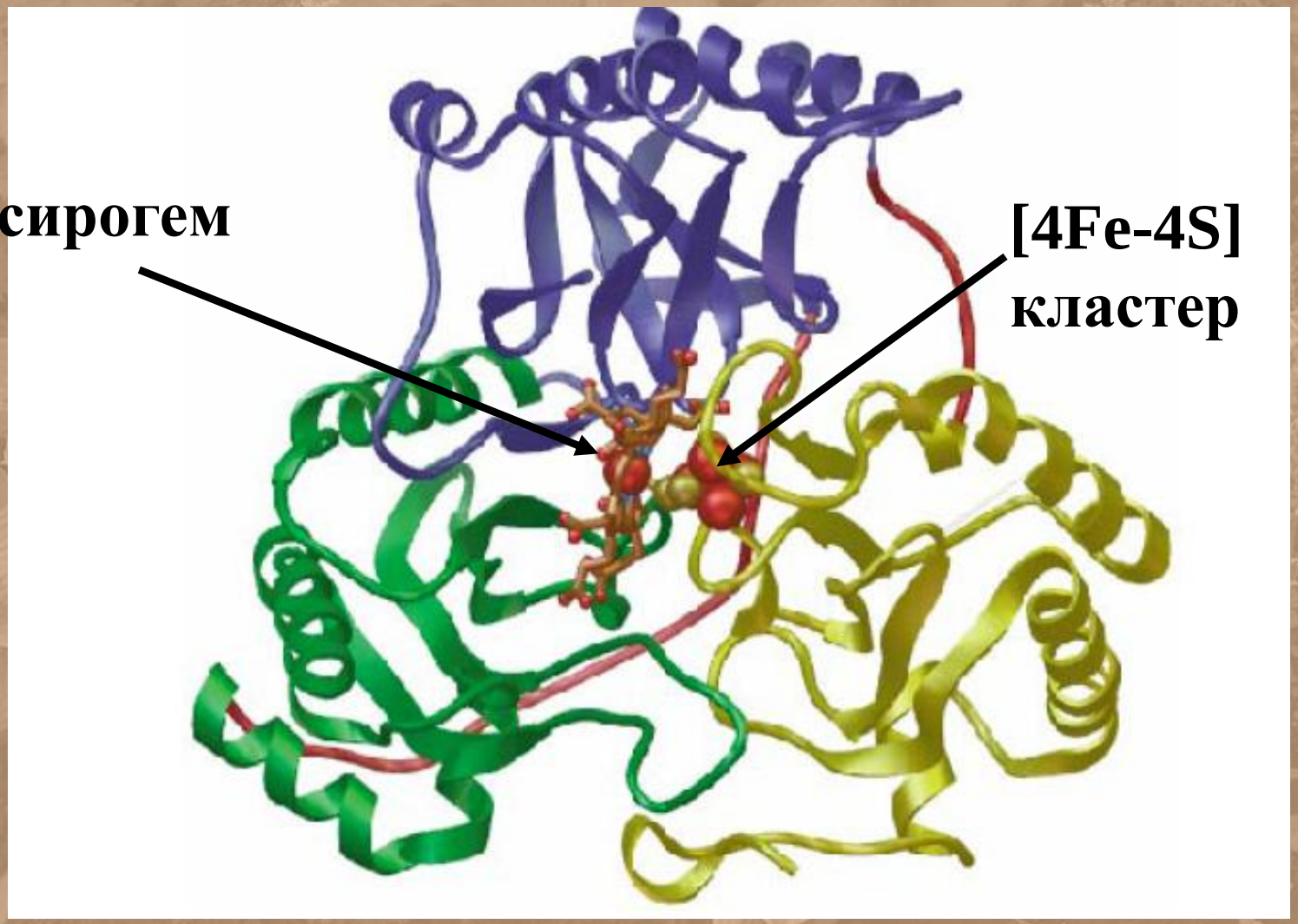
$$SO_3^{2-} + 6\ Фд_{восст.} \longrightarrow S^{2-} + 6\ Фд_{ок.}$$

Гомоолигомерный гемопротеин (2 или 4 идентичных субъединицы весом 64-71 кДа)

Каждая субъединица содержит
Fe - сирогем,
[4Fe-4S] кластер,
ФАД и ФМН

Восстановительный эквивалент
НАДН

Сульфитредуктаза



Сульфитредуктаза

Железо сирогема

Железо-серный кластер 4Fe-4S

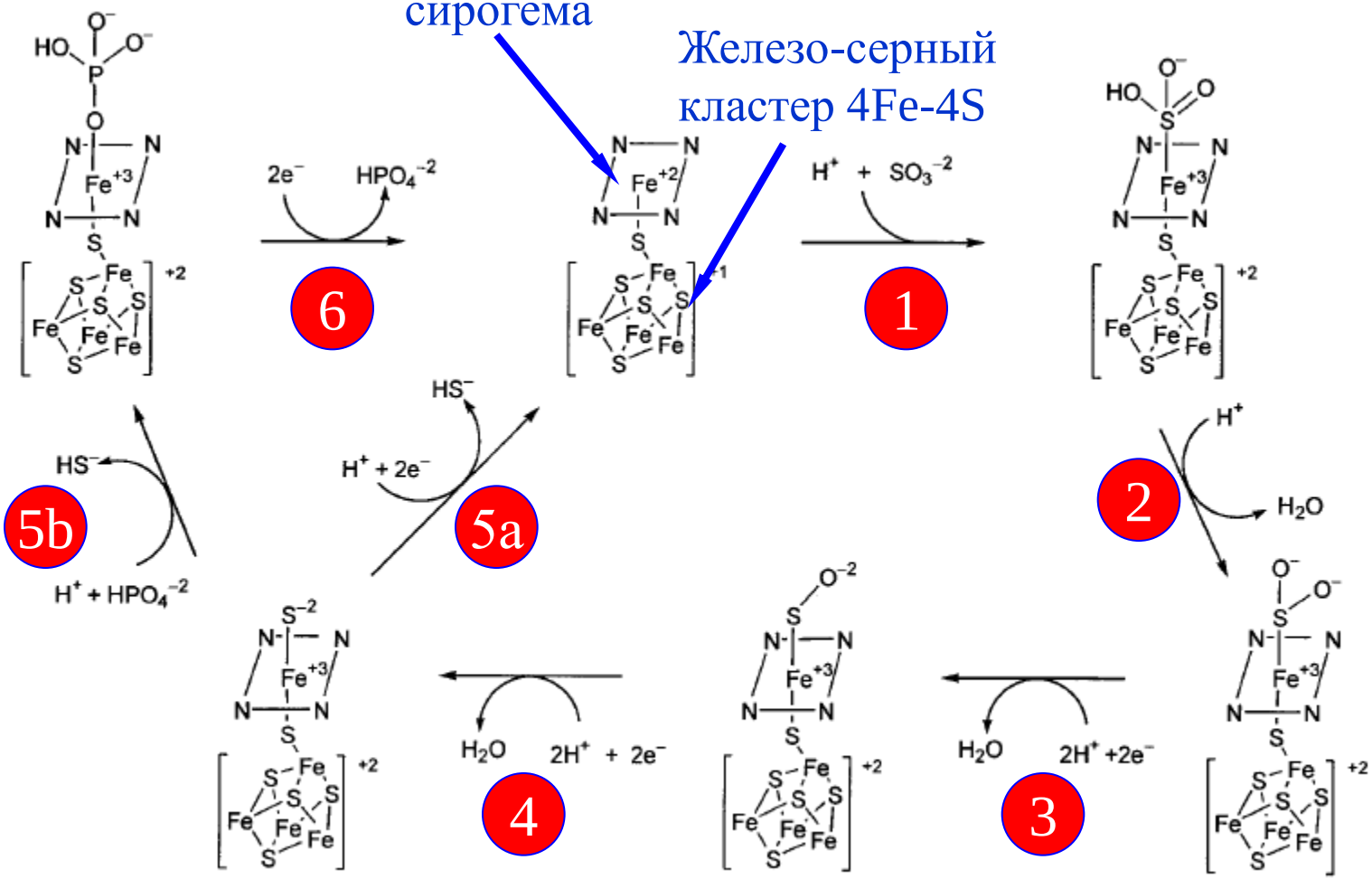
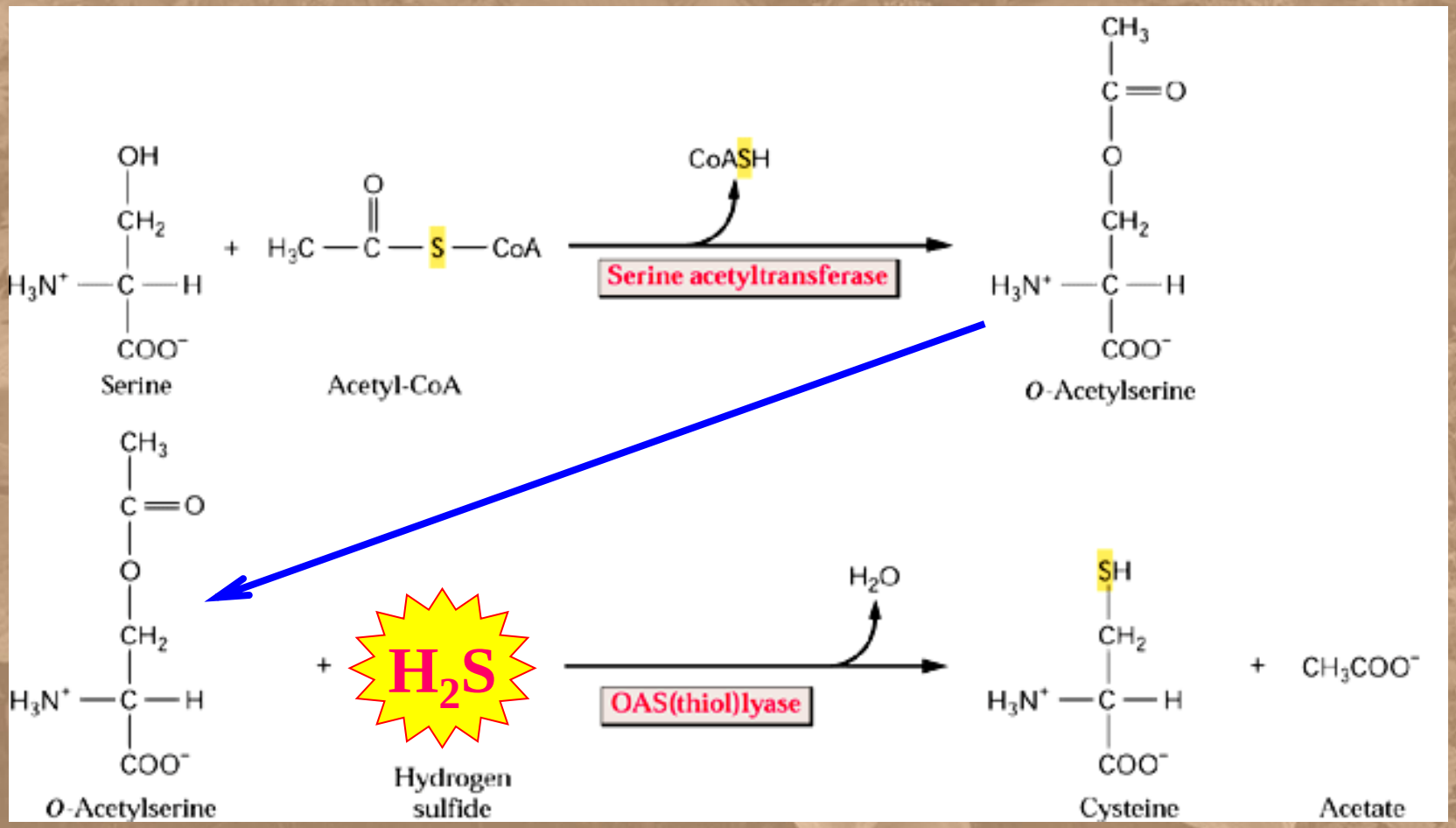


Figure 7 Schematic for the proposed mechanism of sulfite reduction by aSiRHP.

Этап 1: подготовка О-ацетилсерина

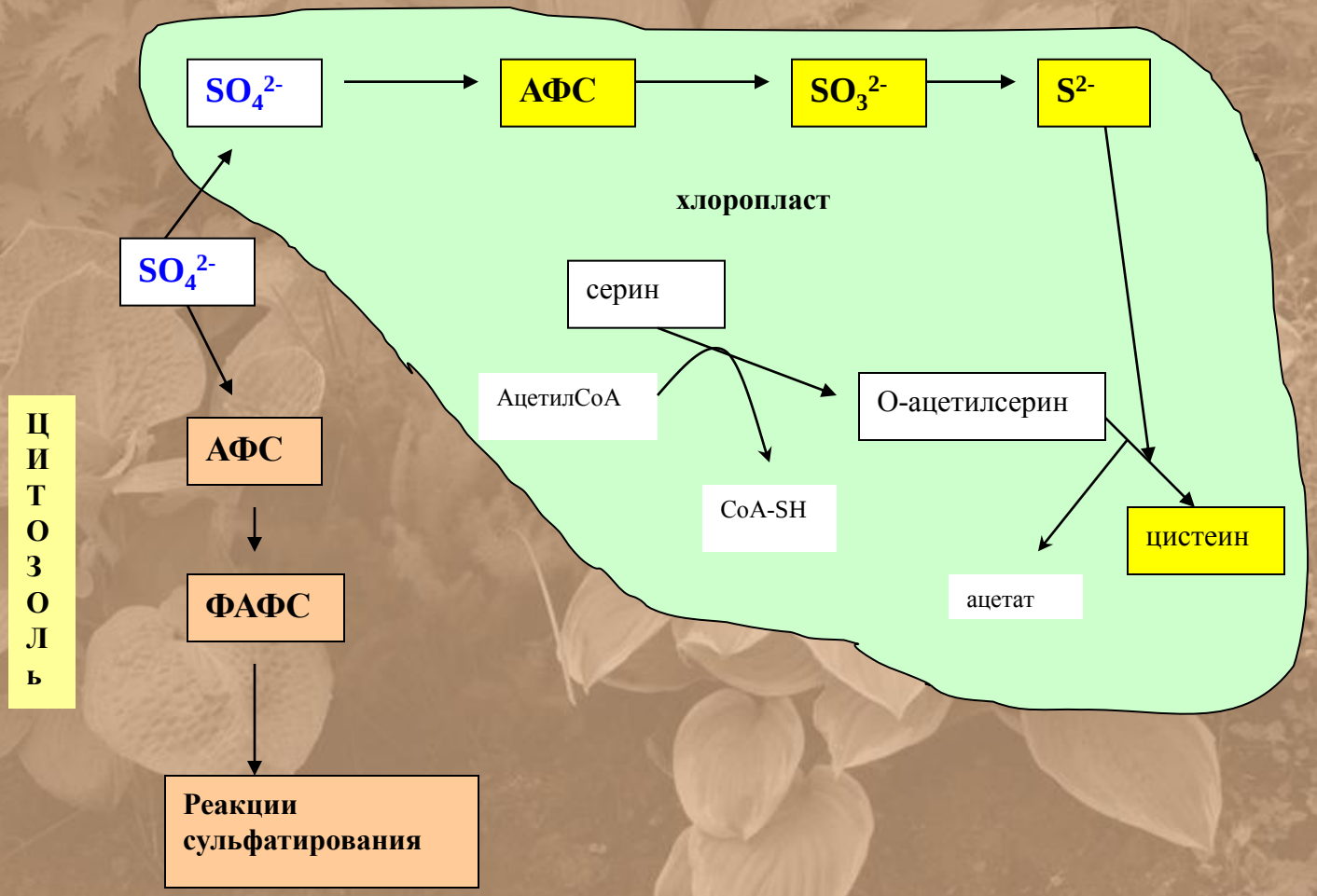
Серинацетилтрансфераза

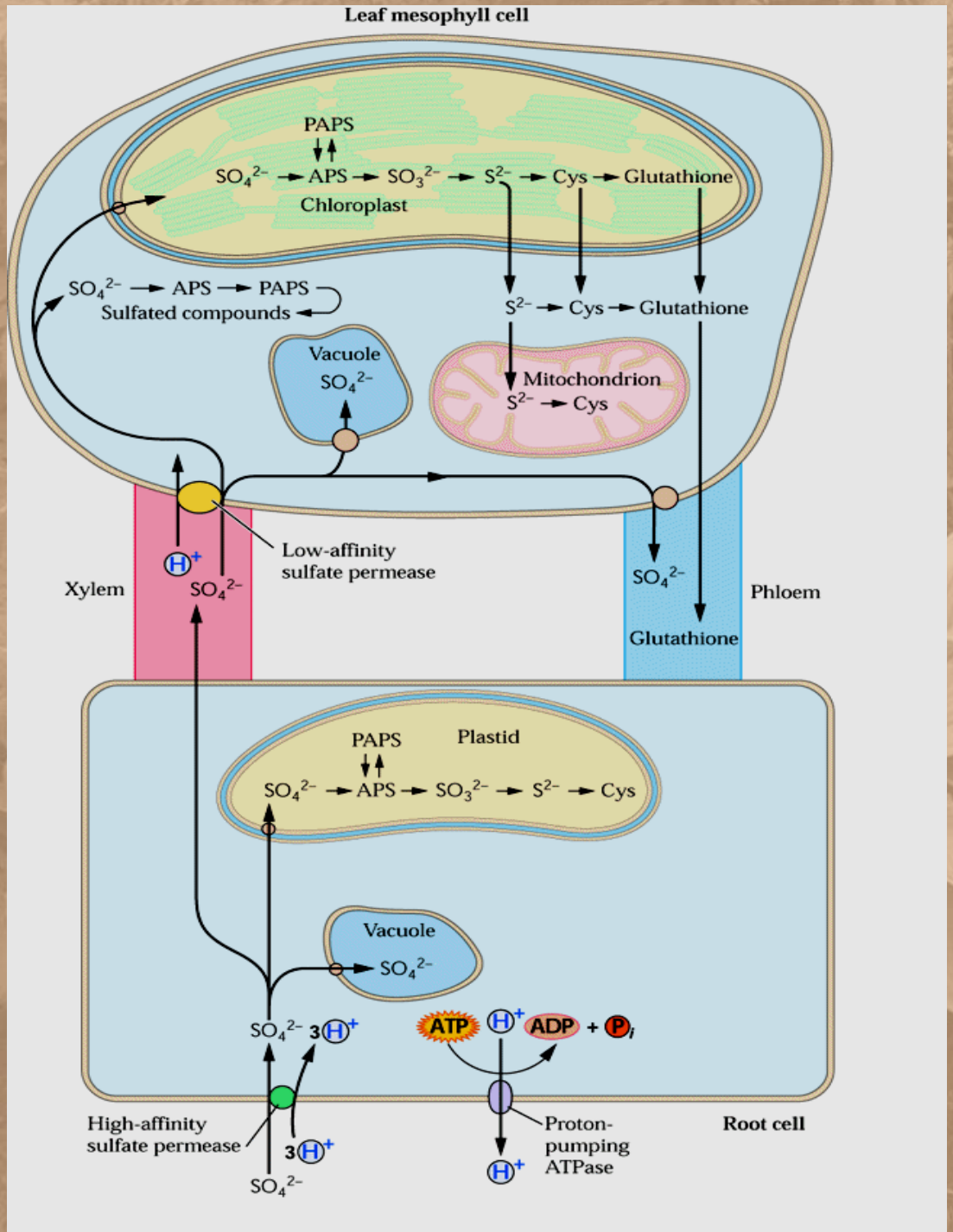


Этап 2: тиолиз с образованием цистеина

О-ацетилсеринлиаза

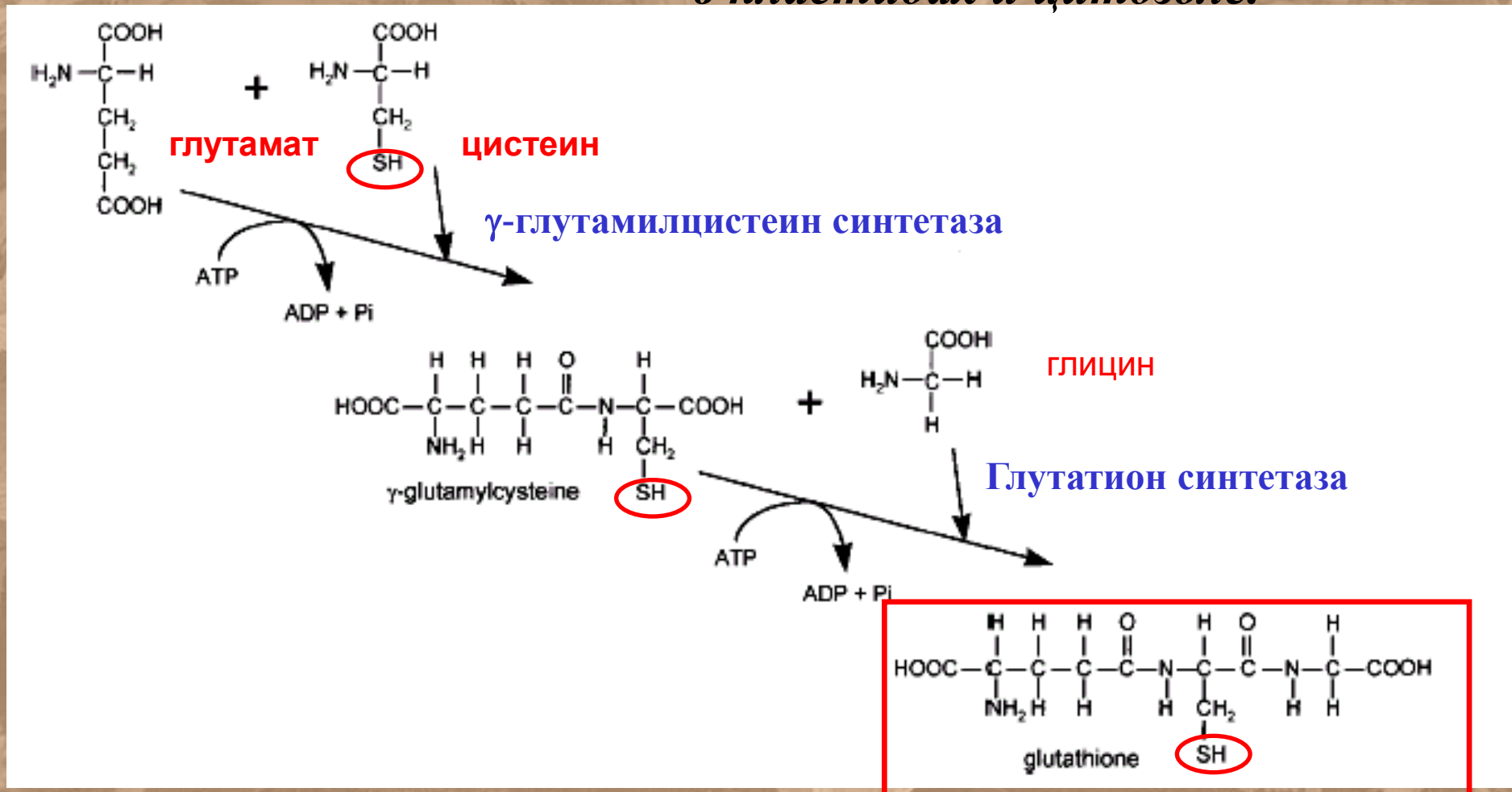
Схема включения сульфата в метаболизм




Leaf mesophyll cell
PAPS
SO_4^{2-} → APS → SO_3^{2-} → S^{2-} → Cys → Glutathione
Chloroplast
SO_4^{2-} → APS → PAPS
Sulfated compounds
S^{2-} → Cys → Glutathione
Vacuole
SO_4^{2-}
Mitochondrion
S^{2-} → Cys
Low-affinity
sulfate permease
Xylem
H^+
SO_4^{2-}
SO_4^{2-}
Glutathione
Phloem
PAPS
Plastid
SO_4^{2-} → APS → SO_3^{2-} → S^{2-} → Cys
Vacuole
SO_4^{2-}
SO_4^{2-} $3H^+$
ATP
H^+
ADP + P_i
High-affinity
sulfate permease
$3H^+$
SO_4^{2-}
Proton-
pumping
ATPase
H^+
Root cell

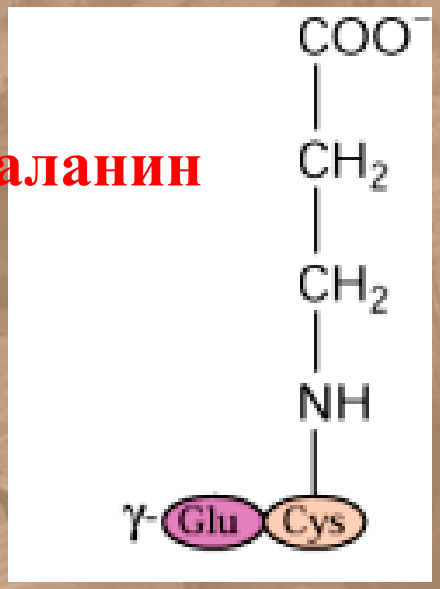
Глутатион

не кодируется геномом, а синтезируется ферментативно в пластидах и цитозоле.



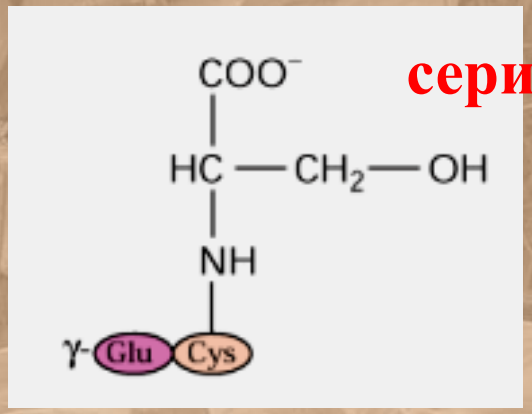
Химические формы глутатиона у растений разнообразны (глицин заменяется на другую ак)

β-аланин



гомоглутатион у бобовых

серин



гидроксиметилглутатион у некоторых трав

Функции глутатиона

.

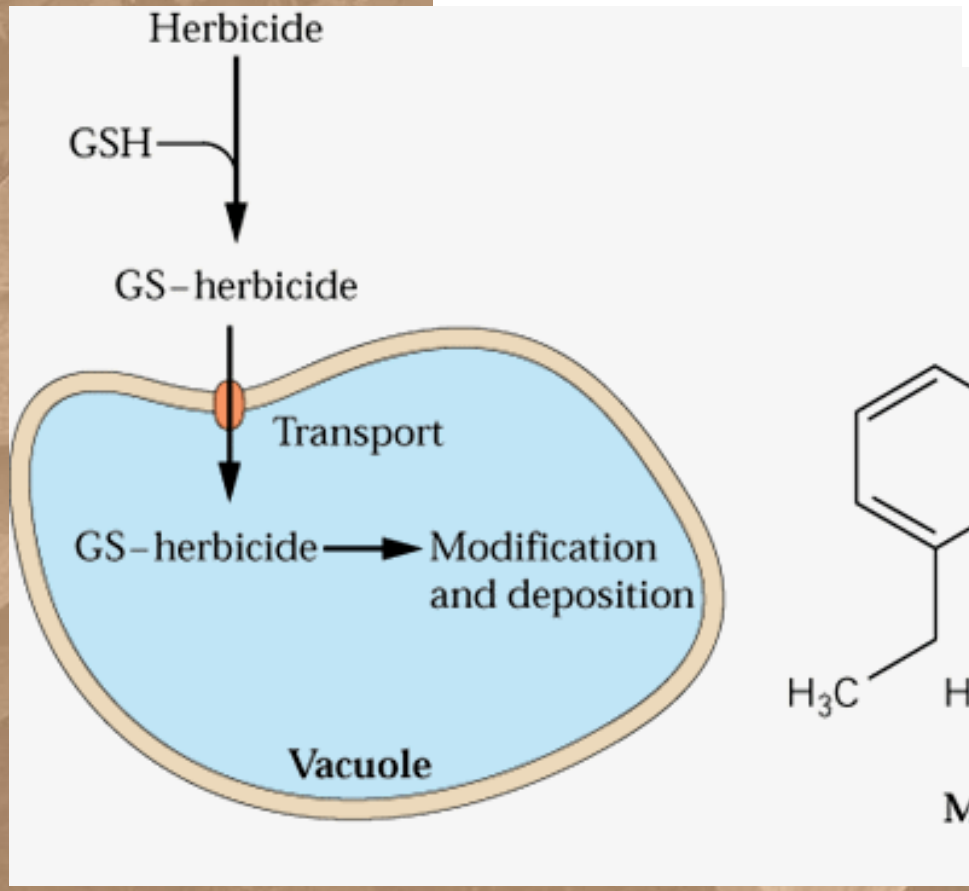
Запасная

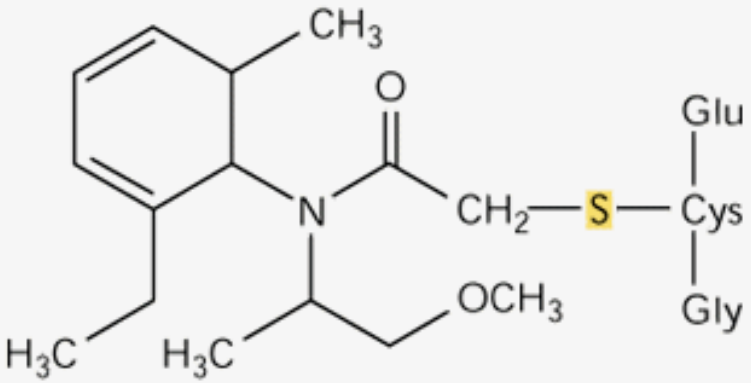
Транспортная

Защитная

Система 2 ГлSH / ГлSSГл работает на поддержание окислительно-восстановительного потенциала в клетке

Защитная функция ГлSH

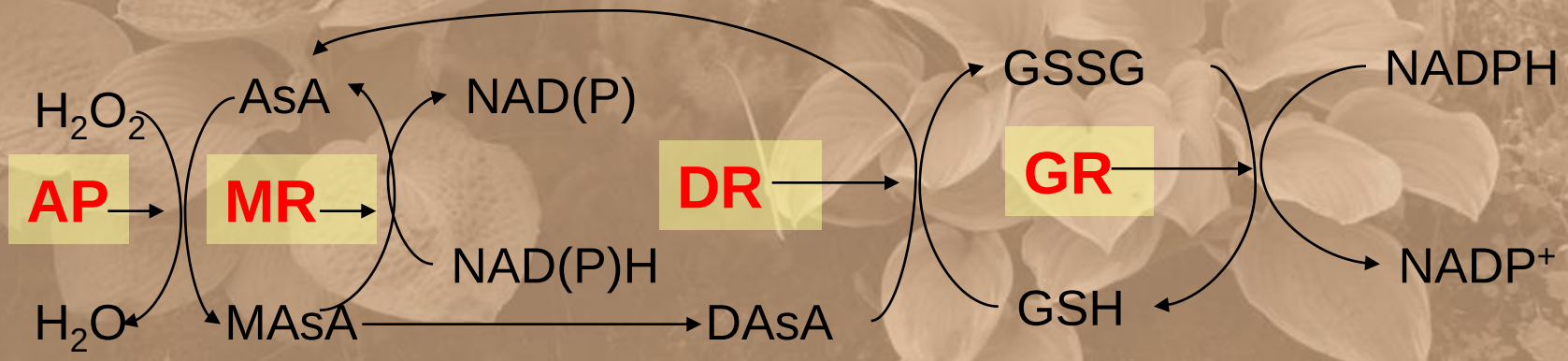




Metachlor–GS complex

Аскорбат-глутатионовый цикл

- **Аскорбатпероксидаза** (AP),
- **Дегидроаскорбатредуктаза** (DR),
- **Монодегидроксиаскорбатредуктаза** (MR),
- **Глутатионредуктаза** (GR)
- образуют аскорбат-глутатионовый цикл, работающий как в цитозоле, так и в хлоропластах.

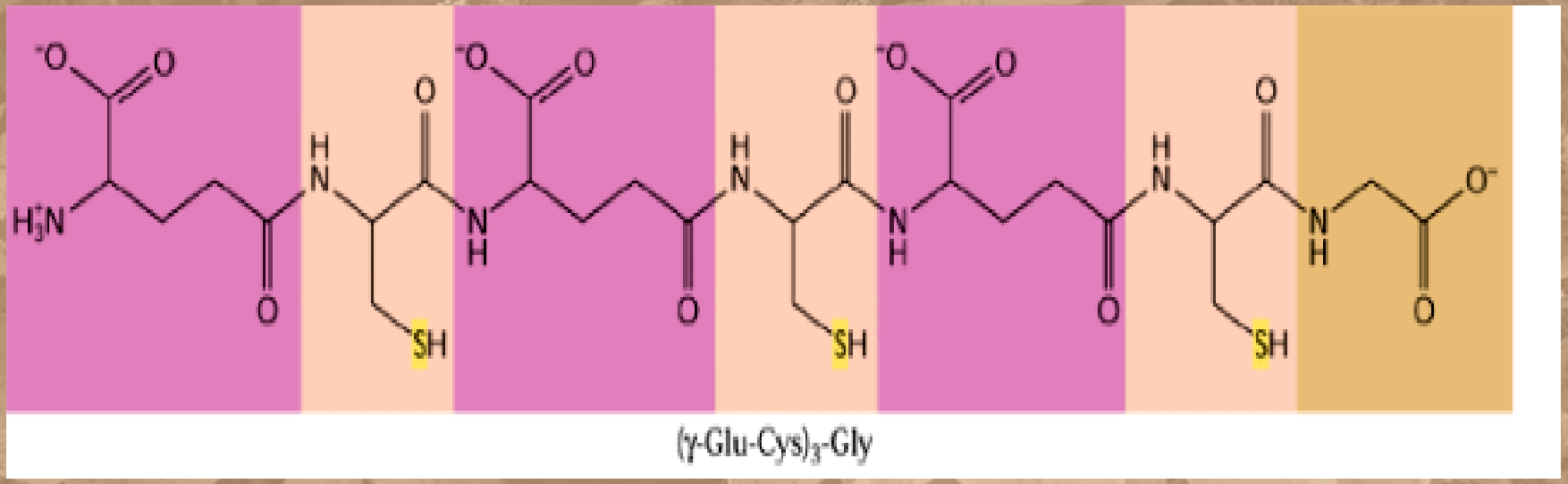


Фитохелатин синтаза

γ-глутамилцистеин дипептидил транспептидаза

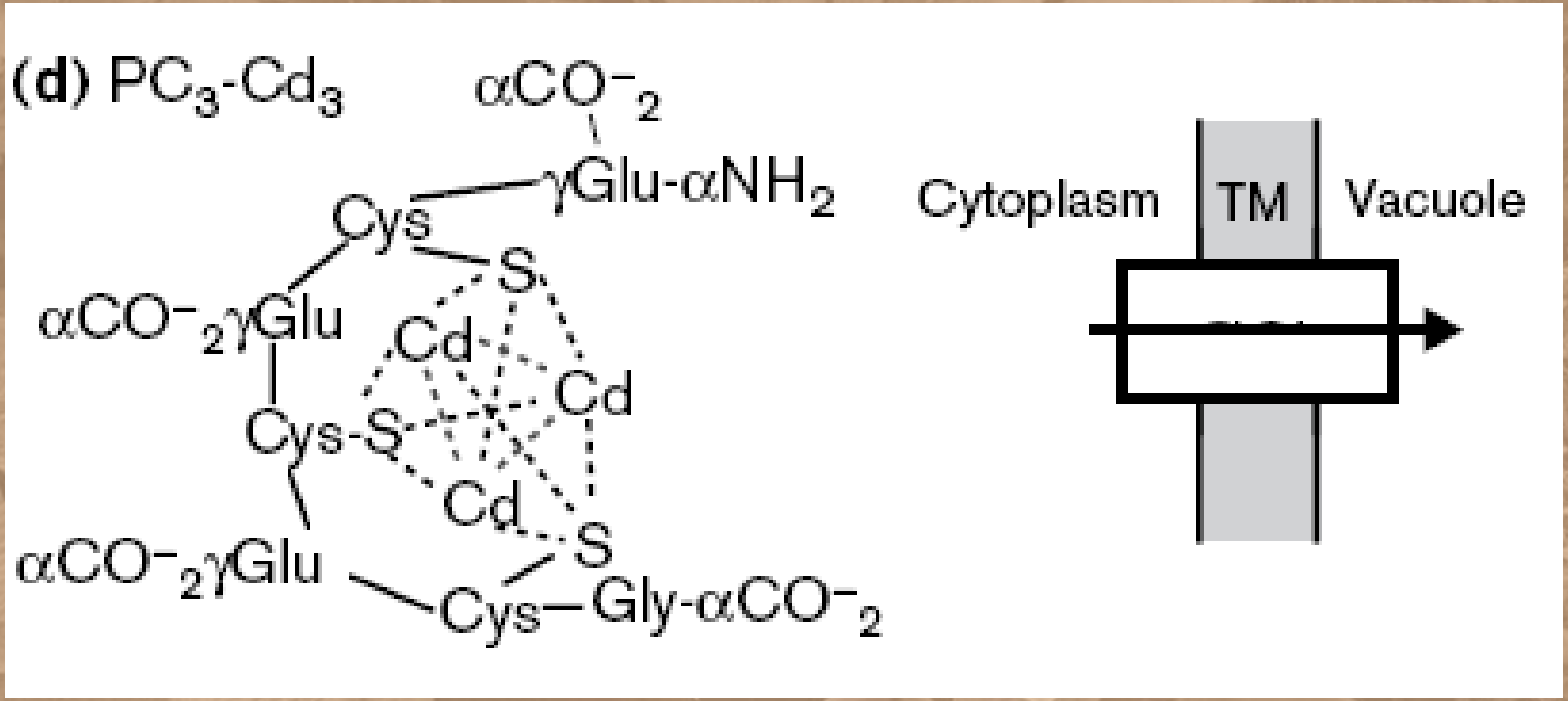
Фермент катализирует перенос глутатиона на карбоксильную группу цистеина другой молекулы глутатиона или в аналогичную позиию на молекуле фитохелатина.

Фитохелатины



$(\gamma Glu\text{-}Cys)_n$- Gly, где n=2÷5.

Фитохелатины еще одна линия защиты растений?



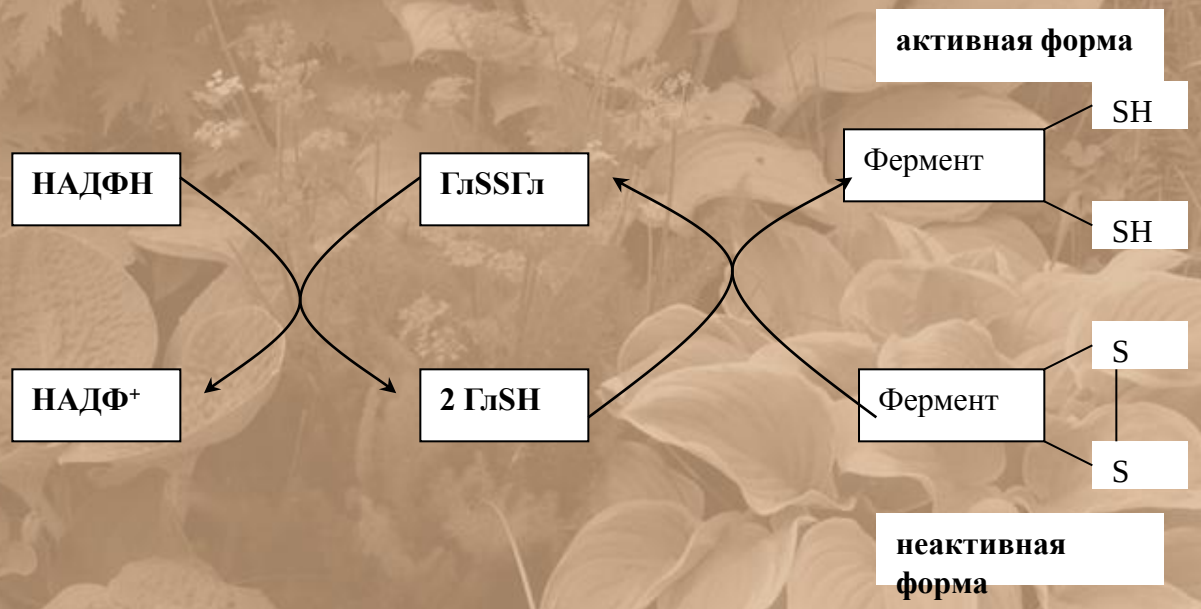
Детоксикация Cd с помощью фитохелатинов

Мутанты арабидопсис по белку фитохелатинсинтазе

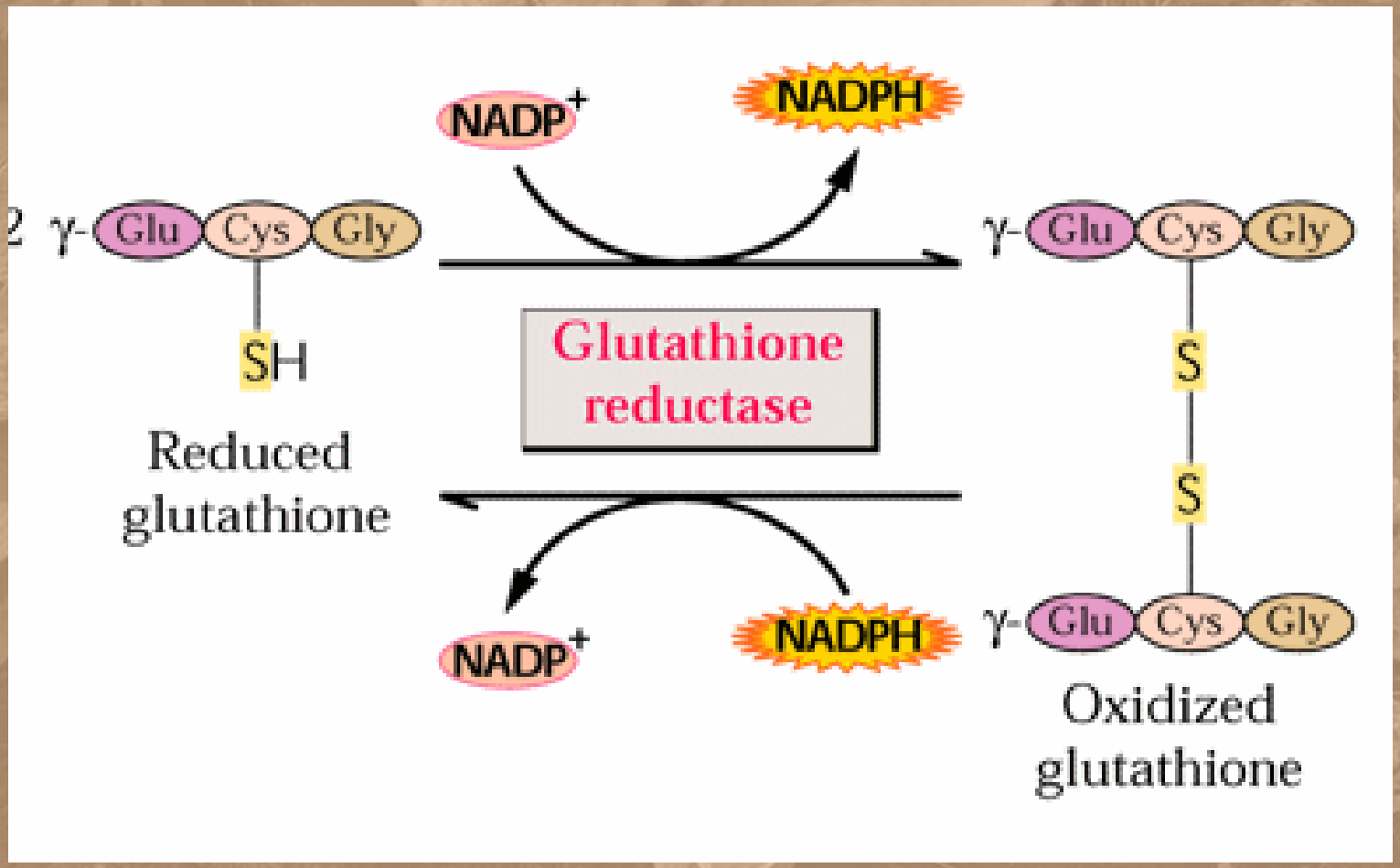
1. **Очень чувствительны к Cd и As**
2. **Не чувствительны (или малочувствительны) к Cu, Hg, Ag, Zn, Ni**

1. **Cu строго активирует синтез фитохелатинов in vivo и in vitro**
2. **Фитохелатины образуют временные комплексы с Cu in vivo, но они они не изолируются в вакуоли**

Поддержание окислительн-восстановительного потециала в клетке



Глутатионредуктаза



Угадайте, какому хлебу не хватает S?