

University of Groningen

## Uptake of nitrate by chlorate-resistant mutants of *Arabidopsis thaliana* (L.) heynh.

Doddema, Hindrik

**IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.**

*Document Version*

Publisher's PDF, also known as Version of record

*Publication date:*

1978

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

*Citation for published version (APA):*

Doddema, H. (1978). Uptake of nitrate by chlorate-resistant mutants of *Arabidopsis thaliana* (L.) heynh. s.n.

**Copyright**

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

**Take-down policy**

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

## SAMENVATTING

Nitraat is de belangrijkste stikstofbron voor de meeste planten. Het wordt uit de grond opgenomen door de wortels in een actief proces, een soort pompmechanisme, waarvoor energie nodig is. Eenmaal in de plant gekomen moet het eerst worden omgezet in ammonium voordat het kan worden ingebouwd in aminozuren, die op hun beurt dienen als bouwstenen van eiwitten en andere belangrijke bestanddelen van de levende plant zoals bv. DNA en RNA. De omzetting van nitraat in ammonium gebeurt in twee stappen, die beide worden uitgevoerd met behulp van enzymen. Voor de eerste stap, de omzetting van nitraat naar nitriet, is het enzym nitraat-reductase nodig. Voor de tweede stap, de omzetting van nitriet naar ammonium, het enzym nitrietreductase.

Ondanks het grote belang van nitraat voor de stikstofvoorziening van de plant en dus voor mens en dier, is het opname proces van nitraat als eerste stap in de productie van eiwitten, verrassend weinig onderwerp van onderzoek geweest, zeker als men het vergelijkt met de opname van bv. kalium, natrium en chloride. Dit wordt voor een deel veroorzaakt door technische beperkingen. Opname van zouten is vooral goed te onderzoeken als men kan werken met radioactieve isotopen, waardoor kleine hoeveelheden al goed meetbaar zijn. Van stikstof bestaat een radioactieve isotoop, maar dat heeft slechts een halfwaardetijd van ongeveer 10 minuten, waardoor het in de praktijk nauwelijks bruikbaar is. Hetzelfde geldt voor zuurstof, het andere bestanddeel van nitraat. Toch is het mogelijk gebleken lage nitraatconcentraties te meten. In dit onderzoek wordt gebruik gemaakt van de eigenschap van nitraat in oplossing dat het U.V. licht van een golflengte van 210 nm absorbeert. Hiermee kan men, mits men de nodige voorzorgen in acht neemt, zeer lage concentraties nitraat meten. Met de opstelling die speciaal voor dit doel werd gebouwd, kan de opname van nitraat door de planten nauwkeurig en continu worden vervolgd en dus ook de invloed van allerlei behandelingen van de planten op de opname.

Het onderzoek werd uitgevoerd met *Arabidopsis thaliana* (zandraket), een kleine witbloeiende kruisbloemige, die gewoonlijk op open, kalkarme, maar vrij voedselrijke zandgronden voorkomt, bv. in Drente. Deze plant werd gekozen omdat hiervan mutanten beschikbaar waren, verkregen door middel van selectie op resistentie tegen chloraat na een mutagene behandeling. Mutant B 1 bleek slecht chloraat en nitraat op te kunnen ne-

men en mutant B 25 bezat geen werkzaam nitraatreductase meer, zodat opgenomen nitraat niet gebruikt kon worden voor de vorming van eiwitten en de plant dus ammonium nodig had voor de groei.

De onderzoeken wezen uit dat nitraat in twee fasen kan worden opgenomen die overeen komen met twee verschillende opname systemen. Het eerste systeem heeft een hoge affiniteit voor nitraat, zodat de planten in staat zijn met dit systeem nitraat op te nemen uit zeer lage concentraties in de bodem. Het systeem wordt door nitraat geactiveerd en het wordt geremd door bepaalde aminozuren, die zich ophopen als de plant een overmaat aan stikstof heeft. Dezelfde aminozuren hopen zich op als een plant op ammonium groeit en dat is de reden dat planten die op ammonium gekweekt zijn, daarna een slechte nitraatopname laten zien. Het eerste systeem is gelocaliseerd in de buitenmembraan van de wortelcellen, zodat het in direct contact staat met het voedingsmedium. De energie die nodig is voor de opname door dit systeem wordt waarschijnlijk geleverd door een protonen gradiënt over de buitenmembraan, waarbij de buitenkant positief geladen is ten opzichte van de binnenkant. De protonen gradiënt kan waarschijnlijk worden opgebouwd door splitsing van de energierijke stof ATP, of zoals reeds is aangetoond in bacteriën, door een oxidatie-reductie reactie, vergelijkbaar met een dergelijke reactie in de ademhalingsketen.

Op grond van het feit dat in mutant B 1 alleen systeem II is gestoord, kan worden gesteld dat beide systemen door verschillende genen worden gereguleerd, en dat het dus aparte systemen zijn.

Met het tweede systeem kan alleen uit hoge nitraatconcentraties voldoende worden opgenomen. Het lijkt waarschijnlijk dat systeem II het nitraat rechtstreeks transporteert van het medium naar de grote centrale vochtblaas in de cel, de vacuole, waar het wordt opgeslagen. In overeenstemming met het feit dat systeem II in mutant B 1 is gestoord, wordt in deze mutant inderdaad minder nitraat in de vacuoles gevonden dan in die van het wildtype.

Nitraatreductie bleek in onze proeven niet nodig te zijn voor een goede nitraatopname. Integendeel, het heeft alleen een negatieve invloed doordat er in aanwezigheid van nitraatreductie meer aminozuren worden gevormd uit het opgenomen nitraat en deze de opname remmen. Voorbehandelen van de planten zonder stikstof ("honger") heeft dan ook een duidelijk positief effect op een daarna volgende nitraatopname.

gekweekt op een voedingsoplossing met een temperatuur tussen 21<sup>o</sup> en 25<sup>o</sup>C, blijkt de opnamesnelheid van systeem I snel af te nemen wanneer de temperatuur daalt beneden de 23<sup>o</sup>C en dit blijkt samen te hangen met de toestand van de vetzuren en de samenstelling van het vetzuurmengsel in de membranen. Systeem II lijkt veel minder gevoelig voor lage temperaturen dan systeem I en mutant B 1 is minder gevoelig dan het wildtype, terwijl mutant B 25 veel gevoeliger is. Het is niet zeker of de vetzuursamenstelling van de mutanten iets te maken heeft met de andere eigenschappen van de mutanten, maar het lijkt wel waarschijnlijk.

Geconcludeerd kan worden dat door gebruik te maken van de mutanten van *Arabidopsis thaliana* meer inzicht is verkregen in de werking van de opnamesystemen voor nitraat, alsmede in de manier waarop deze opname wordt gereguleerd. Dit kan van belang zijn voor het begrijpen van het stikstofmetabolisme bij planten in het algemeen en van voedselgewassen in het bijzonder.