

Mikroorganismy a rhizosféra

Mikroorganismy a rostliny

Mikroorganismy a rostliny

- mikroorganismy prospěšné
 - symbiotická fixace vzdušného dusíku
 - mykorrhiza
 - biokontrolní mikroorganismy
 - mikroorganismy podporující rostlinný růst
- mikroorganismy patogenní

Rhizosféra

- půda ovlivněná kořeny rostlin
- 5 mm i více kolem kořenů
- pH o jednotku vyšší nebo nižší
- sušší
- více organických látek

Substráty uvolňované z kořenů

- exudáty – nízkomolekulární, uvolňující se nemetabolicky z intaktních buněk – po koncentračním spádu
- sekrety – produkty metabolismu aktivních buněk – transport i proti koncentračnímu gradientu – polysacharidy, aminokyseliny
- lyzáty – vznikají autolýzou starších buněk
- mucigel – gelovitý materiál rostlinného a mikrobiálního původu + uvolněné hraniční buňky kořenové čepičky

Substráty uvolňované z kořenů

- organické kyseliny a lipidy – snižují pH a chelatizují kovy
- růstové faktory – stimulují aktivitu mikroorganismů
- těkavé látky
- mucigel – zdroj organických látek pro MO, MO produkují polysacharidy, ochrana kořenové čepičky, příjem živin díky pH-dependentní výměnné kapacitě kationtů
- uvolňování látek do rhizosféry je ovlivněno druhem rostliny, věkem a vývojovým stadiem, teplotou, vlastnostmi půdy a půdní mikroflóry

Populace rhizosféry

- závisí na složení, vlhkosti a množství kyslíku v půdě
- větší u polních plodin než u stromů

- poměr R/S – počet mikroorganismů v rhizosféře / počtu mikroorganismů ve většinové půdě
- mikroflóra – bakterie (včetně aktinomycet) 20:1, aktinomycety 10:1, houby – mykorrhiza
- mikrofauna – protozoa (2:1), nematoda, mikroartropoda

Interakce mezi mikroorganismy a rostlinami

- prospěšné

- škodlivé

- neutrální

Prospěšné interakce mezi mikroorganismy a rostlinami

- prokázány experimenty se sterilizovanou půdou
- symbiotická fixace dusíku
- mykorrhiza
- biokontrolní mikroorganismy
- mikroorganismy podporující rostlinný růst

Fixace vzdušného dusíku

- zpřístupňuje dusík v amonné formě rostlinám
- pouze prokaryota – G- bakterie, aktinomycety a sinice
- diazotrofní mikroorganismy

Fixace vzdušného dusíku

- symbiotická
- hlízkové bakterie
 - rhizobia – leguminózy
 - *Frankia* – neleguminózní rostliny, olše
 - *Anabaena* – *Azolla* – kapradina, byla využívána na rýžových polích již v 11. stol.
- asociativně- symbiotická

- volně rostoucí bakterie
 - *Acetobacter* – cukrová třtina
 - *Azotobacter* – tropické traviny

Fixace vzdušného dusíku

- díky trojně vazbě v molekule dusíku se jedná o energeticky velmi náročný proces (226 kcal na mol)
- energie z oxidace organického substrátu nebo ze sluneční energie
- nitrogenáza – 3 dosud známé enzymové komplexy
- základní komplex byl popsán Evansem a Burrisem 1992
 - 2 proteinové komponenty
 - reduktáza dinitrogenázy - Fe
 - dinitrogenáza – Mo-Fe
 - Mo může být u některých enzymů nahrazen vanadem

Nitrogenáza

Fixace vzdušného dusíku

- 8x
- 1,25 sekundy
- dostatek enzymu – 10 – 40 % buněčných proteinů
- enzym může redukovat mnoho jiných substrátů – vodíkový proton, kyanid, acetylen – měření aktivity nitrogenázy
- citlivá na kyslík - inaktivace

Volně rostoucí diazotrofové

- aerobní – heterotrofní
- fakultativně anaerobní – heterotrofní
- mikroaerofilní – heterotrofní
- anaerobní – autotrofní
 - heterotrofní
- aerobní – fototrofní
- fak. anaerobní – fototrofní
- anaerobní - fototrofní
- *Azotobacter*, *Beijerinckia*, *Acetobacter*, *Pseudomonas*
- *Klebsiella*, *Bacillus*
- *Xanthobacter*, *Azospirillum*

- Thiobacillus
- Clostridium, Desulfovibrio
- Anabaena, Nostoc
- Rhodospirillum
- Chlorobium, Chromatium

Příležitostná (asociativní) symbióza

- mikroorganismy na nebo v rostlinných buňkách
- nevyžaduje genetickou interakci mezi rostlinou a mikroorganismem
- neobjevují se žádné morfologické změny
- *Paspalum notatum* a *Azotobacter paspali*
- *Acetobacter diazotrophicus* a cukrová třtina – acetobakter roste uvnitř kořenů cukrové třtiny
- jinak významná především v přírodních podmínkách

Fixace vzdušného dusíku

- symbiotická
- hlízkové bakterie
 - rhizobia – leguminózy
 - *Frankia* – neleguminózní rostliny, olše
 - *Anabaena* – *Azolla* – kapradina, byla využívána na rýžových polích již v 11. stol.
- asociativně- symbiotická
- volně rostoucí bakterie
 - *Acetobacter* – cukrová třtina
 - *Azotobacter* – tropické traviny

Symbiotická fixace dusíku

- Leguminózy
- *Casuarina* (přesličníky)
- Olše
- *Coriaria* (řád *Ranunculales*)
- Kapradina azola – fixace dusíku na rýžových polích, již od 11. stol.

Symbiotická fixace dusíku

- tvorba hlízek
 - vysoce specifická interakce mezi bakterií a rostlinou, geneticky daná
 - infekční vlákno – v kůře kořene vyvolává tvorbu primordia – to přitahuje bakteriální buňky – infikované buňky diferencují a vytvářejí hlízkou

- Root hair deformation, curling, and infection; an early stage in the nodulation of clover by *Rhizobium leguminosarum* bv *trifolii* (From K. Sahlman and G. Fahraeus, *J. Gen. Microbiol.* **33**, 425–427 (1963) used with permission).
- Rhizobia contained within a plant-derived infection thread move down the root hair in the direction of the root cortex

Kořenové hlízky

- bakteroidy v peribakteroidní membráně
- bakteroidní parenchym

- kořenové hlízky u fazolu

Mechanismy infekce u rhizobií

- penetrace kořenovým vláskem – hrách a jetel
- penetrace poraněními nebo místy laterálního prodlužování kořene (podzemnice olejná)
- penetrace primordiem (*Sesbania* and *Neptunia*)

Molekulární podstata interakce bakterie s rostlinou

- *Rhizobium* – většina *nod* genů na plazmidech
- *nodABC*
- *nodD* – exprese i v nepřítomnosti vhodného hostitele
- flavonoidy – produkovány rostlinou – interagují s produktem *nodD*

Nod faktor - chitooligosacharid

- vojtěška a *Sinorhizobium meliloti*
- konfokální mikroskopie

- (a) *M. truncatula* A17 at 2 d post-inoculation (dpi) with *Sinorhizobium meliloti* 2011. Root hairs are branched (arrowhead) and curled (arrow). Bacterial cells are shown in green. Bar, 20 μ m. (b) Nascent nodule meristem near the stele of a *Medicago* root at 2 dpi. *, Vessel member; arrowheads, condensed chromatin in meristematic cells. Bar, 20 μ m. (c) Cross-sectional view of *Medicago* root forming a nodule meristem (highlighted in green) at 2 dpi. Bar, 20 μ m. (d) High-magnification image of a curled root hair forming the classic 'shepherd's crook' on *Medicago* with an infection thread growing toward the root at 3 dpi. Bar, 20 μ m. (e) High-magnification image of *Medicago* nodule cells in the nitrogen-fixation zone at 9 dpi. Individual bacteroids are clearly visible. Bar, 20 μ m. (f) Infected cells in the fixation zone of a mature *Medicago* nodule with remnant infection threads at 25 dpi. Arrowheads, remnant infection threads. Bar, 20 μ m. (g) High-magnification image of a branching infection thread in a mature pea nodule at 31 dpi. Note the cell wall of the infection thread (blue) and the undifferentiated bacterial cells (green) inside the infection thread. Bar, 5 μ m. (h) Longitudinal section of a mature *Medicago* root nodule at 20 dpi. Regions of a mature nodule visible using confocal microscopy: 1, nodule meristem; 2, prefixation zone; 3, interzone; 4, nitrogen-fixation zone. *, Stele of root. Bar, 100 μ m.

***Nod* geny**

- u *Bradyrhizobium* a *Azorhizobium* jsou uloženy na chromozómu
- pokud bakterie rostou volně, neexprimují se
- specificky stimulovaná exprese
- flavonoidy naringenin a daidzein stimulují expresi *nod*-genů u rhizobií soji

Hlízky

- obsahují leghemoglobin
- maturace – asi 15 dní – produkce specifických proteinů
- noduliny
- následuje fixace dusíku
- determinativní – nepokračuje meristematický růst
 - dusík exportován jako purin
 - fazol
- indeterminativní
 - pokračuje meristematický růst
 - dusík exportován jako asparagin
 - hrách, jetel, vojtěška

- meristém
- aktivně fixující část
- odumírající část
- infikované buňky, kde rhizobia ještě nefixují N

Specifita rhizobií

- caesalpinioid legumes, *Cassia* tvoří hlízky
- každé rhizobium tvoří hlízky, ne na všech leguminózách
- Cross-inoculation groups – leguminózy nodulated stejnými rhizobii mohou být rozděleny do podskupin na základě efektivity fixace s jednotlivými rhizobii
- kultivary stejné rostliny se mohou lišit úrovní fixace
- mutace – ztráta schopnosti fixace

Inokulace

- V současnosti využití fixátorů dusíku ke zvyšování úrodnosti půd klesá
- použit musí být optimální kmen schopný efektivní fixace a kompetitivity v půdě

- použití je nezbytné při přenesení plodiny do jiných zeměpisných podmínek

Mykorrhiza

- vesikulárně – arbuskulární
- orchideaceous
- ericaceous
- ektomykorrhiza