

VYUŽITÍ METOD
FLUORESCENCE CHLOROFYLU
PŘI STUDIU PATOGENEZE ROSTLIN

Martina Špundová, Miloš Barták

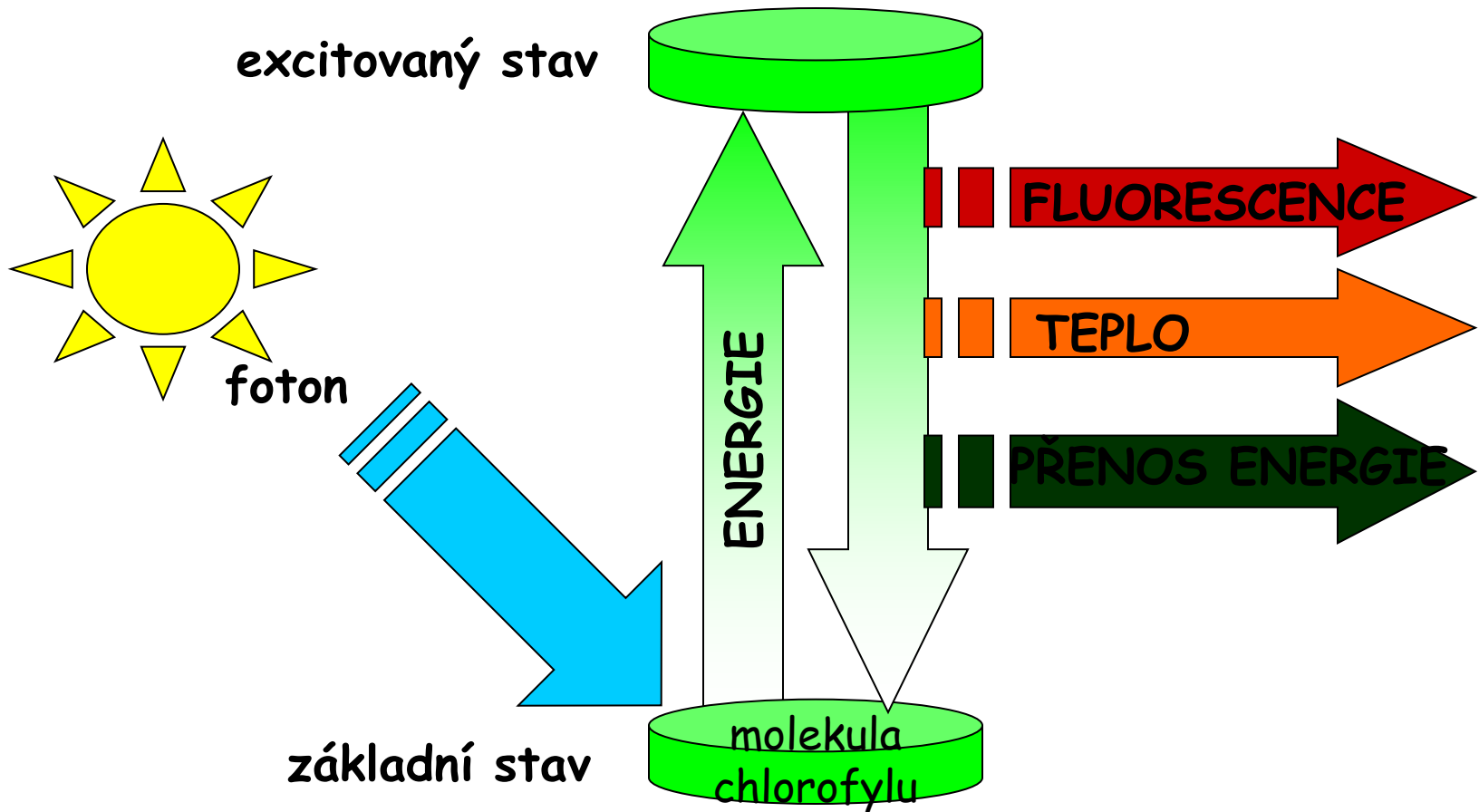
Katedra experimentální fyziky
Laboratoř biofyziky
PřF UP Olomouc

OFAR, ÚEB, PřF MU

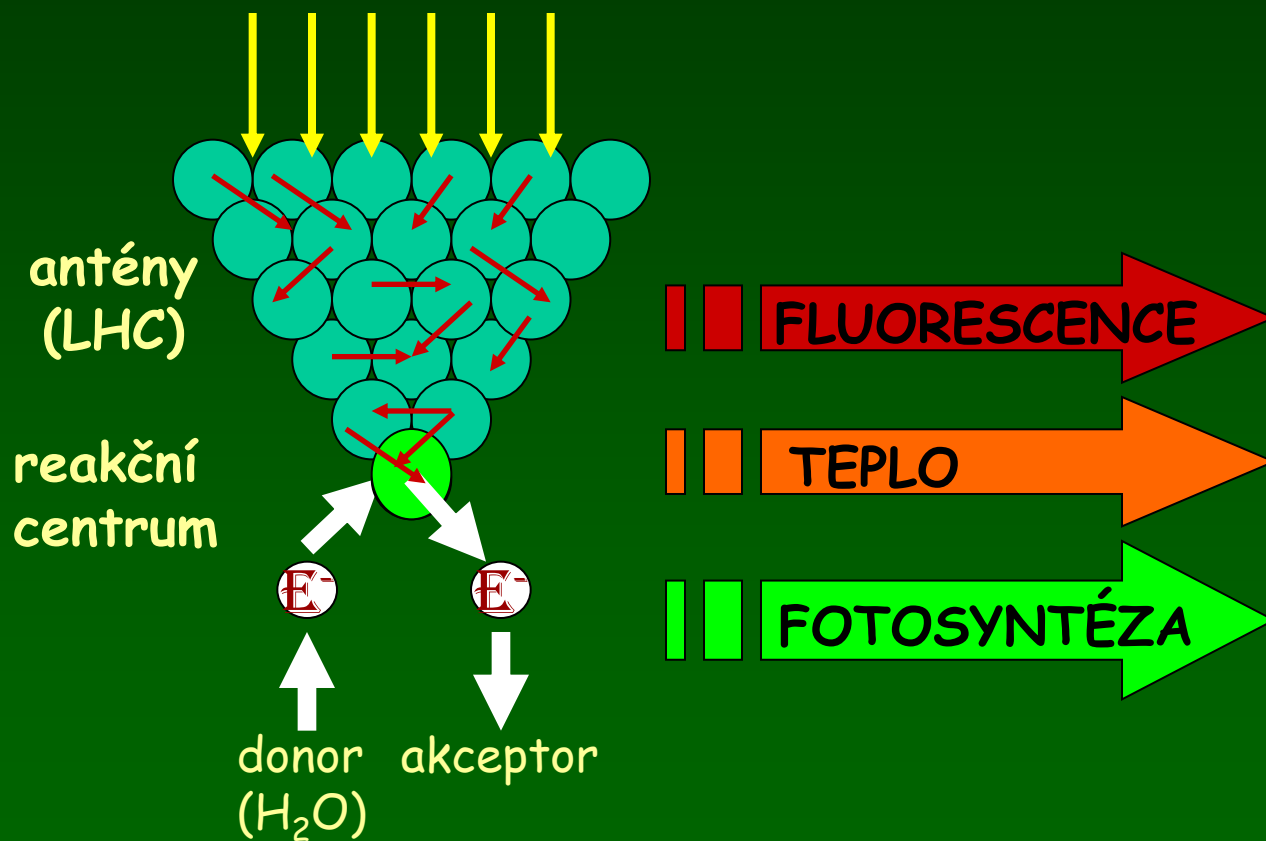
OBSAH PŘEDNÁŠKY

1. fluorescence chlorofylu - využití při studiu stresů rostlin
2. rostlinné patogeny - rozdělení, základní pojmy
3. patogeneze a fotosyntéza
4. využití metod fluorescence chlorofylu při studiu patogeneze

CO SE DĚJE PO ABSORPCI FOTONU MOLEKULOU CHLOROFYLU?



FLUORESCENCE CHLOROFYLU V LISTU



STRESOVÉ FAKTORY

ABIOTICKÉ

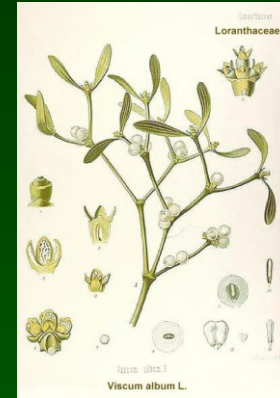
- sucho
- extrémní teploty
- nadměrná ozáření
- toxické látky ve vzduchu a v půdě
- nedostatek živin



STRESOVÉ FAKTORY

BIOTICKÉ

- vzájemné ovlivňování rostlin (např. parazitismus)



- patogenní organismy



- herbivoři

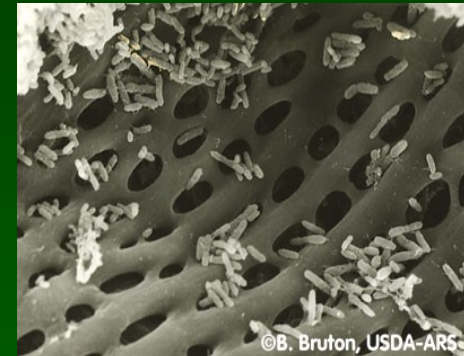


SYSTÉMOVÁ REAKCE ROSTLINY



ROSTLINNÉ PATOGENY

- viry
- bakterie
- houby
- protozoa
- nematody



ROSTLINNÉ PATOGENY

```
graph TD; A[ROSTLINNÉ PATOGENY] --> B[nekrotrofní]; A --> C[biotrofní]; C --> D[fakultativní]; C --> E[obligátní];
```

nekrotrofní

- získávání organických látek z usmrcených buněk hostitele

biotrofní

- získávání organických látek z živých buněk hostitele

fakultativní

- schopnost přežít po určitou dobu mimo hostitele

obligátní

- bez schopnosti přežít mimo hostitele

ROSTLINNÉ PATOGENY

imunita = rostlina nedotknutelná daným patogenem (nehostitel)

infektibilita = rostlina infikovatelná patogenem (hostitel)

náchylnost („susceptibility“) = náchylnost rostliny k infekci,
neschopnost bránit se invazi patogena

rezistence = schopnost rostliny potlačit nebo oddálit invazi patogena

tolerance (snášlivost) = schopnost infikované rostliny snášet
patogenní infekci (částečná nebo úplná absence příznaků a poškození)

citlivost („sensitivity“) = neschopnost infikované rostliny snášet činnost
patogenního organismu (symptomy, poškození)

ROZVOJ A MÍRA NEMOCI



OBECNÉ MECHANISMY PŮSOBENÍ ROSTLINNÝCH PATOGENŮ

- narušení metabolismu hostitelské buňky látkami produkoványými patogenem (toxiny, enzymy, růstové regulátory...)
- spotřeba živin a asimilátů
- ucpání vodivých pletiv (inhibice transportu vody a živin)

OBECNÉ MECHANISMY PŮSOBENÍ ROSTLINNÝCH PATOGENŮ

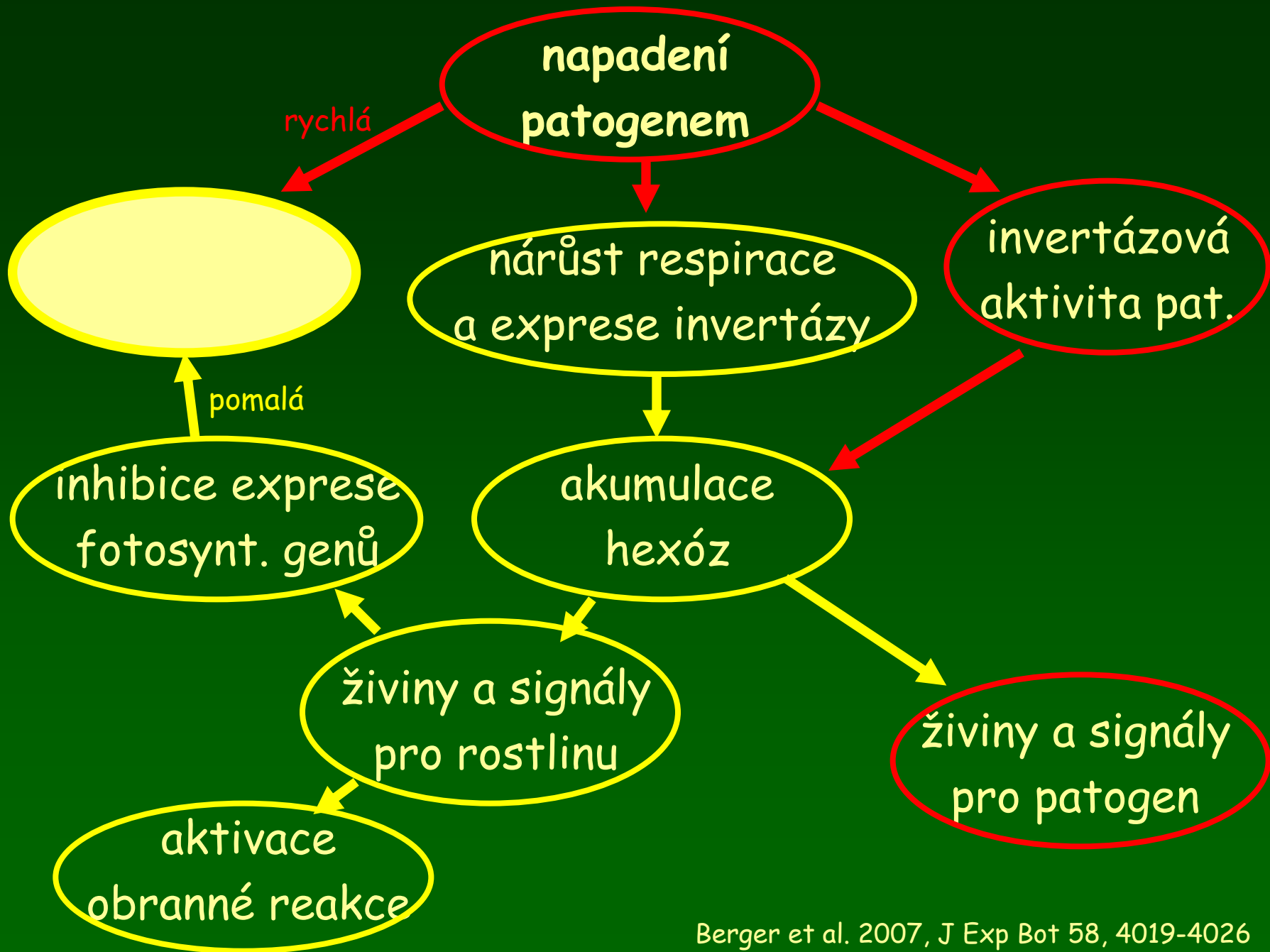
SOUVISLOST S FOTOSYNTÉZOU

- chlorózy
- poškození listových pletiv, opad listů
- přímý vliv na chloroplasty (toxiny)
- pokles aktivity Rubisco
- redukováný růst a výnos

OBECNÉ MECHANISMY PŮSOBENÍ ROSTLINNÝCH PATOGENŮ

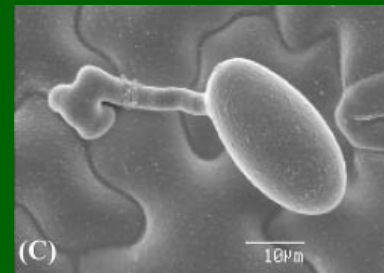
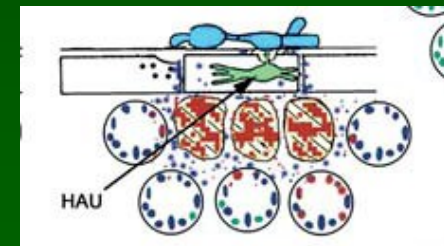
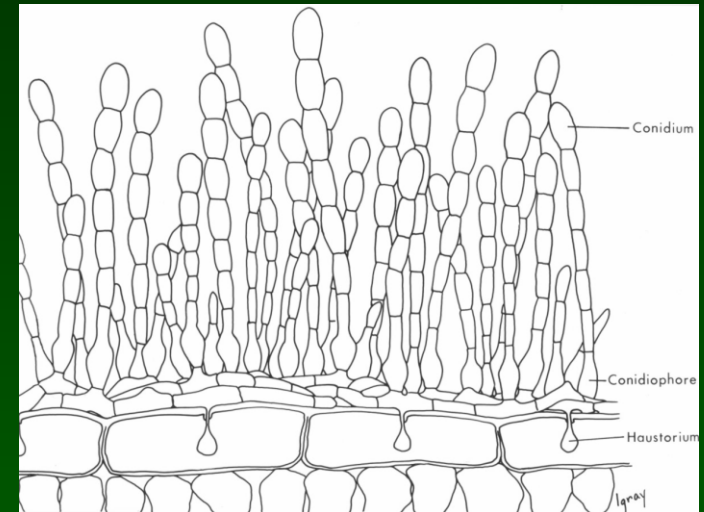
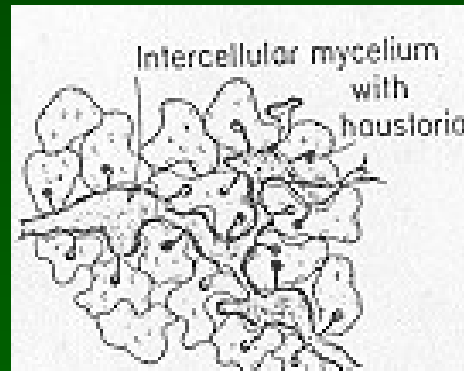
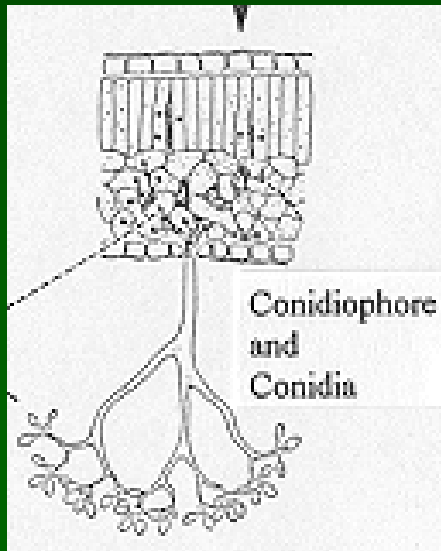
BIOTROFNÍ PATOGENY

- příjem živin z (živých) buněk hostitelské rostliny
- vliv na fotosyntézu nepřímý
- spuštění (urychlení) senescence
- model:



BIOTROFNÍ HOUBOVÉ PATOGENY

- mycelium, haustoria, conidiofory
- epidermální buňky, buňky mezofylu

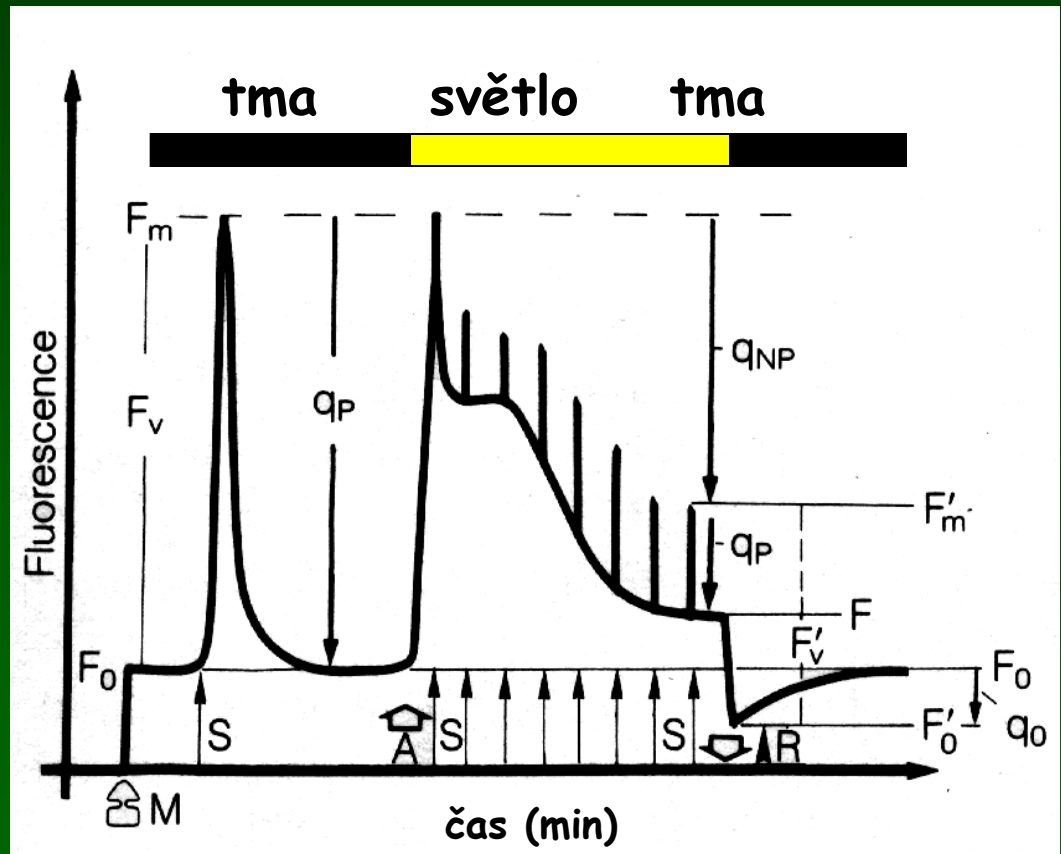
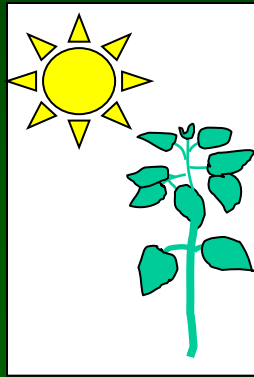


INHIBICE FOTOSYNTÉZY PŘI PATOGENEZI = MOŽNOST VYUŽITÍ METOD FLUORESCENCE CHLOROFYLU

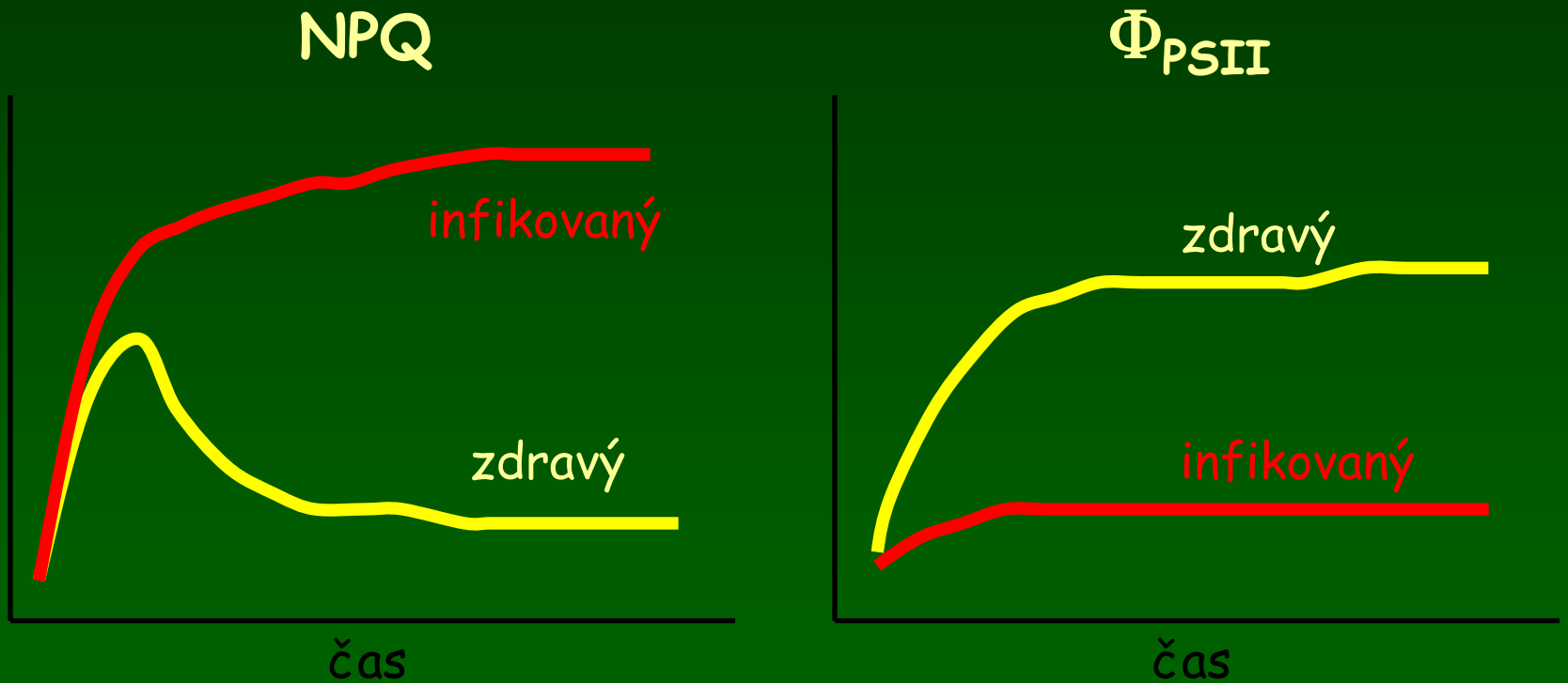
zpětnovazebná inhibice fotosyntézy:

- nárůst NPQ (nárůst DEPS)
- inhibice lineárního elektronového transportu
- pokles účinnosti fotochemie PSII

FLUORESCENČNÍ INDUKCE CHLOROFYLU V LISTU

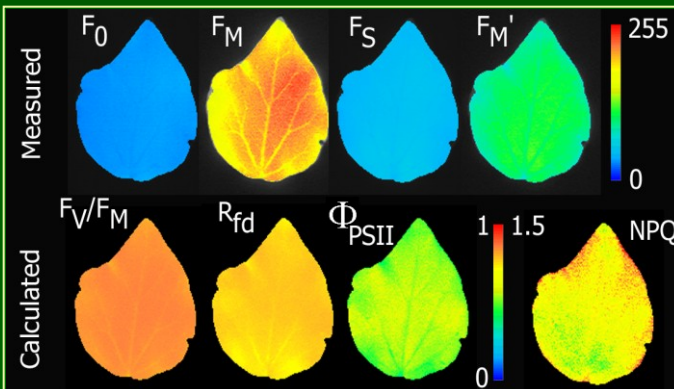
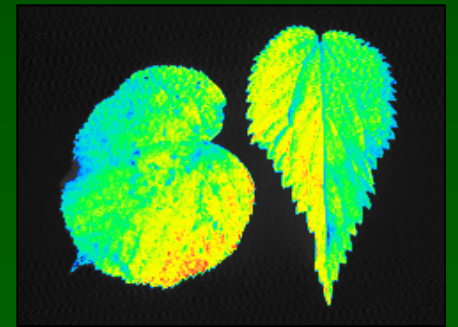
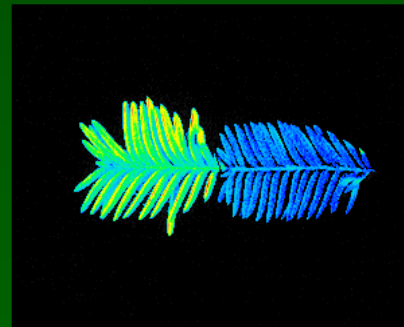
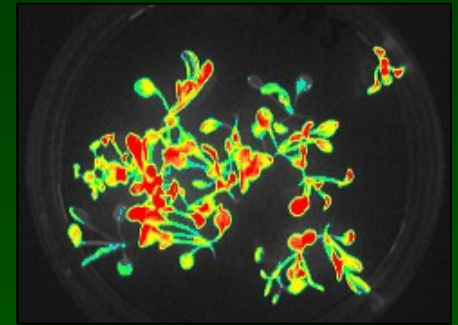
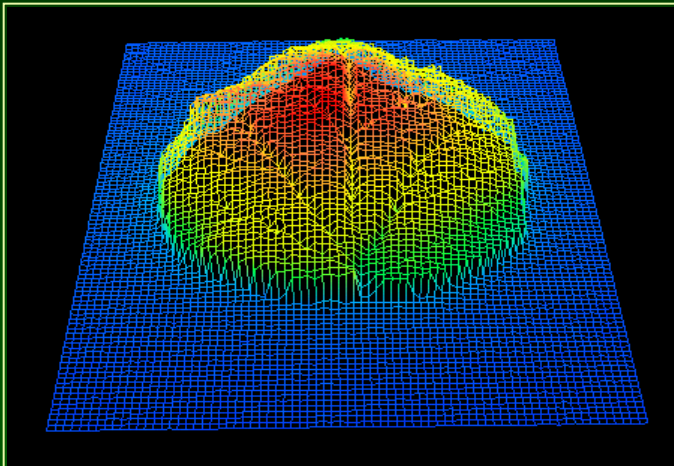


FLUORESCENČNÍ INDUKCE



Výrazná heterogenita v rámci rostliny – listu !

FLUORESCENČNÍ KAMERA



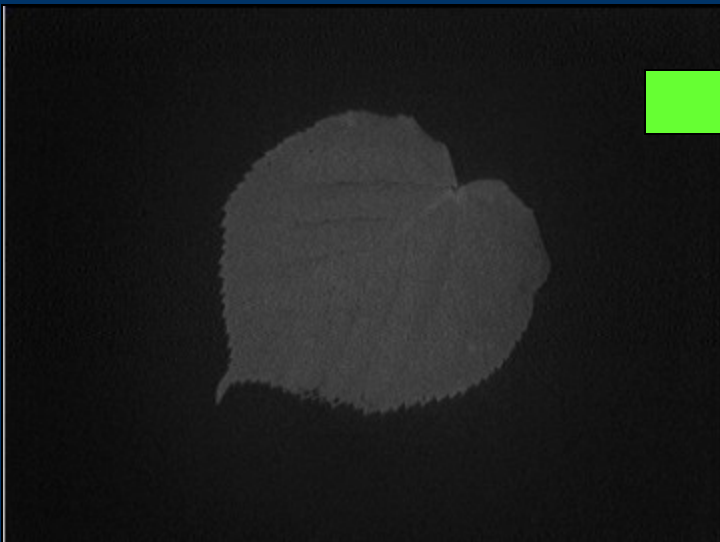
*Photon Systems Instruments,
spol. s r.o., CZ*

Measuring flashes have little actinic effects



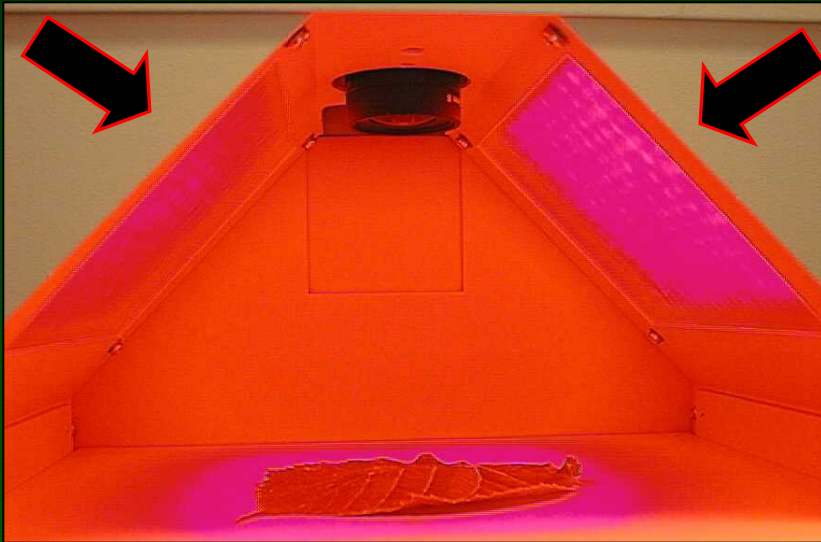
750 LED's are on for 10-200 μ s

Only few PSII RC's are excited

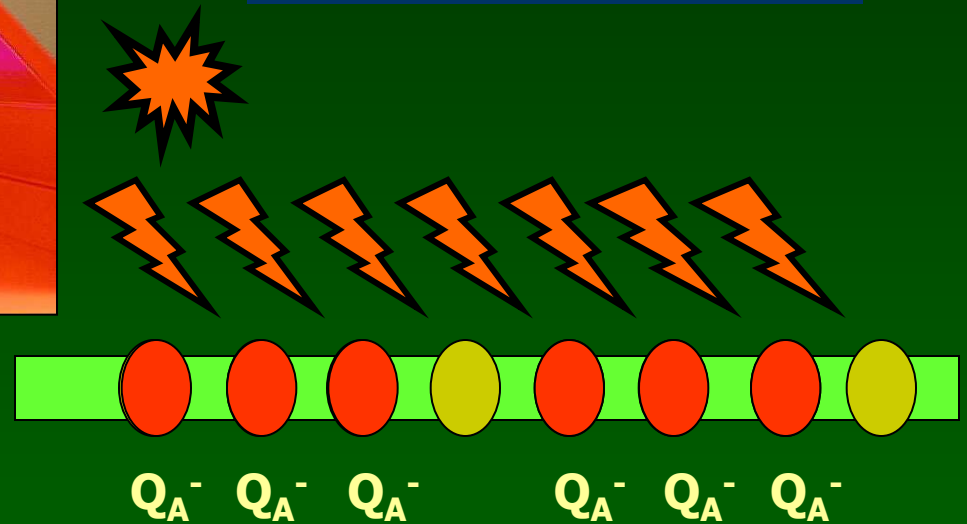


Yet, sufficient fluorescence emission is produced to capture an image

Actinic light is causing fluorescence induction



LEDs are on
for seconds to minutes

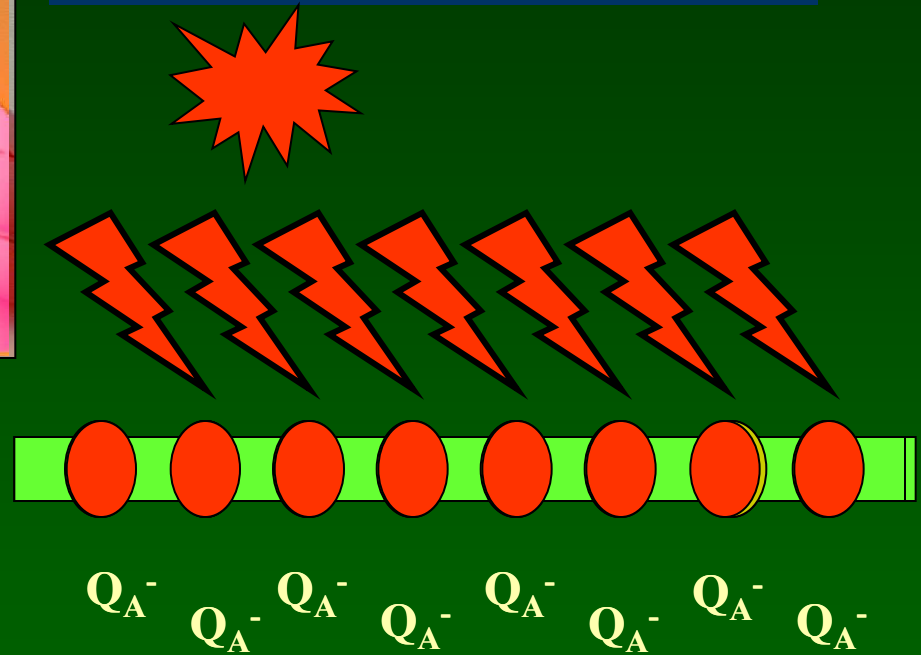


During the actinic light exposure, the continuous excitation keeps some of the PSII RC's closed

PQ-reducing super pulse

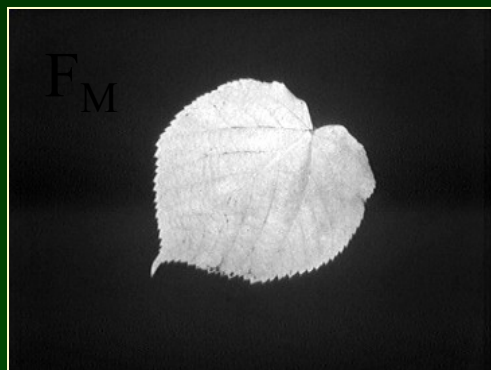


The shutter of the halogen lamp is open typically for 1 s



During the pulse, PSII RC's are closed by a transient reduction of the plastoquinone pool.

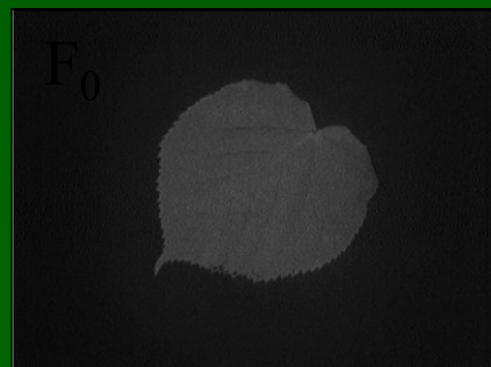
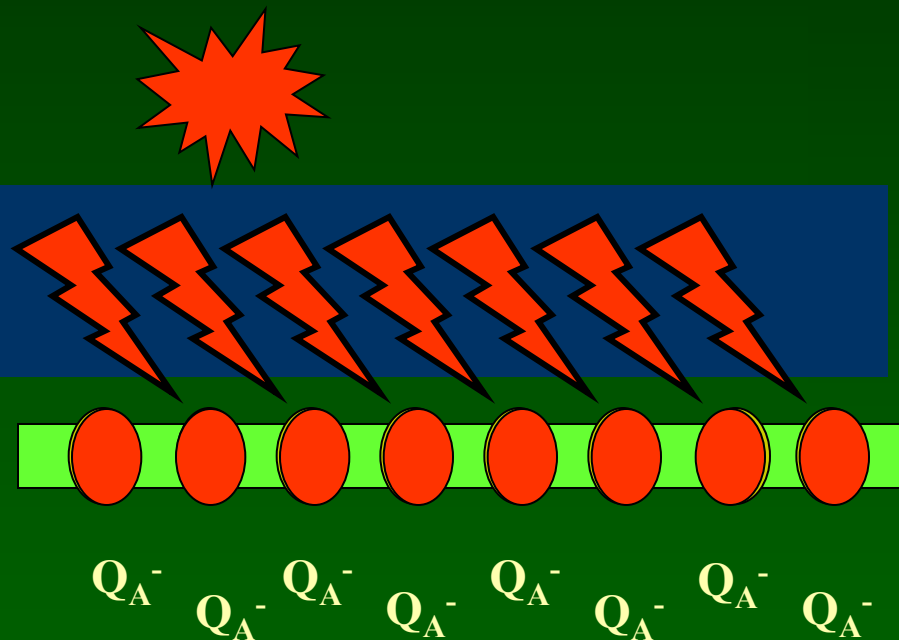
Fluorescence in PQ-reducing super pulse



Fluorescence at the end of the pulse



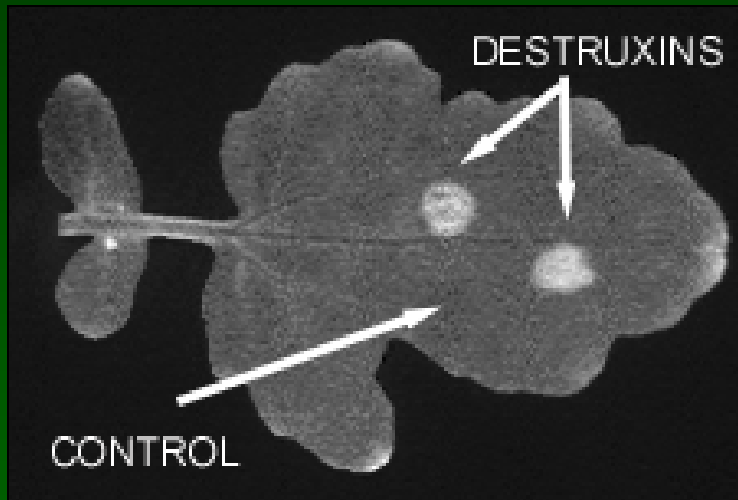
The closure of all PS RC's is reflected by a transient from F_0 to F_M .



Fluorescence before the pulse

Phytotoxin response visualized by fluorescence

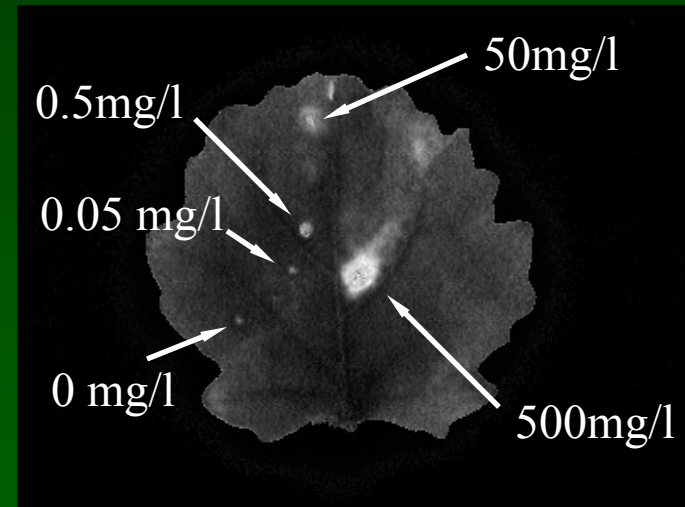
F_0/F_M



Sinapis alba

60 h, 2000 mg/l destruxin

F_0/F_M



Brassica oleracea

60 h, 0-500 mg/l destruxin

Green mold infection of lemons

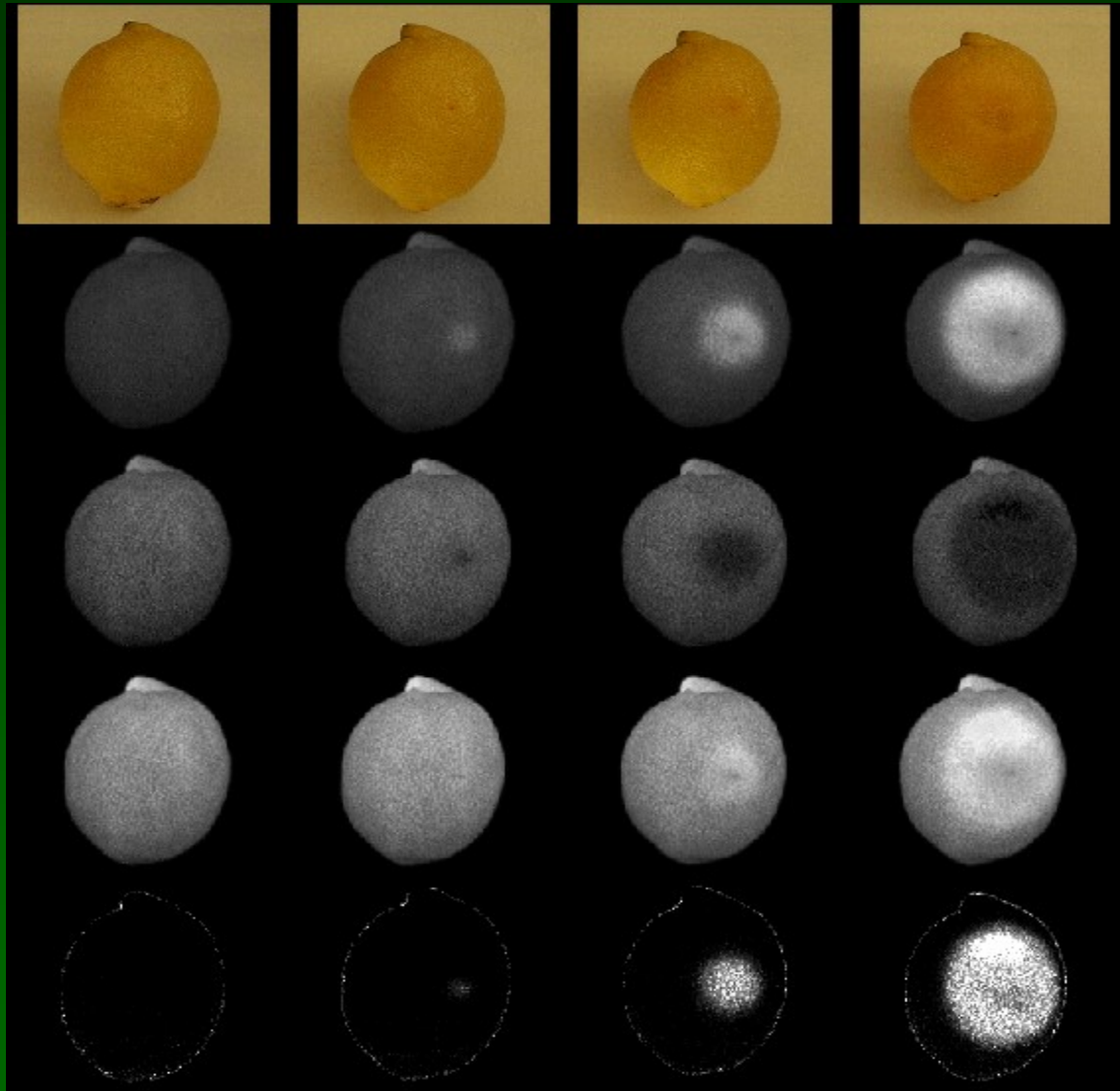
(*Penicillium digitatum*)

Color photographs

Fluorescence

F_0

F_v



Time after infection →

0 h

48 h

66 h

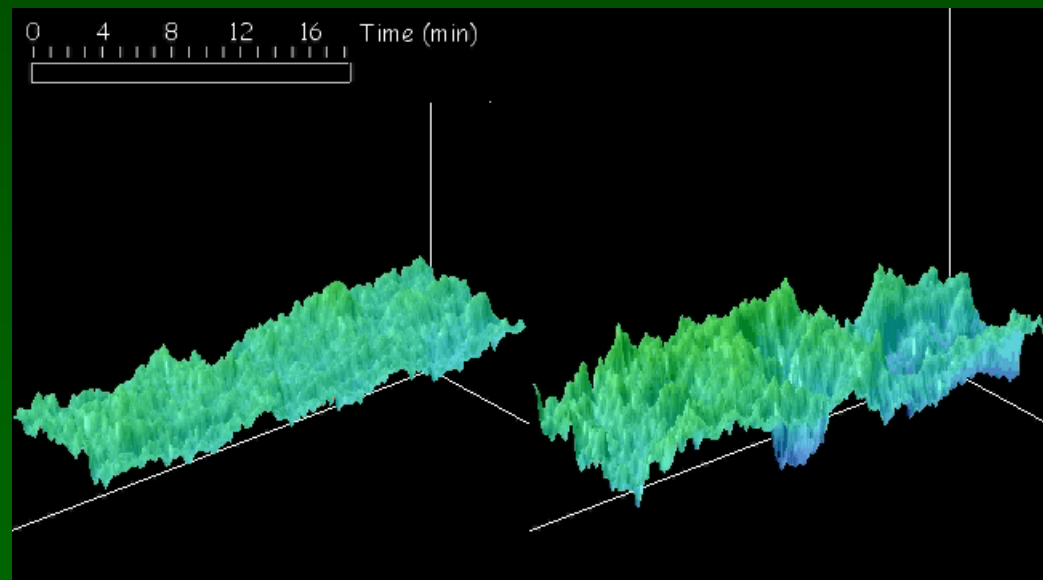
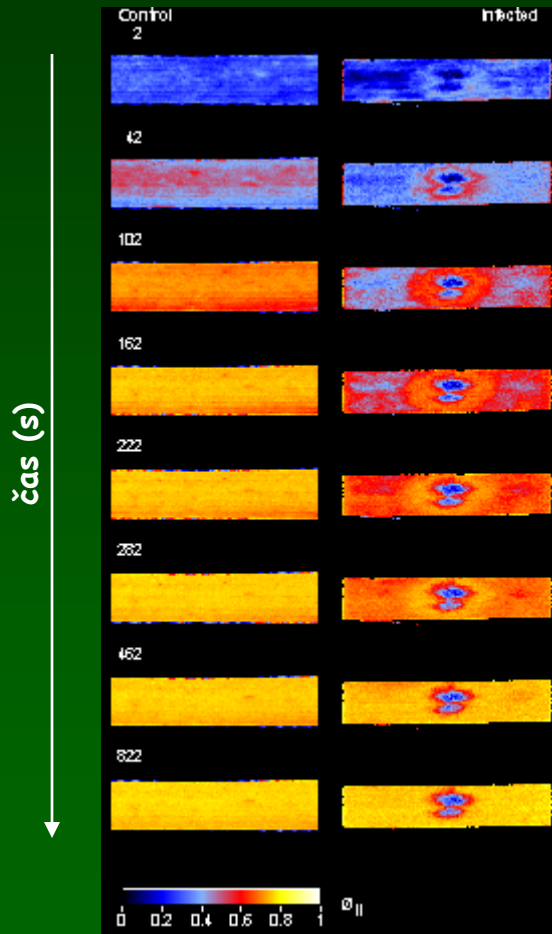
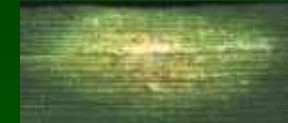
84 h

VLIV PATOGENNÍ HOUBY

INDUKCE FOTOSYNTETICKÉHO ELEKTRONOVÉHO TRANSPORTU

kontrolní
list
pšenice

infikovaný
list
pšenice

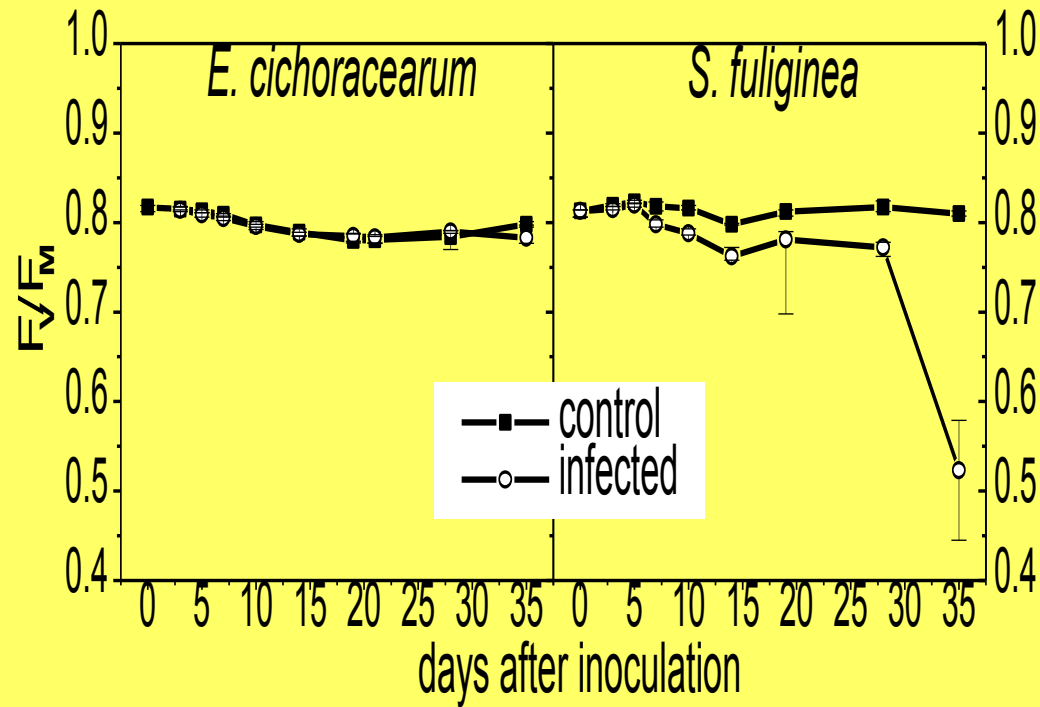


MODELOVÝ SYSTÉM I:

- okurka (*Cucumis sativus* L.)
 - děložní listy
- „powdery mildews“
 - *Erysiphe cichoracearum*
 - *Sphaerotheca fuliginea*



okurka + powdery mildew



MODELOVÝ SYSTÉM II:

salát (*Lactuca sativa*) a *Bremia lactucae*



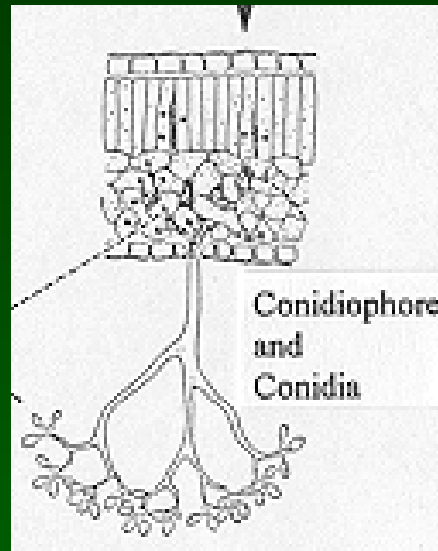
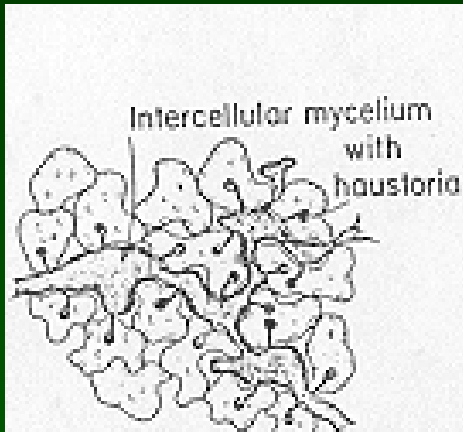
Bremia lactucae (downy mildew)

symptomy:

- chlorózy ohraničené žilnatinou
- 7 - 14 dní po inokulaci - sporulace na adaxiální straně listů



Bremia lactucae

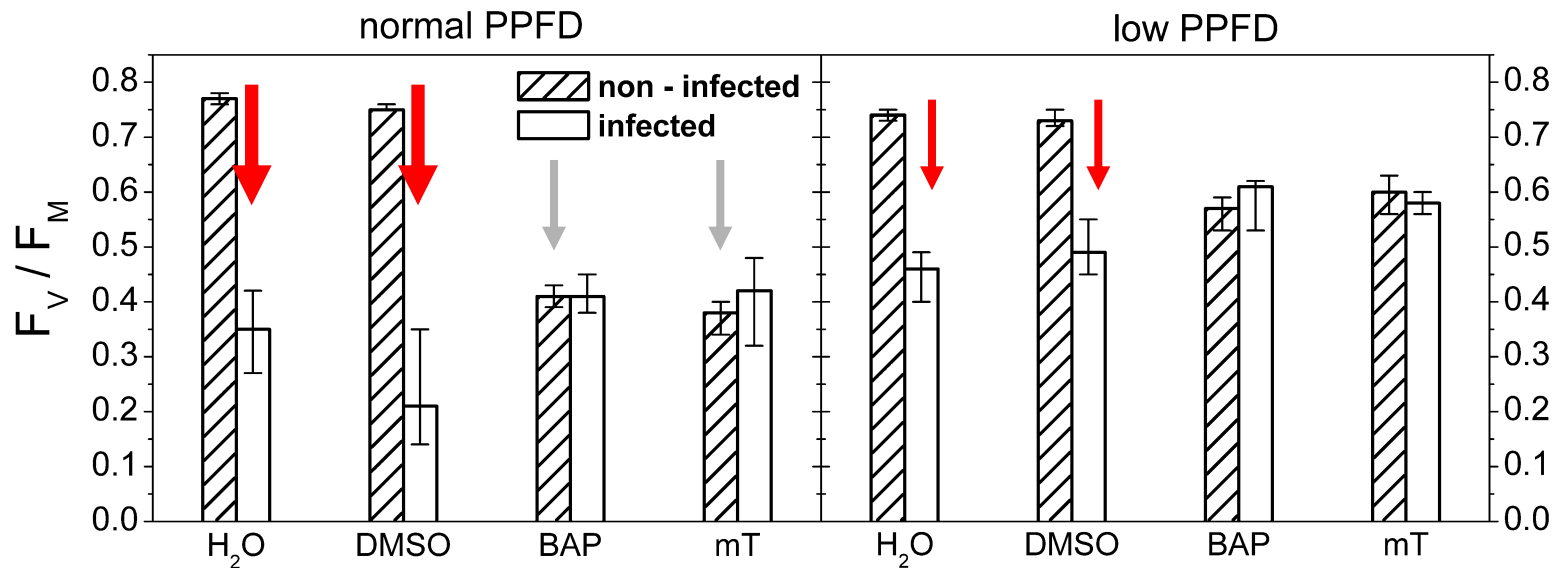


- intercelulární mycelium
- haustoria v mezofylových buňkách

↓
živiny

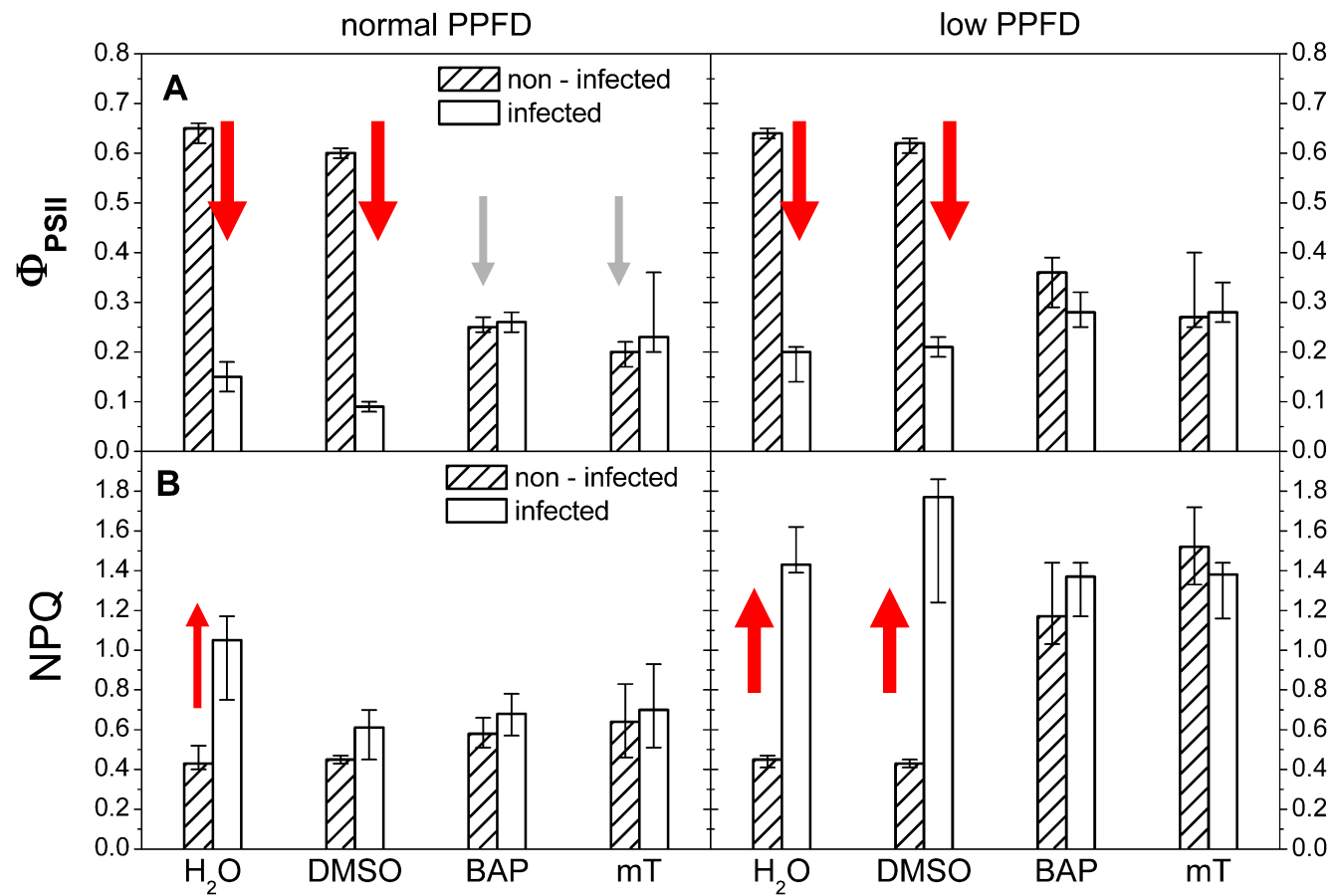
Lactuca sativa + *Bremia lactucae*

aktivita PSII (13 dní po inokulaci)

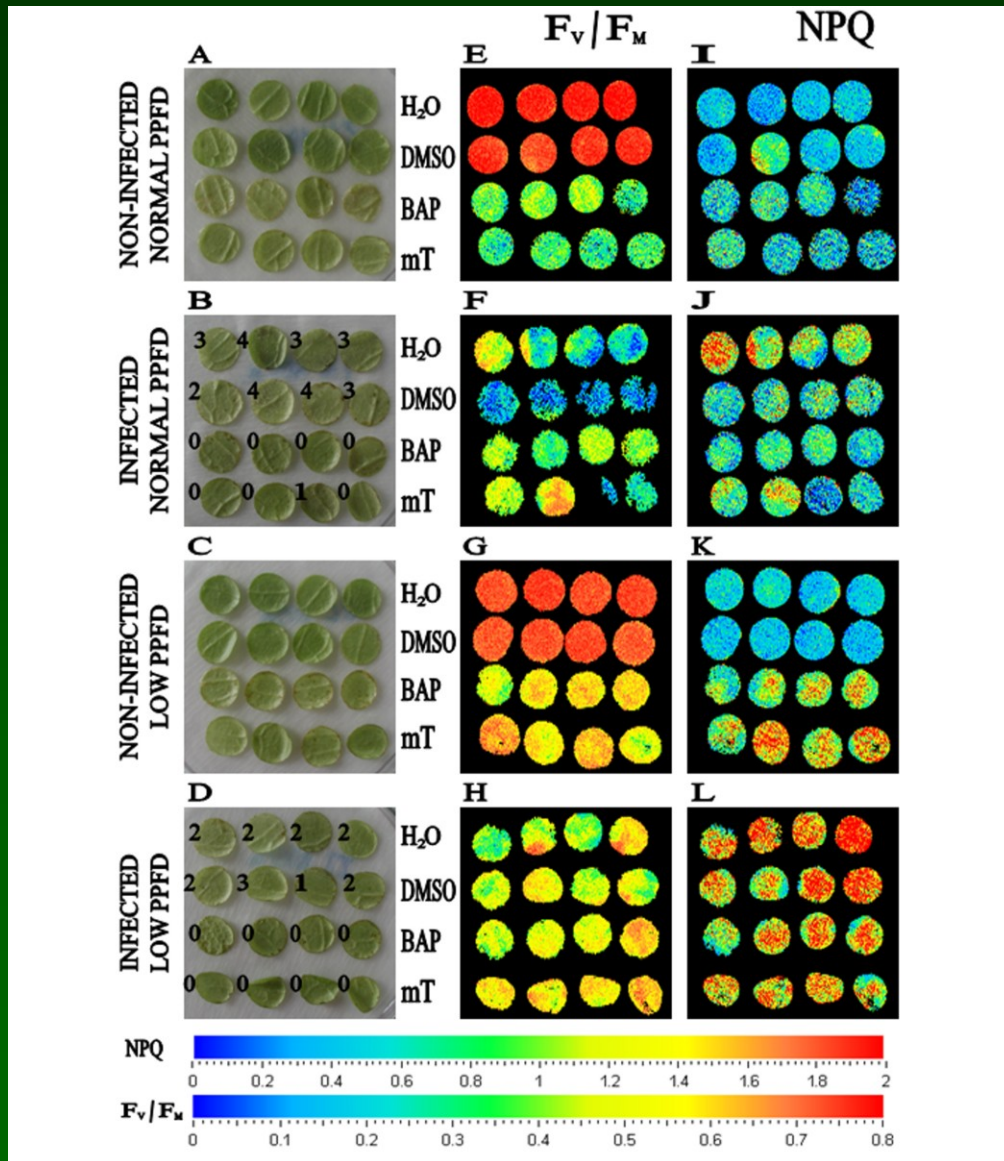


Lactuca sativa + *Bremia lactucae*

aktivita PSII; NPQ



Lactuca sativa + *Bremia lactucae*

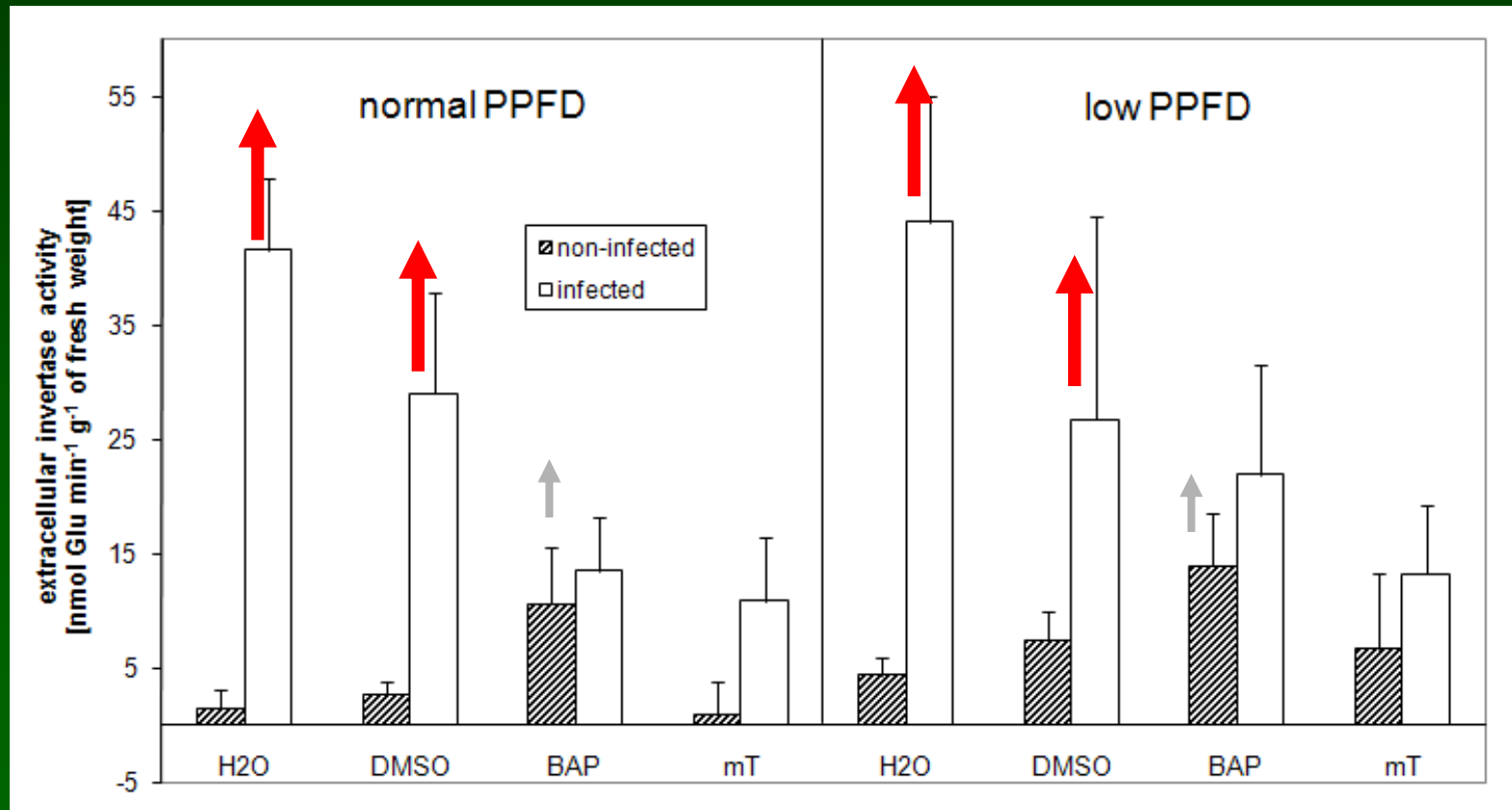


aktivita PSII

NPQ

Lactuca sativa + *Bremia lactucae*

aktivita invertázy



Lactuca sativa + *Bremia lactucae*

- inhibice funkce PSII a el. transportu \Leftarrow inhibice Calvinova cyklu \Leftarrow akumulace hexos \Leftarrow nárůst aktivity invertázy
- vliv světelných podmínek

MODELOVÝ SYSTÉM III:

Lycopersicon spp. + *Oidium neolycopersici*

Lycopersicon esculentum
cv. Amateur (náchylný)



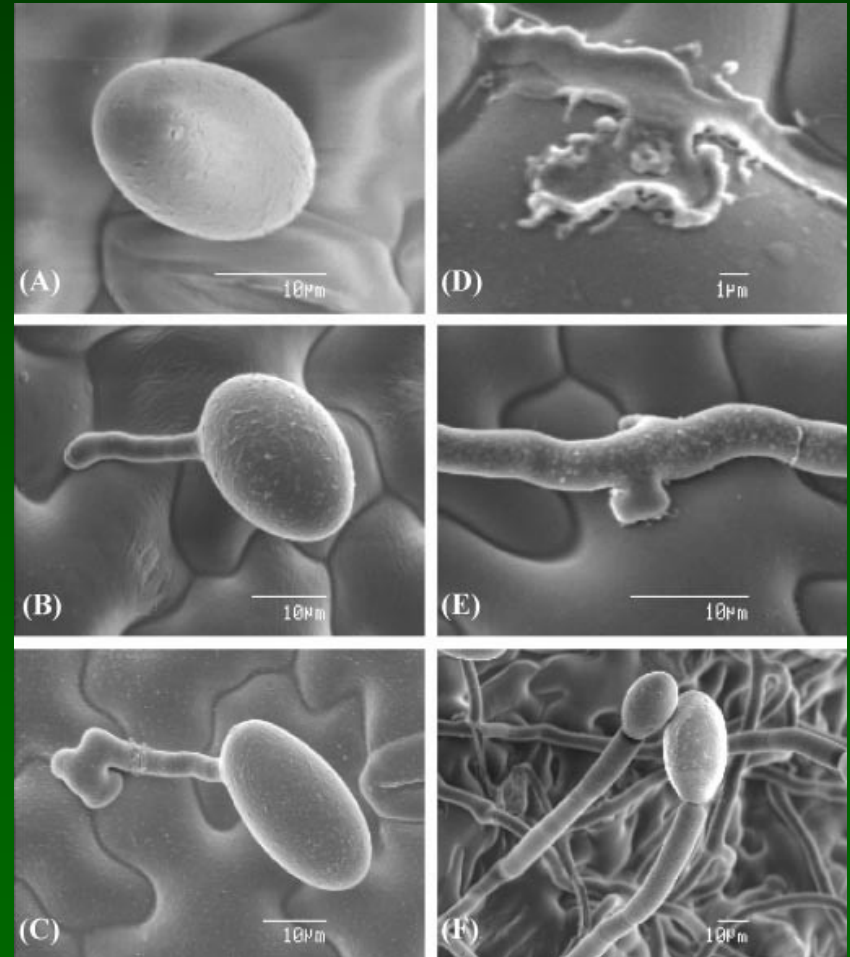
Lycopersicon chmielewskii
(středně rezistentní; HR)



- 9 dní po inokulaci

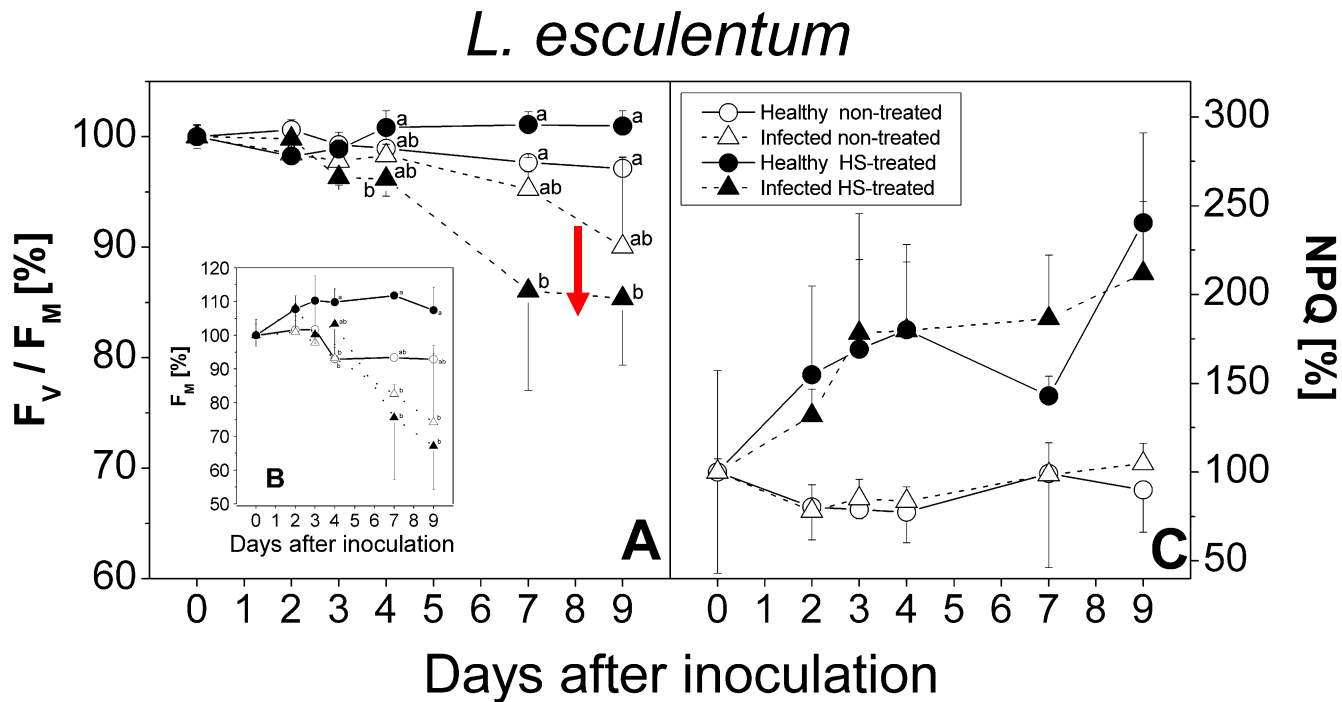
Oidium neolycopersici (powdery mildew)

- mycelium na povrchu listů
- haustoria
v epidermálních buňkách



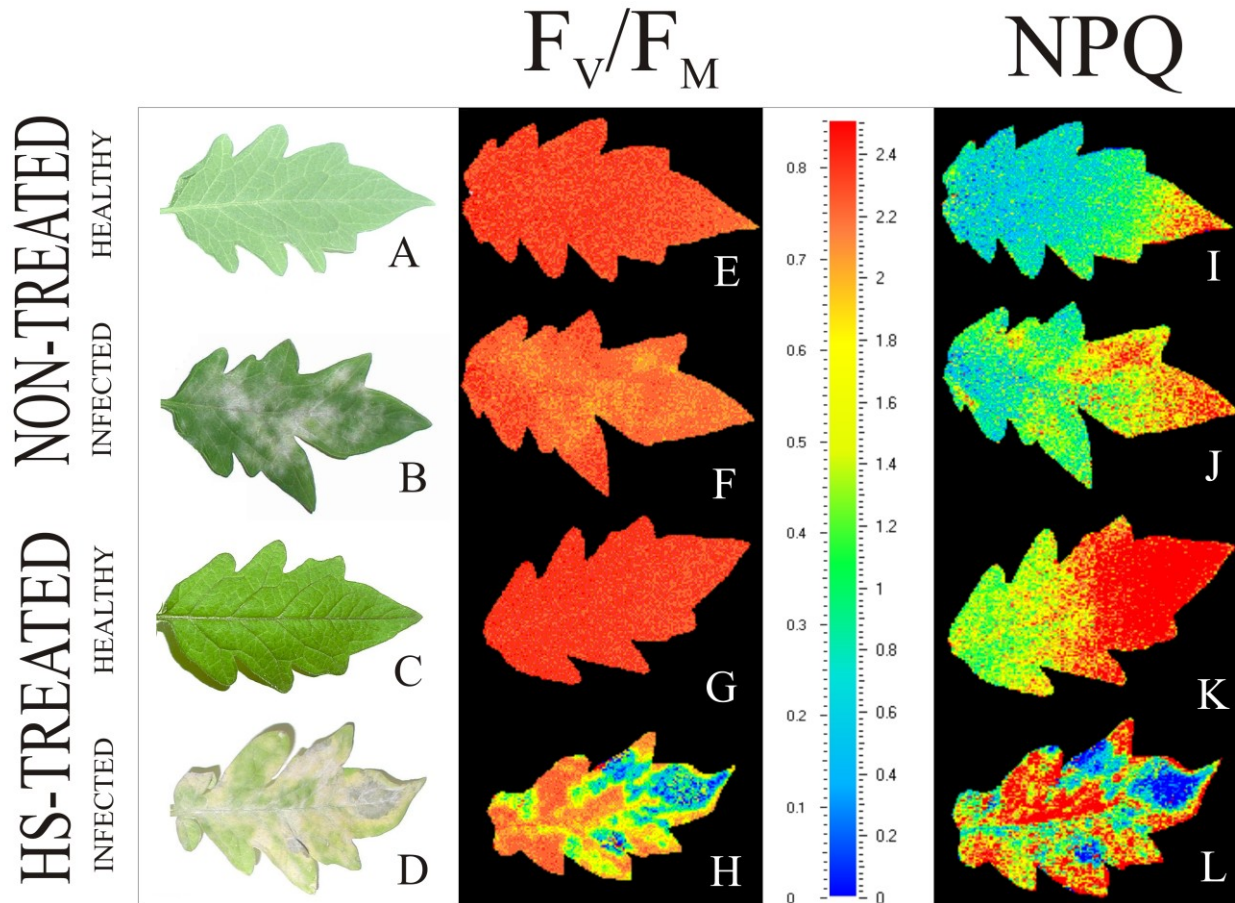
Lycopersicon spp. + *Oidium neolycopersici*

L. esculentum: účinnost PSII; NPQ



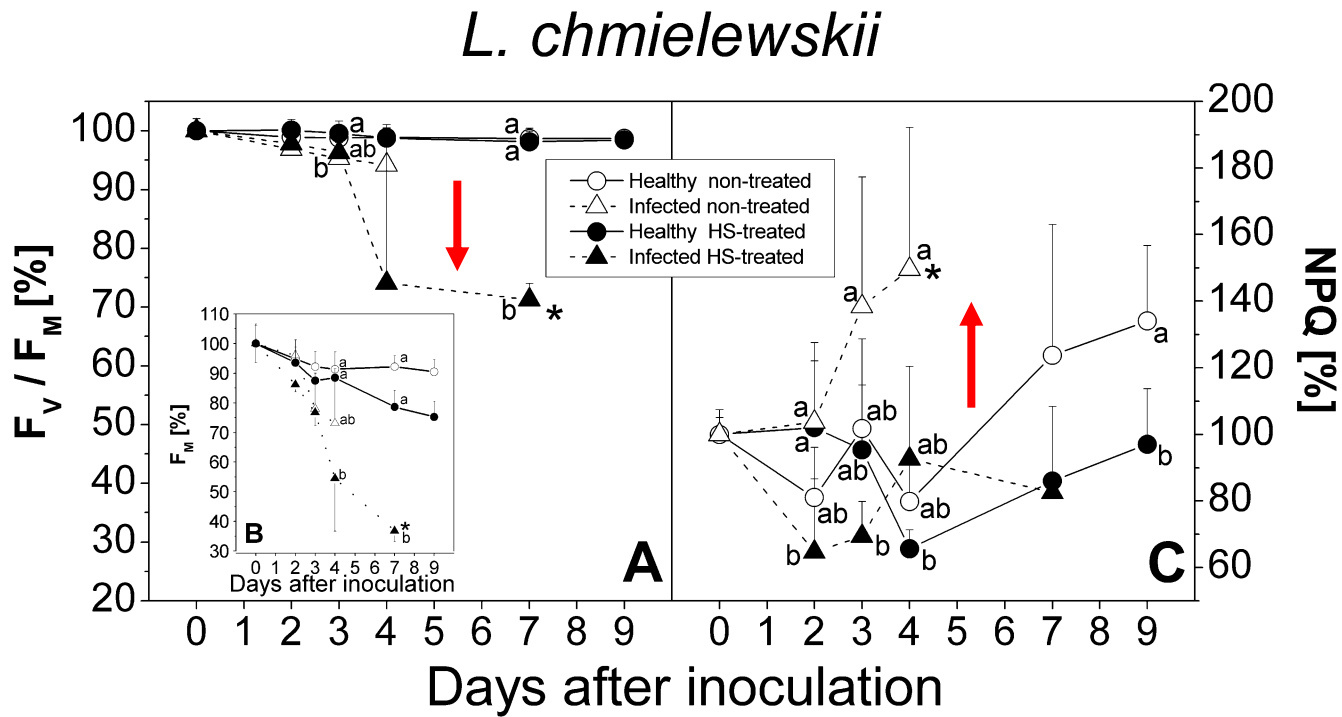
Lycopersicon spp. + *Oidium neolycopersici*

L. esculentum: účinnost PSII; NPQ



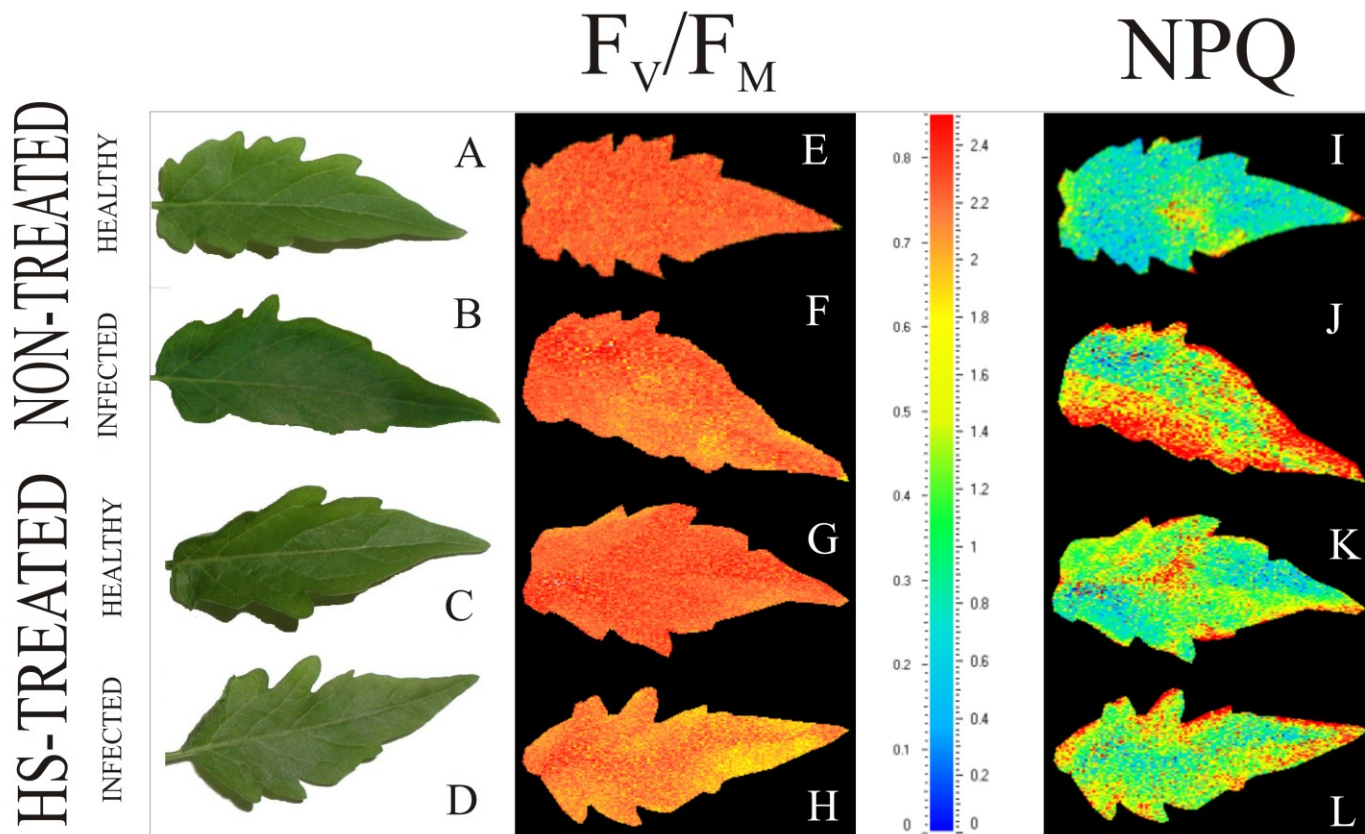
Lycopersicon spp. + *Oidium neolycopersici*

L. chmielewskii: účinnost PSII; NPQ



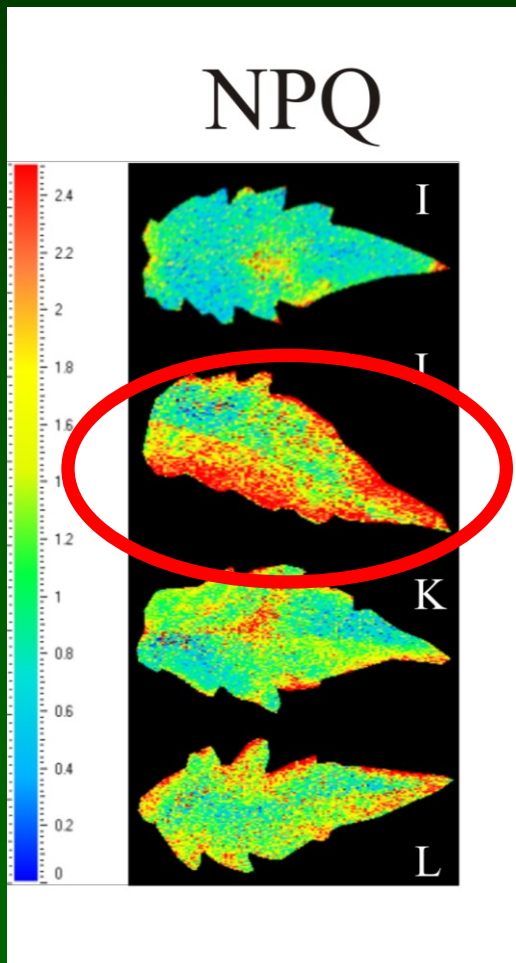
Lycopersicon spp. + *Oidium neolycopersici*

L. chmielewskii: účinnost PSII; NPQ

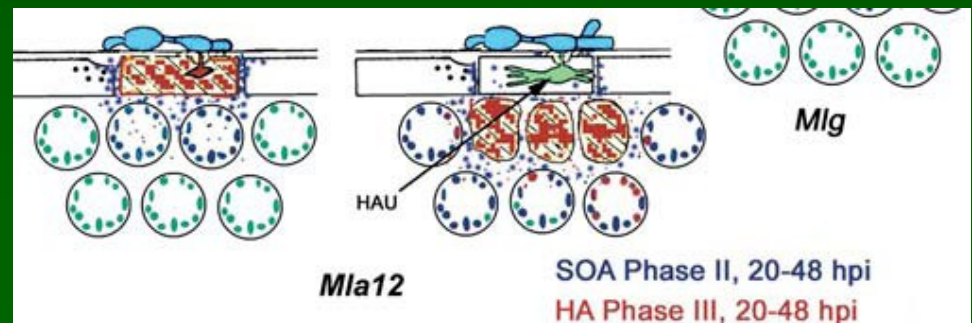


Lycopersicon spp. + *Oidium neolycopersici*

L. chmielewskii: NPQ



změny ve fluorescenci (fotosyntéze)
- souvislost s hypersenzitivní reakcí?



Lycopersicon spp. + *Oidium* *neolycopersici*

- infekce způsobila u obou genotypů pouze nevýraznou inhibici fotosyntézy
- teplotní ošetření neovlivnilo rezistenci *L. chmielewskii*
- teplotní ošetření zvýšilo citlivost *L. esculentum* k infekci \Leftarrow akumulace hexos (?) \Leftarrow nárůst aktivity invertázy (?)

VYUŽITÍ METOD FLUORESCENCE CHLOROFYLU PŘI STUDIU PATOGENEZE ROSTLIN

- změny fluorescenčních parametrů odrážející změny ve fotosyntéze indukované infekcí
- nedestruktivní měření
- možnost detekce heterogenity změn fotosyntézy v infikovaném pletivu