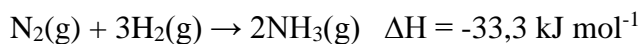


Symbiotická fixace dusíku u rostlin

1 Biologie fixace dusíku

Dusík je jedním z nejdůležitějších prvků ve výživě rostlin. Na dodání dusíkatých hnojiv reaguje rostlina intenzivním růstem a vyššími výnosy. Dusík je důležitou složkou bílkovin i enzymů. V půdě je většina dusíku vázána ve formě organických sloučenin, z nichž se postupně uvolňuje ve formě amoniaku. Půdní bakterie přeměňují amoniak na dusičitany a ty jsou využívány rostlinami. V rostlině musí být dusičitany opět přeměny na amoniak, a ten je využit při syntéze aminokyselin. Leguminózy využívají zcela odlišný způsob k získání dusíku. Pro jejich kořenový systém je charakteristická přítomnost tzv. hlízek, které jsou vyplněny bakteriemi žijícími v symbióze s rostlinou. Rostlina zásobuje bakterie produkty fotosyntézy, které jsou zdrojem energie, a bakterie mají schopnost vázat (fixovat) vzdušný dusík ve formě amoniaku. Tento proces se nazývá fixace dusíku. Prokaryota jsou jedinými organismy, které jsou schopny fixovat atmosferický dusík ve formě sloučenin a ty opět odbourávat metabolickými procesy. Dusík, který je biologicky vázaný ve formě sloučenin, je snadno dostupný a využitelný rostlinami.

Reakce, při níž dochází k redukci vzdušného dusíku na amoniak prostřednictvím bakterií:



Reakce je exotermická a tvoří se v ní 33,3 kJ mol⁻¹ energie. Nedochozí k ní spontánně při normální teplotě a tlaku vzhledem k velké stabilitě molekul N₂.

Touto schopností mají:

bakterie nefotosyntetizující: *Klebsiella* spp. (volně žijící), *Rhizobium* spp. (žijící v symbióze) - *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mesorhizobium* a *Allorhizobium*.

bakterie fotosyntetizující: *Rhodospirillum*

aktinomycety: *Corynebacterium* spp.

cyanobacteria: *Anabaena* spp.

Organizmy fixující vzdušný dusík tvoří enzymový komplex (nitrogenáza-nitrátreduktáza), který je schopen redukovat N₂ na NH₃, ale u všech organismů je tento enzym ireverzibilně inaktivován kyslíkem. Fixace dusíku vyžaduje energii ve formě ATP. ATP se získává v buňkách při:

fosforylaci u fotosyntetizujících buněk, kdy je redukován O₂,

oxidativní fosforylaci u buněk s vhodným koncovým akceptorem elektronu, což je nejčastěji kyslík,

substrátové fosforylaci u anaerobních buněk.

Mnoho z volně žijících organismů fixuje vzdušný dusík za anaerobních podmínek. Bakterie jsou tedy schopny vytvářet v rostlině anorganické sloučeniny, které jsou normálně dodávány ve formě hnojiv. Jde o symbiotický vztah mezi bakteriemi a některými rostlinnými druhy. K těm patří leguminózy (*Fabales*) s čeleděmi *Caesalpinaceae*, *Mimosaceae* a *Fabaceae*.

Symbiotické bakterie spolupracují s rostlinami při kontrole zásob kyslíku. Nejprostudovanější a nejdůležitější symbiotický vztah je mezi bakteriemi *Rhizobium* spp. a rostlinami ze skupiny leguminóz, proto se omezíme na objasnění tohoto vztahu.

Biologická fixace atmosférického dusíku leguminózami tvoří nenahraditelný zdroj dusíku pro ekosystémy a má nezastupitelnou úlohu v koloběhu dusíku v přírodě. Její efektivní využívání je nejlepší alternativou a náhradou minerálních dusíkatých hnojiv, jejichž výroba i aplikace přináší vedle pozitivního efektu i řadu negativních prvků. Z hlediska ochrany životního prostředí a setrvalé udržitelnosti agroekosystémů je proto zcela nezbytné využívat a plně rozvíjet tento jedinečný přírodní proces. Leguminózy a konkrétně pícniny svojí schopností fixovat v symbióze s rizobii atmosférický dusík zcela pokrývají svoji potřebu dusíku a zároveň prospívají při pěstování ve směsích i jiným druhům rostlin a též následným plodinám v osevních postupech. Hlavním zdrojem dusíku pro jiné druhy rostlin jsou odumřelé hlízky, kořeny a listový opad. Odhady biologicky fixovaného dusíku leguminózami za rok se různí, avšak řada autorů uvádí pro pícniny hodnoty od 100 do 600 kg N.ha⁻¹.rok⁻¹ a konkrétně pro jetel luční 183 jako průměrnou a 673 kg N.ha⁻¹.rok⁻¹ jako maximální fixaci.

2 Tvorba kořenových hlízek

Rhizobium spp. jsou volně žijící půdní bakterie, které mají schopnost pronikat do kořenů leguminóz a způsobují tvorbu „výrůstků“ tzv. hlízek (obr. 1). Určitý druh *Rhizobium* tzv. biovar může být v symbiotickém vztahu pouze s jedním nebo několika málo rostlinnými druhy. Tab. 1 ukazuje rozsah hostitelů několika druhů *Rhizobium*.

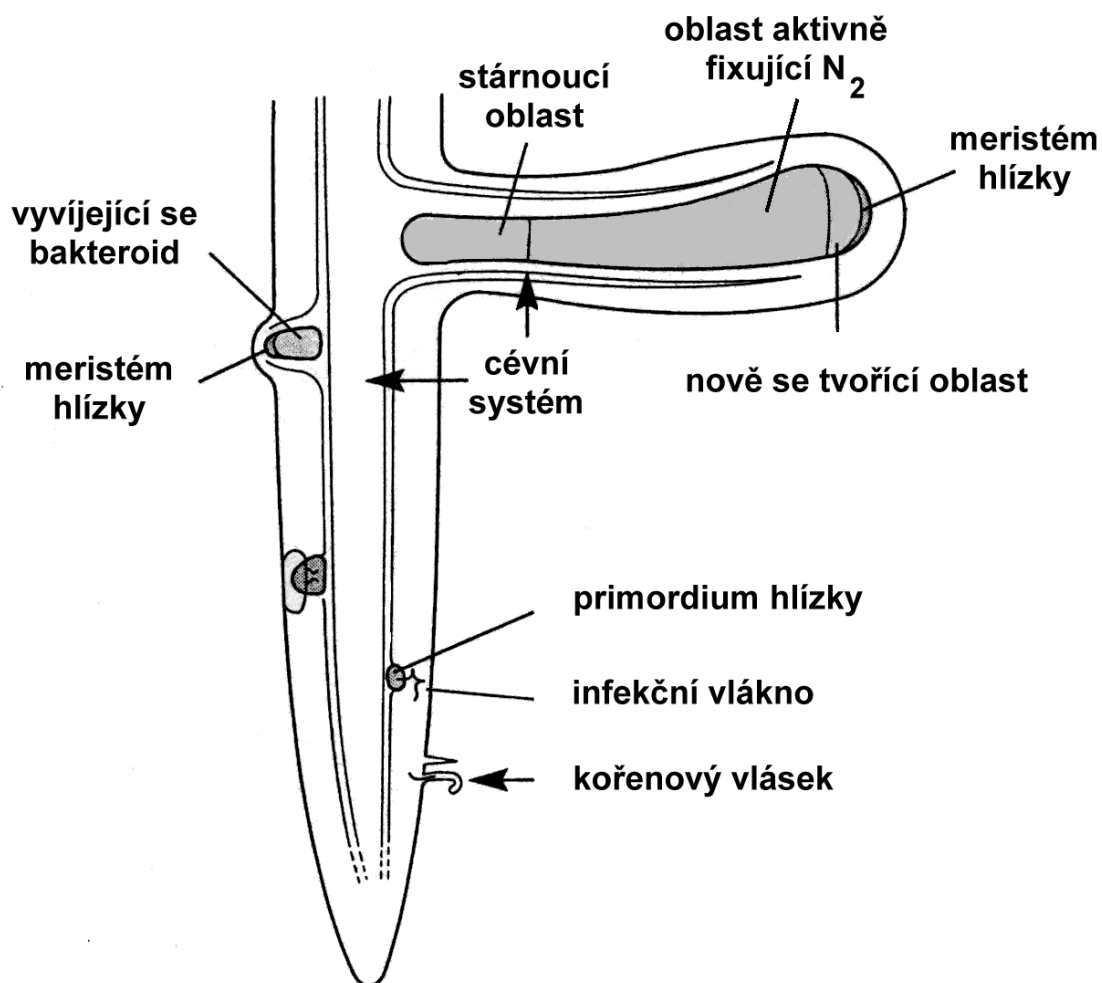
Tab. 1: Některé druhy bakterií, popř. jejich biovary, a jejich hostitelé.

Bakterie	Rostlinný druh
<i>Rhizobium meliloti</i>	<i>Medicago sativa</i>
<i>R. leguminosarum</i>	
biovar <i>viciae</i>	<i>Pisum sativum</i>
biovar <i>trifolii</i>	<i>Trifolium</i> sp.
biovar <i>phaseoli</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>
<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	<i>Glycine max</i>
<i>Azorhizobium caulinodaus</i>	<i>Sesbania</i>
<i>Mezorhizobium loti</i>	<i>Lotus</i> sp., <i>Lupinus</i> sp.

Vztah mezi rostlinou a bakteriemi je vysoce specifický. Způsob jakým bakterie infikují svého hostitele je určen hostitelskou rostlinou. Různé druhy bakterií mohou proniknout do rostliny podobnými mechanizmy. Typ a počet kořenových hlízek je určován rostlinou. První reakcí rostliny na přítomnost kompatibilního druhu nebo biovaru *Rhizobium* v blízkosti kořene (rhizosféry) je zatočení kořenového vlásku. Bakterie se dostává do kořene tímto zatočeným kořenovým vláskem a indukuje zde tvorbu infekčního vlákna. Tato struktura obsahující množící se bakterie se vytvoří vnořením do hostitelské buňky a je proto ohraničena buněčnou stěnou a plazmatickou membránou buňky. Infekční vlákno prorůstá až k vnitřnímu kořenovému kortexu a odsud se bakterie dostávají do buněk rostliny z infekčních kapek, které již nejsou ohraničeny buněčnou stěnou, ale jen cytoplazmatickou membránou. Do rostlinných buněk se dostávají endocytózou (obr. 2). Vznikající intracytoplazmatické bakterie

jsou obklopeny periplazmatickou membránou rostlinného původu. Následuje diferenciaci této membrány společně s bakteriemi a vznikají diferencované bakterie fixující dusík, tzv. bakteroidy. Nově vytvořená specializovaná membrána bakteroidu se nazývá peribakteroidní membrána. Bakteroidy se dělí a diferencují. Postupná infekce bakteriemi má za následek tvorbu kořenové hlízky. Je to specializovaný orgán, který je tvořen meristémem a sítí cévních svazků (xylem a floem), které vyživují hlízku. U některých druhů si hlízky zachovávají meristemický charakter po celý život (*Medicago sativa*, *Pisum sativum*), ale u jiných druhů ztrácí ve zralosti meristemický charakter a stávají se determinované (*Phaseolus* spp., *Glycine max*).

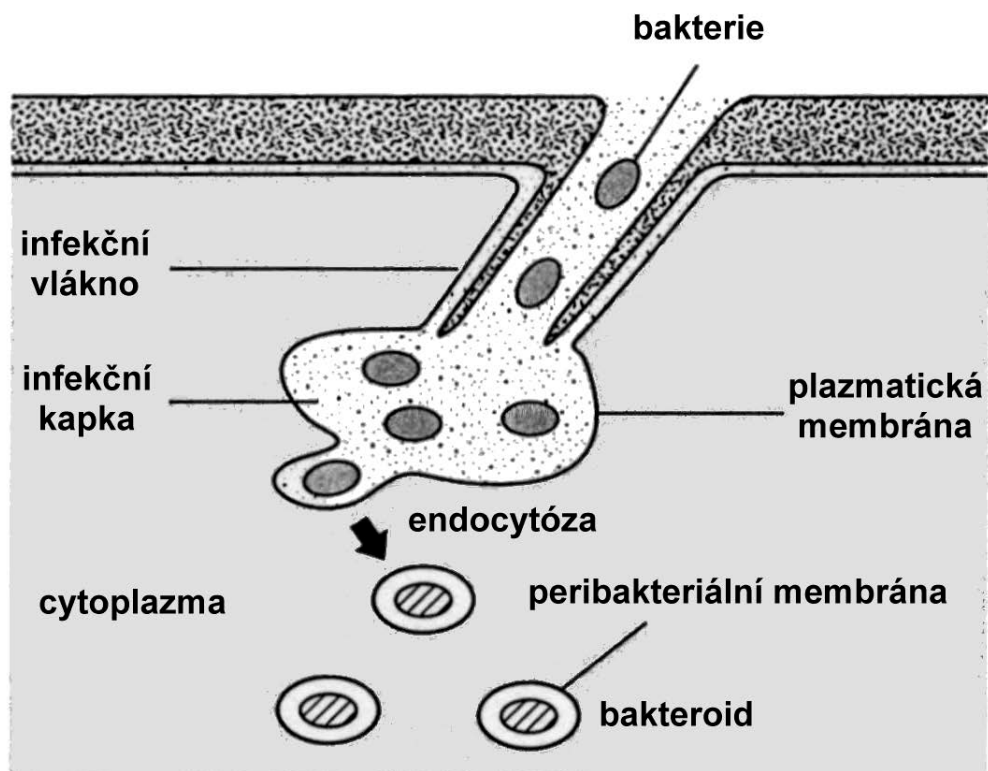
Obr. 1: Jednotlivá stadia tvorby kořenových hlízek.



Diferenciaci bakteroidů zahrnuje řadu změn, jako je tvorba bakteriální membrány, tvorba cytochromů, tvorba jednotlivých komponent potřebných k fixaci dusíku. Rostlinné buňky, které obsahují bakteroidy, nemají vakuoly. Na tvorbu hlízky rostlina reaguje expresí řady specifických genů (pro leghemoglobin, glutaminsyntázu, urikázu a dalších proteinů potřebných pro fixaci dusíku), které se neexprimují u rostlin nefixujících dusík. Speciální bakteriální geny determinující tvorbu hlízek jsou geny *nod* a speciální rostlinné geny se nazývají *noduliny*.

Schopnost fixovat vzdušný dusík je komplexní znak a rostlinných genů odpovědných za symbiózu a fixaci dusíku existuje velké množství. Někteří autoři uvádějí, že tvorba hlízek a jejich funkce je řízena 20 až 30 geny, jiní předpokládají, že u leguminóz je až 100 genů odpovědnými za klíčové fáze nodulace. Rozhodující rostlinné geny odpovědné za nodulaci a fixaci dusíku však stále ještě nejsou vzhledem k značné velikosti rostlinného genomu dobře známy. V poslední době byla publikována genetická mapa sóji zahrnující některé lokusy mající vztah k nodulaci. Důležitý pokrok byl též dosažen charakterizací a mapováním lokusů pro kvantitativní znaky u sóji a jiných plodin.

Obr. 2: Tvorba infekčních kapek, pronikání symbiotických bakterií do rostlinných buněk endocytózou a jejich přeměna v bakteroidy.



3 Leghemoglobin a nitrogenáza - nitrátreduktáza

Leghemoglobin

Nejdůležitějším z proteinů, které se podílí na fixaci dusíku je leghemoglobin. V rostlinné říši to je ojedinělá molekula, jejíž struktura je velmi podobná živočišnému hemoglobinu. Leghemoglobin se skládá ze dvou složek. Bakteroidy tvoří molekulový kofaktor hem a rostlina tvoří polypeptid (apoprotein). Leghemoglobin se hromadí ve vysoké koncentraci v kořenových hlízkách leguminóz. Zde tvoří 30% z celkové koncentrace bílkovin hlízky, 20% tvoří mRNA. Protein způsobuje charakteristickou růžovou barvu kořenové hlízky.

Geny determinující syntézu apoproteinů leghemoglobinu byly prvními geny, které byly u rostlin klonovány. Protože mRNA leghemoglobinu tvoří 20% z celkového množství proteinů ve vyvíjející se hlízce, bylo celkem jednoduché identifikovat klony leghemoglobinu v cDNA knihovně hlízek. Protein je kódován malou rodinou genů a hlízky obsahují řadu izoforem leghemoglobinu. Je lokalizován v cytoplazmě hostitelské buňky a ne v bakterioidech. Jeho funkcí je kontrola koncentrace O₂. Snižuje koncentraci přebytečného atmosférického kyslíku v buňkách hlízky (nejde však o anaerobní podmínky), neboť bakteriální enzym nitrogenáza - nitrátreduktáza, který se účastní fixace N₂, je na přítomnost kyslíku velmi citlivý.

Komplex nitrogenáza – nitrátreduktáza

Enzym umožňující fixaci dusíku se nazývá nitrogenáza–nitrátreduktáza (někdy se používá zkráceně nitrogenáza). Tento enzymový komplex je determinován geny *nif* u *Rhizobium* a skládá se ze dvou složek. Nitrogenázy (M_r = 240 x 10³), což je tetramer dvou molekul dvou různých polypeptidů (2 + 2). Tato složka obsahuje labilní atomy síry (24) a ionty železa (12 až 32) společně se dvěma ionty molybdeny. Druhou složkou je nitrátreduktáza, která se skládá ze dvou identických polypeptidů (každý má M_r asi 60 x 10³), čtyř iontů železa a čtyř labilních atomů síry.

Obě komponenty enzymu mají odlišné funkce. Fixace dusíku začíná redukcí prvního enzymu. Pomocí nitrátreduktázy se redukuje dusík na NH₃. Pochod probíhá za spotřeby ATP. Pro každou molekulu N₂, která se redukuje, je potřeba šest cyklů aktivity nitrátreduktázy. Bylo zjištěno, že proces fixace dusíku je efektivní jen z 80%. Na každou vytvořenou molekulu NH₃ (tj. NH₄⁺ iont) je potřeba 15 molekul ATP. Amoniak je již ve velmi nízkých koncentracích silným buněčným jedem. Proto se v rostlině převádí velmi rychle na organické sloučeniny, především se syntetizuje glutamin z glutamátu za spotřeby ATP. Tuto reakci katalyzuje glutaminsyntáza (obr. 5).

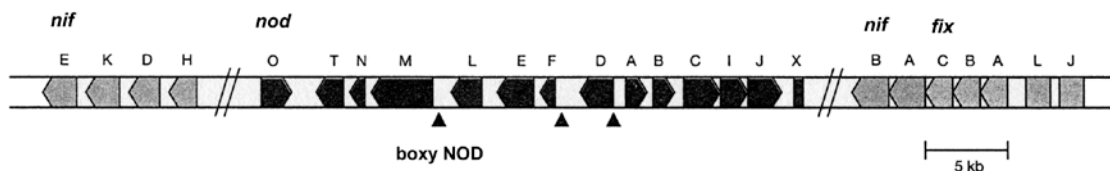
4 Geny rizobií potřebné pro fixaci N₂ a nodulaci

Geny determinující fixaci N₂ a tvorbu hlízek u *Rhizobium* jsou lokalizovány na velkých plazmidech (tzv. sym plazmidech), které mají 1,2 až 1,5 Mb. Jsou organizovány do operonů. U rizobií byly identifikovány homology některých genů *nif* *Klebsiella*, a dvě další třídy genů. Jsou to geny *nod*, které se podílejí na nodulaci a geny *fix*, které se také podílejí na fixaci N₂ a byly zjištěny pouze u *Rhizobium*. Všechny plazmidy zjištěné u *Rhizobium* nejsou stejné. Byly zjištěny rozdíly v sekvencích důležitých pro rozmezí hostitelů a v uspořádání genových klastrů na plazmidu. Na obr. 3 je znázorněno uspořádání genů na plazmidu pRL1JI u *Rhizobium leguminosarum*. Geny *nif* jsou všechny homologní s ekvivalenty genů *Klebsiella*. *NifF* a *nifD* jsou strukturální geny dvou nitrogenázových polypeptidů a *nifH* kóduje nitrát reduktázu. Geny *nifB* a *nifE* se podílejí na tvorbě kofaktoru hemu a *nifA* je regulační gen. Geny *fixA*, *fixB* a *fixC* kódují proteiny, které se podílejí na dodání elektronů nitrogenáze a *fixL* a *fixJ* mají pravděpodobně kontrolní funkci při snižování koncentrace kyslíku v hlízce. Tyto geny nejsou u *Klebsiella*.

Kmeny *Rhizobium* nesoucí mutace v genech *nif* a *fix* indukují tvorbu hlízek, ale nedochází k fixaci dusíku. Naopak mutace v genech *nod* vedou ke ztrátě tvorby kořenových hlízek. Některé geny *nod*, např. *nodD*, mají regulační funkci, další jsou strukturální geny. Některé geny *nod* jsou obvyklé u všech druhů rizobií (*nodA*, *nodB*, *nodC*), zatímco jiné jsou specifické pro

určitý komplex hostitele a symbionta. Geny *nodC*, *nodL*, *nodM*, *nodB*, *nodF* a *nodE* kódují tvorbu lipo-oligosacharidů. Funkce těchto genů je uvedena v tab. 2. Na obr. 4 je znázorněna pravděpodobná aktivace a funkce některých genů *nod* při biosyntéze lipo-oligosacharidů, které syntetizuje *R. leguminosarum* biovar *viciae*. Lipo-oligosacharidy jsou vylučovány volně se vyskytujícími rizobii a indukují zakroucení kořenových vlásků rostlin, což je předpoklad pro infekci symbiotickou bakterií. Tyto látky jsou pravděpodobně vylučovány také po invazi, kdy indukují buněčné dělení kořenových kortikálních buněk.

Obr. 3: Lokalizace genů *nod*, *nif* a *fix* na plazmidu *Rhizobium leguminosarum* pRL1JI.



Tab. 2: Geny *nod*, *nif* a *fix* plazmidu pRL1JI *Rhizobium leguminosarum* a jejich funkce.

Gen	Funkce
<i>nifA</i>	regulace genů <i>fix</i>
<i>nifB</i> , <i>nifE</i>	Fe-Mo kofaktor
<i>nifK</i> , <i>nifD</i>	polypeptidy nitrogenázy
<i>nifH</i>	polypeptidy nitrátreduktázy
<i>nodA</i> , <i>nodB</i> , <i>nodC</i>	tvorba lipo-oligosacharidů
<i>nodD</i>	aktivátor transkripce
<i>nodF</i> , <i>nodE</i> , <i>nodL</i>	enzymy pro různé substituce lipo-oligosacharidů jako je acetylace, přenos sulfátové skupiny nebo mastných kyselin
<i>nodI</i> , <i>nodJ</i>	komplex genů pro transport produktů fotosyntézy přes membránu k bakteroidům a produktů fixace ven
<i>nodL</i>	acetyltransferáza
<i>nodM</i>	glukózaminsyntáza
<i>nodX</i>	rozsah hostitelů
<i>fixA</i> , <i>fixB</i> , <i>fixC</i>	Tvorba proteinů dodávajících elektrony nitrogenáze
<i>fixL</i> , <i>fixJ</i>	kontrolní funkce při snižování koncentrace kyslíku v hlízcce

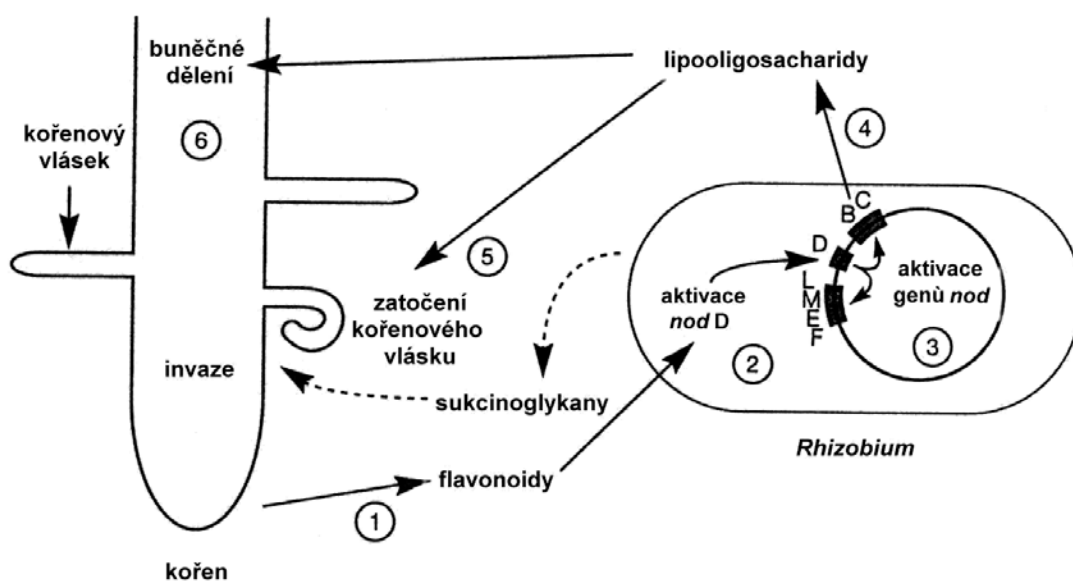
5 Interakce mezi bakterií a rostlinou (leguminózy)

5.1 Preinfekční signály

Poznatky o interakcích mezi bakteriální a rostlinnou buňkou a jejími důsledky pro fixaci vzdušného dusíku nejsou úplné. Existuje celá řada signálů mezi rostlinou a volně žijící bakterií, které jsou zprostředkovány bakteriálními lipo-oligosacharidy.

Kořeny leguminóz vylučují do rizosféry flavonoidní látky (vanilin, izovanilin). Jeden rostlinný druh vylučuje několik druhů těchto látek. Flavonoidy mohou aktivovat produkt genu *nodD*, který je součástí plazmidu *Rhizobium*. Produkt tohoto genu je transkripčním aktivátorem a je nezbytný pro expresi dalších genů *nod* včetně genů pro syntézu lipo-oligosacharidů. V oblasti domnělého promotoru klastru genu *nod* byl identifikován konzervativní motiv známý jako NOD box. Tento NOD box je pravděpodobně součástí regulace genů *nod* prostřednictvím proteinu NodD.

Obr. 4: Přehled preinfekčních a raných infekčních signálů mezi kořenovými buňkami rostliny schopné fixovat vzdušný dusík a bakterií r. *Rhizobium*. Návaznost signálů je označena čísly 1 až 6.



Flavonoidy a lipo-oligosacharidy nemusejí být jedinými sloučeninami, které jsou pre-invazivními signály. Pravděpodobně také bakteriální sukcinoglykany jsou důležité při bakteriální infekci. Rozpětí hostitelské specifity rizobií se prozatím nedá vysvětlit těmito známými látkami. Známé signály předcházející interakci bakterie – hostitelská buňka jsou znázorněny na obr. 4. Rostliny při poranění nebo ve stresových podmínkách produkují řadu složitých organických sloučenin, včetně flavonoidů, flavonů, flavanonů, izoflavonů a chalkonů, které se účastní obranných reakcí. Rizobia se pohybují chemotakticky k těmto

látkám a specificky se aktivující geny *nod*. Specificita flavonoidů je způsobena různými odlišnými chemickými substitucemi. V centru signálního transdukčního řetězce jsou produkty genu *nodD*. Ty jsou schopny vázat flavony na svoje C terminální konce. Tímto způsobem se aktivují jako transkripční faktory. Aktivovaný protein NodD se váže na speciální struktury u dalších promotorů genů *nod*, které mají speciální rozpoznávací sekvence. Tyto struktury se nazývají nod-boxy a jsou dlouhé 47 bp.

Aktivují se dvě skupiny genů *nod*: obvyklé a hostitelsky specifické geny *nod*. Geny *nod* určují, jak bakterie reagují na hostitelskou rostlinu.

Signální sloučeniny, které se uplatňují při signální transdukci, jsou ve skutečnosti modifikované chitooligosacharidy, tzv. faktory Nod, důležité při určení hostitelské specifity. Tyto faktory Nod přecházejí z bakterií do rostliny. Zde iniciují meristemickou aktivitu v pletivech vzdálených od místa, kde byly produkovány. Tato aktivita vede ke tvorbě hlízek. V obr. 4 jsou shrnuty preinfekční a rané infekční signály rostliny a bakterií a jejich posloupnost.

Pro hostitelskou specifitu symbiózy *Rhizobium* – rostlina jsou důležité i lektiny. Jsou to proteiny, které jsou schopny vázat specifické mono- a oligosacharidy a jsou lokalizovány ve vakuolách, buněčné stěně a mezibuněčných prostorách. Byly zjištěny ve všech orgánech rostlin, ale jejich lokalizace v kořenových pletivech (kořenových vláscích) podporuje hypotézu o rozpoznávacím charakteru lektinů. Lektiny kořene a semen sóje a hrachu jsou kódovány jedním genem. Gen pro lektin hrachu byl introdukován metodami genového inženýrství do genomu jetele plazivého, který byl potom citlivý k rizobiím specifickým pro hrách. Infekce rizobii jetele plazivého bez tohoto genu nevedla k tvorbě hlízek. Kořeny hrachu jsou na lektiny bohaté a jsou lokalizované vně plazmatické membrány. Faktory Nod jsou účinnými ligandy pro lektiny. Rostlinné geny jsou důležité při determinaci, která rizobia mohou infikovat rostlinu a tvořit hlízky, ale také regulují lokalizaci a počet vytvořených hlízek.

5.2 Interakce mezi bakteriální a hlízkovou buňkou

Interakce mezi bakteroidem a rostlinnou buňkou zahrnuje výměnu metabolitů. Rostlina poskytuje bakteroidům dikarboxylové kyseliny (malát a sukcinát) jako substráty pro oxidativní fosforylaci a bakteroidy poskytují rostlině NH_4^+ pro fixaci N_2 . NH_4^+ je potom asimilován rostlinou za účasti glutaminsyntázy a tvoří se glutamin z glutamátu a NH_4^+ (obr. 5). Rostlina také poskytuje Mo, Fe a S, které jsou nezbytné pro tvorbu aktivního nitrogenázového komplexu.

Na další úrovni rostlinné a bakteroidní buňky interagují a vytváří vhodné podmínky pro fixaci N_2 , což zahrnuje signály, které kontrolují expresi jak bakteriálních tak rostlinných genů. Infekce bakteriemi má za následek tvorbu 18-20 nových polypeptidů v průběhu tvorby hlízek. Jen u některých z nich byly určeny jejich funkce. Např. koncentrace glutaminsyntázy se dramaticky zvyšuje v průběhu tvorby hlízky a rostlinou produkován apoprotein leghemoglobin je syntetizován pouze hlízkovými buňkami. Podstata signálů těchto změn při expresi genů není známa.

Protože nitrogenázový komplex je inaktivován kyslíkem, koncentrace O_2 je pro fixaci dusíku kritická a leghemoglobin kontroluje přísun O_2 do hlízek. Syntéza nitrogenázového komplexu je také kontrolována kyslíkem prostřednictvím genů *fixL* a *fixJ*. Gen *fixL* determinuje hem protein, který je citlivý na O_2 a fosforyluje protein kódovaný genem *fixJ*. Fosforylace proteinu

fixJ kontroluje jeho schopnost aktivovat gen *nifA*, který je zase transkripčním aktivátorem dalších genů.

Sekvenované genomy (<http://genome.microbedb.jp/rhizobase/>)

Druh	Taxon
<i>Mesorhizobium loti</i> MAFF303099	Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Phyllobacteriaceae; Mesorhizobium
<i>Bradyrhizobium japonicum</i> USDA110	Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Bradyrhizobiaceae; Bradyrhizobium
<i>Sinorhizobium meliloti</i> 1021	Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Rhizobiaceae; Sinorhizobium/Ensifer group; Sinorhizobium
<i>Rhizobium etli</i> CFN42	Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Rhizobiaceae; Rhizobium/Agrobacterium group; Rhizobium
<i>Rhizobium leguminosarum</i> bv. <i>viciae</i> 3841	Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Rhizobiaceae; Rhizobium/Agrobacterium group; Rhizobium
<i>Rhizobium</i> sp. pNGR234ab	
<i>M. loti</i> R7A symbiosis island	
<i>Bradyrhizobium</i> sp. BTAi1	Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Bradyrhizobiaceae; Bradyrhizobium
<i>Bradyrhizobium</i> sp. ORS278	Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Bradyrhizobiaceae; Bradyrhizobium
<i>Azorhizobium caulinodans</i> ORS571	Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Xanthobacteraceae; Azorhizobium
<i>Frankia alni</i> ACN14a	Actinobacteria; Actinobacteridae; Actinomycetales; Frankineae; Frankiaceae; Frankia
<i>Frankia</i> sp. Ccl3	Actinobacteria; Actinobacteridae; Actinomycetales; Frankineae; Frankiaceae; Frankia
<i>Frankia</i> sp. EAN1pec	Actinobacteria; Actinobacteridae; Actinomycetales; Frankineae; Frankiaceae; Frankia
<i>Azoarcus</i> sp. BH72	Proteobacteria; Betaproteobacteria; Rhodocyclales; Rhodocyclaceae; Azoarcus
<i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i> PAI 5	Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhodospirillales; Acetobacteraceae; Gluconacetobacter
<i>Klebsiella pneumoniae</i> Kp342	
<i>Rhizobium</i> sp. NGR234	Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales;

Druh	Taxon
	Rhizobiaceae; Rhizobium/Agrobacterium group; Rhizobium
<i>Azospirillum</i> sp. B510	Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhodospirillales; Rhodospirillaceae; Azospirillum
<i>Cupriavidus taiwanensis</i> LMG 19424	Proteobacteria; Betaproteobacteria; Burkholderiales; Burkholderiaceae; Cupriavidus
<i>Bradyrhizobium japonicum</i> USDA 6	Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Bradyrhizobiaceae; Bradyrhiz

Obr. 5: Přehled interakcí mezi bakteroidem r. *Rhizobium* a kořenovou buňkou rostliny během fixace vzdušného dusíku v hlínce

