

# Molekulární biotechnologie č.10e

Využití poznatků molekulární biotechnologie. Baktérie stimulující růst rostlin

# Baktérie stimulující růst rostlin

- Mnoho půdních mikroorganismů stimuluje růst rostlin
- Molekulární mechanismy, kterými baktérie stimulují růst rostlin jsou studovány s cílem snížit používání chemických hnojiv

# Půdní mikroorganismy stimulují růst rostlin

- mají schopnost vázat N, odbourávat Fe, usnadňovat příjem P, produkovat fytohormony - přímé působení
- blokovat růst fytopatogenních mikroorganismů - nepřímé působení

## Již dříve využití bakterií jako hnojiva

- např. *Bradyrhizobium japonicum* při pěstování soji
- *Azotobacter chroococum* a *Bacillus megaterium* při pěstování pšenice
- v SSSR zvýšení výnosu zrna o 10 až 20%

## Baktérie rodu *Rhizobium* a *Bradyrhizobium*

- žijí v symbióze s motýlokvěťými rostlinami
- Mohou fixovat vzdušný N

# Bakteriální druhy fixující vzdušný dusík a hostitelské rostliny (soja, jetel, vojtěška, hrách, fazole)

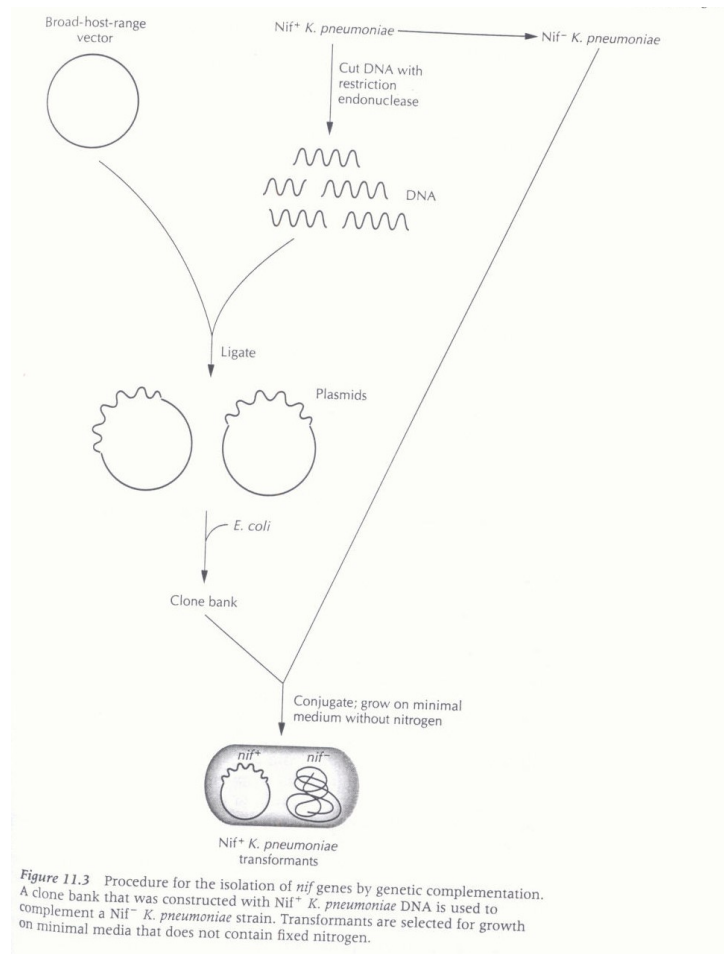
*Table 11.1* Plant specificity of various *Rhizobium* and *Bradyrhizobium* species.

Bacterial species	Host plant
<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	Soybean
<i>Rhizobium trifolii</i>	Clover
<i>Rhizobium meliloti</i>	Alfalfa
<i>Rhizobium leguminosarum</i>	Peas and broad beans
<i>Rhizobium phaseoli</i>	Kidney beans and mung beans

# Molekulární mechanismy fixace vzdušného N

- Jsou intenzívně studovány u *Klebsiella pneumoniae*
- modelová bakterie (půda, voda, lidské střevo)

# Postup izolace *nif* genů s využitím genetické komplementace (Glick a spol. 2003)





## Studium *nif* genů

- Genů je znám větší počet
- asi 20

# Geny *nif* *K. pneumoniae* a jejich funkce (Glick a spol. 2003)

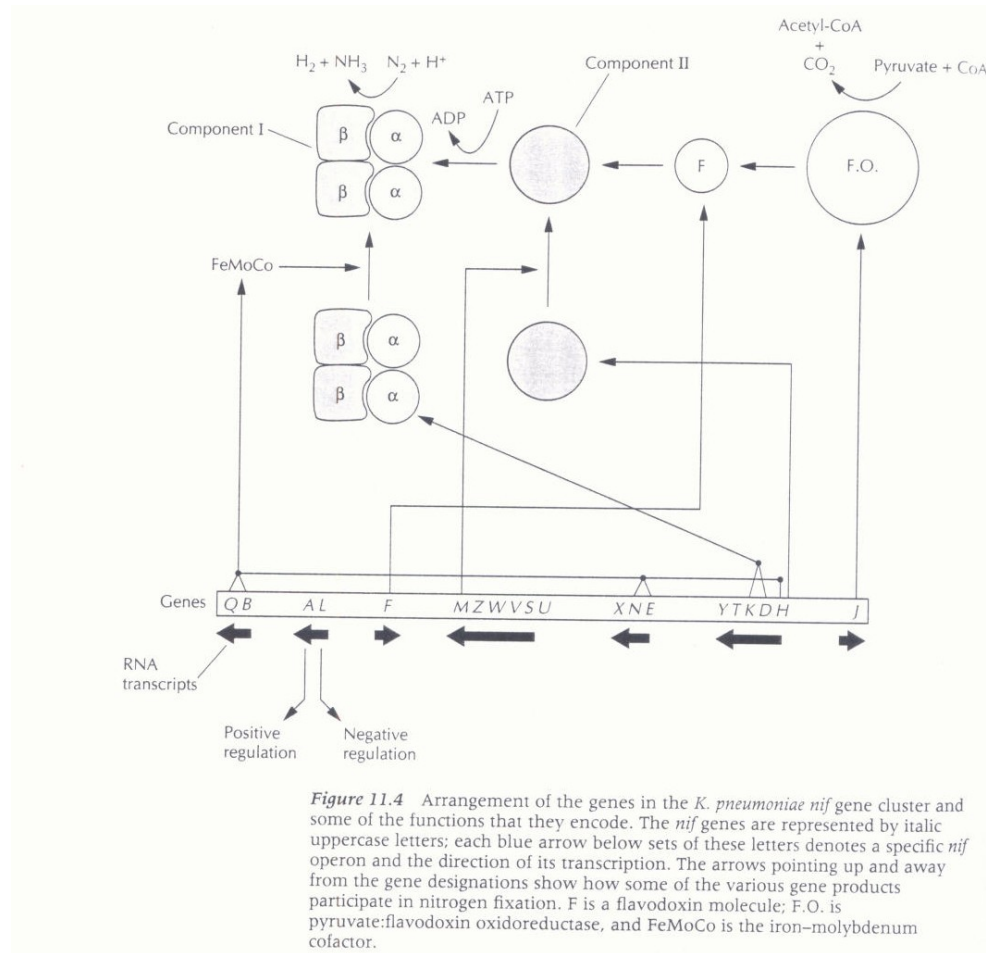
**Table 11.2** *K. pneumoniae* genes involved in nitrogen fixation and the functions of the proteins that they encode.

<i>nif</i> gene	Function
<i>D, K</i>	Nitrogenase component I
<i>H</i>	Nitrogenase component II
<i>F</i>	Flavodoxin
<i>J</i>	Pyruvate:flavodoxin oxidoreductase
<i>Q, B, N, E, V</i>	Iron-molybdenum cofactor synthesis
<i>M</i>	Processing of dinitrogenase reductase
<i>A</i>	Positive activator
<i>L</i>	Negative regulator
<i>S</i>	Maturation of component I
<i>W, Z, T, Y, U, X</i>	Other, less well defined functions

## Geny *nif* jsou organisovány

- jsou organizovány v 7 operonech (tvoří *nif* klastr)
- Exprese genů je složitě regulována
- Genový klastr

# Genový klastř *nif*



**Figure 11.4** Arrangement of the genes in the *K. pneumoniae nif* gene cluster and some of the functions that they encode. The *nif* genes are represented by italic uppercase letters; each blue arrow below sets of these letters denotes a specific *nif* operon and the direction of its transcription. The arrows pointing up and away from the gene designations show how some of the various gene products participate in nitrogen fixation. F is a flavodoxin molecule; F.O. is pyruvate:flavodoxin oxidoreductase, and FeMoCo is the iron-molybdenum cofactor.

## Detailněji byl charakterizován

- enzym nitrogenáza, jehož gen byl klonován
- Dosud se nepodařilo konstruovat ani rostliny ani jiné bakterie fixující vzdušný dusík

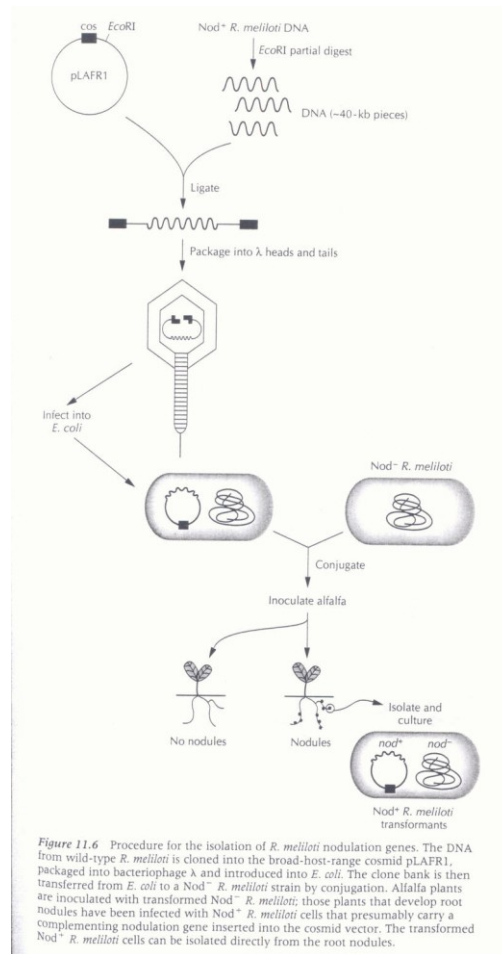
## Další pozornost je věnována

- Ovlivnění tvorby hlízek na kořenech rostlin
- Tzv. nodulaci

# Interakce symbiotických rhizobií a motýlokvětých rostlin

- vyžaduje tvorbu hlízek na kořenech rostlin
- V hlízkách dochází k fixaci vzdušného dusíku
- Geneticky je tvorba hlízek složitý proces a účastní se ho mnoho enzymů (produktů asi 20 genů *nod*)

# Postup použitý při izolace *nod* genů (Glick a spol. 2003)





## Izolace a charakterizace dalších genů ovlivňujících růst rostlin

- Genů účastnících se syntézy bakteriálního sideroforu (nízkomolekulární sloučenina vázající Fe)
- Genů kódující fytohormony
- Genů kódujících antibiotika a další antimikrobiální látky

