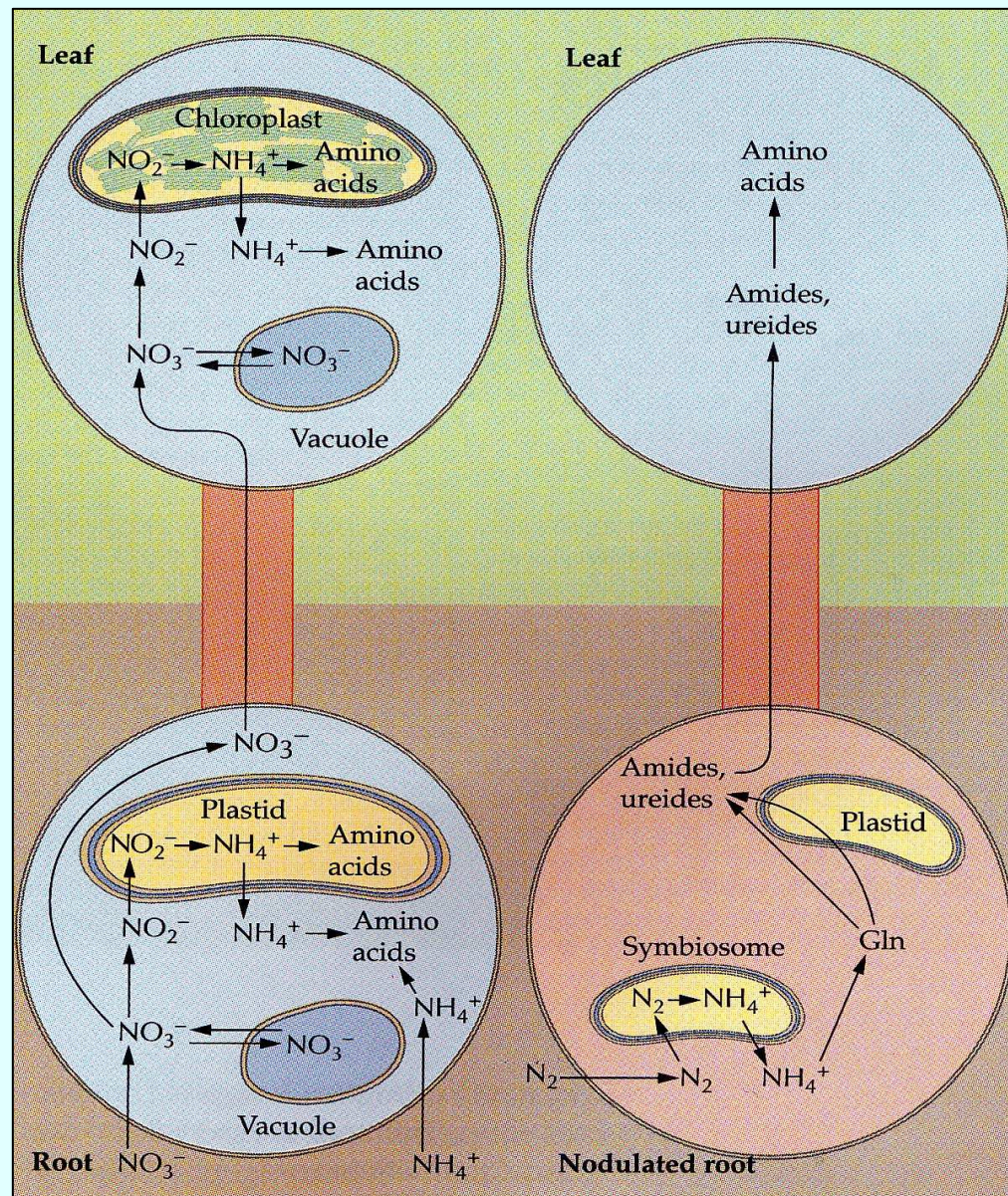
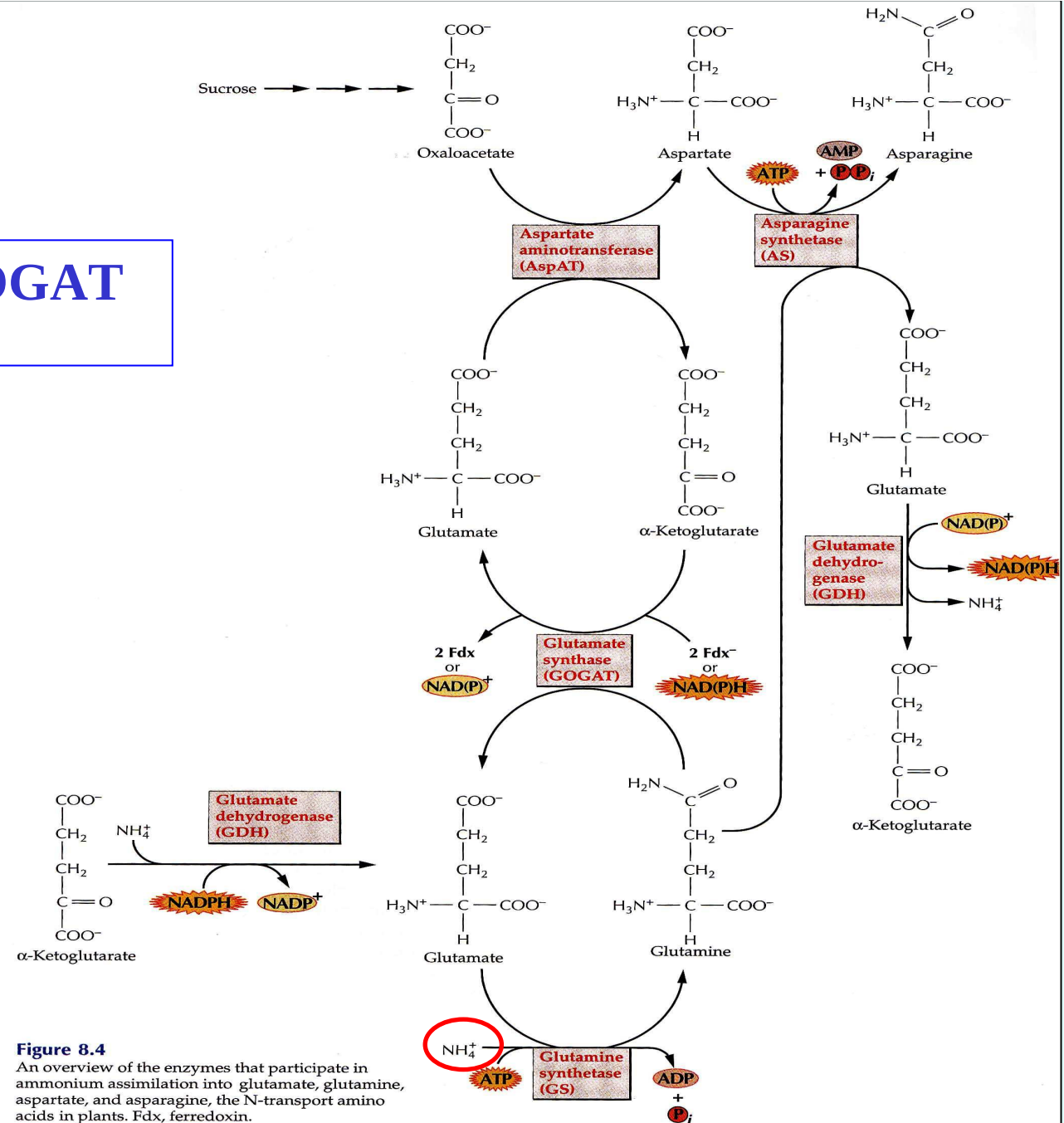




Buchanan 2000

Asimilace amonného iontu:

- Cesta GS – GOGAT
- Cesta GDH



GS (glutaminsyntetáza, EC 6.3.1.2)

- oktamerní protein o velikosti 350-400 kDa, tvořený 8 téměř identickými podjednotkami

- vysoká afinita k NH_4^+

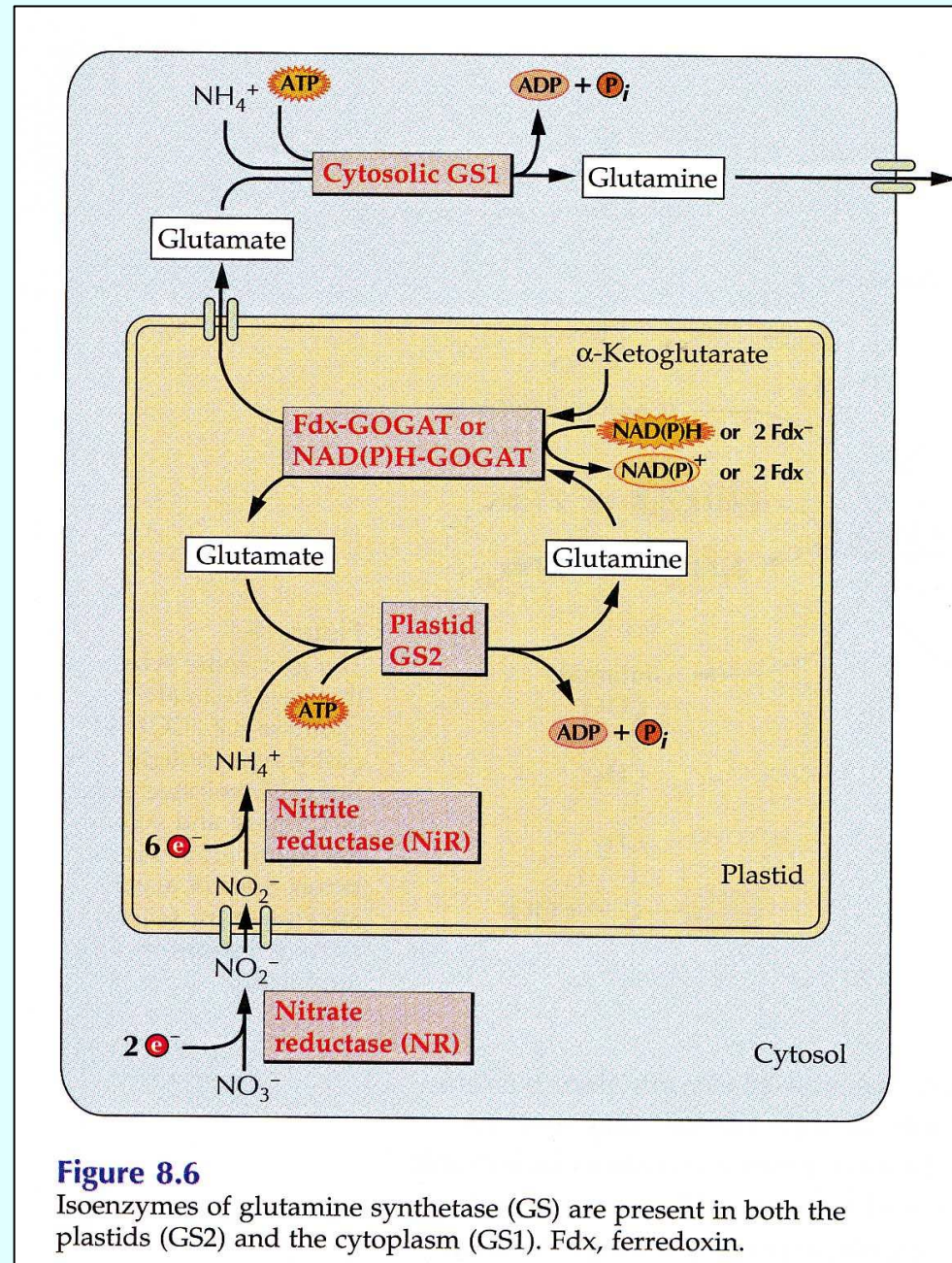
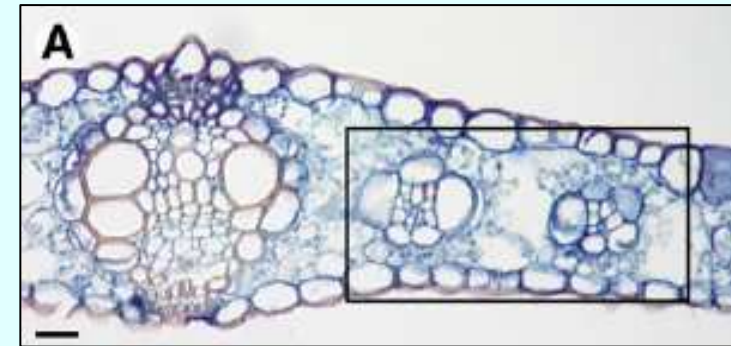
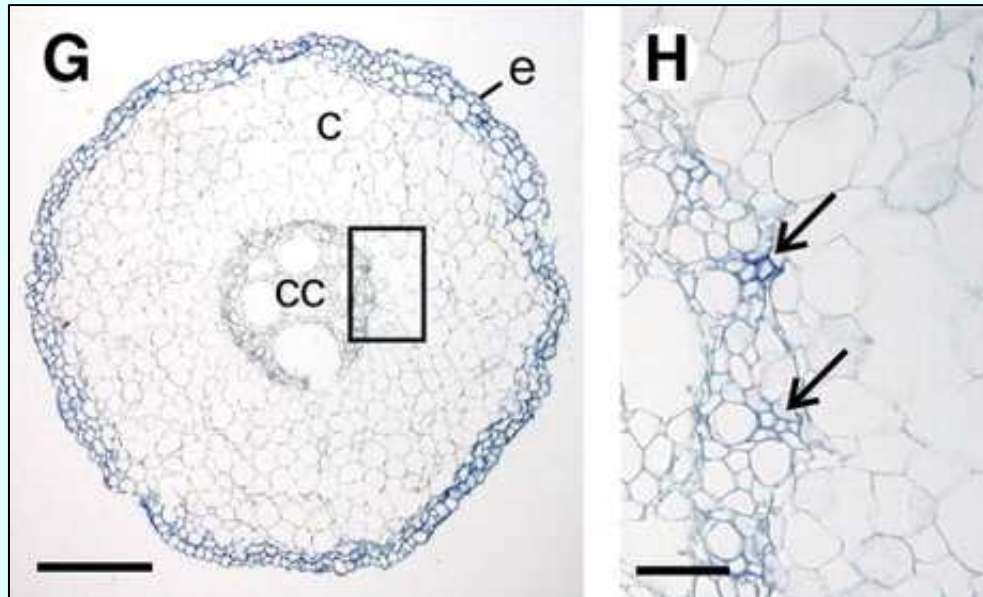


Figure 8.6

Isoenzymes of glutamine synthetase (GS) are present in both the plastids (GS2) and the cytoplasm (GS1). Fdx, ferredoxin.

cytoplazmatická GS1 – více izoformem

NH_4^+ z prostředí, z redukce nitrátu v kořenech, z fixace N_2 , účast v transportních procesech, retranslokace N z listů



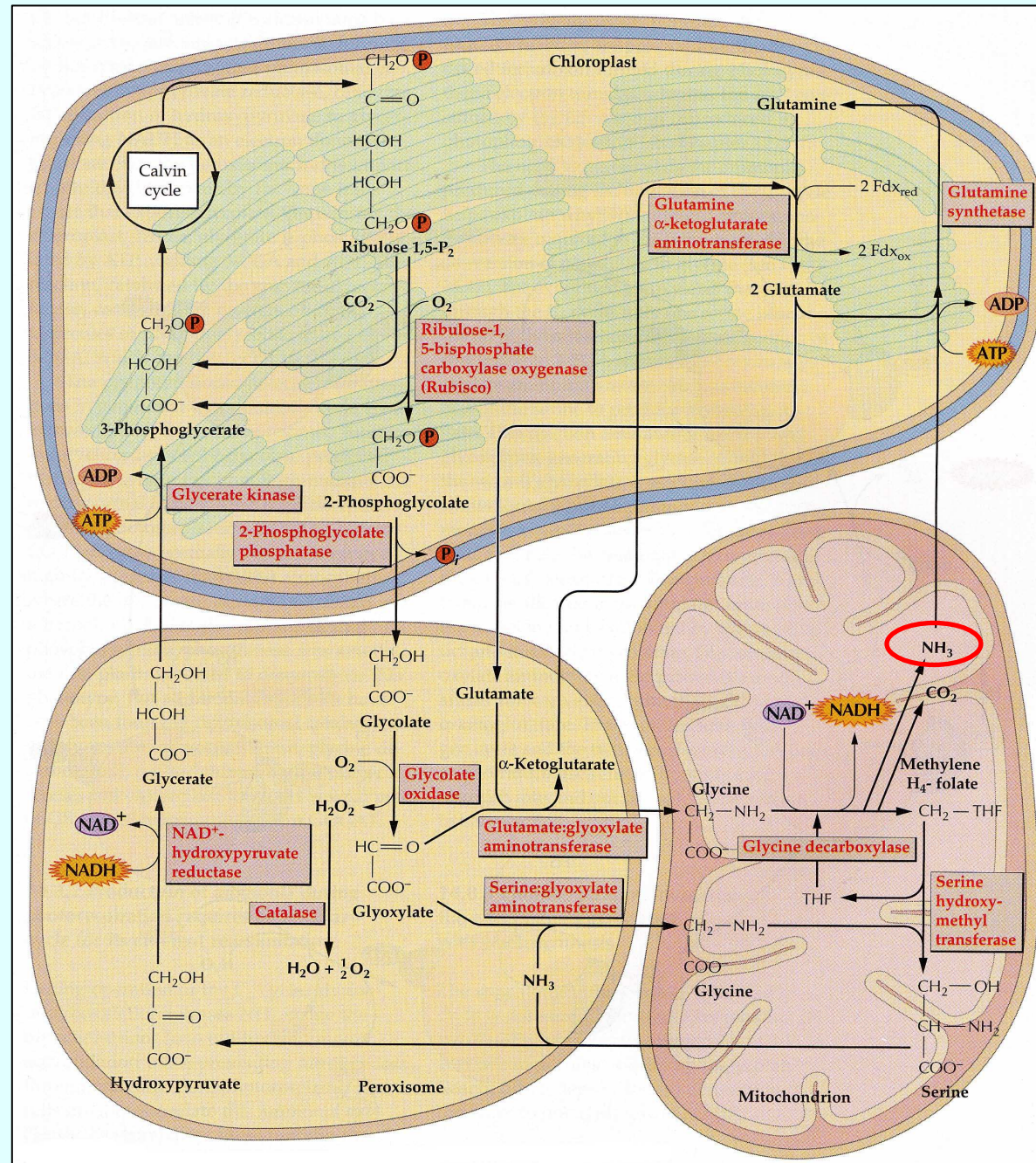
Martin 2006

plastidová GS2 (v chloroplastech fotosynteticky aktivních pletiv a plastidech kořenů)

dominantní v zelených částech rostlin

NH_4^+ z redukce nitrátu a fotorespirace

Fotorespirace



GOGAT - glutamátsyntáza

(glutamin-2-oxoglutarátamidotransferáza, EC 1.4.7.1)

Ferredoxin-dependentní forma

(EC 1.4.7.1)

- především v listech (chloroplasty)
- hlavním regulačním faktorem je světlo

NADH-dependentní forma

(EC 1.4.1.14)

- v plastidech nefotosyntetizujících tkání (kořeny, pochvy cévních svazků vyvíjejících se listů)
- regulace především koncentrací nitrátu, amonného iontu, glutaminu a asparaginu

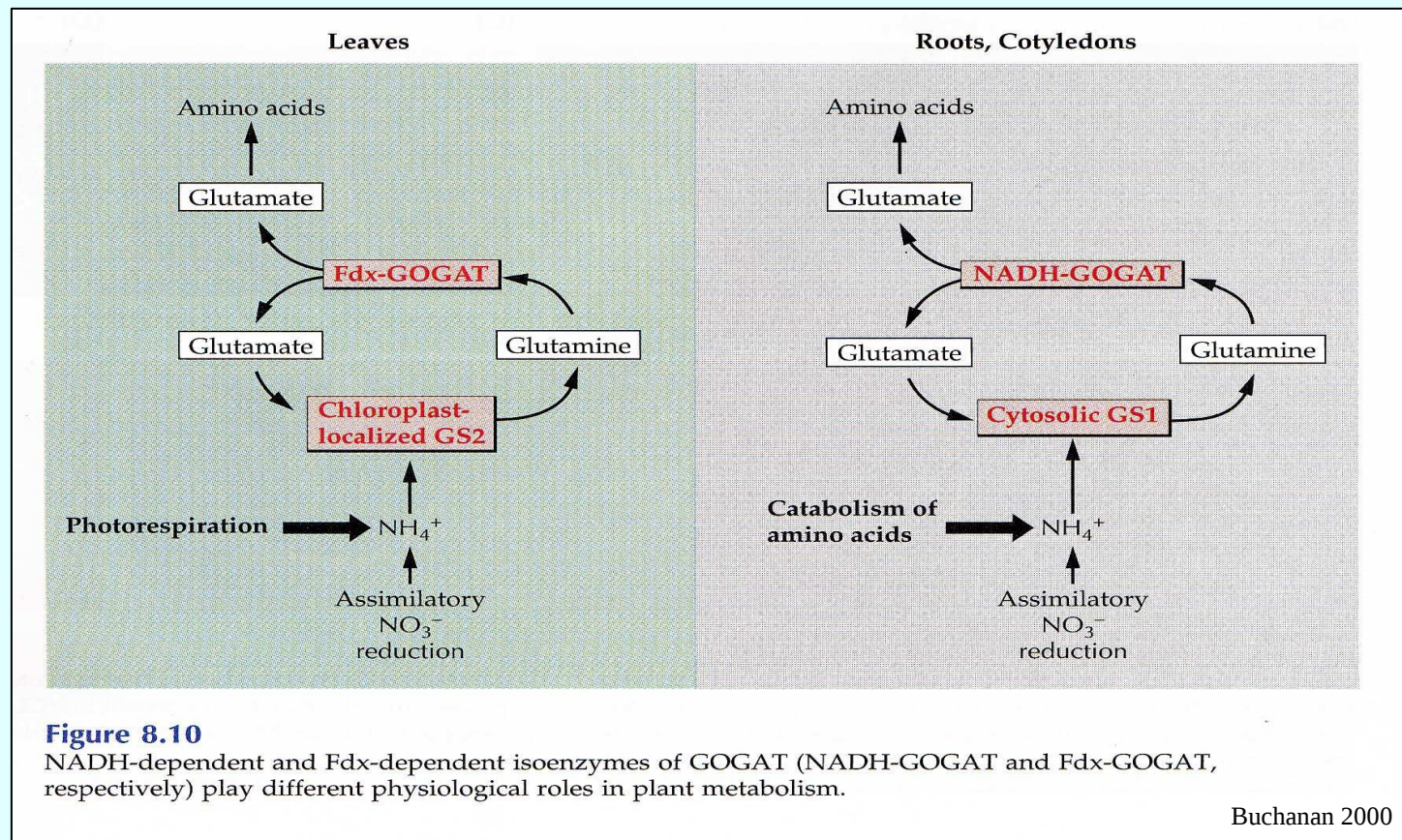


Figure 8.10

NADH-dependent and Fdx-dependent isoenzymes of GOGAT (NADH-GOGAT and Fdx-GOGAT, respectively) play different physiological roles in plant metabolism.

Buchanan 2000

Syntéza AK v rostlinné buňce

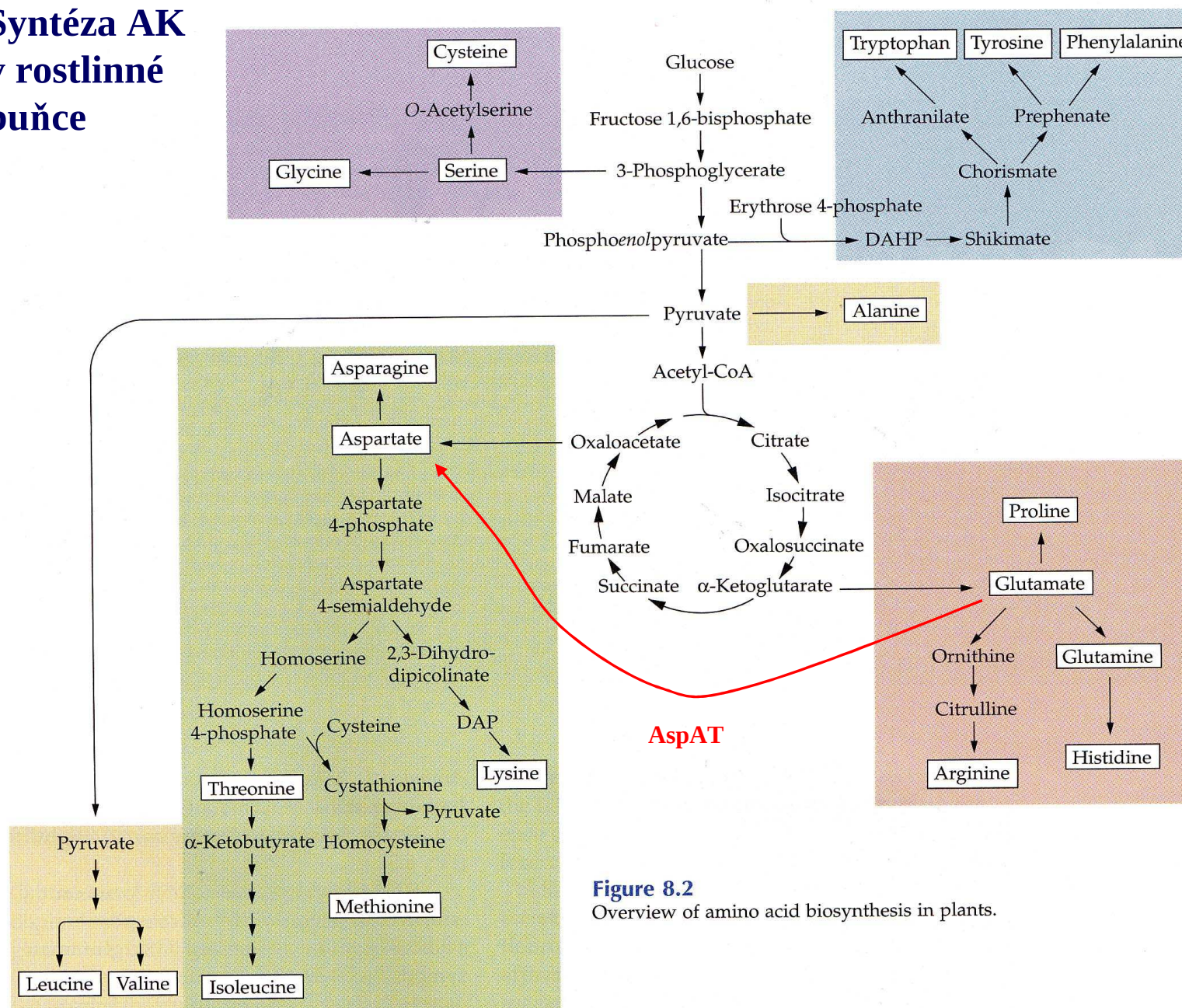


Figure 8.2
Overview of amino acid biosynthesis in plants.

Dusíkaté látky v rostlinách a jejich význam:

- **anorg. ionty** – NO_3^-
- **aminokyseliny** – stavební prvky makromolekul, signální funkce, zásobní funkce (spolu s aminy mohou sloužit jako dočasná zásoba N), transportní molekuly, účast při osmoregulaci
- **ureidy** – transportní molekuly některých rostlin schopných vytvářet kořenové hlízký (symbiotická fixace molekulového N)
- **aminy** – stavební složky membrán (součást fosfolipidů – např. ethanolamin)
- **polyaminy** (putrescin) – signální funkce, účastní se řady procesů (dělení buněk, embryogeneze, iniciace kvetení), zpomalení senescence, stabilizace membrán (ochrana proti kyslíkovým radikálům)
- **proteiny** – stavební, katalytická a zásobní funkce (např. zásobní proteiny v semenech – 3 základní skupiny: albuminy, prolaminy a globuliny, specifické struktury – proteinová tělíska)

Nitráty rostlinách x potraviny:

- nad 1-2% DW toxické pro přežvýkavce
- riziko v potravě člověka (**methemoglobinemia, vznik nitrosaminů**)

limity pro obsah nitrátů v některé zelenině - EC directive 466/2001

sbírka zákonů 53/2002 plus novelizace 306/2004

Product	Maximum level (mg NO ₃ / kg)		Sampling method
1.1. Fresh spinach ⁽²⁾ (<i>Spinacia oleracea</i>)	Harvested 1 November to 31 March: Harvested 1 April to 31 October:	3 000 ⁽³⁾ 2 500 ⁽³⁾	Commission directive 79/700/EEC ⁽⁴⁾
1.2. Preserved, deep-frozen or frozen spinach		2 000	Directive 79/700/EEC
1.3. Fresh Lettuce (<i>Lactuca sativa</i> L.) (protected and open-grown lettuce)	Harvested 1 October to 31 March: Harvested 1 April to 30 September: with the exception of open-grown lettuce harvested from 1 May to 31 August	4 500 ⁽³⁾ 3 500 ⁽³⁾ ⁽⁵⁾ 2 500 ⁽³⁾ ⁽⁵⁾	Directive 79/700/EEC. However, the minimum number of units per laboratory sample is 10

EC directive 466/2001

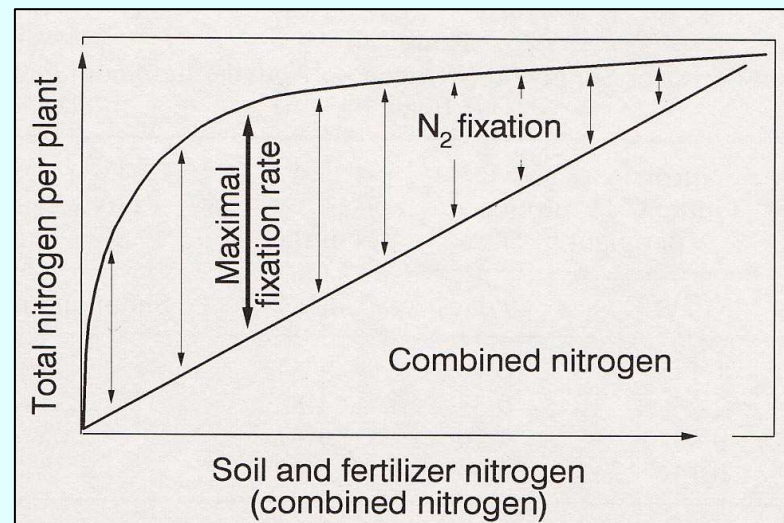
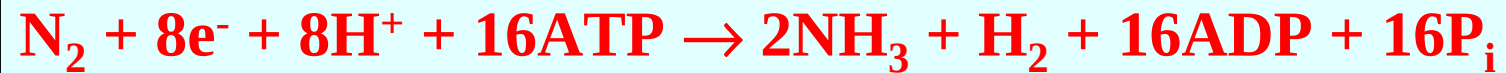
Fixace molekulového dusíku:

- celosvětově $17,2 \cdot 10^7$ tun ročně

- energeticky velmi náročný proces

(průmyslově **Haber-Boschův proces** - reakce molekulového dusíku s vodíkem při vysoké teplotě ($400-650^{\circ}\text{C}$) a tlaku ($150-400$ atmosfér) v přítomnosti železa jako katalyzátoru)

- zajišťují některá prokaryota – vybavená enzymem **nitrogenázou**



Marschner 1995

- reakce vyžadující velké množství energie a přítomnost silného biologického reductantu

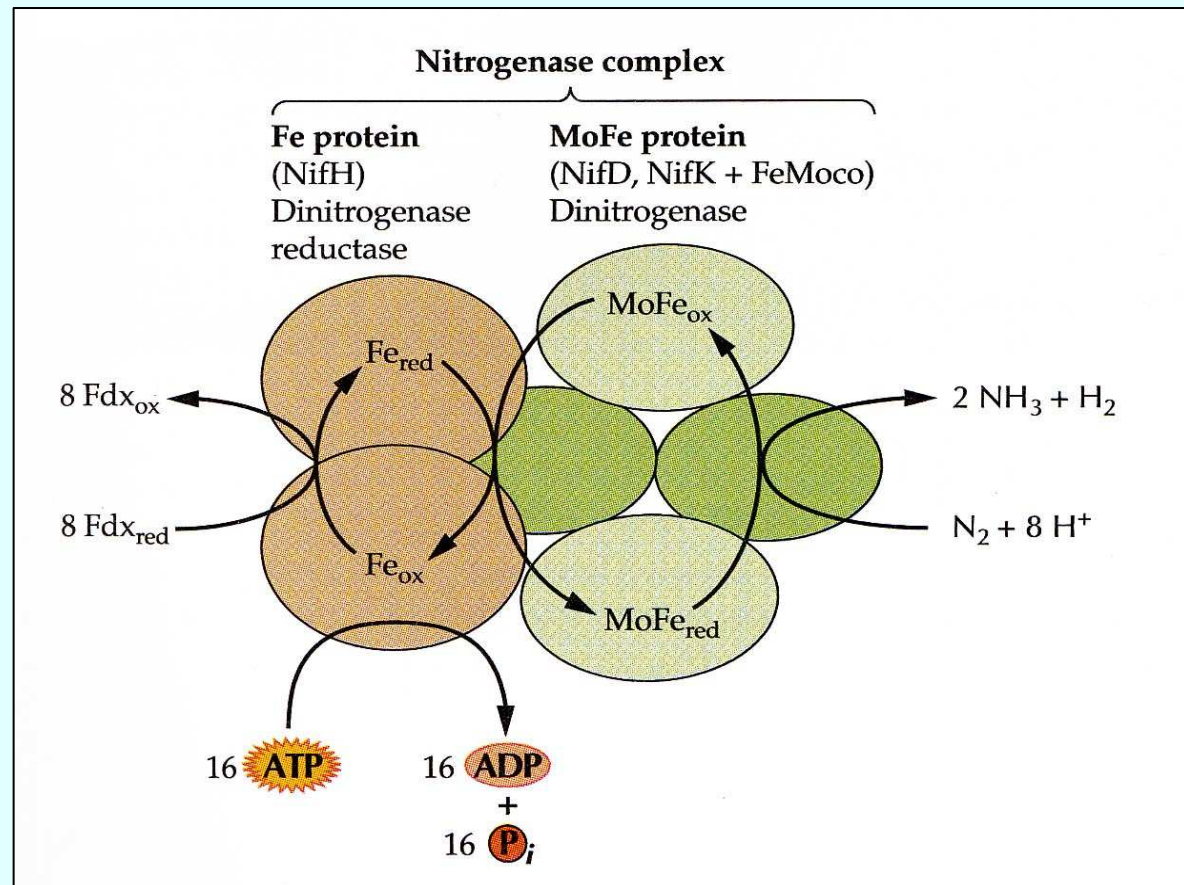
- **nitrogenáza citlivá ke kyslíku**

- tvorba specifických struktur (heterocysty, hlízky)

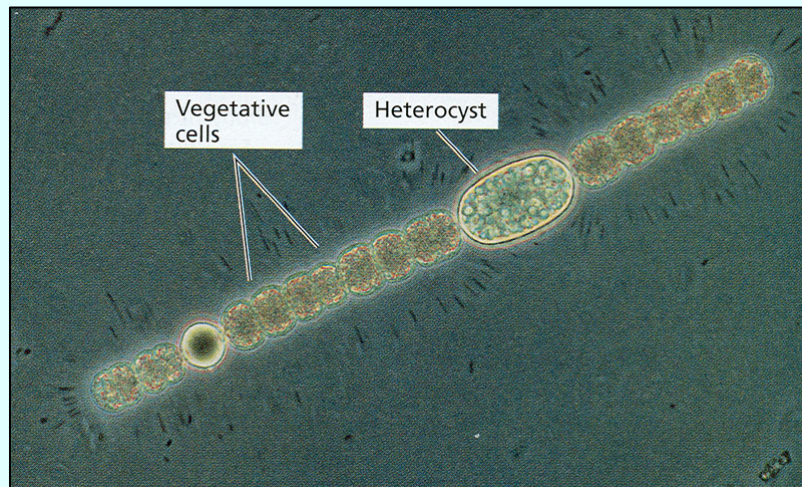
Nitrogenáza:

- komplex tvořený 2 částmi:
- **Fe protein** (30-72 kDa)
obsahuje Fe-S klastr,
extrémně citlivý ke
kyslíku (irreverzibilní
inaktivace)

- **MoFe protein**
4 podjednotky, 2 atomy
Mo ve dvou Mo-Fe-S
klastrech



- reakce vyžadující velké množství energie a přítomnost silného biologického reduktantu
- nitrogenáza citlivá ke kyslíku
- tvorba specifických struktur (heterocysty, hlízky)



Taiz a Zeiger 2002



Buchanan 2000

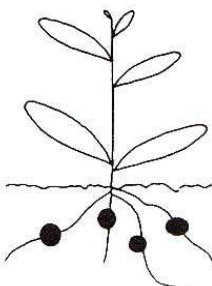
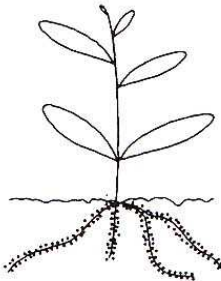
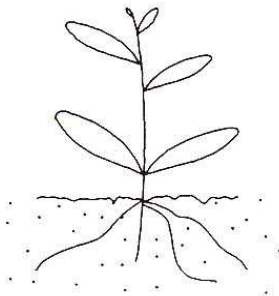
System of N₂ fixation (N₂→ NH₃) and microorganisms involved	 <u>Symbiosis</u> (e.g., <i>Rhizobium</i>, <i>Actinomyces</i>)	 <u>Associations</u> (e.g., <i>Azospirillum</i>, <i>Azotobacter</i>)	 <u>Free living</u> (e.g., <i>Azotobacter</i>, <i>Klebsi- ella</i>, <i>Rhodospirillum</i>)	
Energy source (organic carbon)	Sucrose and its metabolites (from the host plant)	Root exudates from the host plant	Heterotroph: Plant residues	Autotroph: Photo- synthesis
Estimates of amounts fixed (kg N ha ⁻¹ yr ⁻¹)	Legumes: 50–400 Nodulated non- legumes: 20–300	10–200	1–2	10–80

Fig. 7.1 Type, energy source, and fixation capabilities of biological N₂ fixation systems in soils.
(Courtesy of K. Isermann; modified.)

Tři skupiny symbioz:

- gram pozitivní aktinomyceity (Frankia) + různé dvouděložné, často stromy a keře (*Alnus*, *Casuaria*, *Datista*, *Ceanothus*)
- sinice + např. *Gunnera*, cykasy, kapradiny (*Azolla*)
- gram negativní bakterie (rhizobia) + bobovité



<http://www.flickr.com/photos/8555671@N05/3679707739/>



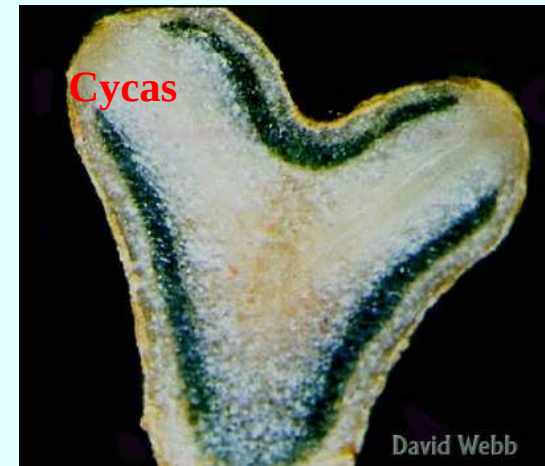
<http://web.uconn.edu/mcbstaff/benson/Frankia/Structure.htm>

Tři skupiny symbioz:

- gram pozitivní aktinomyceety (Frankia) + různé dvouděložné, často stromy a keře (Alnus, Casuarina, Datista, Ceanothus)
- sinice + např. Gunnera, cykasy, kapradiny (Azolla)
- gram negativní bakterie (rhizobia) + bobovité



Gunnera



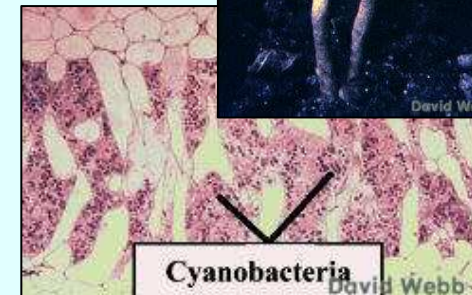
Cycas

David Webb

<http://www.biologie.uni-hamburg.de/b-online/library/webb/BOT311/Cyanobacteria/Cyanobacteria.htm>



David Webb



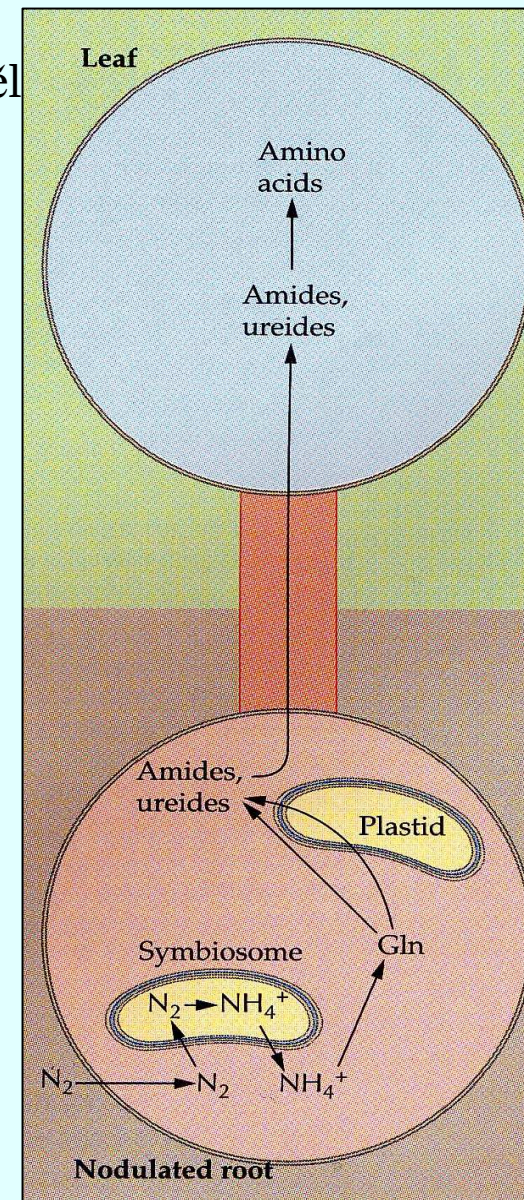
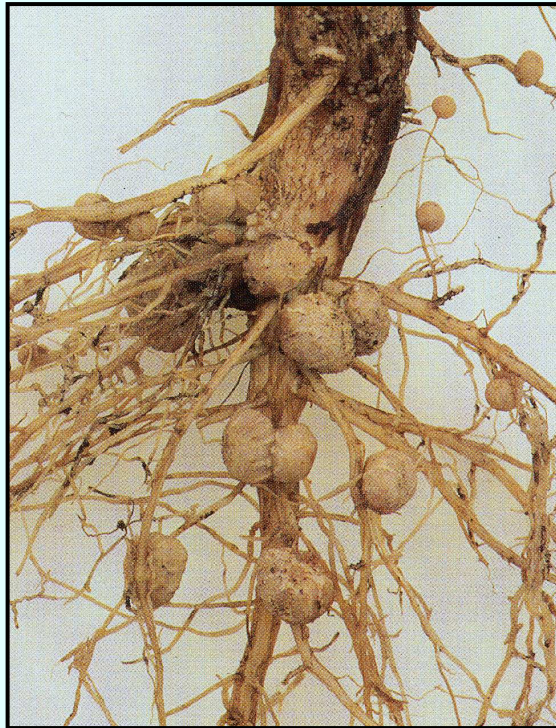
Cyanobacteria

David Webb

Taiz a Zeiger 1998

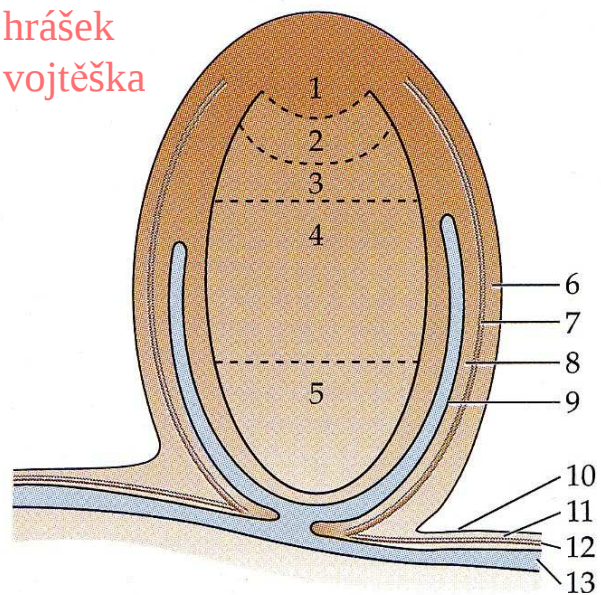
Tři skupiny symbioz:

- gram pozitivní aktinomycety (Frankia) + různé dvouděle (Alnus, Casuarina, Datista, Ceanothus)
- sinice + např. Gunnera, cykasy, kapradiny (Azolla)
- gram negativní bakterie (rhizobia) + bobovité

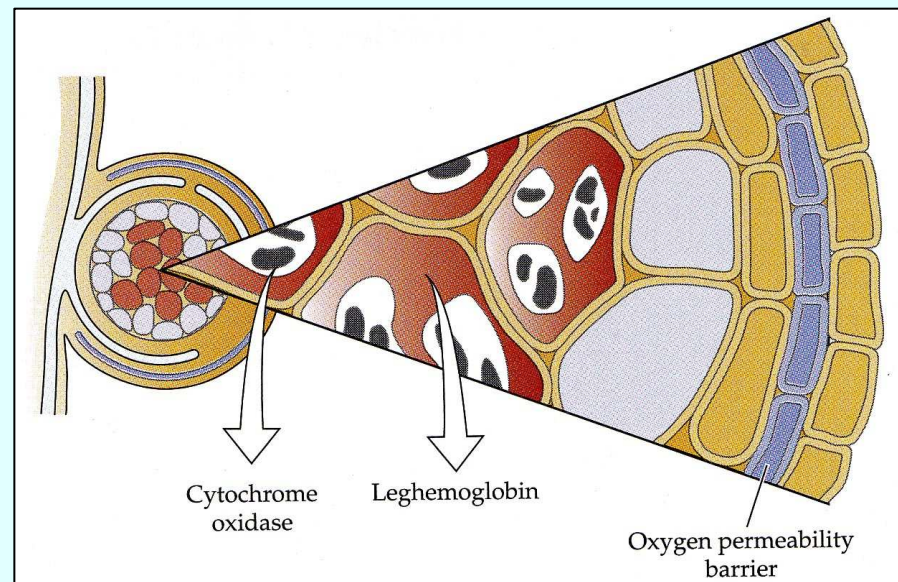
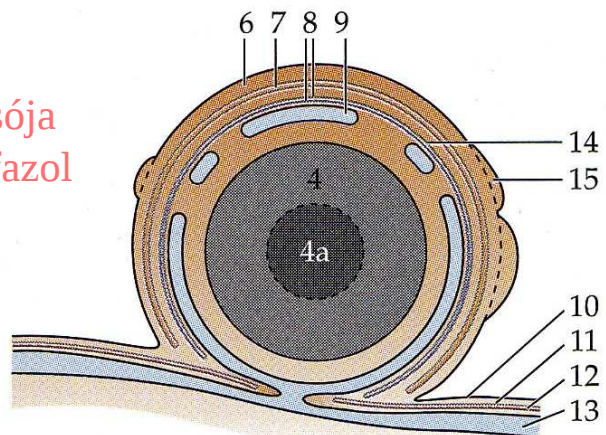


Buchanan 2000

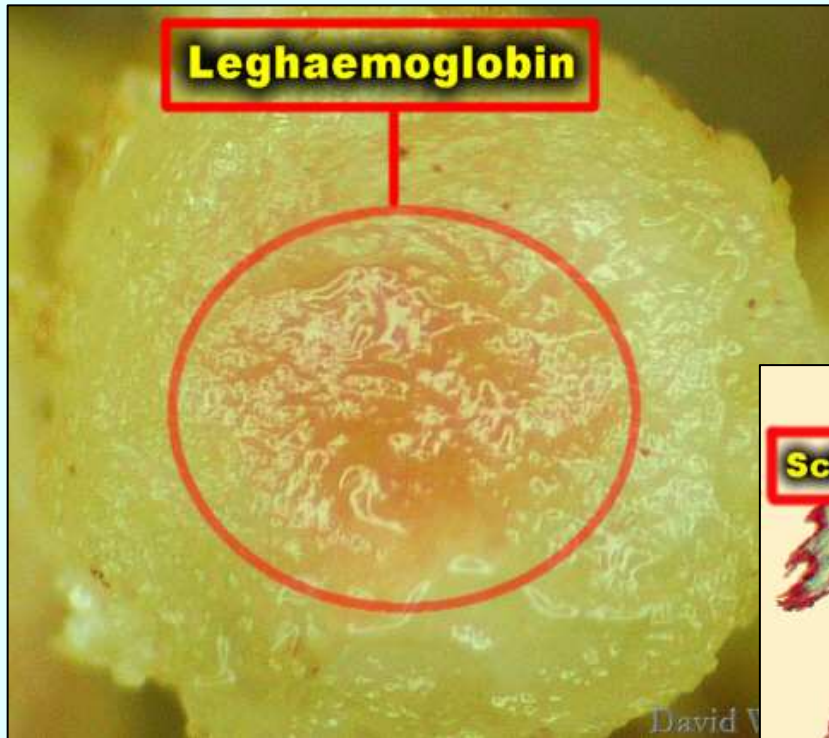
hrášek
vojtěška



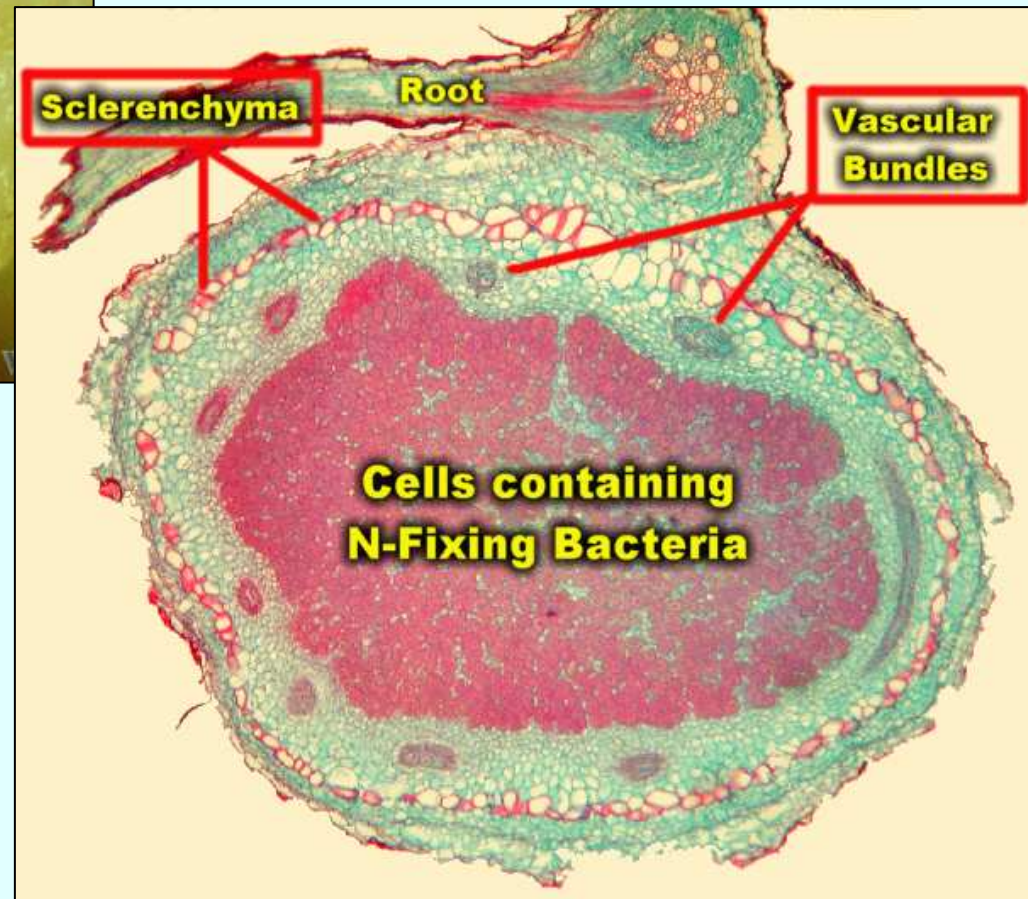
sója
fazol



Buchanan 2000

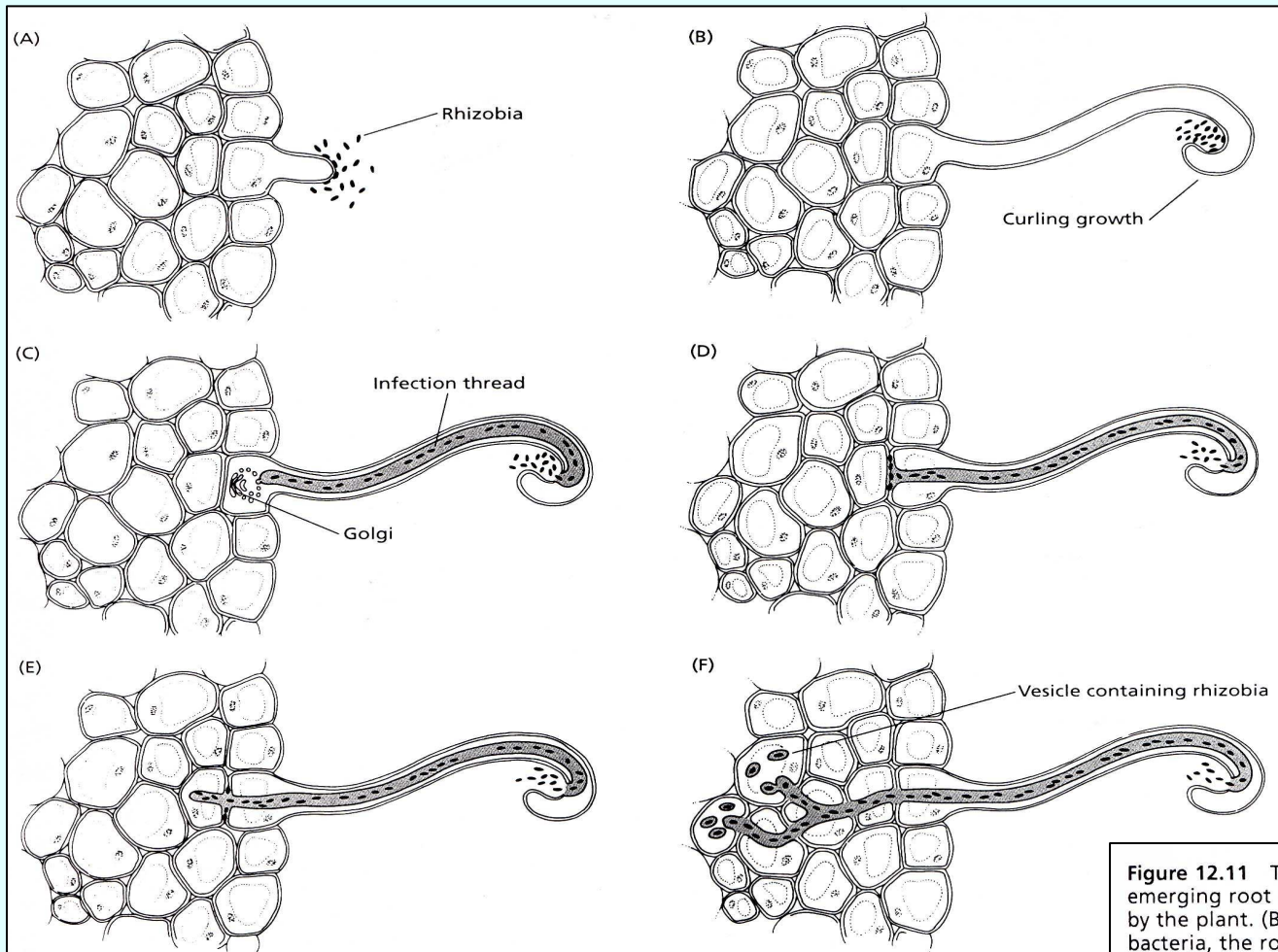


<http://www.botany.hawaii.edu/faculty/webb/bot410/Roots/RootSymbioses.htm>





<http://www.botany.hawaii.edu/faculty/webb/bot410/Roots/RootSymbioses.htm>



Taiz a Zeiger 1998

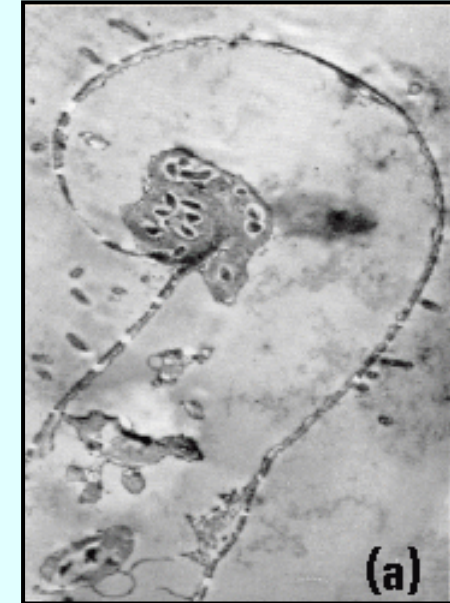
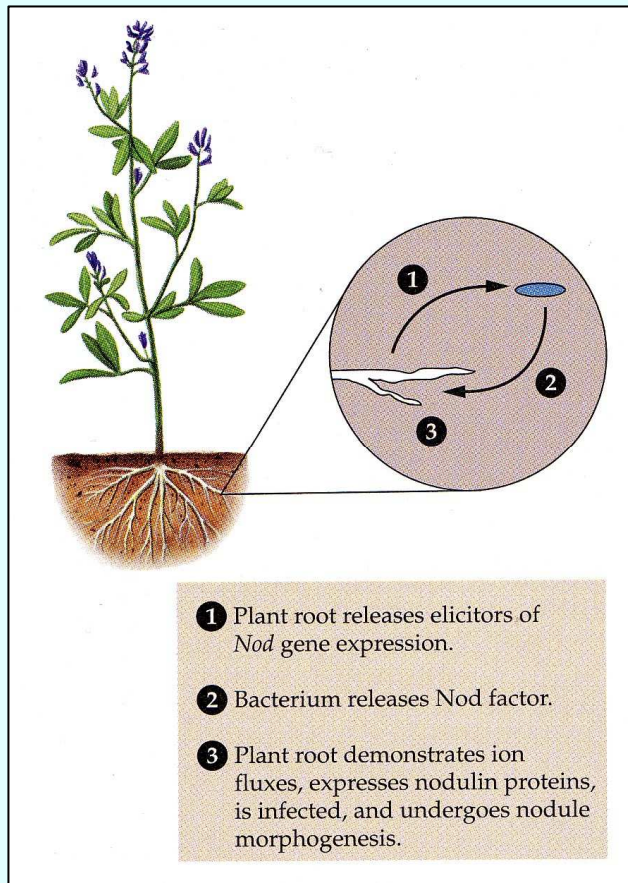
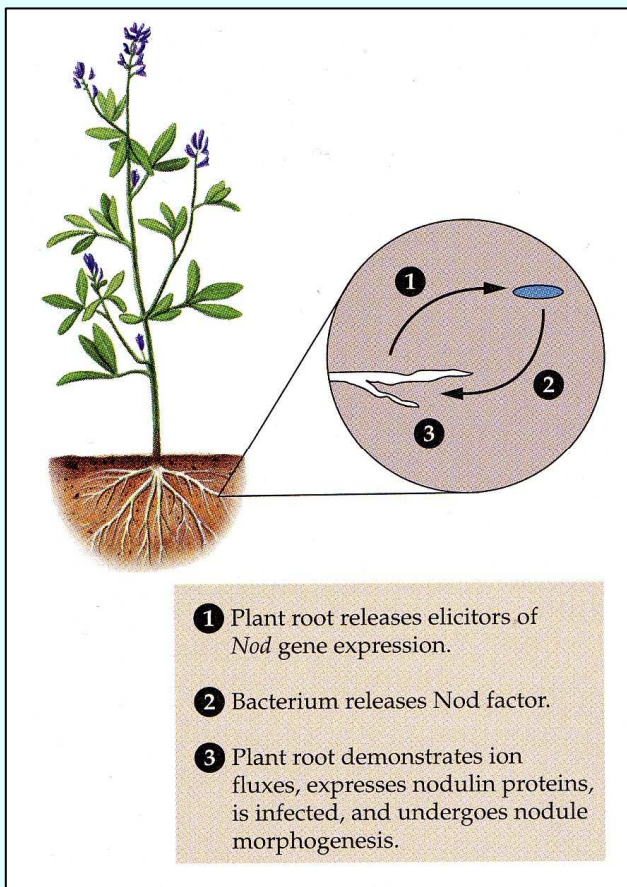


Figure 12.11 The infection process. (A) Rhizobia bind to an emerging root hair in response to chemical attractants sent by the plant. (B) In response to factors produced by the bacteria, the root hair exhibits abnormal curling growth, and rhizobia cells proliferate within the coils. (C) Localized degradation of the root hair wall leads to infection and formation of the infection thread from Golgi secretory vesicles. (D) The infection thread reaches the end of the cell, and its membrane fuses with the plasma membrane of the root hair cell. (E) Rhizobia are released into the apoplast and penetrate the compound middle lamella to the subepidermal cell plasma membrane, leading to the initiation of a new infection thread, which forms an open channel with the first. The two infection threads are discontinuous, however, because the infection thread membrane is absent from the apoplast. (F) The infection thread extends and branches until it reaches target cells, where vesicles containing bacterial cells are released into the cytosol.



Taiz a Zeiger 2002

- výměna signálů **rostlina x mikroorganismus**
- specifické geny, které se účastní tvorby hlízek:
 - rostlina: nodulin (*Nod*) geny
 - mikroorganismus: nodulation (*nod*) geny
 - specifický význam má gen *nodD* (transkripční faktor)



Taiz a Zeiger 2002

Rostlinné induktory exprese nod genů bakterie:

• flavonoidy

luteolin, 4-methoxychalkon (vojtěška)

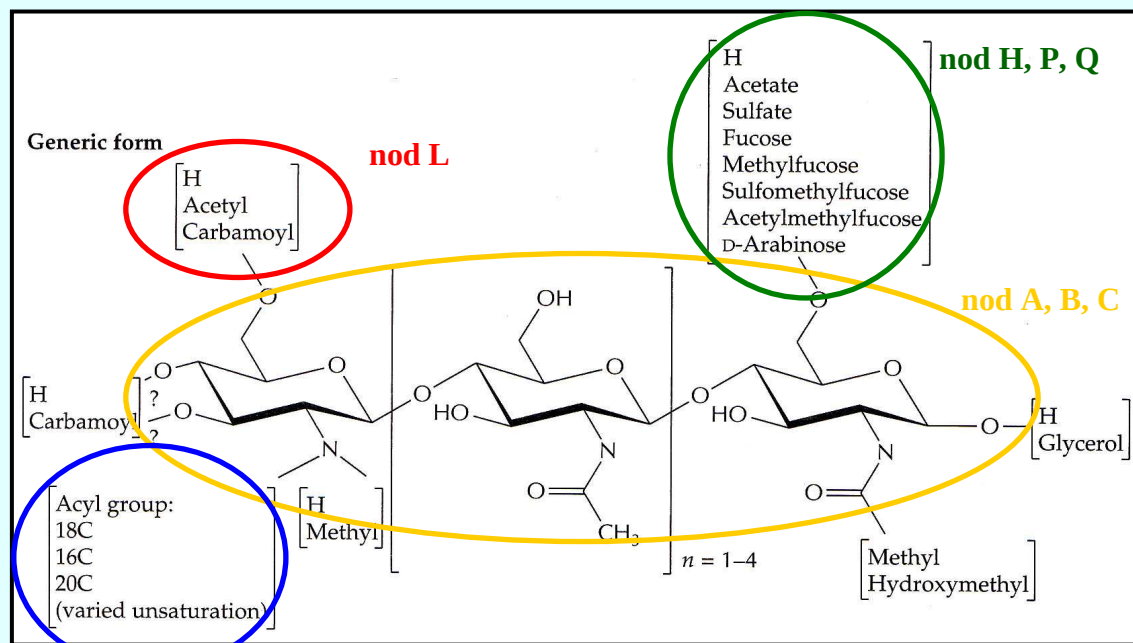
genistein, daidzein (sója)

• betainy

trigonellin, stachydrin (vojtěška)

Nod faktory bakterie:

Buchanan 2000



Rozpoznání bakterie rostlinou:

- rozpoznání povrchových sacharidů

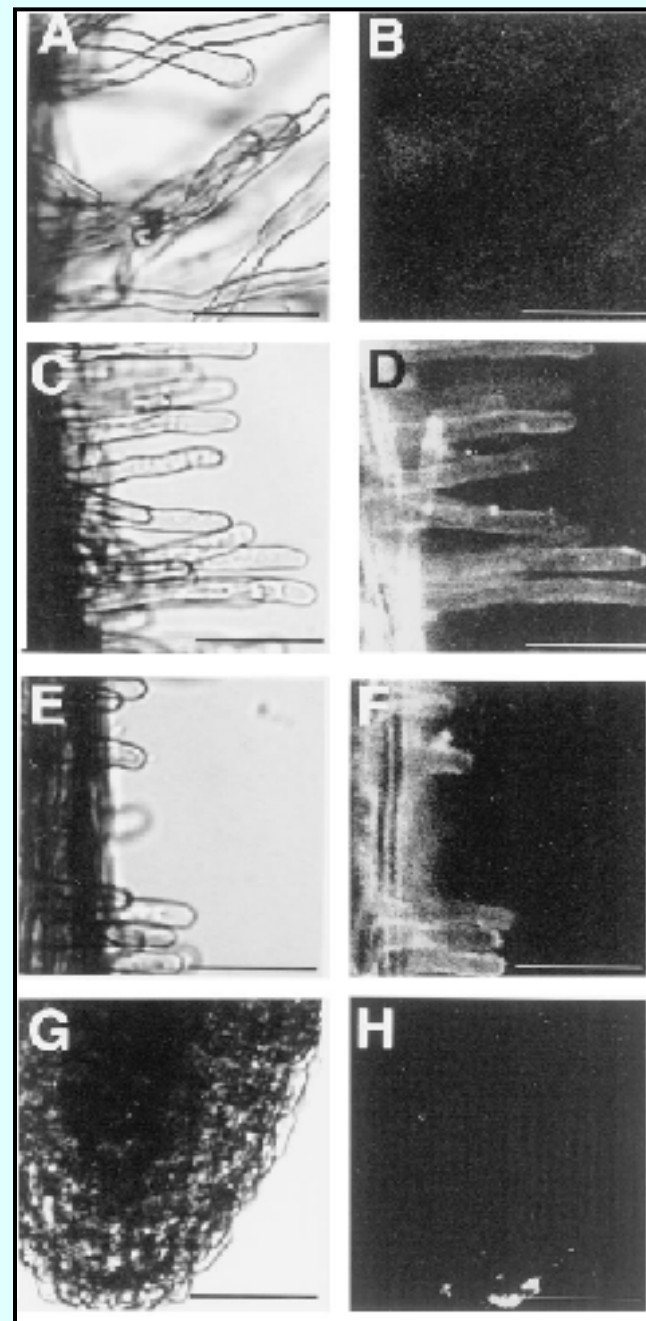
- rozpoznání chem. struktury nod faktoru

Db-LNP - lektin s vazebnou aktivitou pro Nod faktor

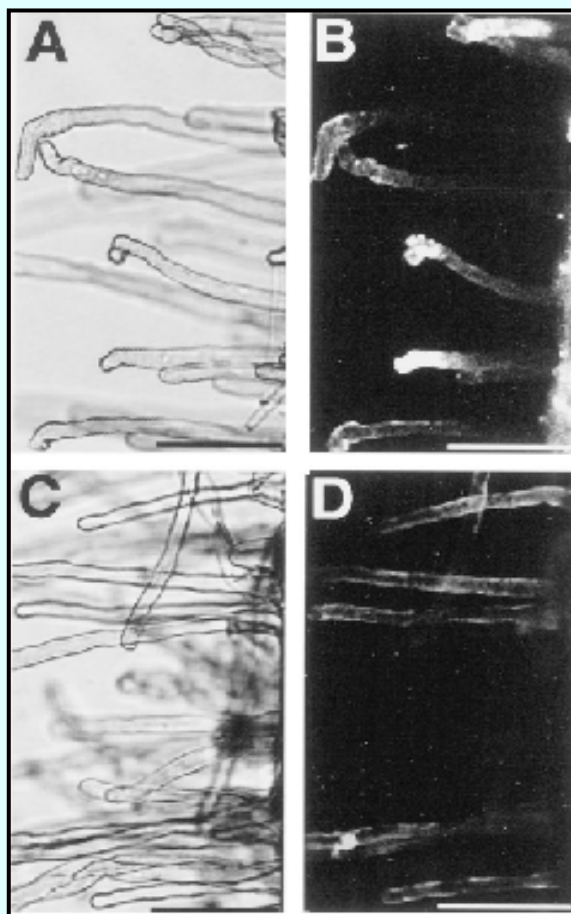


*Dolichos
biflorus*

dospělé
vlásky



*Bradyrhizobium
sp.*



*Sinorhizobium
meliloti*

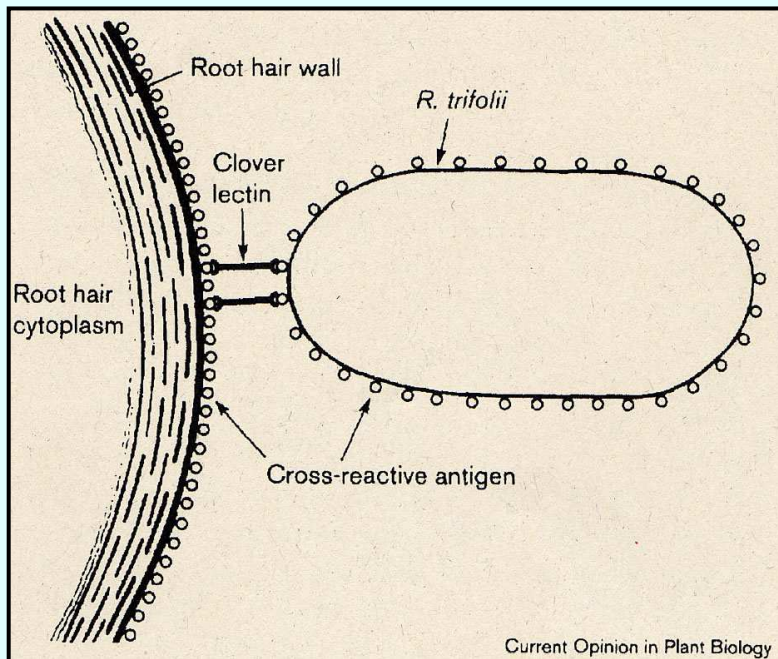
rostoucí
vlásky

kořenová
špička

Rozpoznání bakterie rostlinou:

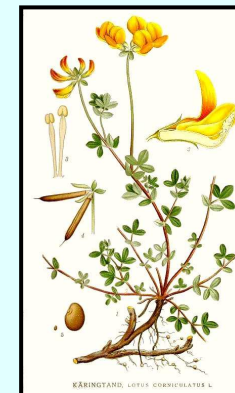
- rozpoznání povrchových sacharidů

- rozpoznání chem. struktury nod faktoru



Hirsch 1999

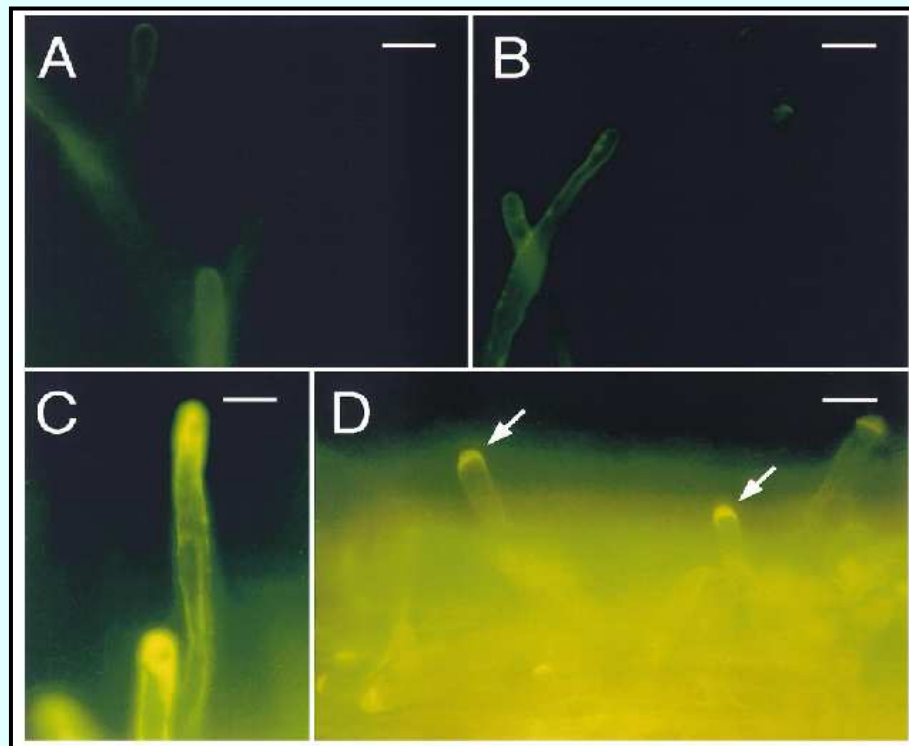
van Rhijn et al. 1998



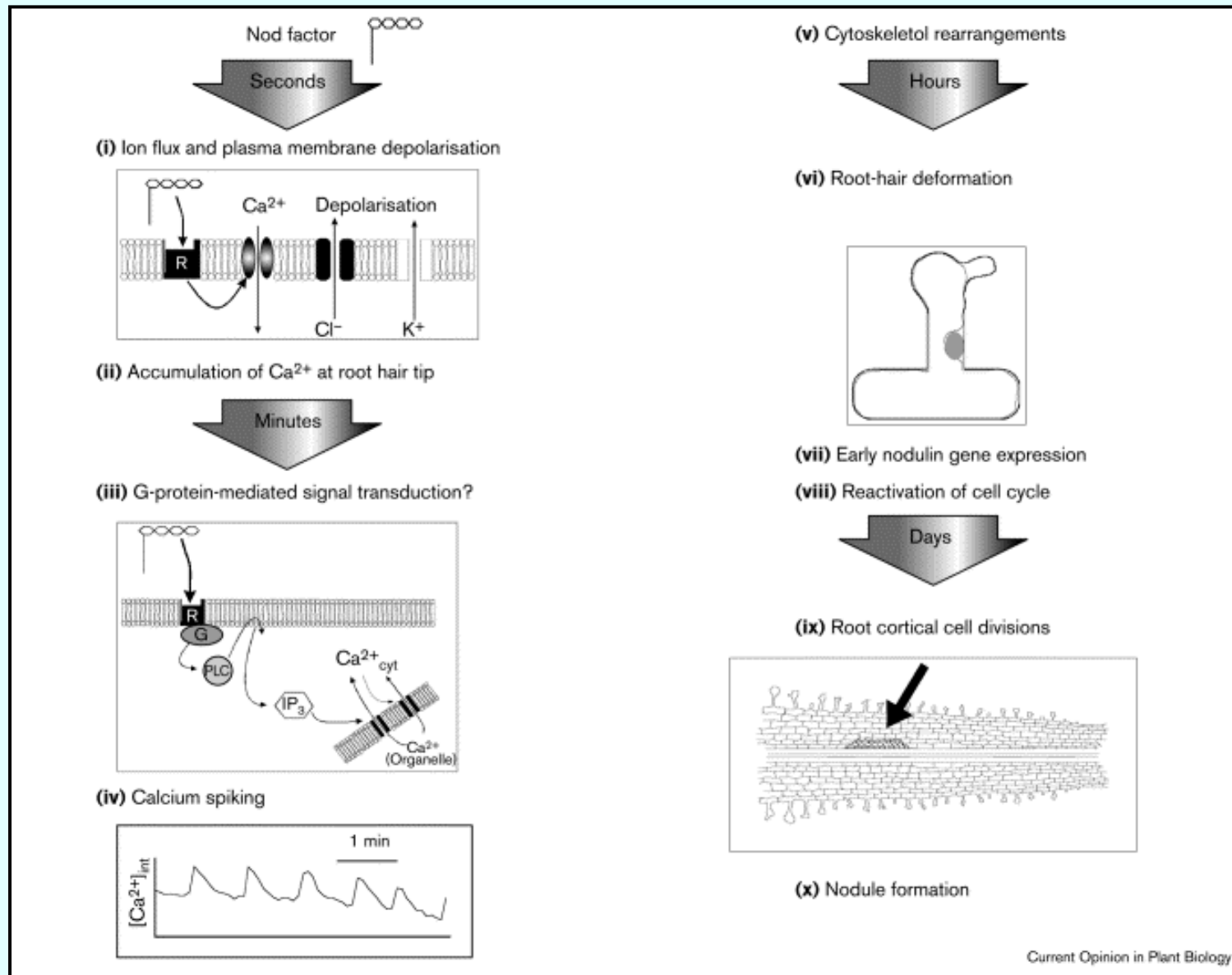
Lotus corniculatus

+ „sójové“ *Bradyrhizobium japonicum*

lektin sóji – Le1

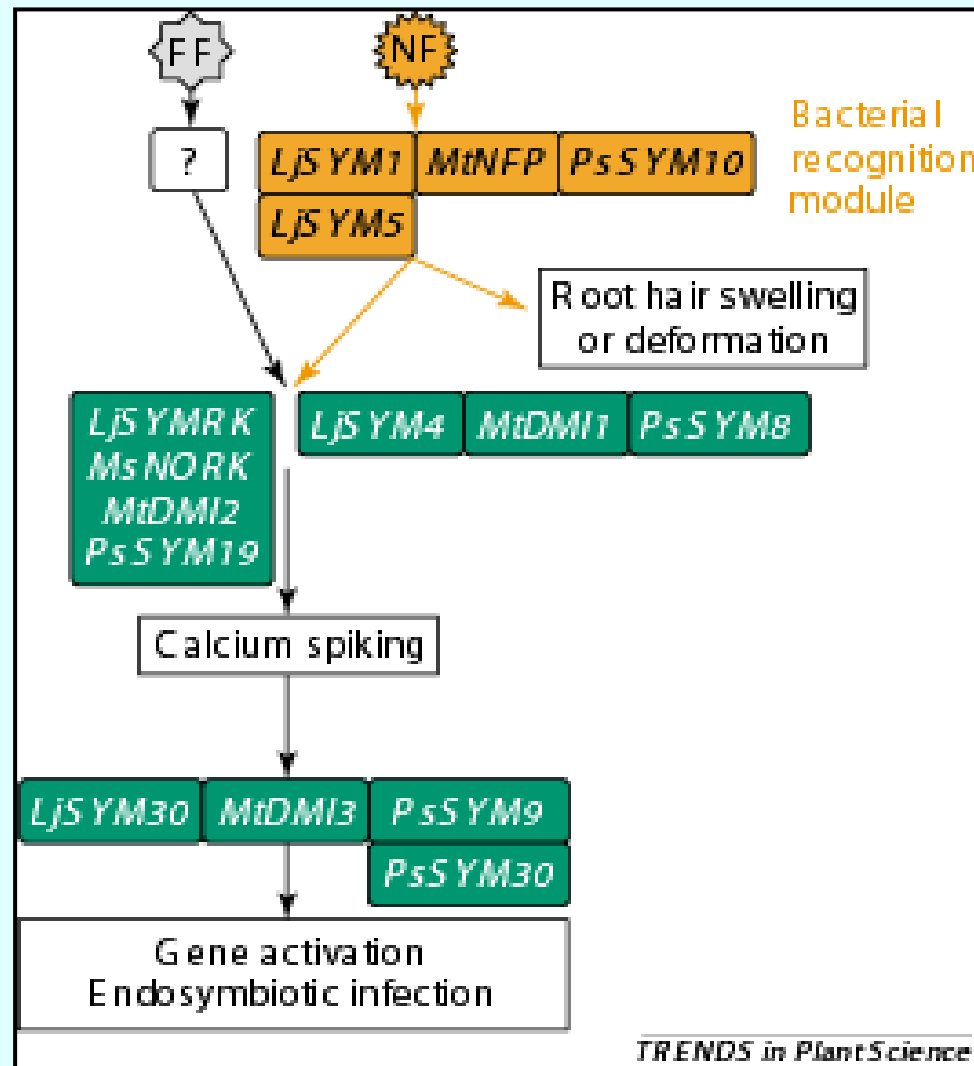


Přenos signálu Nod faktoru v rostlině:



Studium mutantů:

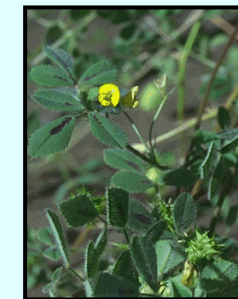
-informace o vztahu mezi N fixující symbiosou a mykorhizní interakcí



Kistner a Parniske 2002



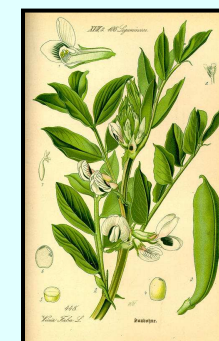
Pisum sativum



Medicago truncatula



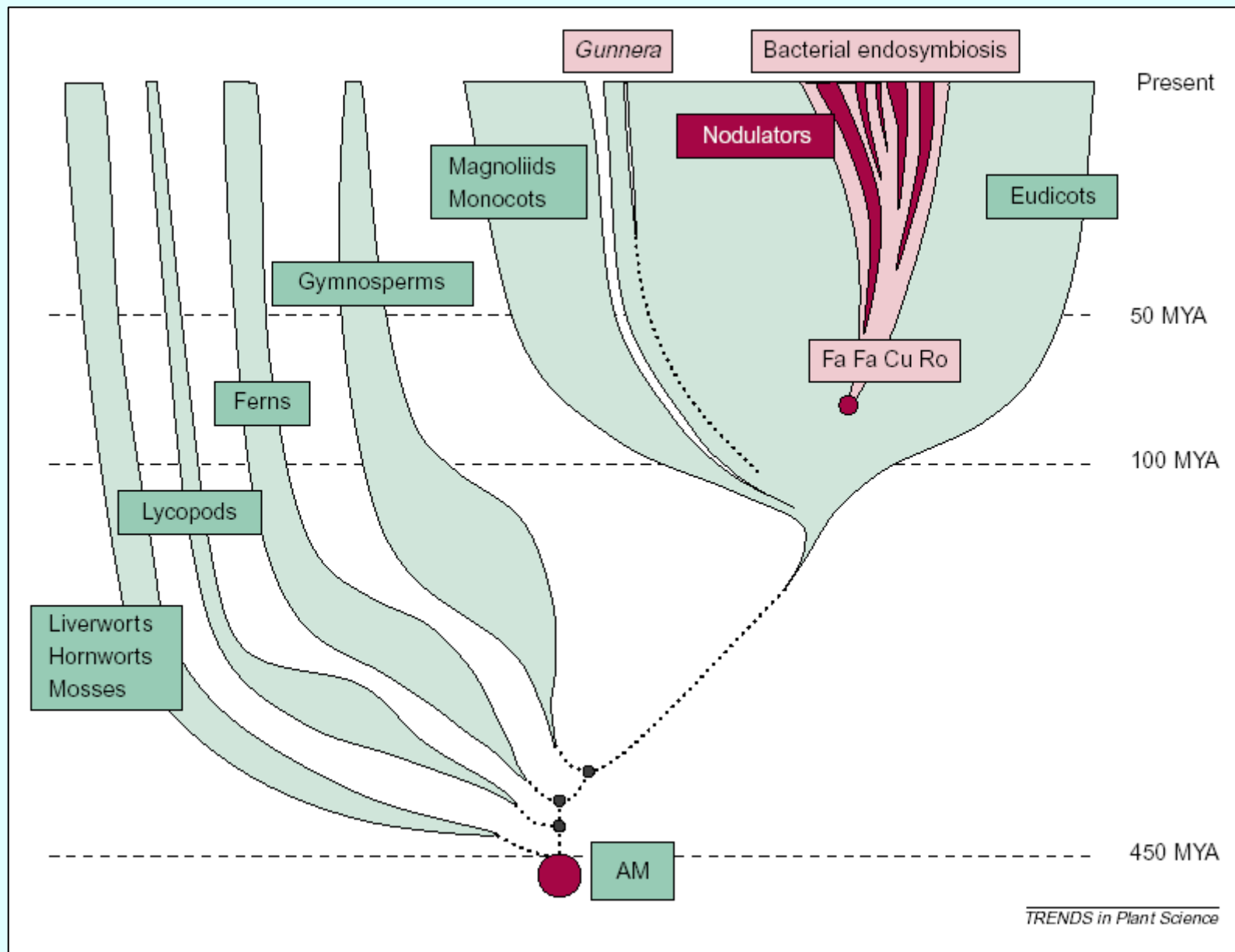
Medicago sativa



Vicia faba



Melilotus alba



Studium hypernodulujících mutantů

– informace o systémové regulaci rozsahu nodulace rostlinou



Searle 2003

