

Trofim Denisovič
HGT
a moderní rostlinné biotechnologie

Zdeněk OPATRŇ

Katedra experimentální biologie rostlin
Přírodovědecká fakulta
Univerzita Karlova
Praha

U3V
2013

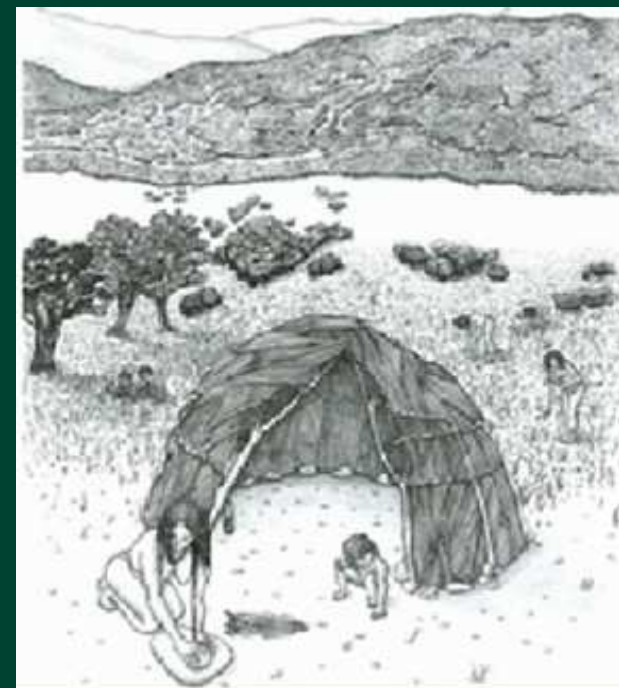
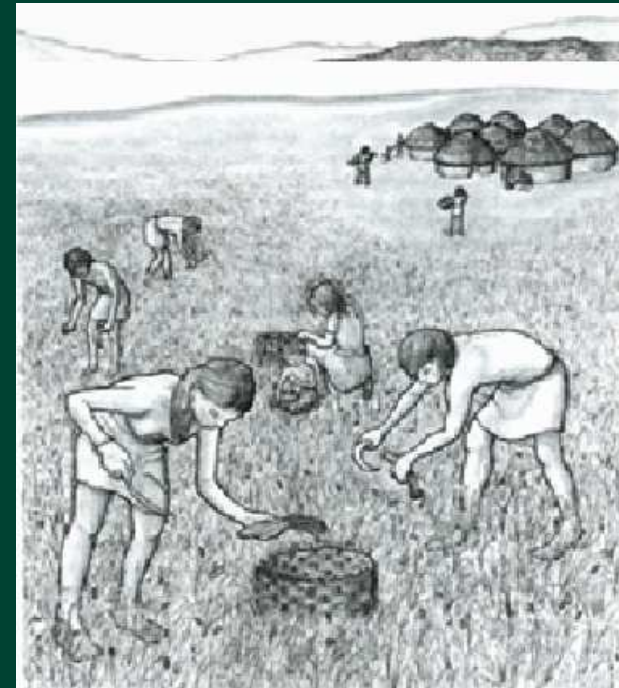
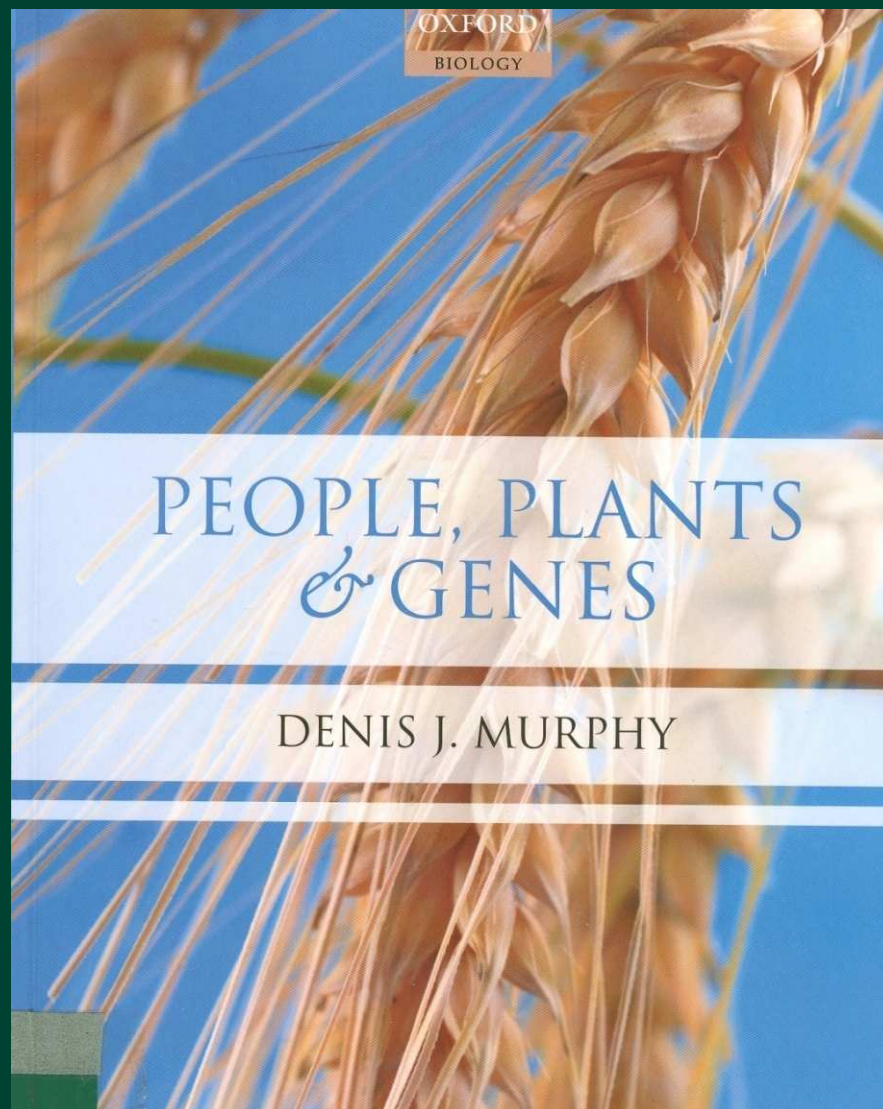
VERTIKÁLNÍ genový přenos

v rámci následných potomstev
určitého rostlinného druhu

ZÁKLAD jejich vzniku i stabilizace

ZÁKLAD šlechtění kulturních rostlin

Odkud se vzaly „kulturní“ rostliny ?



MUTAGENEZE

- kosmické záření
- radioaktivita půdy/vody

Spontánně mutantní plané rostliny

si postupně ochočily člověka

MUTAGENEZE A CÍLENÉ KŘÍŽENÍ

hlavní pilíře

KONVENČNÍHO ŠLECHTĚNÍ

Příběh pšenice:

Triticum monococcum diploidní JEDNOZRNKA
Triticum dicoccum tetraploidní DVOUZRNKA
Triticum aestivum hexaploidní PŠENICE SETÁ

mutagenese a selekce,
 křížení,
 polyploidizace

kde nestačí „příroda“, pomůže člověk

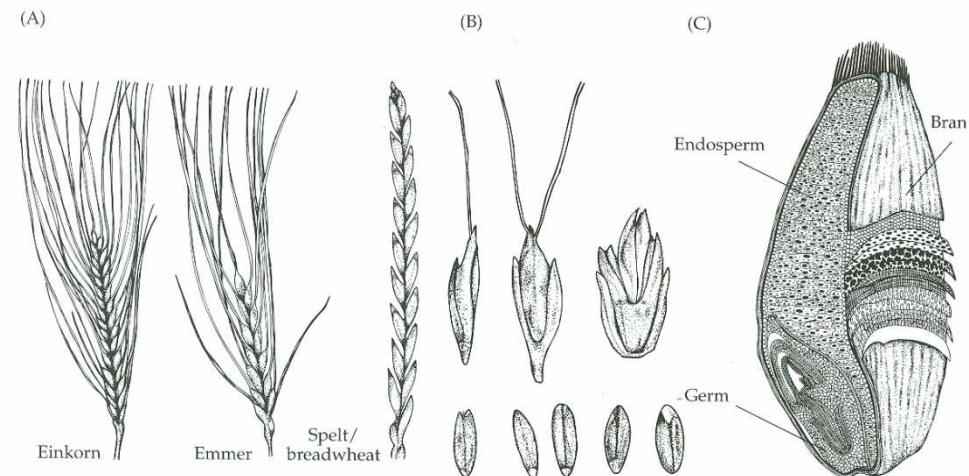
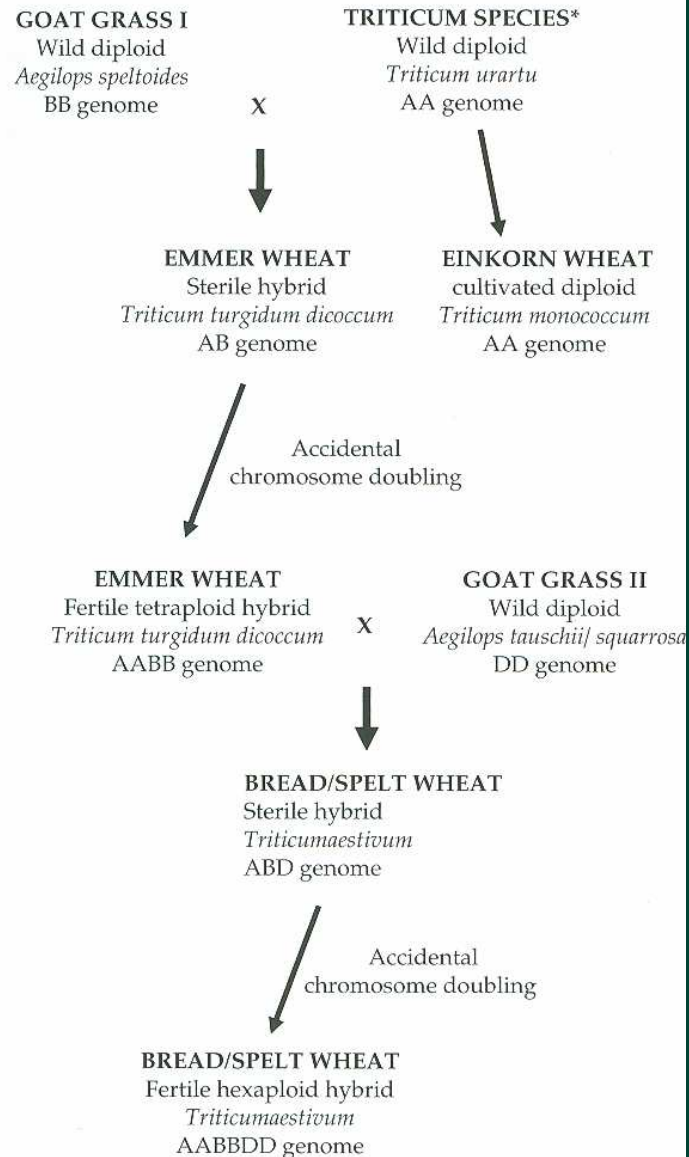
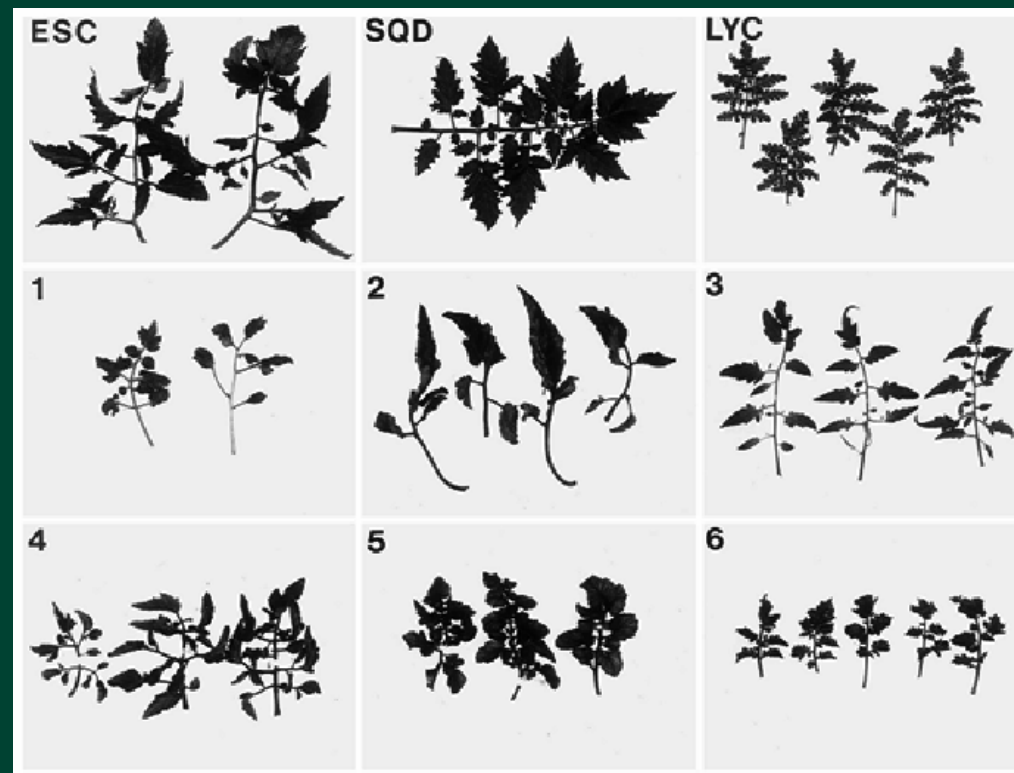
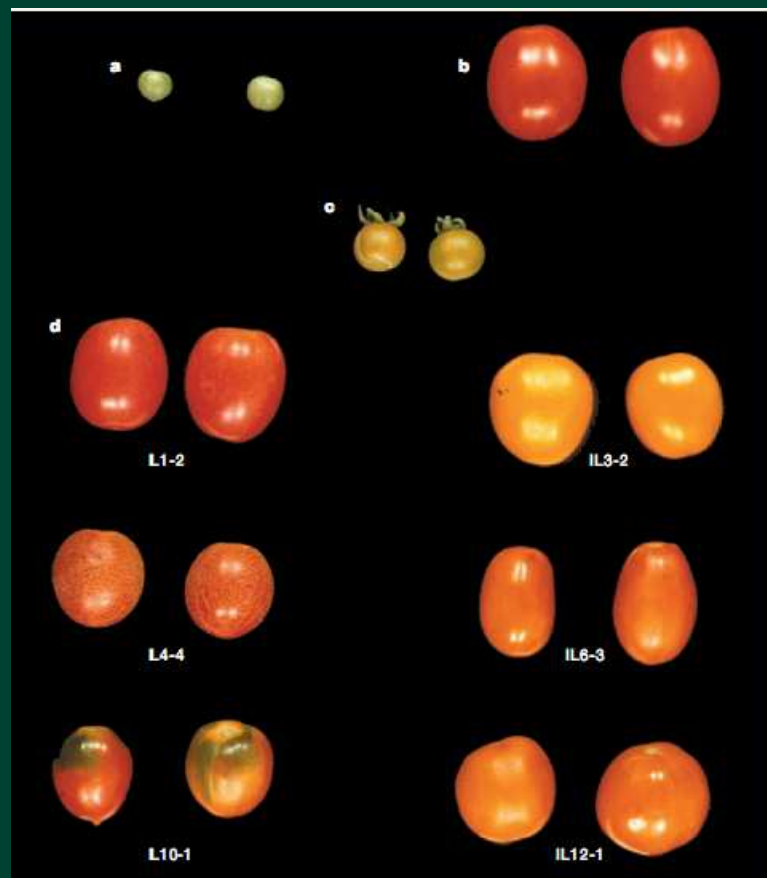


Figure 6.3 Structures of the major domesticated wheats. The structure of ears (A) and grains (B) of the three major historic cultivated wheats; from left to right in each case are einkorn, emmer, and spelt/bread wheats. (C) Section through a grain of bread wheat, showing the large starchy endosperm and the germ (kernel), which contains proteins and oils that are important for breadmaking quality.

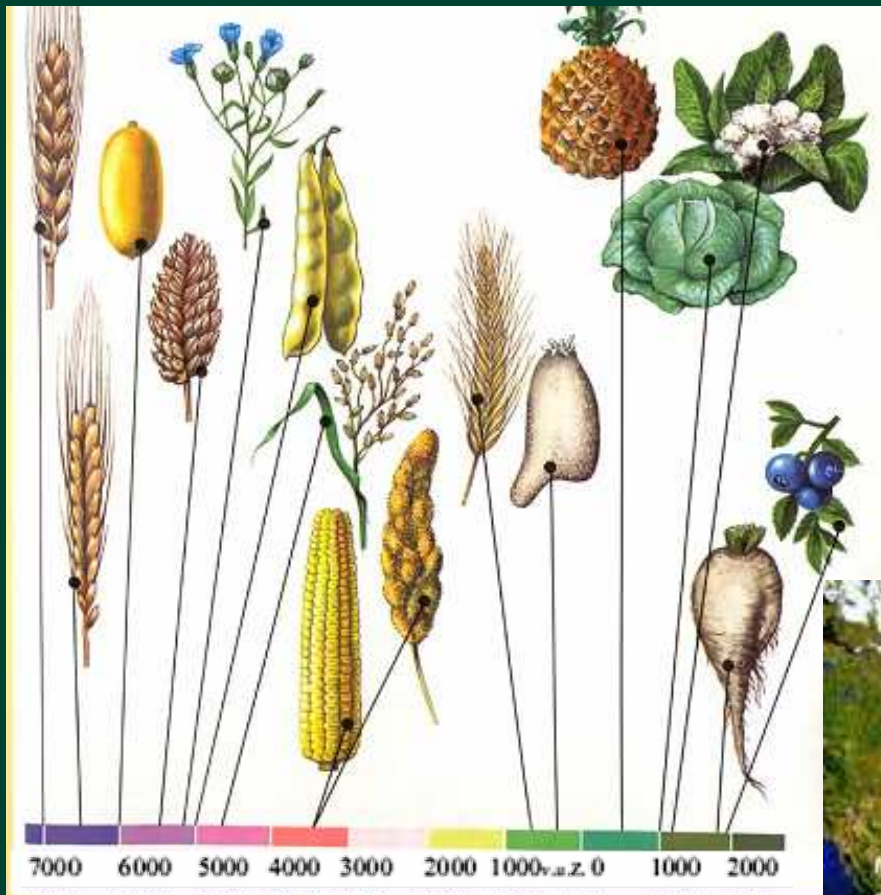
Plané *Solanum lycopersicoides* × kulturní rajče



Canady et al. 2005

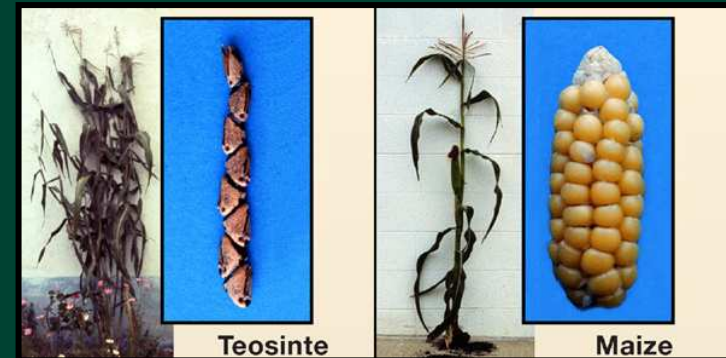
U rajčete to jde – ale třeba hned u bramboru
NEKŘIŽITELNOST

Domestikace
probíhala postupně
a na více místech světa

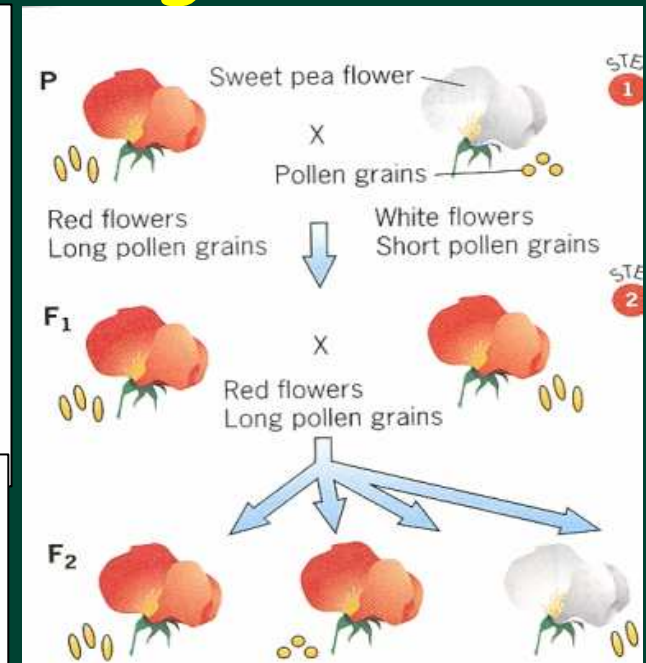


Domestikace rostlin selekce vhodných genotypů

- větší orgány - semena, hlízy - výnos
- rozpadavost klasu - šíření semen
- dormance
- odnožování - apikální dominance
- popínavost - keřovitost
- partenokarpie
- pohlaví květu - hermafroditnost
- samosprašnost - homozygotnost
- ploidie ($2n$, $4n$, $6n$)
- fotoperiodismus - doba kvetení
doba zrání
- jednoletost
- toxické látky (inhibitory trávení)



J.G. Mendel a hrách aneb kde v roce 1865 začala genetika



Seed		Flower	Pod		Stem	
Form	Cotyledons	Color	Form	Color	Place	Size
Grey & Round	Yellow	White	Full	Yellow	Axial pods, Flowers along	Long (6-7ft)
White & Wrinkled	Green	Violet	Constricted	Green	Terminal pods, Flowers top	Short 1-1ft
1	2	3	4	5	6	7

doc. Ptáček, Včelařství



„...Transgenní rostliny jsou zcela nepřírozenými organizmy, vědci při jejich konstruování použili nenormální postupy, už to samo o sobě je proti přírodě...”

Je tomu opravdu tak ?
Je **H**orizontal **G**ene **T**ransfer proti přírodě ?

BT plodiny a VČELY



Ohlasy na výzvu k veřejné debatě

Ve Včelařství č. 3/2010 (str. 75 a 82) jsme vás vyzvali k otevření debaty o geneticky modifikovaných rostlinách. První část debaty jsme publikovali ve Včelařství č. 5/2010 (str. 151). Nyní pokračujeme druhou částí.

Povím to hned zkraje. Potěšilo mě samotné zjištění, že na stránkách Včelařství vzniká diskuse k tématu GM plodin. Každý soudný, či alespoň ješitný autor je samozřejmě rád, když jeho článek vyvolá odezvu, ať již jakoukoli.

Odpověď pana docenta Ptáčka mě však rozesmutnila. Nikoliv proto, že autor nesohlasí s mými argumenty ve prospěch GM plodin, ale jakým způsobem to dělá.

Pan docent je vědec a pedagog, pracovník univerzity, která má mezi přírodovědci velmi dobré renomé. Je zřejmě uznávaným odborníkem nejen „přes včely a čmeláky“. Dlouhý seznam jeho publikací svědčí o tom, že mu nemohou být cizí základní pravidla „publikačního řemesla“ – než o něčem začnu psát, dobře si prostuduji celé spektrum příslušných literárních pramenů (zejména těch původních, knižních či časopiseckých, prošlých odbornou recenzí), nikoli jen internetové svodky z „druhé ruky“ (ano, jsem si vědom toho, že tak označuji i svoje vlastní citované přednášky). Pokud cituji, cituji přesně. Pak se mi nemůže stát, abych „bojoval“ namísto proti faktům jen proti vybraným a obecně tradovaným mýtům či fikcím, nebo dokonce proti těm, které jsem si sám – ať záměrně či omylem – vytvořil.

Nebudu polemizovat s článkem kolegy Ptáčka větu po větě. Shrnu jsem jeho námítky – snad dostatečně významově přesně – do níže uvedených bodů. Popravdě řečeno, jsou do značné míry typické pro diskuse GM odborníků s laickou veřejností. Neměl by tedy být ani pro vás problém se v nich orientovat.

1. Transgenní rostliny jsou zcela nepřírodními organizmy, vědci při jejich konstruování použili „nenormální postupy“ – už to samo o sobě je „proti přírodě“.

Ponechme filozofům k úvahám co je a co není normální. Anebo se na toto téma musíme bavit hodiny a hodiny?! Horizontální přenos genů příroda zná a používá už zřejmě po miliony let.

2. Transgenní Bt rostliny svým „cizorodým jadem“ ohrožují nejen cílového škůdce, ale také široké spektrum housenek, motýlů, brouků. Následně tak i celý potravní řetězec – přes rejsky, ptáky až po člověka.

Není sporu o tom, že současné konvenční zemědělství se prostě neobejde bez používání různých pesticidů, zejména insekticidů, ale i herbicidů. Ani skalní vyžnavači „bezpesticidového“ ekologického zemědělství už dnes netvrdí, že jeho agrotechnikou by bylo možno uživit svět. A to ani v případě trvalých masivních do-

GM plodiny:

diskutujme o faktech, nikoliv o fikcích

„Krásy přírody a pestrosti druhů bychom se neměli vzdávat,“ říká autor tohoto snímku, kritik přístupu autora článku k problematice GM plodin.

Foto: Vladimír PTÁČEK

tací. Alternativou k pěstování GM plodin je tedy pouze (jako dosud), „stříkat a práškovat“ klasickou chemií, s její evidentní nespecifitou i rizikovostí účinku.

Ve svém článku jsem doslova psal, že nesmírnou předností využití Bt plodin je naopak právě maximální specifita účinku různých toxinů z různých variet či dokonce ras *Bacillus thuringiensis* na cílové „škůdce“. Obecně platí, že toxiny Bt variet *kurstaki* hubí larvy motýlů, *ear. tenebrionis* larvy či dospělce brouků, *var. israelensis* hmyzu dvoukřídlého. A co hlavně – hmyzu naprosto určitého druhu! Dokažte to nejen pečlivě laboratorní pokusy (u nás realizované kupříkladu v laboratorích Entomologického ústavu Akademie věd České republiky – JBC), ale také mnohaletá pozorování přímo v přírodě. Před bezmála deseti lety například spustili aktivisté Greenpeace hlasnou kampaň sdělující, že pyl z lánů Bt kukurice v USA či Kanadě hubí housenky „kulturního“ motýla monarcha, které se živí na listech plevelné rostliny klejchy. A dříve či později bude tedy americký kontinent ochuzen o krásu známých motýlích tahů z kanadských Skalních hor až do mexické Sierra Nevady. Nic takového se ale nestalo – a celá kampaň vyšuměla do ztracena.

S těmito a dalšími relevantními fakty by se měl můj univerzitní kolega sezná-

mit dříve, než začne klást suggestivní otázky typu: „...je krajina bez motýlů to, co bychom si do budoucnosti přáli?“

3. Bt toxin se hromadí ve všech částech GM rostliny, tedy kupř. i v kukuričném zrně. Velmi pravděpodobně tak škodí zdraví konzumentů, včetně člověka. Pan profesor Opatrný sice ve své „webové přednášce“ hlásá, že trochu (tohoto) toxinu našemu zdraví může i prospět – ale „proč si máme ještě více otrávit přírodu“.

Původní transgenní rostliny vyrábějí a skladují příslušný Bt toxin do značné míry „pletivově specificky“, hlavně v listech a v natí. Pyl nových a moderních odrůd kukurice je však téměř postrádá. Do kukuričného zrna se dostane Bt toxinů naprosté minimum, nadto se brzy rozpadají. Nebojte se tedy popornu v žádném z našich kin, i kdyby byl vyroben z Bt MONY....

Jinak: nikdy a nikde jsem nadto netvrdil, že „...to bude vlastně výhoda, protože lidský organizmus bude mírným působením (Bt) toxinů v potravě stimulován.“ To jen pan docent četl poněkud ledabyle moji internetovou přednášku o biofortifikovaných potravinách. Hovořil jsem v ní o přirozených rostlinných látkách zvaných „glukosinoláty“. Najdeme je třeba v řepce, ale také v rů-

Ohlasy na výzvu k veřejné debatě

Ve Vělařství č. 3/2010 (str. 75 a 82) jsme vás vyzvali k otevření debaty o geneticky modifikovaných rostlinách. První část debaty jsme publikovali ve Vělařství č. 5/2010 (str. 151). Nyní pokračujeme druhou částí.

Povím to hned zkráj. Početilo mě samotné zjištění, že na stránkách Vělařství vzniká diskuse k tématu GM plodin. Každý soudný, či alespoň jistý autor je samozřejmě rád, když jeho článek vyvolá odezvu, ať již jakoukoli.

Odpověď pana docenta Ptáčka mě však rozzlobila. Nikoliv proto, že autor nepochopil s mými argumenty ve prospěch GM plodin, ale jakým způsobem to dělá.

Pan docent je vědec a pedagog, pracovník univerzity, která má mezi přírodovědci velmi dobré renomé. Je zřejmě uznávaným odborníkem nejen „přes vědy a zemědělství“. Dlouhý seznam jeho publikací svědčí o tom, že mu nemohou být cizí základní pravidla „publikačního řemesla“ – než o něčem začnu psát, dobře si prostuduji celé spektrum příslušných literárních pramenů (zejména těch původních, knižních či časopiseckých, prošlých odbornou recenzí), nikoliv jen internetové soudky z „druhé ruky“! Ano, jsem si vědom toho, že tak označuji i svoje vlastní citované přednášky. Pokud cituji, cituji přesně. Pak se mi nemůže stát, abych „bojoval“ namísto proti faktům jen proti vybraným a obecně tradovaným mýtům či fikcím, nebo dokonce proti těm, které jsem si sám – a záměrně či omyllem – vytvořil.

Nebudu polemizovat s článkem kolegy Ptáčka větu po větě. Shrnul jsem jeho námitky – snad dostatečně významně přesně – do níže uvedených bodů. Popravdě řečeno, jsou do značné míry typické pro diskuse GM odborníků s laickou veřejností. Neměl by tedy být ani pro vás problém se s nimi orientovat.

1. **Transgenní rostliny jsou zcela nepřirození organismi, vedle při jejich konstruování používá „neurotransmiterů“ – až to samo o sobě je „proti přírodě“.**

Ponechme filozofům k úvahám co je a co není normální. Anebo se na toto téma musíme bavit hodiny a hodiny? Horizontální přenos genů příroda zná a používá už zřejmě po miliony let.

2. **Transgenní Bt rostliny nejen „cizorodým jedem“ ohrožují nejen cílového škůdce, ale také široké spektrum housenek, motýlů, brouků. A následně tak i celý potravní řetězec – přes rejsky, ptáky až po člověka.**

Není sporu o tom, že současné konvenční zemědělství se prostě neobejde bez používání různých pesticidů, zejména insekticidů, ale i herbicidů. Ani skalní vyznavači „bezpesticidového“ ekologického zemědělství už dnes nevrhají, že jeho agrotechnikou by bylo možno vše vylézt. A to ani v případě trvalých masivních do-

GM plodiny:

diskutujeme o faktech, nikoliv o fikcích

„Krásky přírody a pestrosti druhů bychom se neměli vzdávat. Fikci autor tohoto článku, kritik přístupů autora článků k problematice GM plodin.“
Foto: Vladimír PTÁČEK

mit dřívě, než začne klást suggestivní otázky typu: „...je krajina bez motýlů to, co bychom si do budoucna přáli?“

3. **Bt toxin se hromadí ve všech částech GM rostliny, tedy kůže i kukuřičném zrna. Velmi pravděpodobně tak škodí i zdravé konzumní, včetně člověka. Pan profesor Opatrný říká ve své „sebově přednášce“ hlásá, že trochu (tohoto) toxinu našemu zdraví máš i prospět – ale „proč si máme ještě více otrávenat přírodu“.**

Původní transgenní rostliny vyrábějí a skladují příslušný Bt toxin do značné míry „pletivové specificky“, hlavně v listech a v natí. Pyl novějša a modernější odrůd kukuřice je však téměř postrádá. Do kukuřičného zrna se dostane Bt toxinů naprosto minimálně, nach se bez rozpadají. Nebojte se tedy doporučení v žádném z našich kin, i kdyby byl vyroben z Bt MONY....

Jinak: nikdy a nikde jsem nadto netvrdil, že to bude vlastně výhoda, protože lidský organismus bude mírným působením (Bt) toxinů v potravě stimulován.“ To jen pan docent četl poněkud ledabyle moji internetovou přednášku o biofortifikovaných potravinách. Hovořil jsem v ní o přirozených rostlinných látkách zvaných „glukosinoláty“.

Najdeme je třeba v řepce, ale také v rů-

„.... Transgenní rostliny svým cizorodým jedem ohrožují nejen cílového škůdce ale také široké spektrum housenek, motýlů, brouků. A následně tak i celý potravní řetězec – přes rejsky, ptáky až po člověka ...“
doc. Ptáček 2010

učebnice pro školy i praxi
I. díl

Jiří Urban, Bořivoj Štěpánek a kolektiv

Ekologické zemědělství

Základy ekologického zemědělství, agroenvironmentální aspekty a pěstování rostlin

MŽP Praha 2003

Doporučované **BIOINSEKTICIDY:**
Biobit XL, Biobit WP Bt *kurstaki* ...motýli
Novodor Bt *tenebrionis*..mandelinky,
květopas jabloňový

EVOLUCE ŽIVÝCH ORGANIZMŮ

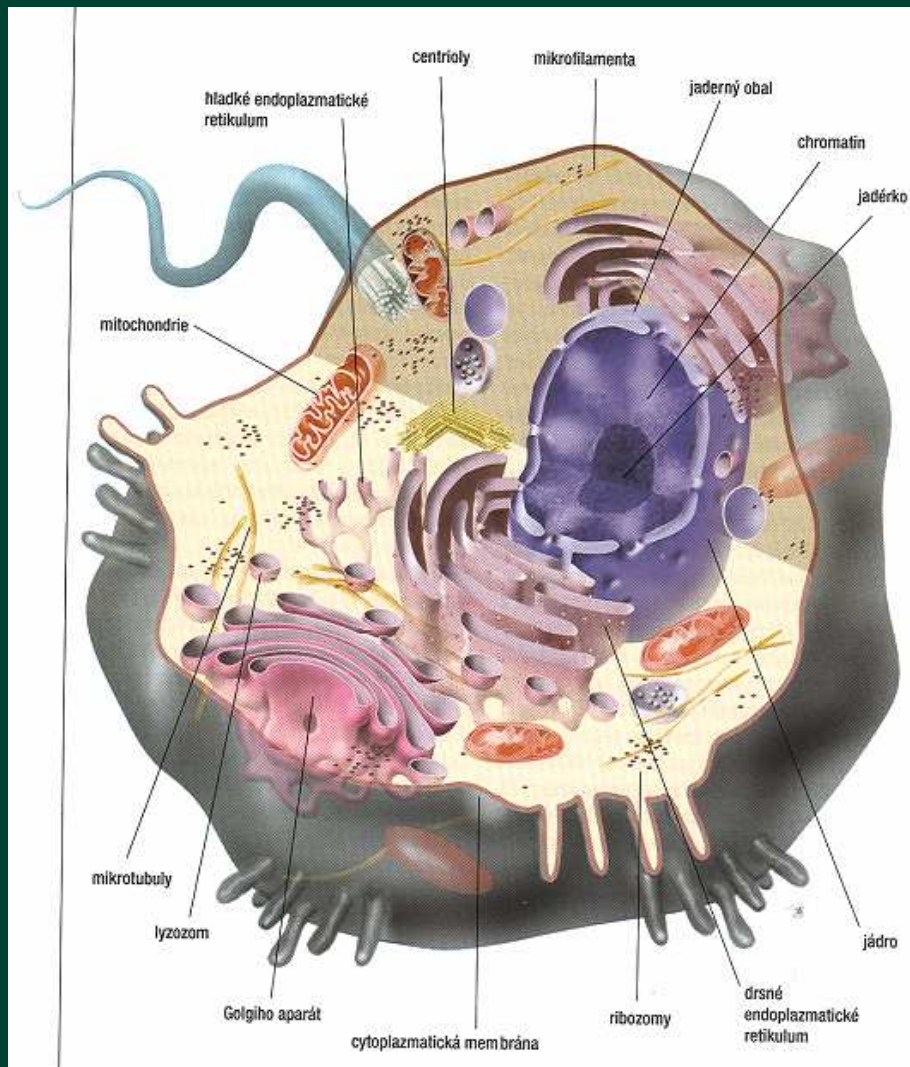
by zřejmě nebyla možná

bez vzájemného přenosu relevantních genů

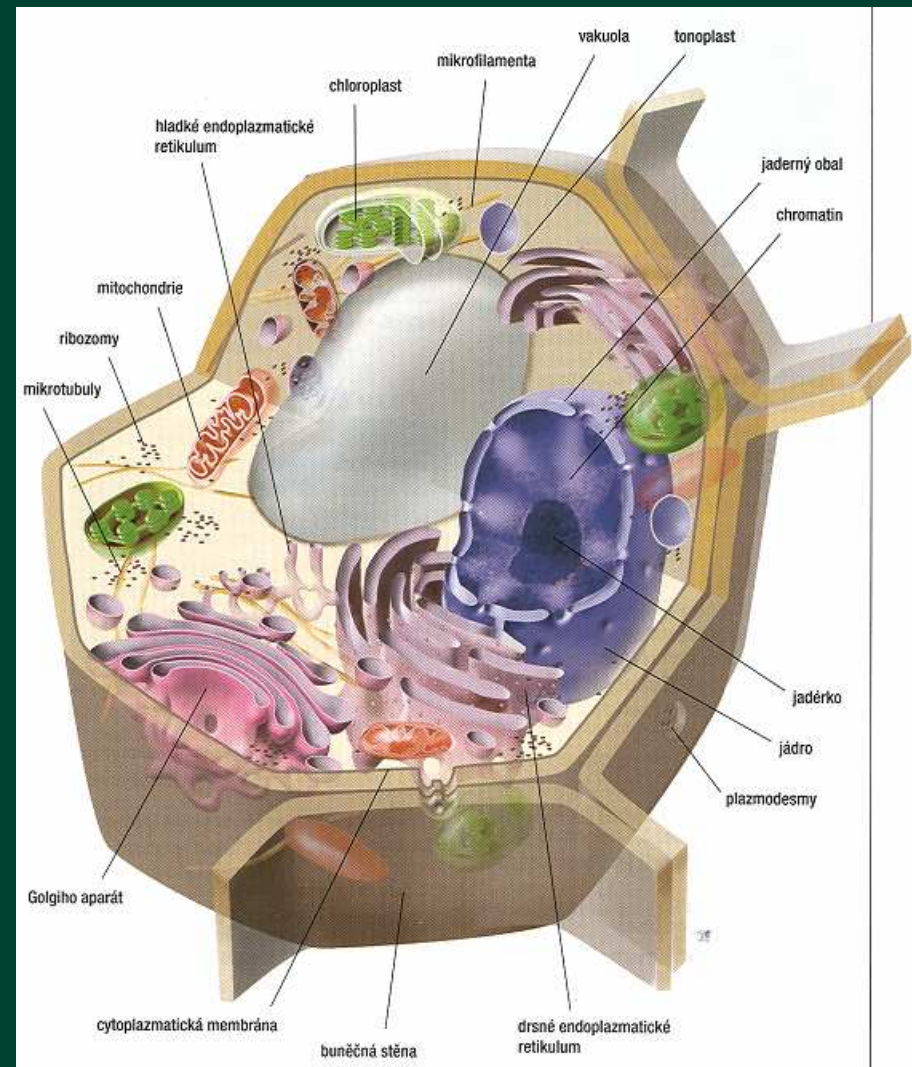
at' VERTIKÁLNÍHO

nebo HORIZONTÁLNÍHO

Tedy zpět ke srovnávací cytologii živočišná



rostlinná



EVOLUČNÍ PUZZLE:

Chlamydomonády
jako model studia
biologie vyšších rostlin
i živočichů

Proteiny a geny komplexu
plastidového ... rostliny

Proteiny a geny komplexu
bičík/řasinky ... živočichové
včetně člověka

RESEARCH ARTICLE

The *Chlamydomonas* Genome Reveals the Evolution of Key Animal and Plant Functions

Sabeeha S. Merchant,^{1*} Simon E. Prochnik,^{2*} Olivier Vallon,³ Elizabeth H. Harris,⁴ Steven J. Karpowicz,⁵ George B. Witman,⁶ Astrid Terry,² Asaf Salamov,² Lillian K. Fritz-Laylin,⁶ Laurence Maréchal-Drouard,⁷ Wallace F. Marshall,⁸ Liang-Hu Qu,⁹ David R. Nelson,¹⁰ Anton A. Sanderfoot,¹¹ Martin H. Spalding,¹² Vladimír V. Kapitonov,¹³ Qinghu Ren,¹⁴ Patrick Ferris,¹⁵ Erika Lindquist,² Harris Shapiro,² Susan M. Lucas,² Jane Grimwood,¹⁶ Jeremy Schmutz,¹⁶ *Chlamydomonas* Annotation Team,[†] JGI Annotation Team,[†] Igor V. Grigoriev,² Daniel S. Rokhsar,^{2,6,‡} Arthur R. Grossman^{17,‡}

Chlamydomonas reinhardtii is a unicellular green alga whose lineage diverged from land plants over 1 billion years ago. It is a model system for studying chloroplast-based photosynthesis, as well as the structure, assembly, and function of eukaryotic flagella (cilia), which were inherited from the common ancestor of plants and animals, but lost in land plants. We sequenced the ~120-megabase nuclear genome of *Chlamydomonas* and performed comparative phylogenomic analyses, identifying genes encoding uncharacterized proteins that are likely associated with the function and biogenesis of chloroplasts or eukaryotic flagella. Analyses of the *Chlamydomonas* genome advance our understanding of the ancestral eukaryotic cell, reveal previously unknown genes associated with photosynthetic and flagellar functions, and establish links between ciliopathy and the composition and function of flagella.

Chlamydomonas reinhardtii is a ~10-µm, unicellular, soil-dwelling green alga with multiple mitochondria, two anterior flagella for motility and mating, and a chloroplast that houses the photosynthetic apparatus and critical metabolic pathways (Fig. 1 and fig. S1) (1). *Chlamydomonas* is used to study eukaryotic photosynthesis because, unlike angiosperms (flowering plants), it grows in the dark on an organic carbon source while maintaining a func-

tional photosynthetic apparatus (2). It also is a model for elucidating eukaryotic flagella and basal body functions and the pathological effects of their dysfunction (3, 4). More recently, *Chlamydomonas* research has been developed for bioremediation purposes and the generation of biofuels (5, 6).

The Chlorophytes (green algae, including *Chlamydomonas* and *Ostreococcus*) diverged from the Streptophytes (land plants and their close relatives) (Fig. 2) over a billion years ago. These lineages are part of the green plant lineage (Viridiplantae), which previously diverged from opisthokonts (animals, fungi, and Charophytes) (7).

Many *Chlamydomonas* genes can be traced to the green plant or plant-animal common ancestor by comparative genomic analyses. Specifically, many *Chlamydomonas* and angiosperm genes are derived from ancestral green plant genes, including those associated with photosynthesis and plastid function; these are also present in *Ostreococcus* spp. and the moss *Physcomitrella patens* (Fig. 2). Genes shared by *Chlamydomonas* and animals are derived from the last plant-animal common ancestor and many of these have been lost in angiosperms, notably those encoding proteins of the eukaryotic flagellum (or cilium) and the associated basal body (or centriole) (8). *Chlamydomonas* also displays extensive metabolic flexibility under the control of regulatory genes that allow it to inhabit distinct environmental niches and to survive fluctuations in nutrient availability (9).

Genome sequencing and assembly. The 121-megabase (Mb) draft sequence (10) of the *Chlamydomonas* nuclear genome was generated at 13× coverage by whole-genome, shotgun end-sequencing of plasmid and fosmid libraries, followed by assembly into ~1500 scaffolds (1). Half of the assembled genome is contained in 25 scaffolds, each longer than 1.63 Mb. The genome is unusually GC-rich (64%) (Table 1), which required modification of standard sequencing protocols. Alignments of expressed sequence tags (ESTs) to the genome suggest that the draft assembly is 95% complete (1).

The *Chlamydomonas* nuclear genome comprises 17 linkage groups (figs. S2 to S18) presumably corresponding to 17 chromosomes, consistent with electron microscopy of meiotic synaptonemal complexes (11). Seventy-four scaffolds, representing 78% of the draft genome, have been aligned with linkage groups (Fig. 3 and figs. S2 to S18). Sequenced ESTs from a field isolate (1) of *Chlamydomonas*, fertile with the standard laboratory strain, identified 8775 polymorphisms, result-

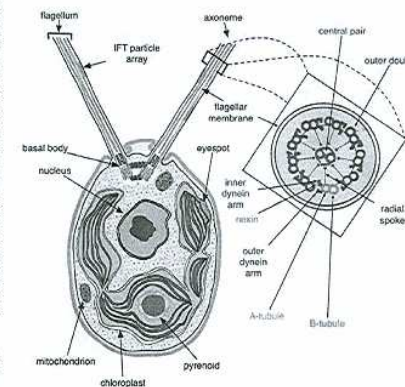
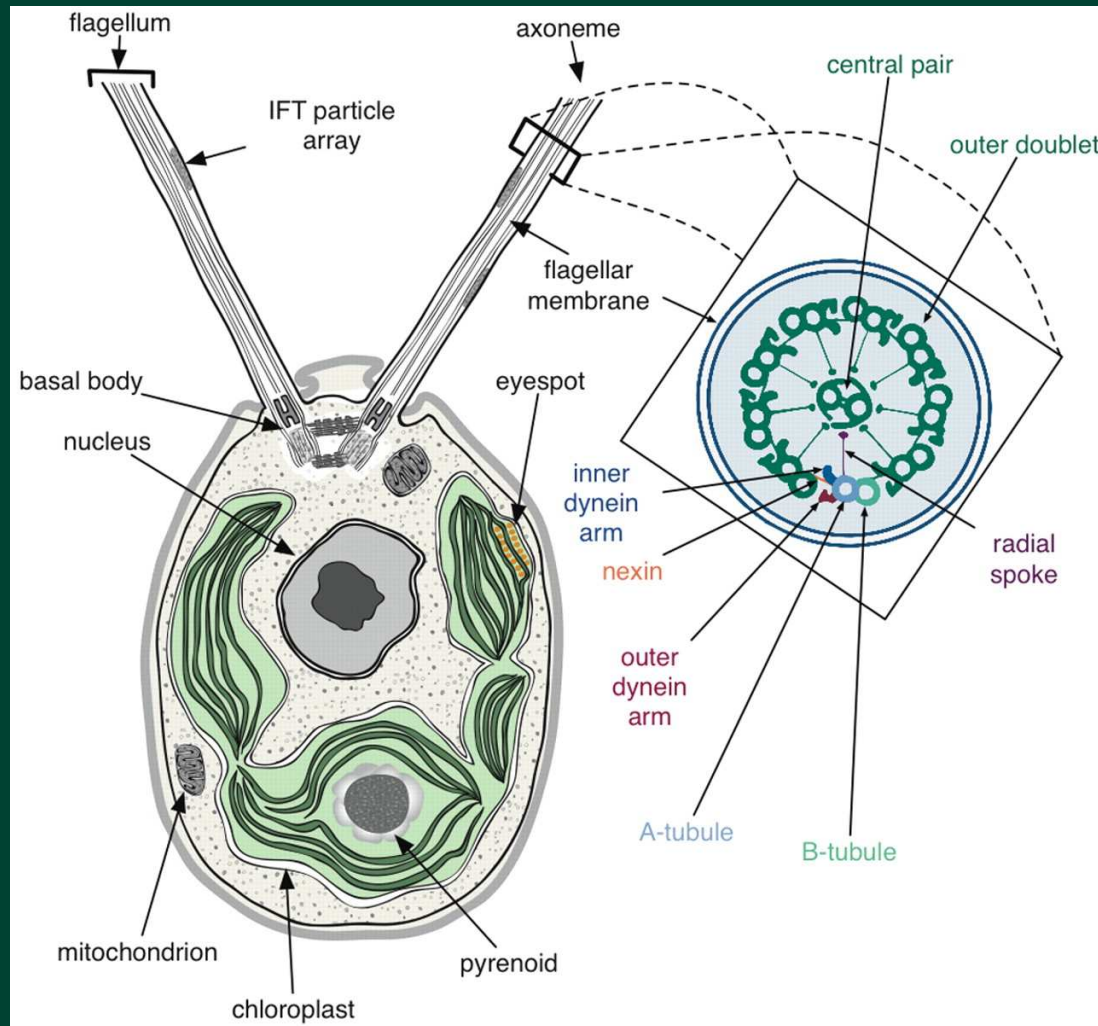


Fig. 1. A schematic of a *Chlamydomonas* cell (from transmission electron micrographs) showing the anterior flagella rooted in basal bodies, with intraflagellar transport (IFT) particle arrays between the axoneme and flagellar membrane, the basal cup-shaped chloroplast, central nucleus and other organelles. An expanded cross section of the flagellar axoneme, as redrawn from (48), shows the nine outer doublets and the central pair (9+2 microtubules); axoneme substructures are color-coded and labeled (see inset).

¹Department of Chemistry and Biochemistry, University of California at Los Angeles, Los Angeles, CA 90095, USA. ²U.S. Department of Energy JGIB Joint Genome Institute (JGI), Walnut Creek, CA 94598, USA. ³CNRS, Université Paris 6, Institut de Biologie Physico-Chimique, 75005 Paris, France. ⁴Department of Biology, Duke University, Durham, NC 27708, USA. ⁵Department of Cell Biology, University of Massachusetts Medical School, Worcester, MA 01655, USA. ⁶Department of Molecular and Cell Biology, University of California at Berkeley, Berkeley, CA 94720, USA. ⁷Institut de Biologie Moleculaire des Plantes, CNRS, 67084 Strasbourg Cedex, France. ⁸Department of Biochemistry and Biophysics, University of California at San Francisco, San Francisco, CA 94143, USA. ⁹Biotechnology Research Center, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China. ¹⁰Department of Molecular Sciences and Center of Excellence in Genomics and Biomimetics, University of Tennessee, Memphis, TN 38162, USA. ¹¹Department of Plant Biology, University of Minnesota, St. Paul, MN 55108, USA. ¹²Department of Genetics, Development, and Cell Biology, Iowa State University, Ames, IA 50011, USA. ¹³Genetic Information Research Institute, Mountain View, CA 94043, USA. ¹⁴The Institute for Genomic Research, Rockville, MD 20850, USA. ¹⁵Plant Biology Laboratory, Salk Institute, La Jolla, CA 92037, USA. ¹⁶Stanford Human Genome Center, Stanford University School of Medicine, Palo Alto, CA 94304, USA. ¹⁷Department of Plant Biology, Carnegie Institution, Stanford, CA 94306, USA.

*These authors contributed equally to this work.
†Full author list is included at the end of the manuscript.
‡To whom correspondence should be addressed. E-mail: direkhsar@ucla.edu (D.S.R.); arhg@stanford.edu (A.R.G.)

A schematic of a *Chlamydomonas* cell (from transmission electron micrographs) showing the anterior **flagella** rooted in basal bodies, with intraflagellar transport (IFT) particle arrays between the axoneme and flagellar membrane, the basal cup-shaped **chloroplast**, central nucleus and other organelles



S. S. Merchant et al.,
Science 318,
245 -250 (2007)

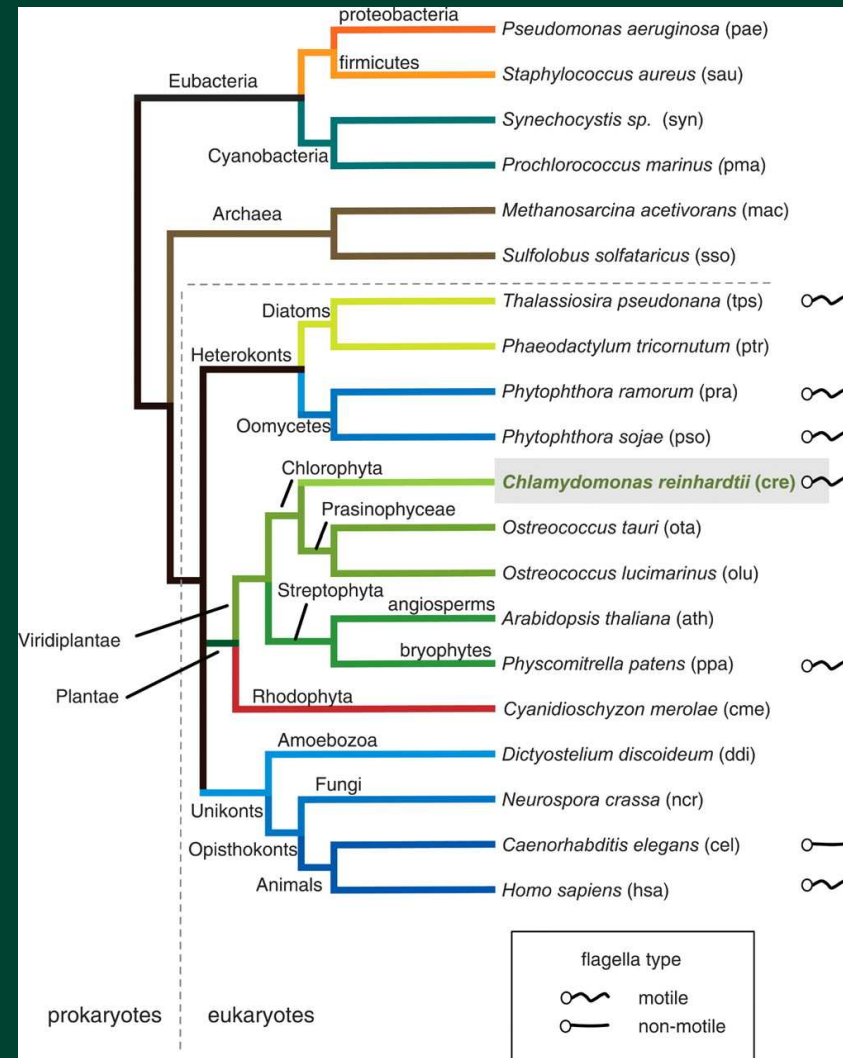
Evolutionary relationships of 20 species

with **sequenced genomes** (54, 55)
used for the comparative analyses
in this study :

cyanobacteria
nonphotosynthetic eubacteria,
Archaea

and **eukaryotes** from the

oomycetes,
diatoms,
rhodophytes,
plants,
amoebae
and opisthokonts



S. S. Merchant et al., Science 318, 245 -250 (2007)

Science

AAAS

Některá tradiční dogmata občas neplatí

autotrofie rostlin

striktní heretotrofie živočichů

OPEN ACCESS Freely available online

PLoS ONE

Turning the Table: Plants Consume Microbes as a Source of Nutrients

Chanyarat Paungfoo-Lonhienne^{1*}, Doris Rentsch², Silke Robatzek³, Richard I. Webb⁴, Evgeny Sagulenko⁵, Torgny Näsholm⁶, Susanne Schmidt^{1*}, Thierry G. A. Lonhienne^{1*}

1 School of Biological Sciences, The University of Queensland, Brisbane, Queensland, Australia, **2** Institute of Plant Sciences, University of Bern, Bern, Switzerland, **3** The Sainsbury Laboratory, Norwich Research Park, Norwich, United Kingdom, **4** Centre for Microscopy and Microanalysis, The University of Queensland, Brisbane, Queensland, Australia, **5** School of Biochemistry and Molecular Biosciences, The University of Queensland, Brisbane, Queensland, Australia, **6** Department of Forest Ecology and Management, Swedish University of Agricultural Sciences, Umeå, Sweden

Abstract

Interactions between plants and microbes in soil, the final frontier of ecology, determine the availability of nutrients to plants and thereby primary production of terrestrial ecosystems. Nutrient cycling in soils is considered a battle between autotrophs and heterotrophs in which the latter usually outcompete the former, although recent studies have questioned the unconditional reign of microbes on nutrient cycles and the plants' dependence on microbes for breakdown of organic matter. Here we present evidence indicative of a more active role of plants in nutrient cycling than currently considered. Using fluorescent-labeled non-pathogenic and non-symbiotic strains of a bacterium and a fungus (*Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae*, respectively), we demonstrate that microbes enter root cells and are subsequently digested to release nitrogen that is used in shoots. Extensive modifications of root cell walls, as substantiated by cell wall outgrowth and induction of genes encoding cell wall synthesizing, loosening and degrading enzymes, may facilitate the uptake of microbes into root cells. Our study provides further evidence that the autotrophy of plants has a heterotrophic constituent which could explain the presence of root-inhabiting microbes of unknown ecological function. Our discovery has implications for soil ecology and applications including future sustainable agriculture with efficient nutrient cycles.

Citation: Paungfoo-Lonhienne C, Rentsch D, Robatzek S, Webb RI, Sagulenko E, et al. (2010) Turning the Table: Plants Consume Microbes as a Source of Nutrients. PLoS ONE 5(7): e11915. doi:10.1371/journal.pone.0011915

Editor: Juergen Kroymann, CNRS UMR 8079/Université Paris-Sud, France

Received: June 7, 2010; **Accepted:** July 7, 2010; **Published:** July 30, 2010

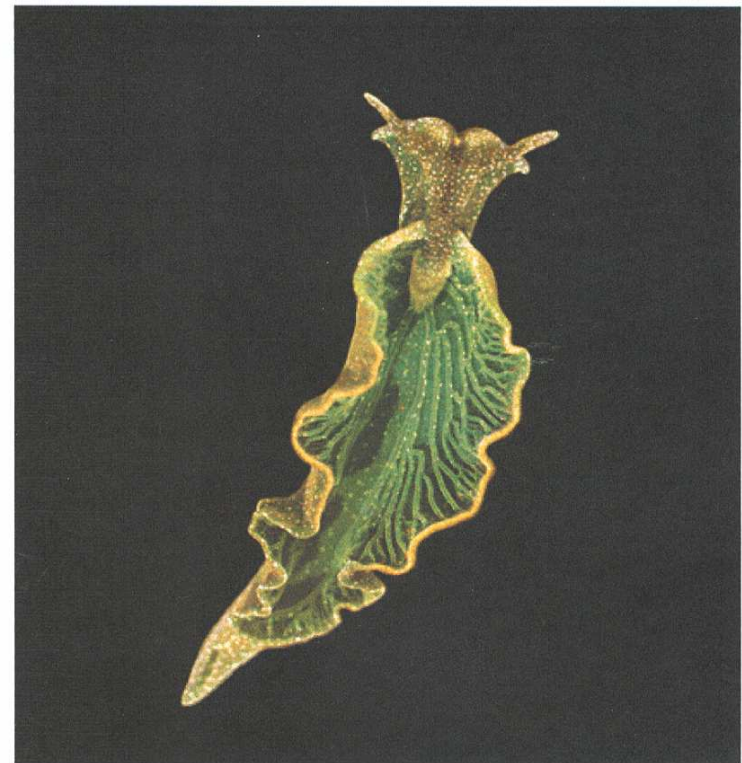
Copyright: © 2010 Paungfoo-Lonhienne et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Funding: This research was funded by the Australian Research Council (DP0986495 to SS, DR, TN, and RI) and The University of Queensland (to CPL). The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing Interests: The authors have declared that no competing interests exist.

* E-mail: Chanyarat@uq.edu.au

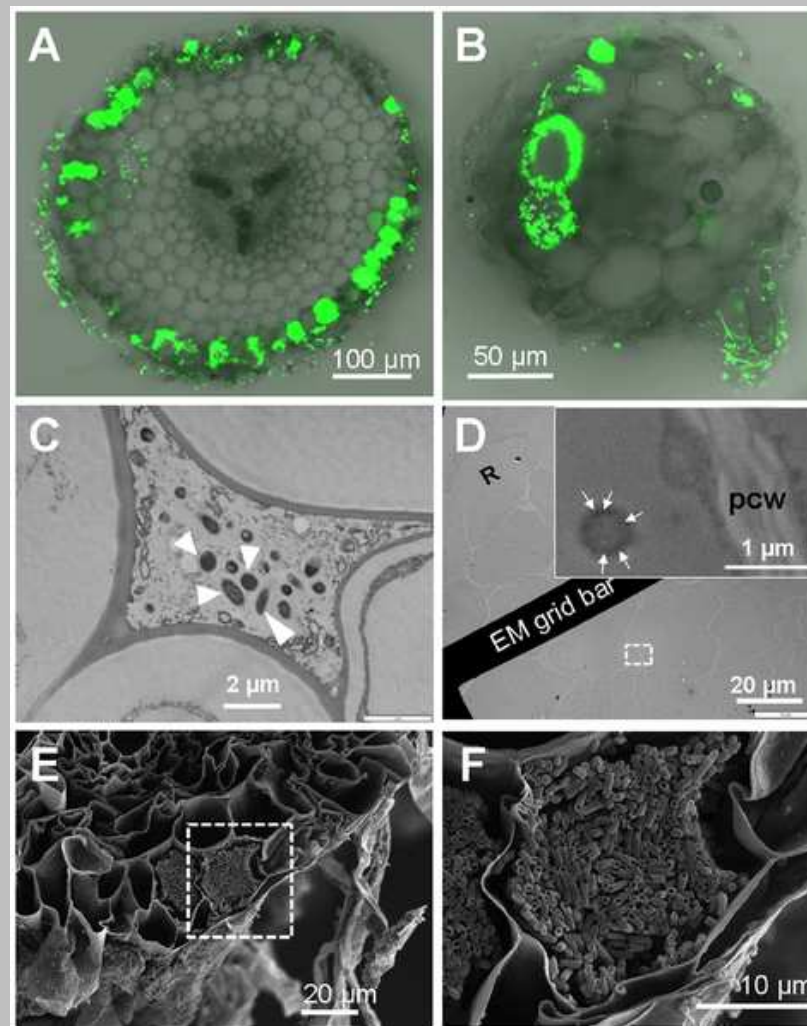
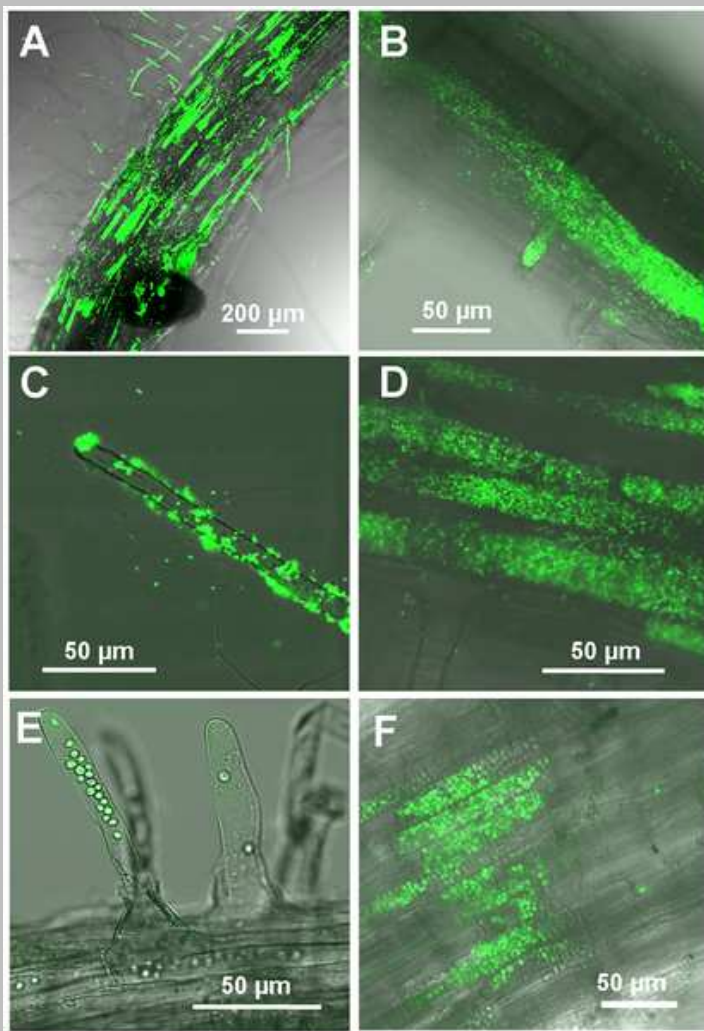
* These authors contributed equally to this work.



Obr. 1: Fotosyntetizující mořský zadožábří plž *Elysia chlorotica*. Foto: Mary S. Tyler. Převzato z obálky Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 105 (46), rok 2008.

PLoS ONE 5/7: July 2010

Změna jídelníčku: rostliny konzumují mikroby jako zdroj živin !!



Bakterie *E. coli* v rajčatech a v arabiskách Paungfoo-Lonhienne et al. PLoS ONE 2010

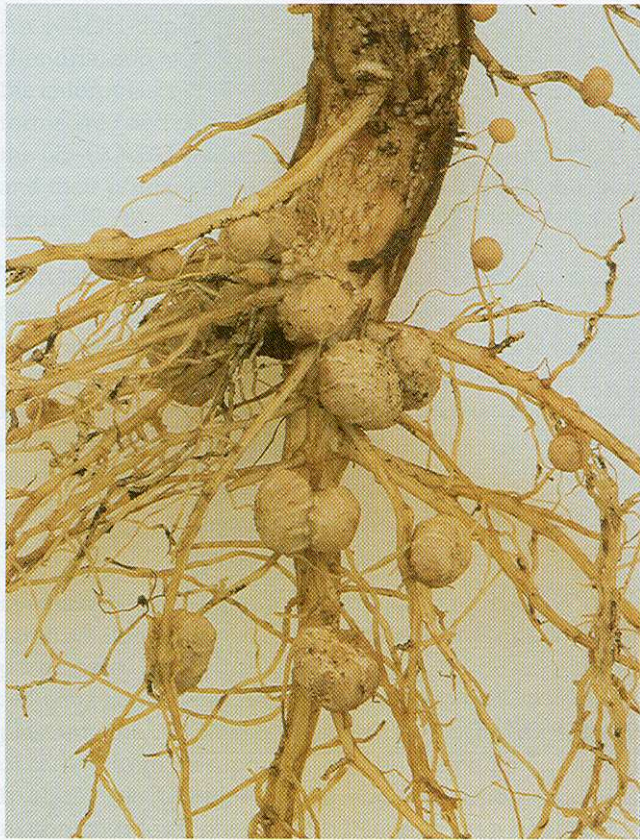
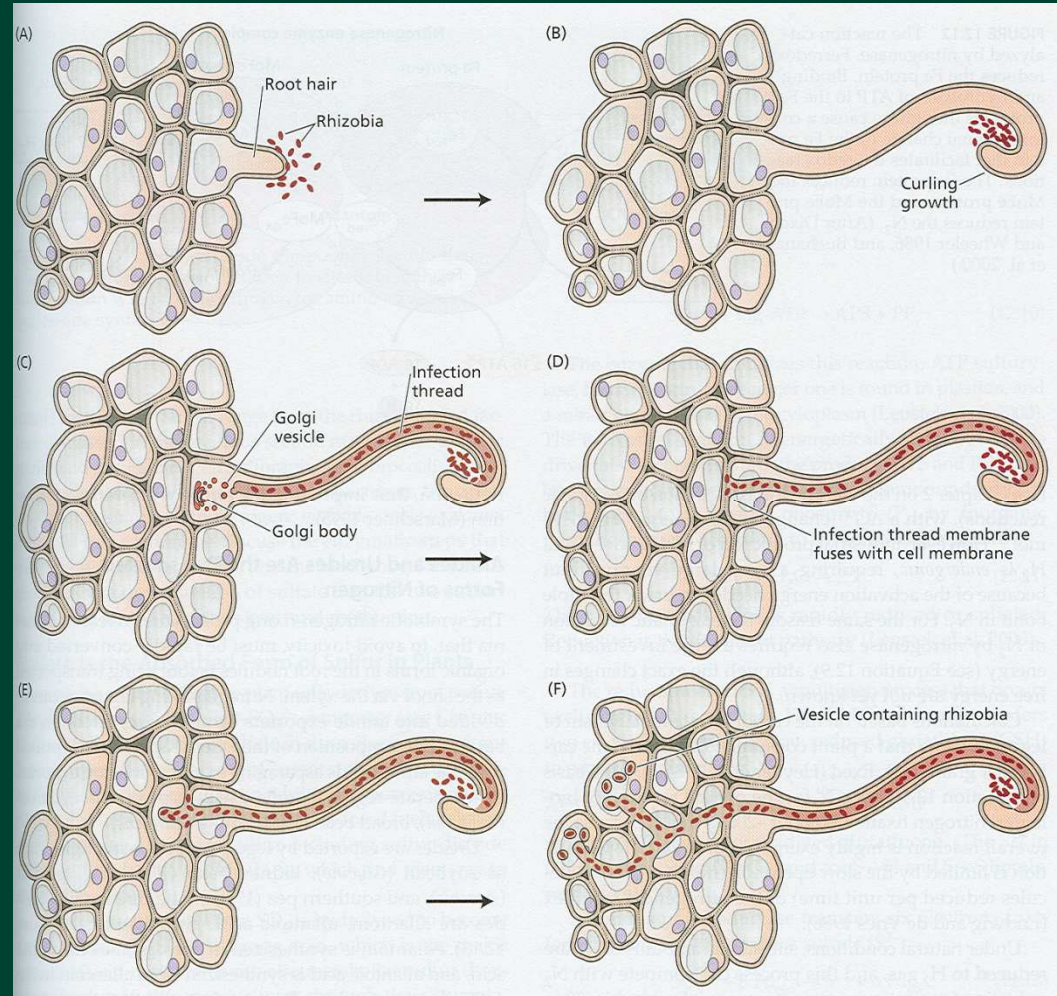


FIGURE 12.8 Root nodules on soybean. The nodules are a result of infection by *Rhizobium japonicum*. (© Wally Eberhart/Visuals Unlimited.)



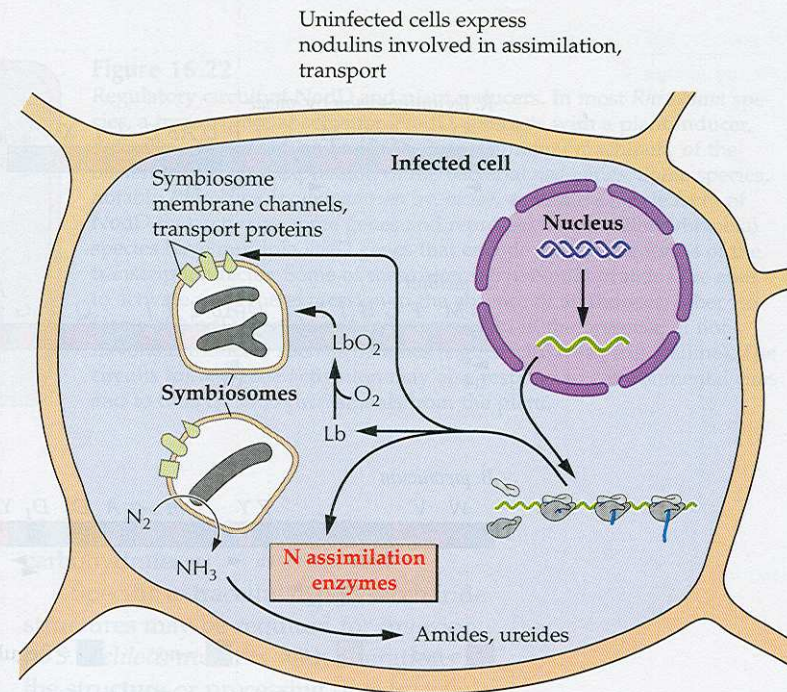


Figure 16.20

The plant nucleus encodes a series of genes that are expressed only during later stages of nodule development, in response to bacterial differentiation. As a general group, these plant genes are termed late nodulins. Some of these transcripts are specific to infected or uninfected cells. The plant-encoded products include the oxygen-binding protein leghemoglobin, specialized membrane proteins targeted to the symbiosome membrane, and enzymes that catalyze ammonia assimilation and synthesis of molecules used for transporting N to the rest of the plant.

Table 16.5 Some bacterial genes used in symbiosis with legumes

Stage of symbiosis	<i>Rhizobium</i> genes	Known or proposed functions
Gene regulation in response to host plant signal	<i>nodD</i> , <i>nolR</i> , <i>nodVW</i> , others	Activate or repress transcription at <i>nod</i> box promoters
Nodule formation, host recognition	<i>nod</i> , <i>nol</i> , <i>noe</i>	Enzymatic synthesis of Nod factors (<i>nodABC</i> , <i>nodH</i> , <i>nodEF</i> , <i>nodSU</i> , <i>nodZ</i> , and others)
Infection thread growth	<i>exo</i> , <i>lps</i> , <i>ndo</i>	Synthesis of extracellular polysaccharides
	Other genes?	Functions not known
Differentiation, bacteroid metabolism	<i>bacA</i> , possibly others	Signal import or export?
	<i>dct</i> genes	Import of dicarboxylic acids
Regulation of bacterial nitrogen-fixation genes	<i>fixL</i> , <i>fixJ</i> , <i>nifA</i> , <i>fixK</i>	Response to oxygen, transcriptional control at <i>nif</i> promoters
Nitrogen fixation	<i>nifHDK</i> , other <i>nif</i> , <i>fix</i>	Nitrogenase enzyme and cofactors, electron transport

Note: More than 100 genes have been identified in diverse symbiotic bacteria; only a subset are listed here.

Co na to věda SOUČASNÁ ???

VIRY, RETROVIRY, TRANSPOSIBILNÍ ELEMENTY

PŘIROZENÁ MIGRACE úseků mitochondriální DNA

I v genomu ČLOVĚKA lze nalézt řadu „cizorodých“ či „sdílených“ genů

Mezi genomy ROSTLINNÝMI existuje tok nejen genů jaderných a mitochondriálních, ale navíc i plastidových

DNA přenos plastid - jádro je zřejmě obecný jev v rámci individua

ONTOGENEZE imituje FYLOGENEZI

Prof. Bohumil Němec

anatomie, cytologie, morfogeneze, rozmnožování rostlin,
regenerační procesy, nádorový růst



Hálky – rostlinná rakovina ?

PRÁCE Z ARCHIVU AKADEMIE VĚD

Bohumil Němec
Vzpomínky

ARCHIV AKADEMIE VĚD ČR

a.
A

2002

B

16

Odedávna mne poutaly hálky, rozmanité znetvořeniny, které vznikají na rostlinách vlivem cizopasných nebo symbiotických živočichů a rostlin. Pokoušel jsem se, jako jiní přede mnou a po mně, uměle vyvolat na rostlinách něco hálkám analogického. Zvláště mne zajímaly bakteriové nádory, jejichž příčinou je *Bacterium tumefaciens*, neboť mají jakousi podobnost s lidskou rakovinou (Erwin Smith). O svých pokusech jsem referoval v Lékařských rozhledech r. 1913.

Ještě jednou jsem se touto otázkou zabýval, a to v přednášce, kterou jsem měl r. 1927 v Budapešti na mezinárodním sjezdu zoologickém, k němuž byl připojen sjezd pro experimentální cytologii. Přednáška vyšla v německém časopise pro exper. cytologii r. 1928. R. 1929 jsem uveřejnil ve Věstníku Královské české společnosti nauk pojednání, v němž jsem popsal nález bakterií v buňkách nádorků na větévkách slivek. Zkoumal jsem však také přímo rostlinné hálky, a sice jejich vývoj, anatomii i cyto-

logii. Uveřejnil jsem o svých výzkumech čtyři pojednání v Rozpravách České Akademie (1916–1921) a později ve Studies, které vydával můj ústav (I. 1923).

Moje přednáška o rostlinných tumorech byla Pringsheimem prohlášena za velmi kritickou. Odmítl jsem v ní Smithův názor, že bakteriové tumory rostlinné jsou pravá analoga maligních rakovin člověka, nýbrž že běží o hálky. Tenkrát nebyly známy rostlinné nádory bez bakterií a také ne nádory vznikající po bastardovi, které objevil Dončo Kostoff na bastardech mezi *Nicotiana Langsdorfis* a *glauca*. Moje přednáška vyšla v časopise pro experimentální cytologii r. 1928.

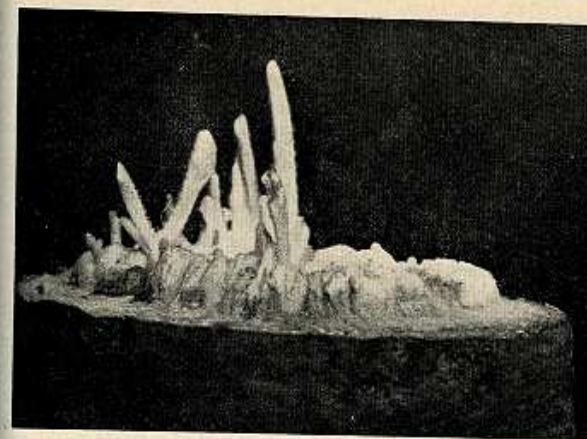
Agrobacterium rhizogenes – živé či mrtvé



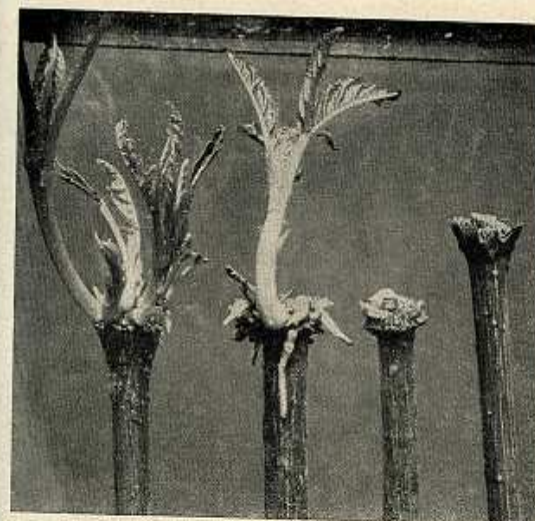
Obr. 63. Pohled s plochy na seřiznutý kořen čekanky (*Cichorium intybus*). Pravá polovina byla natřena kulturou *Pseudomonas rhizogenes*. Na ní vznikl tumor, z něhož vyrostou adventivní kořeny. Na nenatřené polovině vyrůstají četné adventivní pupeny. 13. XII. 1929—31. I. 1930. Zvětšeno 2 : 1.



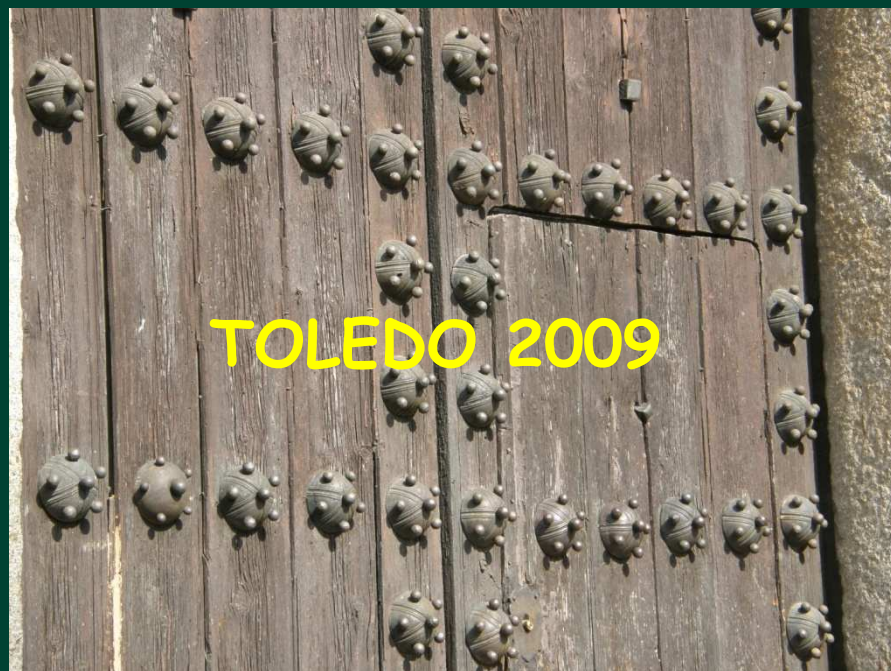
Obr. 64. Seřiznutý kořen čekanky (*Cichorium intybus*). Polovina řezné plochy byla potřena kulturou *Pseudomonas rhizogenes*. Na ní vznikl tumor a kořeny. Na druhé polovině vyrůstají četné adventivní pupeny. 8. III.—13. IV. 1928.



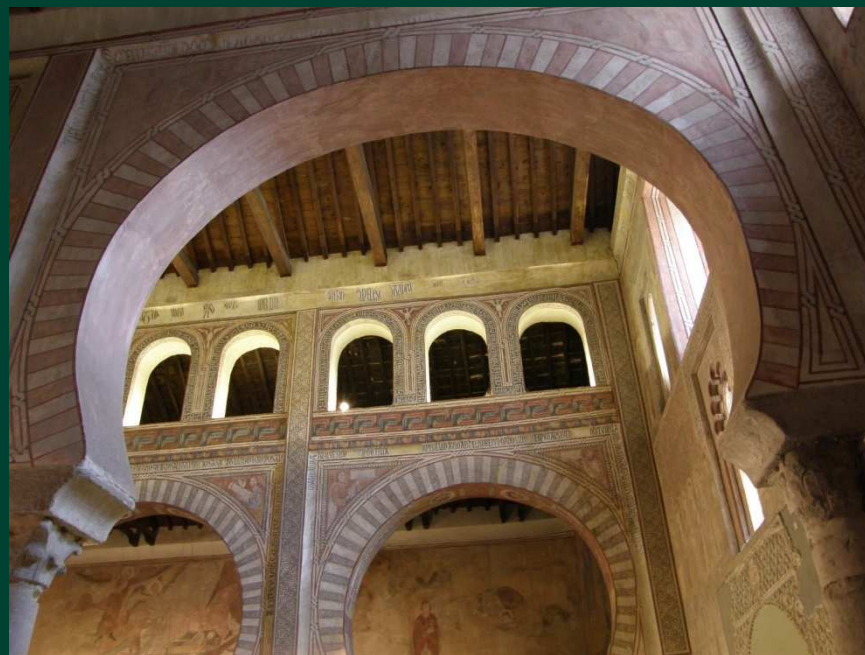
Obr. 65. Seřiznutý kořen čekanky (*Cichorium intybus*). Pravá polovina natřena několikrát elonformem usmrcenou kulturou *Pseudomonas rhizogenes*. Adventivní pupeny na ní nevískují. Na levé, nenatřené polovině vznikají pupeny. 23. I.—13. II. 1930. Zvětšeno 2 : 1.



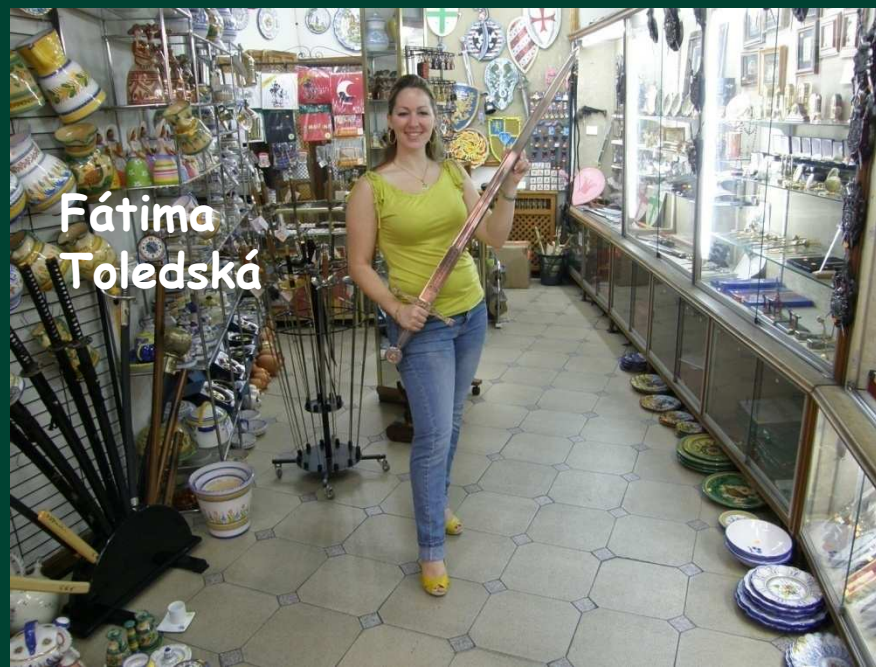
Obr. 66. Seřiznuté hypokotylu mádalu (*Aesculus hippocastanum*). Od levé strany: 1. řezná plocha nenatřena. 2. Polovina řezné plochy natřena kulturou *Pseudomonas rhizogenes*. Na nenatřené části vyrůstá adv. pupen, na natřené adv. kořeny. 3. a 4. řezné plochy celé natřeny kulturou *Pseudomonas rhizogenes*. Na řezných plochách vzniká br. později z něho vyrostou adventivní kořeny. 25. II.—31. III. 1934. Zvětšeno 1,5 : 1.



TOLEDO 2009



Isabela
Kastilská



Fátima
Toledská



NEMAGENICS

Exploiting genomics to understand
plant-nematode interactions

Proceedings of the Third Annual Meeting

**Toledo, Spain
25-28 May 2009**

Organised by



COST meeting Toledo 2009

Czech Republic

Prof.Dr. Zdenek OPATRNY

Faculty of Science, Charles University Prague, Vinicna 5 128 44 Prague 2, Czech Republic

opat@natur.cuni.cz , jaz.opat@tiscali.cz
+ 420 2 2195 1690

Egypt

Mohamed SAMEH HEIKAL

Agricultural Genetic Engineering Research Institute (AGERI), Gene bank division, Agricultural Research Center (ARC), 9 Gamaa St.- Giza- Egypt, 12619, Giza, Egypt

Samehheikal@hotmail.com
+2 010 8536404

France

Pierre ABAD

INRA Sophia Antipolis, 400 Route des Chappes, BP 167, 06903 Sophia Antipolis Cedex, France

Pierre.abad@sophia.inra.fr
04 92 38 64 02

Janice de ALMEIDA-ENGLER

INRA Centre de Recherche Sophia-Antipolis, 400 Route des Chappes
BP 167, 06903 Sophia Antipolis Cedex - France

Janice.almeida-engler@sophia.inra.fr
+33492386459

9

Molecular Aspects of Plant-Nematode Interactions

Godelieve Gheysen¹ and John T. Jones²

¹Department of Molecular Biotechnology, Ghent University, Coupure links 653, 9000 Ghent, Belgium; ²Plant-Pathogen Interactions Programme, Scottish Crop Research Institute, Invergowrie, Dundee, DD2 5DA, UK

9.1. Nematode parasitism of plants	234
9.2. Invasion and migration	237
9.3. Wound and defence responses of the plant	240
9.4. Protection from host responses	241
9.5. Molecular and cellular aspects of the development of nematode feeding cells	243
9.5.1. Cellular changes	243
9.5.2. Cell wall and membrane modifications	243
9.5.3. The cytoskeleton	246
9.5.4. Nuclear changes and cell cycle activation	247
9.5.5. Signal transduction pathways and transcription factors	248
9.5.6. Functional analysis and comparisons	248
9.6. Nematode signals for feeding site induction	249
9.6.1. Chorismate mutase	249
9.6.2. CLAVATA3-like peptides	250
9.6.3. The ubiquitin pathway	250
9.6.4. Cytokinins	251
9.6.5. Nodulation factors	251
9.6.6. Others	251
9.7. Comparison between cyst and root-knot nematodes	252
9.8. Resistance and avirulence genes	252

9.1. Nematode Parasitism of Plants

The relationships between plant-parasitic nematodes and their hosts are diverse. Plant-parasitic nematodes may be sedentary or browsing and can be ectoparasites or endoparasites. For some nematodes, including most migratory ectoparasites, plants simply provide an ephemeral food source and the interaction between the nematode and the plant is limited. For other nematodes the interactions are far more complex and long

Cyst x Root-knot NEMATODES

cystotvorná x háľkotvorná

Table 9.1. Comparison of secreted proteins and feeding sites of cyst and root-knot nematodes.

	Cyst nematodes	Root-knot nematodes
Nematode secretions		
Sub-ventral glands		
Cell wall-degrading enzymes		
β -1,4,-endoglucanase	+	+
Pectate lyase	+	+
Polygalacturonase	N	+
Expansin	+	+
Xylanase	N	+
Cellulose-binding domain	+	+
Calreticulin	N	+
Chorismate mutase (also in dorsal gland in some species)	+	+
Dorsal gland		
RanBPM	+	N
Ubiquitin-extension	+	N
CLAVATA3 or other peptides	+	+
14-3-3	N	+
Other		
Plant hormones	N (very low levels)	+
Feeding sites		
Origin	Syncytium by fusion of protoplasts	Giant cells by acytokinetic mitosis
Cytology	Dense cytoplasm with many organelles	Dense cytoplasm with many organelles
Nuclei	Many large nuclei	Many large nuclei
Cell wall	Cell wall ingrowths close to xylem	Cell wall ingrowths close to xylem
	Cell wall degradation	-
Differential plant gene expression examples		
Aquaporin <i>TobRB7</i>	-	O
Plasmalemma H ⁺ -ATPase	-	O
Beta 1-4 endoglucanase <i>AtCel1</i>	-	O
<i>Atrpe</i>	-(low and much later)	O
<i>AtRha1</i>	O	-(very low and transient)
<i>AtAbi3</i> transcription factor	O	-
<i>AtSuc2</i> sucrose transport	O	-

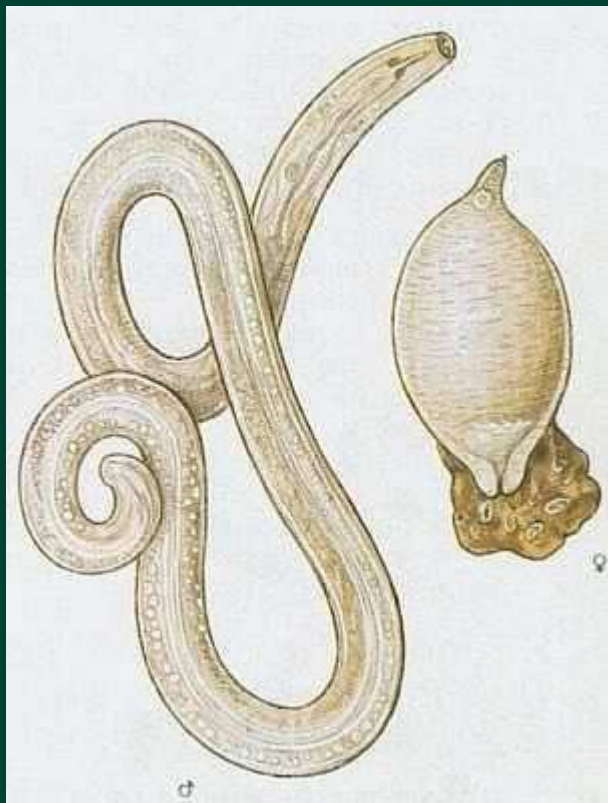
Note: N = Not found; + = present; O = up-regulated; - = not up-regulated.

Hád'átko bramborové - *Globodera rostochiensis*

„zralé“ samičky se mění v cystu s vajíčky



Hád'átko řepné – *Heterodera schachtii*



Hád'átko kořenové *Meloidogyne incognita*



Bodec útočníka

Reakce obětí

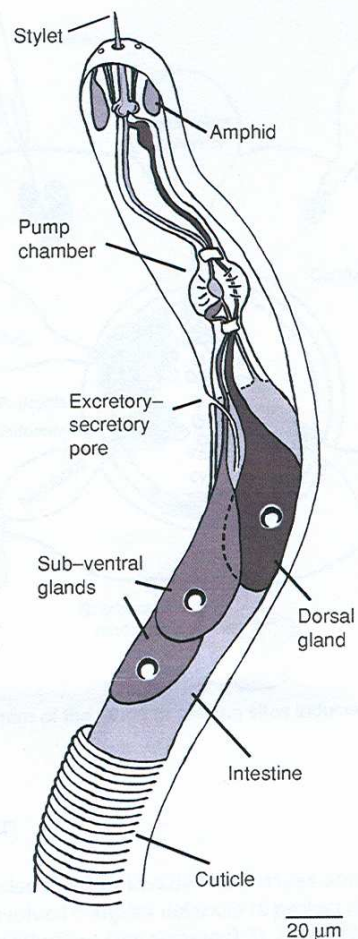


Fig. 9.2. Sketch of the anterior end of a second-stage juvenile (J2) of a tylench plant-parasitic nematode showing the relative positions of various nematode structures including the sub-ventral and dorsal pharyngeal gland cells.

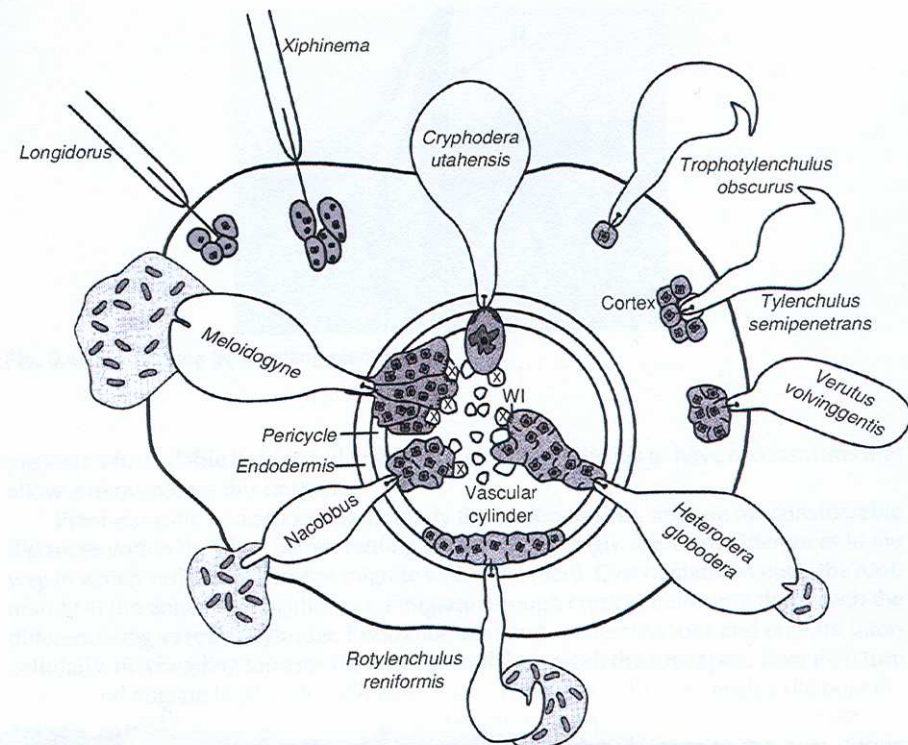


Fig. 9.3. Schematic diagram of the range of feeding sites induced by various plant-parasitic nematodes.



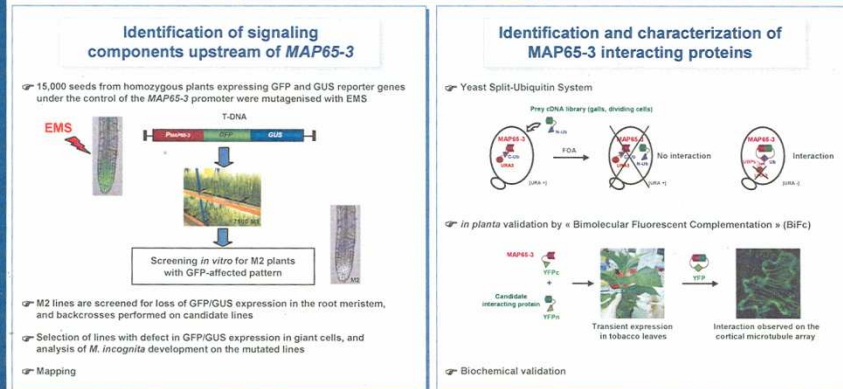
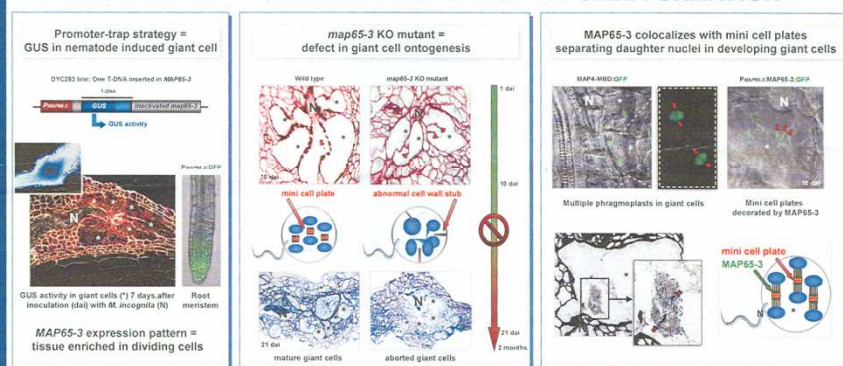
Dissecting molecular regulation of MAP65-3, a Microtubule-Associated Protein essential for nematode-induced giant cell formation

Laëtitia Paganelli, Michaël Quentin, Isabelle Baurès, Marie-Cécile Caillaud, Philippe Lecomte, Nicolas Marfaing, Pierre Abad and Bruno Favery
INRA-CNRS-Université de Nice Sophia-Antipolis, UMR1301-6243, Interactions Biotiques et Santé Végétale, 400 route des Chappes, F-06903 Sophia Antipolis, France
contacts laetitia.paganelli@sophia.inra.fr, favery@sophia.inra.fr



Summary: Root knot nematodes *Meloidogyne* spp. have evolved the ability to manipulate host functions to their own advantage, by redifferentiating root cells into multinucleate and hypertrophied feeding cells. These giant cells result from repeated rounds of karyokinesis without cell division. To obtain a more comprehensive view of the molecular mechanisms underlying the giant cell ontogenesis, we focused on the functional analysis of *Arabidopsis* MICROTUBULE-ASSOCIATED PROTEIN 65-3 (MAP65-3) identified by a promoter trap strategy. MAP65-3 gene transcriptional activation occurred early in giant cells. Plants expressing PromoterMAP65-3 GFP-GUS confirmed that MAP65-3 was expressed in dividing cells such as in root meristems. A detailed functional analysis demonstrated that MAP65-3 is crucial for multinucleate giant cell development in *Arabidopsis* roots infected with parasitic nematodes and is associated with "mini cell plates", which separate daughter nuclei in the giant cells. We showed that MAP65-3 plays a key role in organizing microtubule arrays during mitosis and cytokinesis (Caillaud et al., 2008 Plant Cell). To deepen our understanding of the MAP65-3 roles and microtubule cytoskeleton dynamics during giant cell ontogenesis, we developed two strategies. To identify signaling components upstream of MAP65-3, a forward genetic screen was set up. Plants expressing PromoterMAP65-3 GFP-GUS reporter genes were mutagenized by EMS. We are currently screening M2 plants to identify mutants with a loss of GFP fluorescence in root meristems. Genetic analysis of these mutants will be initiated and candidates will be analysed for their function during giant cell ontogenesis. In addition, MAP65-3 interacting proteins will be searched using a yeast two-hybrid system. The screening of two prey cDNA libraries (meristems of uninfected plants or galls) will allow us to estimate whether MAP65-3 uses the same protein partners during plant development and during plant-nematode interaction.

ESSENTIAL ROLE OF MAP65-3 DURING GIANT CELL FORMATION



Plant actin cytoskeleton re-modeling by plant parasitic nematodes

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC281263/>



Plant Signaling & Behavior

Journal List > Plant Signaling & Behavior > v.5(2); Mar 2010

Performing your original search, Nematodes Plant Cytoskeleton, in PubMed Central will retrieve 154 records.

Plant Signaling & Behavior: 2010 March; 5(2): 213-217

Copyright © 2010 Landes Bioscience

PMCID: PMC281263

Plant actin cytoskeleton re-modeling by plant parasitic nematodes

Janice de Almeida Engler,^{1,2,3} Natalia Rodic,^{1,2,3} Andrei Smertenko,⁴ and Pierre Abad^{1,2,3}

¹INRA, UMR 1301, Sophia Antipolis, France

²CIRP, UMR 6243, Sophia Antipolis, France

³Université de Nice Sophia-Antipolis, UMR Interactions Biotiques et Santé Végétale, Sophia Antipolis, France

⁴Regenerative Cell Biology Laboratory, School of Biological and Biomedical Sciences, University of Durham, Durham, UK

*Corresponding author: Janice de Almeida Engler; Email: janice.almeida-engler@sophia.inra.fr

Received November 23, 2009; Accepted November 23, 2009.

Abstract

The cytoskeleton is an important component of the plant's defense mechanism against the attack of pathogenic organisms. Plants however, are defenseless against parasitic rootknot and cyst nematodes and respond to the invasion by the development of a special feeding site that supplies the parasite with nutrients required for the completion of its life cycle. Recent studies of nematode invasion under treatment with cytoskeletal drugs and in mutant plants where normal functions of the cytoskeleton have been affected, demonstrate the importance of the cytoskeleton in the establishment of a feeding site and successful nematode reproduction. It appears that in the case of microfilaments, nematodes hijack the intracellular machinery that regulates actin dynamics and modulate the organization and properties of the actin filament network. Intervening with this process reduces the nematode infection efficiency and inhibits its life cycle. This discovery uncovers a new pathway that can be exploited for the protection of plants against nematodes.

Key words: cytoskeleton, actin, actin depolymerizing factor, nematode, giant cells, syncytium, cytochalasin, lead

Introduction

Sedentary plant-parasitic nematodes are major agricultural pathogens causing an estimated annual yield loss of \$ 100 billion worldwide. Within this group, RKN and CN are among the most specialized phytoparasitic nematodes according to the complexity of the induced feeding sites. Both are microscopic worms (200–400 µm) that penetrate the root elongation zone of host plants as motile infective J2 and then migrate towards the stele establishing a feeding site. Afterwards these parasites become sedentary, rapidly increase in size and finally develop into fertile adults (Fig. 1A and B). The infection induces transformation of the root vascular cells into complex feeding cells that supply nutrients for the nematodes. This process is induced by parasitic proteins, which are synthesised in oesophageal glands and injected into initial feeding cells with the help of stylet.¹ The complex changes in nematode feeding cell morphology are accompanied by striking increase of ploidy levels, metabolic activity and cell size (Fig. 1C and D). Feeding cells harbor a dense cytoplasm filled with small vacuoles, golgi and endoplasmic reticulum, proliferating organelles such as plastids and mitochondria² and show an entirely rearranged actin and microtubular cytoskeleton.^{4,5}



Figure 1
(see opposite page) Feeding site morphology and actin cytoskeleton organization in feeding cells induced by RKN and CN. (A) Root-knots or galls induced by *Meloidogyne incognita* in *A. thaliana*. (B) A syncytium induced by *Heterodera schachtli* in *A. thaliana* (more ...)

Symptoms of plant infestation by root-knot nematodes include knot- or gall-like formations (Fig. 1A) consisting of six to eight giant-feeding cells surrounded by asymmetrically dividing neighboring cells within the vascular cylinder (Fig. 1C). The giant feeding cells are multinucleated as a result of multiple mitotic events with abnormal phragmoplast expansion leading consequently to incomplete cytokinesis.^{4,6,7} The nuclei appear to be enlarged in comparison to the surrounding cells already after the first mitotic event.⁸ Differently, CN induce formation of a multinucleate syncytium which expands longitudinally along the host root as a consequence of cell wall dissolution between the flanking cells (Fig. 1D).⁹ In this feeding site nuclei enlarge possibly due to the endoreduplication; however mitotic activity has never been observed.

The Actin Cytoskeleton Rearrangements in Nematode Feeding Sites

The plant cytoskeleton is crucial for many cellular processes including cell division, intracellular transport, maintaining cell architecture, balance between isotropic and anisotropic expansion, response to environmental stimuli and pathogen attack, and therefore is essential for plant growth and reproduction.¹⁰ Having our studies been focused on the cell biological aspects of the interaction between plants and parasitic nematodes, the interest to investigate the organization of the cytoskeleton in giant cells and syncytia induced by two types of plant parasitic nematodes was naturally pursued. Surprisingly, our observations have shown that both the actin and microtubule networks in root cells infected by nematodes are disorganized. This mini-review focuses on the actin cytoskeleton in feeding giantcells induced by RKN and to a less extent in syncytia induced by CN.

It has been shown that transcription of two members of the *Arabidopsis* actin gene family, *ACT2* and *ACT7*, is upregulated during gall and syncytium development suggesting that a large pool of globular actin is required for actin filaments assembly in the cells forming feeding sites.¹¹ In vivo analysis using actin markers such as the actin binding domain of *A. thaliana* fibrin (FABD) and the actin binding domain of the mouse Talin (mTalin) fused to GFP demonstrates thick transverse and longitudinal bundles of actin filaments in the giant cell cortex through all developmental stages (Fig. 1E and F). Numerous fine and short filaments have also been observed reflecting ongoing assembly of new actin filaments from the abundant pool of cytoplasmic free actin (Fig. 1E), accompanied by severing.⁴ These observations were confirmed and complemented by immunocytochemical analyses in the model nematode host plant *Arabidopsis thaliana* (Fig. 1E) and in natural host *Psium sativum* (pea). Mitotic giant cells reveal less endoplasmic F-actin, but instead contained diffuse actin staining (Fig. 1E, F and G). During cell division no pre-prophase band (PPB) has been observed suggesting that organisation of cytoplasmic actin and PPB formation are either structurally linked or regulated by a common pathway altered by the parasitic proteins. The absence of actin filaments within the cytoplasm was apparent during anaphase (Fig. 1G) in large spindles of giant cells. Normally, in mitotic cells microfilaments can only be detected in the midzone of anaphase spindle and the phragmoplast.¹¹ but not in PPB and metaphase spindle. Actin filaments regulate positioning and fusion of cell wall forming vesicles and their depolymerization may cause slowdown of the phragmoplast expansion and phragmoplast disorientation.¹² Our recent ultrastructural studies using electron microscopy show that instead of the typical two antiparallel arrays of actin filaments observed in normal phragmoplasts, actin filaments are disorganized and misaligned in phragmoplasts of giant cells (Fig. 1H) (unpublished data). In agreement with these observations, giant cells are unable to accomplish cytokinesis due to the phragmoplast failure,¹³ which can be attributed to the abnormal organization of actin filaments. Cells that surround the giant cells show randomly distributed actin filaments which often form a denser network in cells flanking the giant-feeding cells (Fig. 1E). They are able to complete cytokinesis, though their phragmoplasts are often curved.

Actin filaments network in the syncytia induced by the cyst nematode *Heterodera schachtli* seems more disorganized and less structured than in giant cells. Analyses of the feeding site in living (Fig. 1I and J) as well as fixed (Fig. 1K) samples showed a dense actin array in cells surrounding the feeding site and a rather diffuse fluorescence in feeding cells indicating depolymerisation of actin filaments (Fig. 1J and K). Cells surrounding the syncytia displayed longitudinal actin bundles (Fig. 1I). A radial array of actin filaments focused to the nematode head can be observed in initiating syncytia (Fig. 1J). No mitotic activity seems to take place within syncytia except for neighboring cells which may undergo mitotic events prior to their incorporation into the feeding site. At early stages of syncytia development the flanking cells behave as an isolated symplastic domain without seemingly functional plasmodesmata.^{13,14} As such, external signals that cause actin cytoskeleton disorganization within the syncytia may not affect flanking cells until the fusion.

Our findings suggest that nematode infection causes a reorganization of the actin filament network in both types of feeding cells during the entire nematode's life cycle, however each

NEM
novinky
2012

Research

New
Phytologist

Methods

Whole-mount confocal imaging of nuclei in giant feeding cells induced by root-knot nematodes in *Arabidopsis*

Paulo Vieira^{1,2,3}, Gilbert Engler^{1,2,3*} and Janice de Almeida Engler^{1,2,3*}

¹Institut National de la Recherche Agronomique, UMR 1355 ISA, 400 route des Chappes, Sophia-Antipolis, France; ²Centre National de la Recherche Scientifique, UMR 7254 ISA, 400 route des Chappes, Sophia-Antipolis, France; ³Université de Nice-Sophia Antipolis, UMR ISA, 400 route des Chappes, Sophia-Antipolis, France

Author for correspondence:

Janice de Almeida Engler
Tel: +33 492 386 459
Email: janice.almeida-engler@sophia.inra.fr

Received: 22 March 2012

Accepted: 6 April 2012

New Phytologist (2012) 195: 488–496
doi: 10.1111/j.1469-8137.2012.04175.x

Summary

- Excellent visualization of nuclei was obtained here using a whole-mount procedure adapted to provide high-resolution images of large, irregularly shaped nuclei. The procedure is based on tissue clearing, and fluorescent staining of nuclear DNA with the dye propidium iodide.
- The method developed for standard confocal imaging was applied to large multicellular root swellings, named galls, induced in plant hosts by the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*.
- Here, we performed a functional analysis, and examined the nuclear structure in giant feeding cells overexpressing the cell cycle inhibitor Kip-related protein 4 (KRP4). Ectopic *KRP4* expression in galls led to aberrant nuclear structure, disturbing giant cell expansion and nematode reproduction. *In vivo* live-cell imaging of GFP-KRP4 demonstrated that this protein co-localizes to chromosomes from prophase to late anaphase during cell cycle progression.

A root-knot nematode-secreted protein is injected into giant cells and targeted to the nuclei.

Maëlle Jaouannet, Laetitia Perfus-Barbeoch, Emeline Deleury, Marc Magliano, Gilbert Engler, Paulo Vieira, Etienne G J Danchin, Martine Da Rocha, Patrick Coquillard, Pierre Abad, Marie-Noëlle Rosso

INRA UMR 1301, CNRS UMR 6243, Université de Nice Sophia Antipolis, 400 route des Chappes, F-06903 Sophia-Antipolis, France INRA, Université Aix-Marseille, UMR1163 Biotechnologie des Champignons Filamenteux, F-13288 Marseille, France.

New Phytologist (impact factor: 6.65) 04/2012; 194(4):924–31. DOI:10.1111/j.1469-8137.2012.04164.x

00

1 BOOKMARK

Edit

Abstract

Root-knot nematodes (RKNs) are obligate endoparasites that maintain a biotrophic relationship with their hosts over a period of several weeks and induce the differentiation of root cells into specialized feeding cells. Nematode effectors synthesized in the oesophageal glands and injected into the plant tissue through the syringe-like stylet certainly play a central role in these processes. In a search for nematode effectors, we used comparative genomics on expressed sequence tag (EST) datasets to identify *Meloidogyne incognita* genes encoding proteins potentially secreted upon the early steps of infection. We identified three genes specifically expressed in the oesophageal glands of parasitic juveniles that encode predicted

MELOIDOGYNE
INCIGNITA

Genový
přenos
z bakterií
do NEM
je nesporný

Putují do
napadených
rostlin
jen
genové
produkty
nebo i
„NEM-geny“?

Horizontal gene transfer from bacteria and fungi as a driving force in the evolution of plant parasitism in nematodes

Authors: Jones, John T.; Furlanetto, Cleber; Kikuchi, Taisei

Source: *Nematology*, Volume 7, Number 5, 2005 , pp. 641-646(6)

Publisher: [BRILL](#)

- [view table of contents](#)
- [|](#)
- [next article >](#)

Buy & download fulltext article:

OR

Price: \$35.00 plus tax ([Refund Policy](#))

Abstract:

Phylogenetic studies have shown that parasitism of plants by nematodes has arisen independently on at least three separate occasions. We argue that horizontal gene transfer has played a critical role in the evolution of plant parasitism on each occasion. In addition, we discuss evidence that suggests this process has driven the evolution of other life strategies within the Nematoda and that it may be considerably more common within the Phylum than commonly thought. We review recent literature that shows horizontal gene transfer to nematodes has occurred from both bacteria and fungi.

References: 35 references [open in new window](#)

2005

http://www.biomedcentral.com/1471-2148/11/13

BMC
Evolutionary Biology **3.52**

Research article

Horizontal gene transfer of microbial cellulases into nematode genomes is associated with functional assimilation and gene turnover

Werner E Mayer¹, Lisa N Schuster¹, Gabi Bartelmes¹, Christoph Dieterich^{1,2} and Ralf J Sommer^{1*}

* Corresponding author: Ralf J Sommer ralf.sommer@tuebingen.mpg.de
¹ Max-Planck Institute for Developmental Biology, Department for Evolutionary Biology, Spemannstrasse 37, 72076 Tübingen, Germany
² Max-Delbrueck-Centre for Molecular Medicine, Berlin
For all author emails, please [log on](#).

BMC Evolutionary Biology 2011, **11**:13 doi:10.1186/1471-2148-11-13

The electronic version of this article is the complete one and can be found online at: <http://www.biomedcentral.com/1471-2148/11/13>

Received: 8 September 2010
Accepted: 13 January 2011
Published: 13 January 2011

© 2011 Mayer et al; licensee BioMed Central Ltd.
This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/2.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Abstract

Background

Natural acquisition of novel genes from other organisms by horizontal or lateral gene transfer is well established for microorganisms. There is now growing evidence that horizontal gene transfer also plays important roles in the evolution of eukaryotes. Genome-sequencing and EST projects of plant and animal associated nematodes such as *Brugia*, *Meloidogyne*, *Bursaphelenchus* and *Pristionchus* indicate horizontal gene transfer as a key adaptation towards parasitism and pathogenicity. However, little is known about the functional activity and evolutionary longevity of genes acquired by horizontal gene transfer and the mechanisms favoring such processes.

Results

Hot
selected
by
reviewers

Highly accessed Open Access

2011

HGT mezi ROSTLINAMI

přenašeči jsou buď **PARAZITICKÉ**

Striga x rýže, kukuřice, čirok →

Cuscuta, kokotice x motylokvěté, jitrocel



nebo **EPIFYTICKÉ** rostliny

např. keře *Amborella trichopoda* (Nová Kaledonie)

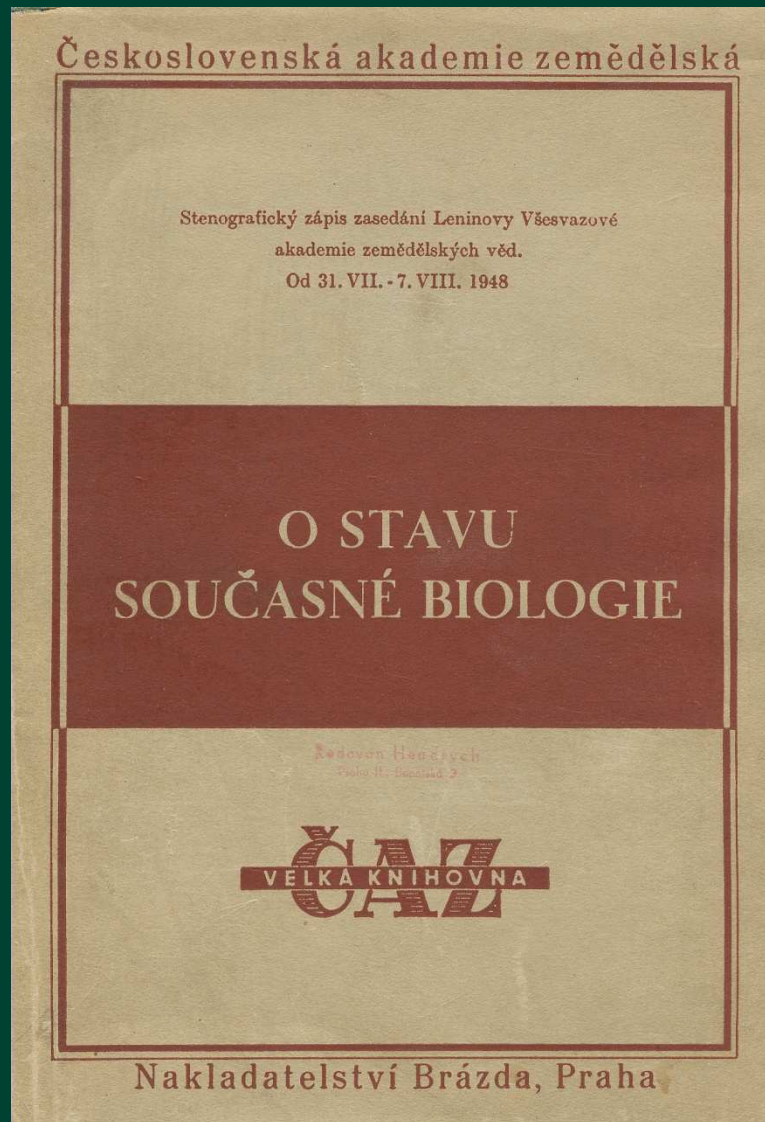
údajně až 30 cizích genů v mitochondriích,
některé i z mechorostů →

Plastidový genom je naopak mozaikou
z fylogenetických předků



Sporný je recentní přenos
plastidových **genů !!**

Existují však přírodní příklady **HGT**
přímo mezi **ROSTLINAMI** ?
Dochází mezi nimi také k **VEGETATIVNÍMU** křížení ??



**Trofim
Denisovič
LYSENKO**

**1898
1976**



Chromosomová dědičnost obecně neplatí

Chromosomová theorie dědičnosti uznává možnost získávání kříženců jen pohlavní cestou. Zavrhuje možnost získávání vegetativních kříženců, poněvadž neuznává specifický vliv životních podmínek na podstatu rostlin. I. V. Mičurin nejen že uznával možnost existence vegetativních kříženců, ale vypracoval i metodu mentora. Tento způsob spočívá v tom, že roubováním větví těch nebo oněch starých odrůd ovocných stromů do koruny mladé odrůdy přejdou do mladé odrůdy vlastnosti z naroubovaných *větví staré odrůdy*. Proto byl tento způsob pojmenován I. V. Mičurinem jako mentor, t. j. vychovatel. Jako mentor může být využita i podnož. Touto cestou byla Mičurinem vypěstována nebo zlepšena celá řada nových dobrých odrůd.

Roubování jako cesta ke vzniku vegetativních kříženců

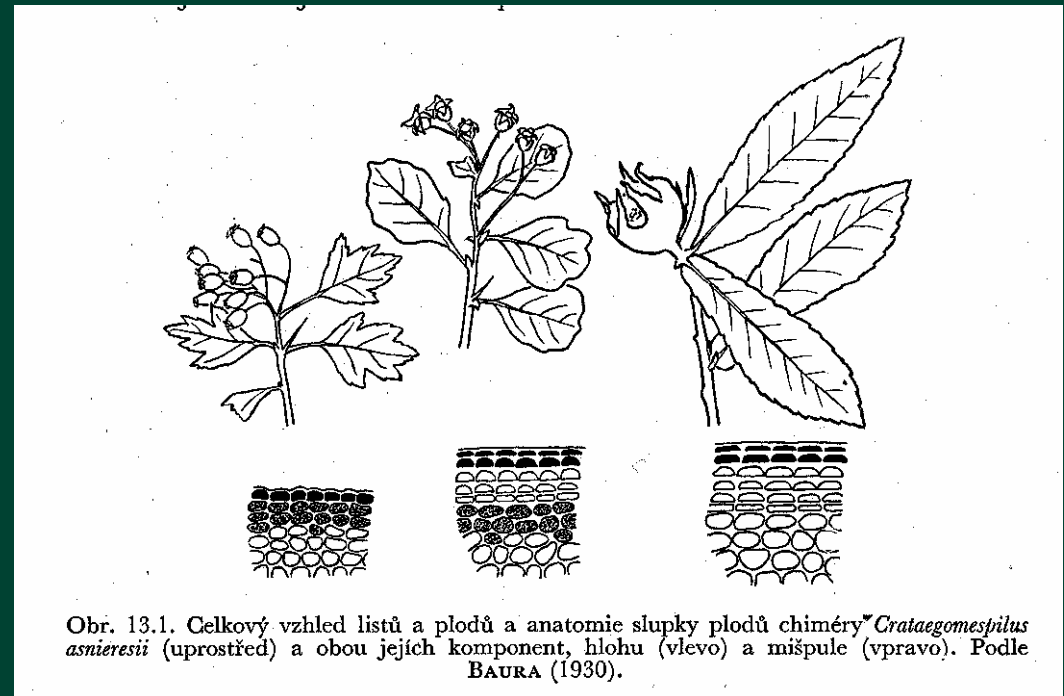
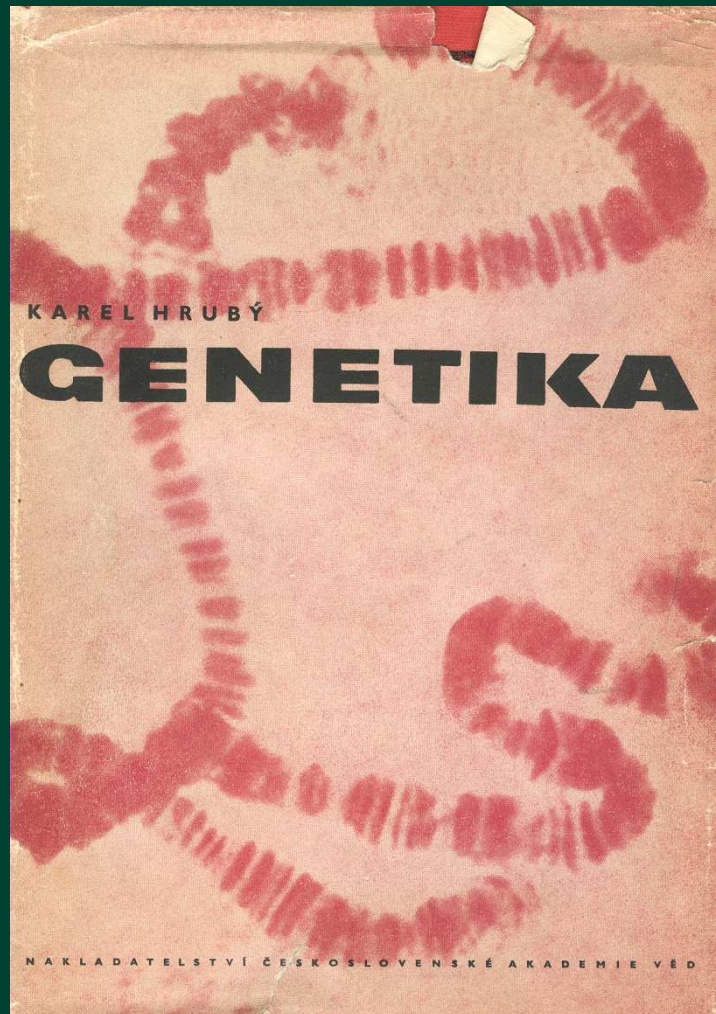
Stadiově nezformované organismy, které neproběhly dosud úplným cyklem vývoje, budou při očkování vždy měnit svůj vývoj ve srovnání se semenáči, t. j. rostlinami neroubovanými. Při srůstání rostlin po roubování povstává jednotný organismus různorodé povahy roubu a podnože. Sbírajíce semena z roubu nebo podnože a vysévající je, můžeme obdržet potomstvo rostlin, jejichž jednotliví jedinci budou mít vlastnosti nejen té odrůdy, z jehož plodu jsou vzata semena, ale i z druhé odrůdy, se kterou prvá byla spojena roubováním.

Je jasné, že roub i podnož nemohly si vyměňovat chromosomy v jádrech svých buněk a přece přecházely dědičné vlastnosti z roubu do podnože a opačně. *Tedy plastické látky produkované podnoží a roubem, stejně tak i chromosomy, jakož i kterákoliv částička živého těla, mají druhové vlastnosti a určitou dědičnost.*

Kterákoliv částička živého těla je nositelem dědičnosti

Zavržení **MENDELISTÉ** / **MORGANISTÉ** znovu na scéně

Prof. Karel HRUBÝ
PŘFUK PRAHA 1961



kdepak vegetativní kříženci,
leda **mutanti** nebo **CHIMÉRY**

tedy opět žádný **HGT** ?

zřejmý je jak MITOCHONDRIÁLNÍ tak PLASTIDOVÝ a možná i TRANSPOSONOVÝ HGT u ROUBOVANCŮ

*Science 1 May 2009:
Vol. 324 no. 5927 pp. 649-651
DOI: 10.1126/science.1170397*

- Report

Exchange of Genetic Material Between Cells in Plant Tissue Grafts

1. Sandra Stegemann and
2. Ralph Bock*

± Author Affiliations

1. *Max-Planck-Institut für Molekulare Pflanzenphysiologie, Am Mühlenberg 1, D-14476
Potsdam-Golm, Germany.*

AMERICAN JOURNAL OF
Botany

American Journal of Botany 98(8): 1231–1242. 2011.

SPECIAL PAPER

WHAT CAN WE LEARN FROM TOBACCO AND OTHER SOLANACEAE ABOUT HORIZONTAL DNA TRANSFER?¹

MARTINA TALIANOVA² AND BOHUSLAV JANOUSEK

Department of Plant Developmental Genetics, Institute of Biophysics AS CR, Kralovopolska 135, 612 65, Brno, Czech Republic

Roubovanci TRANSGENNÍHO TABÁKU :

dvě odrůdy : Petit Havana a Samsun

dva různé znaky resistance k antibiotiku : kanamycin a Spectinomycin

dva různé fluorescenční proteiny: zelený a žlutý

Resistance kodovaná **jaderně**, fluorescence v **plastidech** či v cytoplasmě

VÝSLEDEK:

Průkazný **HGT** **obou typů genů** přinejmenším v zoně blízké řezu. Pokud z ní odvozen kalus a regenerovány Rostliny, nejsou chimerické ani „somaticko hybridní“, ale „kombinovaně transgenní“. Transgenóze je stabilní

Stegemann and Bock 2009

LYSENKO ve ZKUMAVCE

PROTOPLASTOVÉ KULTURY
a somatická hybridizace
cybridizace

překonání bariér nekřížitelnosti

Od Purkyně-ho ke Cockingovi:

protoplasty = rostlinné buňky
dočasně zbavené buněčné stěny

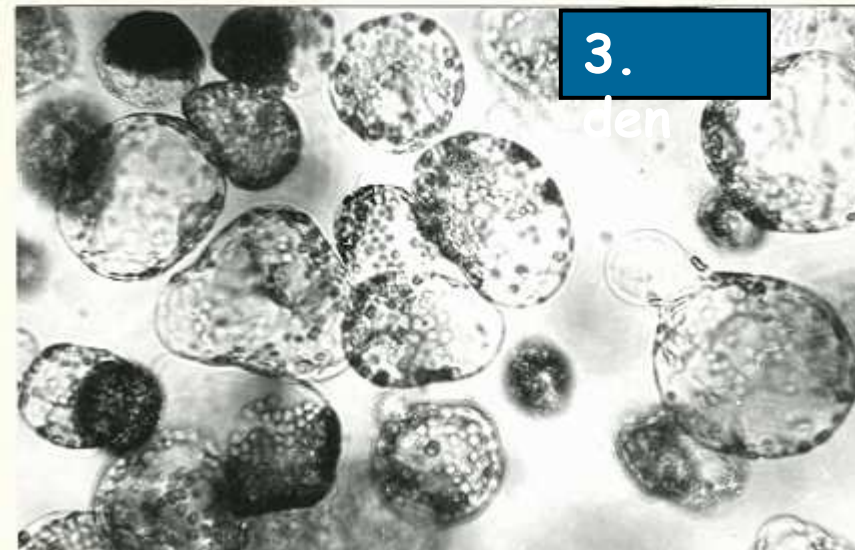
umožnily :

- tvorbu „somatických hybridů“
- přenášení genoforů (organel)
- vnášení samotné cizorodé DNA
(jedna z technik přípravy GMO)

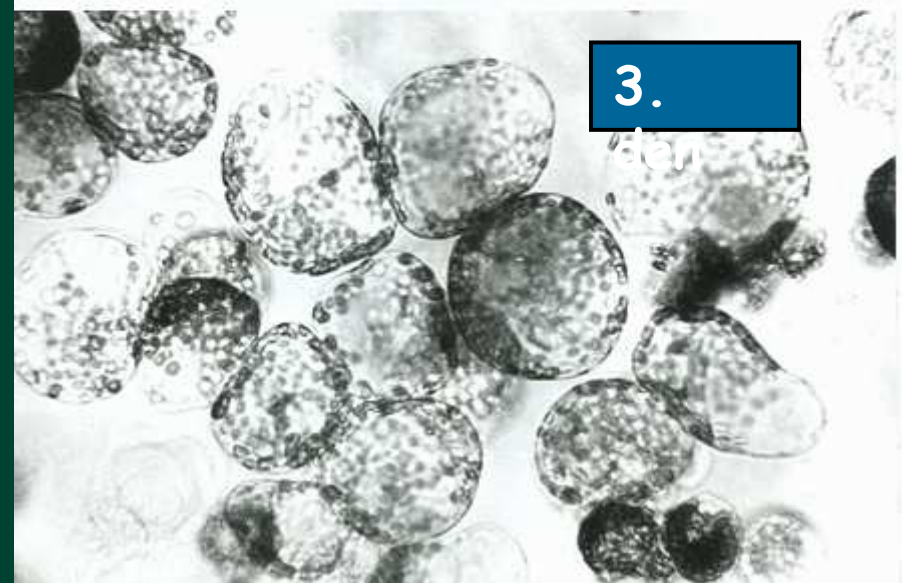
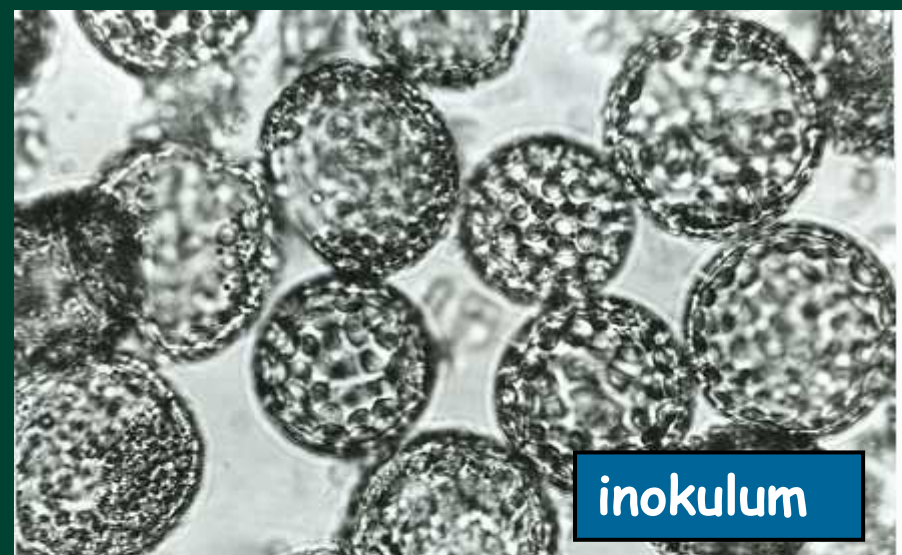


Protoplastová kultura

česnek

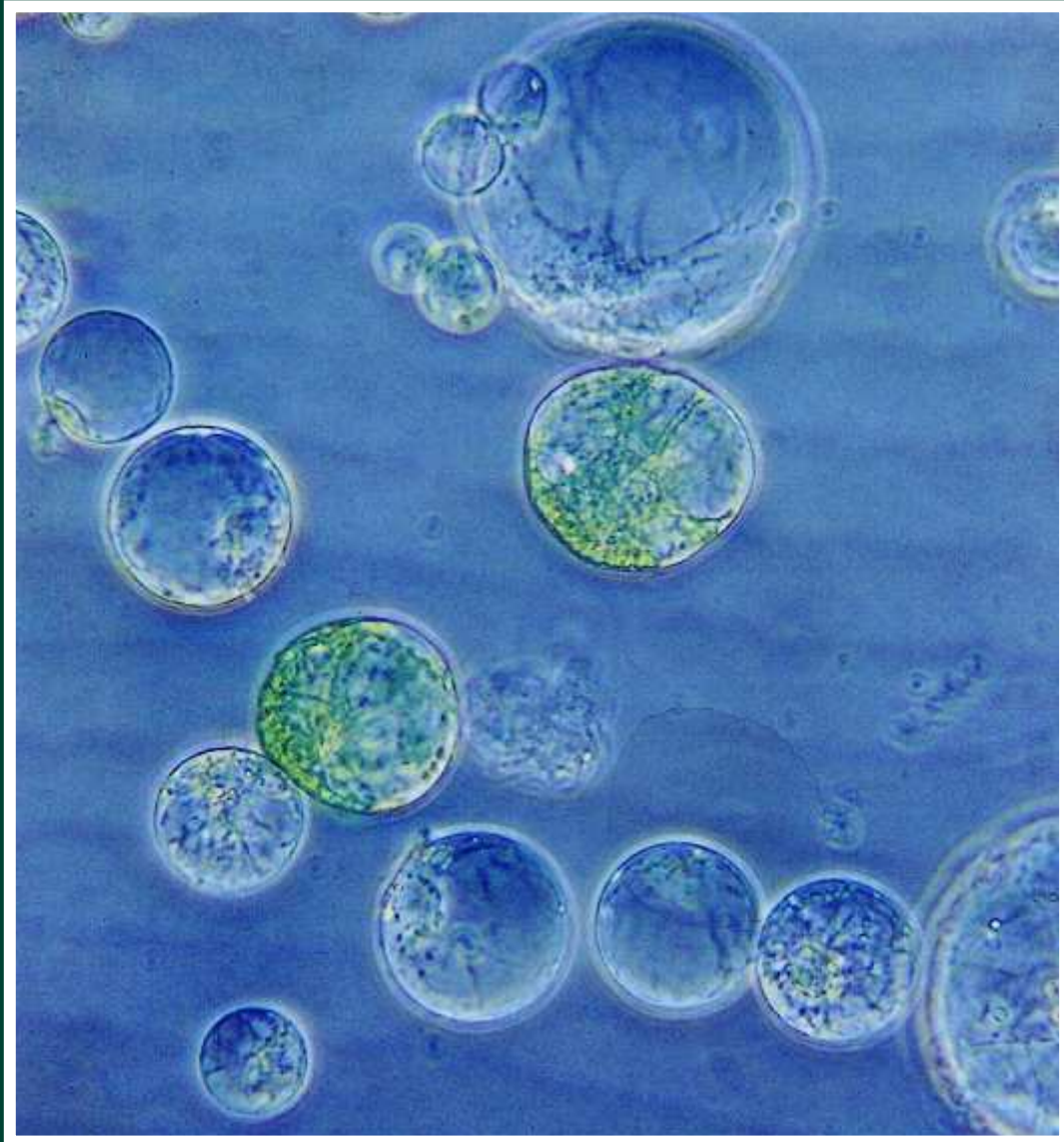


brambor



Protoplast - cytoplasm fuse

Brassica oleracea.



TOMOFFEL / POMATO, **Melchers 1982**



Fig. 29. George Melchers (1906–), with his famous somatic hybrids of potato and tomato obtained by protoplast fusion.

Somatic hybridizace *N. plumbaginifolia* x *N. sylvestris* chromosomální přestavby výrazně odlišných genomů

In situ detection of genome reorganization 865

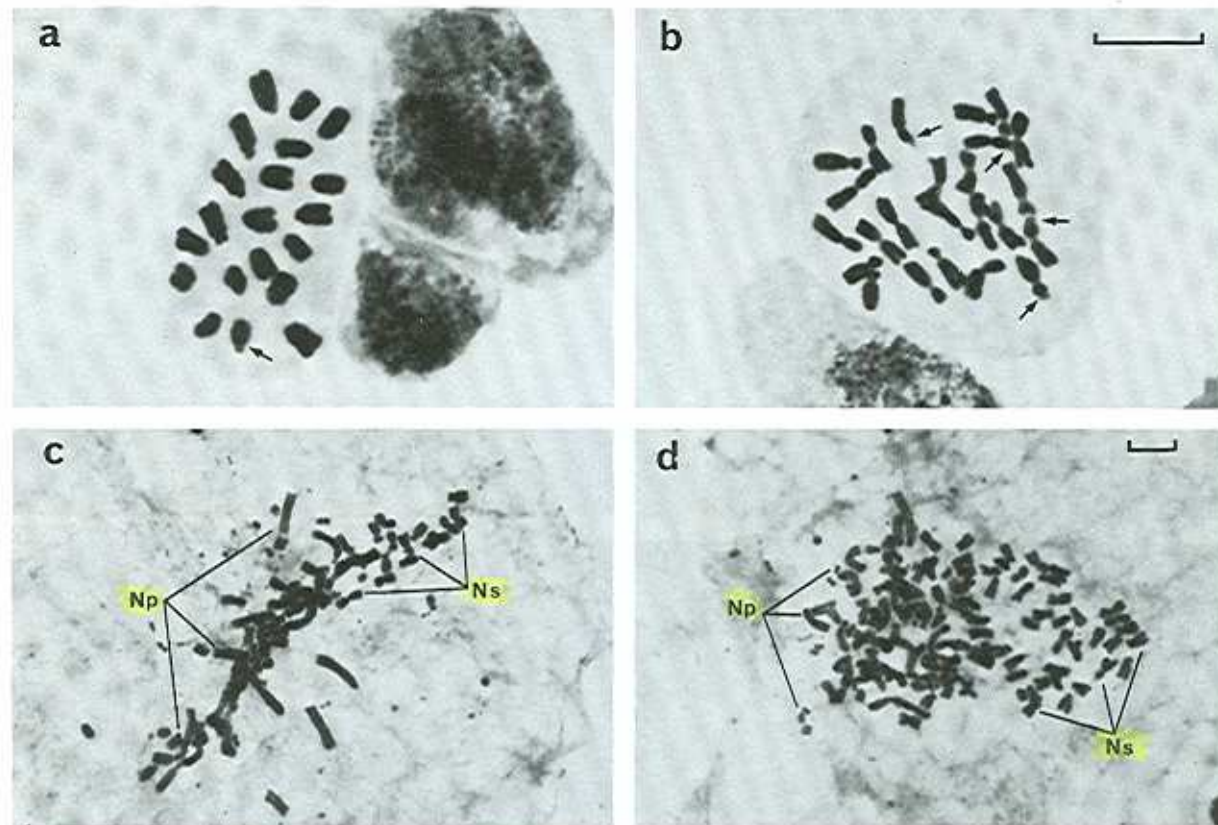


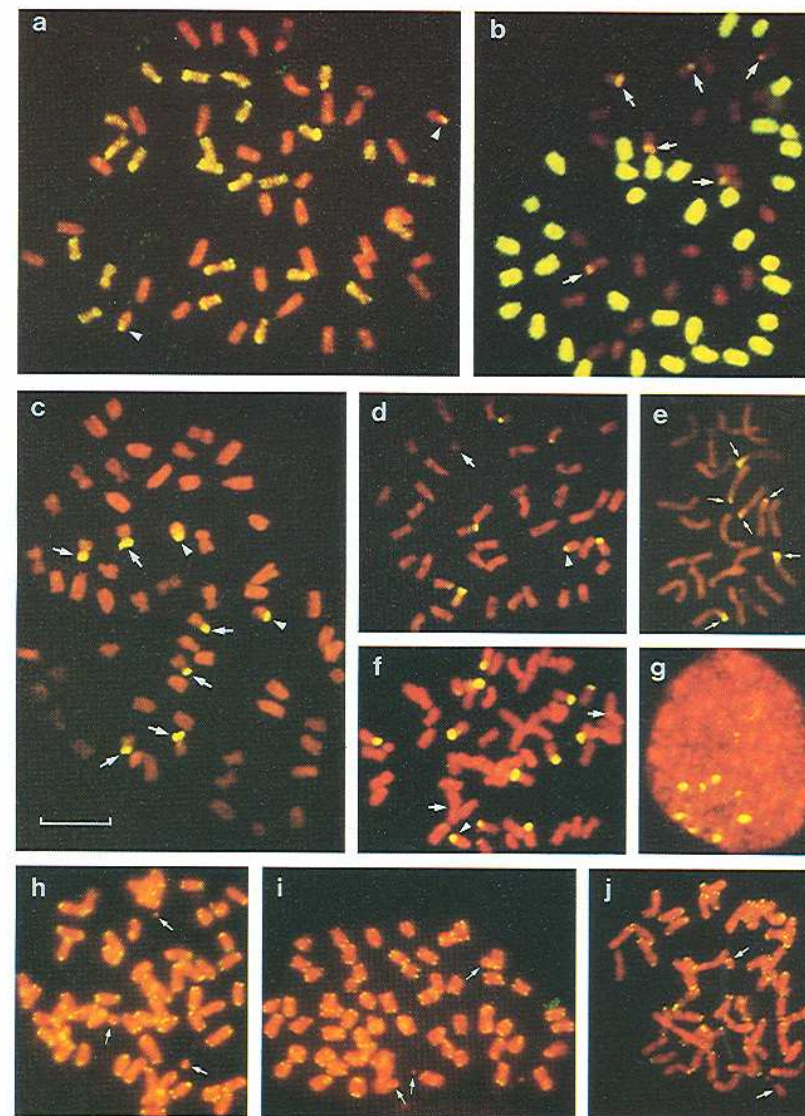
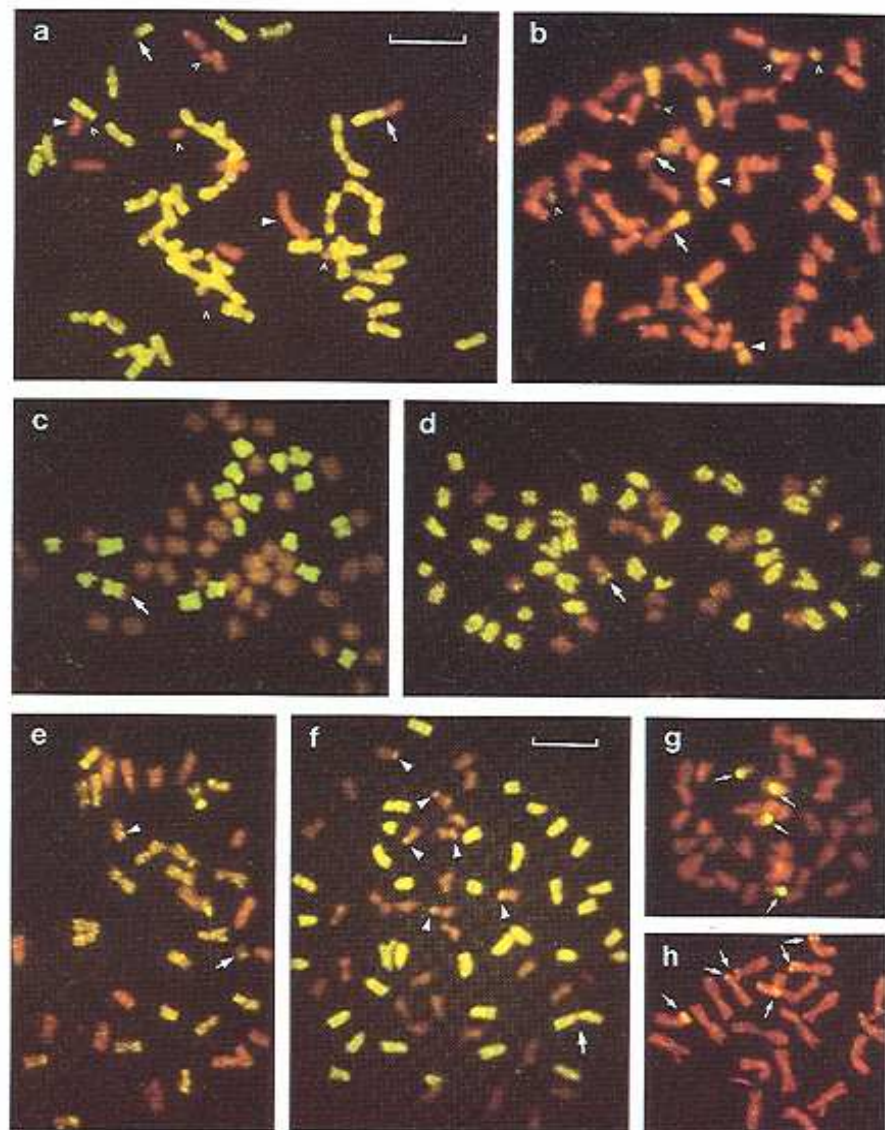
Figure 1. Orcein-stained metaphase chromosomes of *N. plumbaginifolia*, *N. sylvestris* and their cell fusion products.

(a) Metaphase spread from root tip meristem cells of *N. plumbaginifolia* ($2n = 20$).

(b) Metaphase spread from root tip meristem cells of *N. sylvestris* ($2n = 24$).

(c) and (d) First division of the heterokaryons of asymmetric somatic hybrids between *N. plumbaginifolia* and *N. sylvestris*. Mesophyll protoplasts of *N. plumbaginifolia* (donor) were subjected to 1000 Gy of gamma rays prior to cell fusion with non-irradiated protoplasts of *N. sylvestris* (recipient).

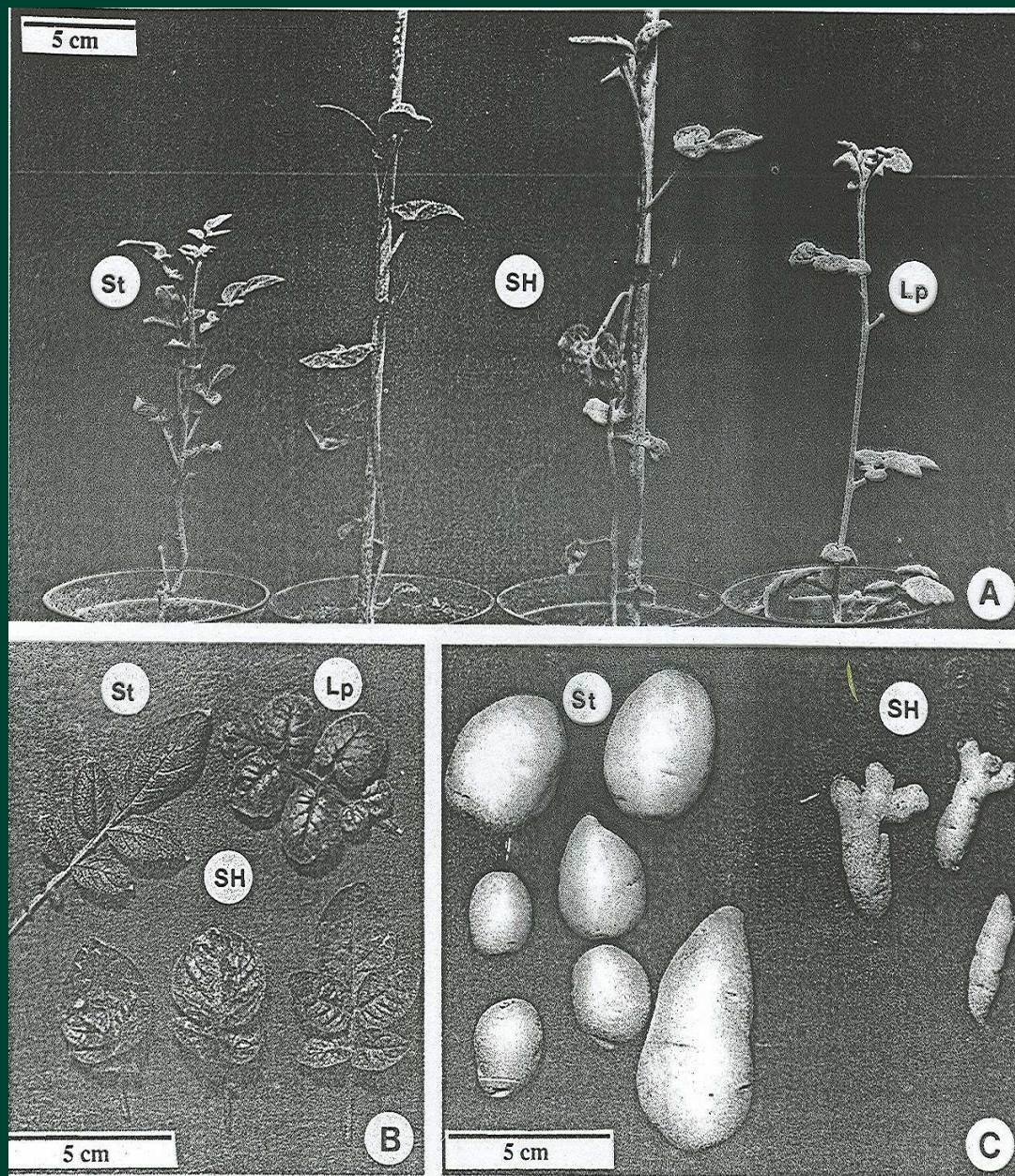
Np and Ns indicate chromosome material from *N. plumbaginifolia* and *N. sylvestris*, respectively. Arrows indicate secondary constrictions. Scale bar in (b) represents 10 μm for (a) and (b). Scale bar in (d) represents 10 μm for (c) and (d).



Indikace chromosomálních přestaveb somatických hybridů
pomocí techniky GISH

Somatiční hybridi kulturního bramboru a planých lilků

přenos resistance
vůči patogenům,
zejména virům



Přesto či proto :
Hád'átek se nebojme, na množství nehled'me



a fenomén HGT pilně studujme !!!!!