

# UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra biochemie



**Optimalizace hydroponické kultivace divokého  
ječmene v přítomnosti bakterií *Enterobacter* sp.**

## BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Autor:	<b>David Tatalák</b>
Studijní program:	B1406 Biochemie
Studijní obor:	Biotechnologie a genové inženýrství
Forma studia:	Prezenční
Vedoucí práce:	<b>Ing. Pavol Vadovič Ph.D.</b>
Rok:	2021

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval/a samostatně s vyznačením všech použitých pramenů a spoluautorství. Souhlasím se zveřejněním bakalářské práce podle zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách, ve znění pozdějších předpisů. Byl/a jsem seznámen/a s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, ve znění pozdějších předpisů.

V Olomouci dne ..... *podpis bakaláře*

## Bibliografická identifikace

Jméno a příjmení autora	David Tatalák
Název práce	Optimalizace hydroponické kultivace divokého ječmene v přítomnosti bakterií <i>Enterobacter</i> sp.
Typ práce	Bakalářská
Pracoviště	Centrum regionu Haná
Vedoucí práce	Ing. Pavol Vadovič Ph.D.
Rok obhajoby práce	2021

### Abstrakt

V důsledku stále se zvyšujících nároků na výnosnost zemědělských plodin je používáno stále větší množství různých umělých chemických látek, zejména se jedná o herbicidy, pesticidy a umělá hnojiva, které pomáhají rostlinám v růstu, ale na druhou stranu působí značné ekologické zatížení okolního prostředí. Proto se velké úsilí věnuje nalezení postupů při pěstování rostlin, které jsou šetrné jak k rostlinám, tak i k okolnímu prostředí. Mezi slibné varianty patří využití prospěšných bakterií. Tyto mají různé přínosné efekty pro rostliny. Mechanismy účinku prospěšných bakterií jsou různé a liší se od druhu bakterie, druhu hostitelské rostliny a prostředí, ve kterém se rostlina nachází.

Teoretická část práce se zabývá mitogenem aktivovanými protein kinasami a jejich signálními drahami, se zaměřením na ječmenové a rýžové kinasy a taky roli kinas během biotického stresu. Druhý oddíl teoretické části práce pojednává o prospěšných bakteriích a jejich interakcích s hostitelskými rostlinami. Důraz je kladen na biotický stres a na námi zkoumaný bakteriální kmen *Enterobacter* sp. SA187.

Experimentální část se soustředí na sledování fenotypových projevů na kořenech ječmene setého (*Hordeum vulgare*) cv. Golden Promise po kultivaci v hydroponických podmínkách společně s bakteriálními kmeny *Enterobacter* sp. SA187 W a SA187 Y. U rostlin byly sledovány tři fenotypové kořenové parametry: délka kořenů, počet kořenů a tloušťka kořenů u inokulovaných a kontrolních rostlin před a po kultivaci s bakteriemi *Enterobacter* sp. SA187 W a SA187 Y.

Klíčová slova	biotický stres, <i>Enterobacter</i> sp. SA187, hydroponie, ječmen setý ( <i>Hordeum vulgare</i> ) cv. Golden Promise, mitogen aktivované protein kinasy, prospěšné bakterie
Počet stran	50
Počet příloh	0
Jazyk	Český

## Bibliographical identification

Autor's first name and David Tatalák  
surname

Title Optimization of the wild type barley plants cultivation  
in hydroponic conditions in the presence of  
*Enterobacter* sp.

Type of thesis Bachelor

Department Centre of the region Haná

Supervisor Ing. Pavol Vadovič Ph.D.

The year of presentation 2021

### Abstract

Due to the ever-increasing demands on the yield of agricultural crops, an increasing number of different artificial chemicals are used, especially herbicides, pesticides and various artificial fertilizers, which help plants to grow. On the other hand, these chemicals are the main reason for considerable ecological burden of the environment. Great efforts are being made to find more environmentally friendly substitutes. Among the most promising ones which have the potential to substitute chemicals are the plant growth promoting bacteria. These bacteria have various beneficial effects on plants. The mechanisms of their action are different and depend upon the type of bacterium, type of the host plant and the environment in which the plant is located.

The theoretical part deals with mitogen-activated protein kinases and their role in signaling pathways, focusing on barley and rice MAP kinases. We discussed also the role of MAP kinases during biotic stress. The second part deals with beneficial bacteria and their interactions with host plants underlying their impact on plants during biotic stress with the focus on the bacterial strain *Enterobacter* sp. SA187.

The experimental part deals with the monitoring of root phenotypic changes in barley (*Hordeum vulgare*) cv. Golden Promise after hydroponic cultivation together with bacterial strains of *Enterobacter* sp. SA187 W and SA187 Y. Three phenotypic root parameters were quantified: root length, number of roots and root thickness of

inoculated and control plants before and after cultivation with *Enterobacter* sp. SA187 W and SA187 Y bacteria.

Keywords biotic stress, *Enterobacter* sp. SA187, hydroponic cultivation, barely (*Hordeum vulgare*) cv. Golden Promise, mitogen activated protein kinase, plant growth promotion rhizobacteria

Number of pages 50

Number of appendices 0

Language Czech

## Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod</b>	1
<b>2</b>	<b>Současný stav řešení problematiky</b>	2
2.1	Jednoděložné rostliny ( <i>Liliopsida</i> )	2
2.1.1	Rýže setá ( <i>Oryza sativa</i> )	2
2.1.2	Ječmen setý ( <i>Hordeum vulgare</i> )	3
2.1.2.1	Odrůda Golden Promise	4
2.1.2.2	Vztah ječmene setého a prospěšných bakterií	4
2.2	Mitogen-aktivované protein kinasy (MAPK)	5
2.2.1	Mitogen-aktivované protein kinasy kinasy kinasy (MAPKKK)	6
2.2.2	Mitogen-aktivované protein kinasy kinasy (MAPKK)	6
2.2.3	Signalizace	6
2.2.3.1	Aktivace MAPK kaskády	6
2.2.3.2	Negativní regulace MAPK kaskády	7
2.2.4	Role MAPK během biotického stresu	7
2.2.5	MAPK ječmene setého (HvMAPK)	9
2.3	Prospěšné bakterie (PGPR)	11
2.3.1	Rhizosféra	11
2.3.2	Kolonizace	12
2.3.3	Vzájemné interakce	14
2.3.3.1	Quorum quenching	15
2.3.4	Podpůrné mechanismy pro růst rostliny	15
2.3.4.1	Fixace živin	15
2.3.4.2	Tvorba chemických látek	17
2.3.4.3	Bioremediace	17
2.3.5	Role prospěšných bakterií během biotického stresu	17
2.3.5.1	Indukovaná systémová rezistence (ISR)	18
2.3.5.2	Produkované chemické látky	18
2.3.6	Budoucí výzkum a možnosti využití prospěšných bakterií	19
2.3.7	Další používané mikroorganismy	20
2.3.7.1	Houbové mikroorganismy	20
2.3.7.2	Viry	21
2.3.8	Nejvíce studované rody bakterií	22
2.3.8.1	Rod <i>Bacillus</i>	22
2.3.8.2	Rod <i>Pseudomonas</i>	23
2.3.8.3	Rod <i>Enterobacter</i>	23
2.3.9	Kmen <i>Enterobacter</i> sp. SA187	23
2.3.9.1	Bližší popis kmene	24
2.3.9.2	Kolonizace rostliny	24
2.3.9.3	Vliv na rostliny	25
2.3.9.4	Solný stres	26
2.4	Hydroponie	27
<b>3</b>	<b>Experimentální část</b>	29
3.1	Materiál	29
3.1.1	Chemikálie	29
3.1.2	Přístroje	29
3.1.3	Rostlinný materiál	29
3.1.4	Bakteriální kultury	29
3.2	Metody	29

3.2.1	Sterilizace rostlinného materiálu	29
3.2.2	Klíčení semen	30
3.2.3	Namnožení bakteriální kultury	30
3.2.4	Centrifugace bakteriální kultury	30
3.2.5	Příprava Hoaglandova roztoku	30
3.2.6	Inokulace Hoaglandova roztoku bakteriálními kulturami	31
3.2.7	Pěstování rostlin v hydroponii	32
3.2.8	Fenotypová analýza	32
3.2.9	Statistická analýza	32
<b>4</b>	<b>Výsledky a diskuse</b>	<b>33</b>
4.1	Kořenové fenotypové změny u ječmene setého v přítomnosti <i>Enterobacter</i> sp.	33
4.1.1	Fenotypové změny délky kořenů ječmene setého v přítomnosti <i>Enterobacter</i> sp.	33
4.1.2	Fenotypové změny počtu kořenů ječmene setého v přítomnosti <i>Enterobacter</i> sp.	35
4.1.3	Fenotypové změny tloušťky kořenů ječmene setého v přítomnosti <i>Enterobacter</i> sp. SA187 Y	37
<b>5</b>	<b>Závěr</b>	<b>40</b>
<b>6</b>	<b>Literatura</b>	<b>41</b>
<b>7</b>	<b>Seznam použitých zkratk</b>	<b>50</b>



## **Cíle bakalářské práce**

### **Teoretická část**

- Zpracování literární rešerše na téma role MAP kinas při buněčném signalingu u ječmene a rýži při biotickém stresu.
- Zpracování literární rešerše na téma využití prospěšných bakterií k růstu biotechnologicky významných plodin.

### **Praktická část**

- Stanovení optimálních podmínek kultivace rostlin divokého ječmene s bakterií *Enterobacter* sp. v hydroponických podmínkách.
- Fenotypová analýza rostlin divokého ječmene kultivovaných v hydroponických podmínkách v přítomnosti bakterií *Enterobacter* sp.

## 1 Úvod

V dnešní době neustále roste celosvětová poptávka po produkci stále většího množství zemědělsky důležitých plodin pro člověka i pro různá hospodářská zvířata (Jayakumar *et al.*, 2020). Mezi nejdůležitější zemědělské plodiny se řadí rýže a ječmen, společně s kukuřicí a pšenicí (Harwood, 2019). Snahy o zvýšení produkce významných plodin však mají za následek rozšířené využívání různých chemických látek, jako umělá hnojiva, pesticidy, herbicidy a dalších, které podporují růst rostlin a zvyšují jejich celkový výnos. Některé poskytují plodinám také ochranu proti různým biotickým a abiotickým vlivům. Tyto látky mají ovšem negativní vliv na životní prostředí a samotného člověka, takže dochází ke stále intenzivnějšímu hledání vhodných ekologičtějších náhrad těchto látek (Jayakumar *et al.*, 2020).

Jednou ze slibných alternativ k používání chemických přípravků v zemědělství je využití tzv. prospěšných mikroorganismů. Tyto mikroorganismy se vyskytují v rhizosféře kořenů rostlin a dokonce dokáží kolonizovat vnitřní části rostlinného těla a společně s rostlinou tvoří komplexní vztahy rostlina-mikroorganismus. U mnoha mikroorganismů radících se do skupiny prospěšných mikroorganismů byla prokázána řada pozitivních efektů na růst a vývoj rostliny, zvýšení ekonomického výnosu rostlin a dokonce lepší zvládnutí stresových podmínek (Lugtenberg a Kamilova, 2009; Bhattacharyya a Jha, 2012). Poměrně nově objeveným bakteriálním kmenem je *Enterobacter* sp. SA187, u kterého bylo zatím prokázáno vyvolání zvýšené tolerance rostlin *Arabidopsis thaliana* na solný stres (de Zélicourt *et al.*, 2018). Uvedeným kmenem se zabývá tato bakalářská práce.

Všechny výše zmíněné procesy jsou uvnitř rostliny řízeny pomocí různých signálních drah, mezi nejdůležitější a nejvíce prozkoumané signální dráhy patří tzv. mitogenem-aktivované protein kinasové signální dráhy (Šamajová *et al.*, 2013). U jednoděložných rostlin byly nejlépe prostudovány a pochopeny u rýže seté (Chen *et al.*, 2021). Poznatky získané studiem těchto drah u rýže jsou dále aplikovány na ostatní jednoděložné rostliny, v tomto případě na ječmen setý.

## 2 Současný stav řešené problematiky

### 2.1 Jednoděložné rostliny (*Liliopsida*)

Třída jednoděložných rostlin (latinsky *Liliopsida*) je skupina rostlin patřící mezi vyšší krytosemenné rostliny, přesněji do jediného existujícího oddělení *Magnoliophyta*. V tomto oddělení se ještě nacházejí nižší dvouděložné (*Magnoliopsida*) a vyšší dvouděložné rostliny (*Rosopsida*) a společně tvoří nejpočetnější skupinu rostlin. Z evolučního hlediska se jednoděložné rostliny vyvinuli z nižších dvouděložných rostlin. Mezi typické znaky jednoděložných rostlin patří ataktostélická stavba stonku, hlavní kořen zaniká a je nahrazen adventivními kořeny, zárodky mají jen jednu dělohu, stonek druhotně netloustne, trojčetný homochlamydní květ, který může být jednopohlavní i dvoupohlavní. Tato třída obsahuje asi 20 řádů, mezi které patří řada důležitých hospodářsky důležitých plodin jako obiloviny, banánovníky a palmy a také některé oblíbené okrasné květiny kupříkladu lilie, tulipány, konvalinky, kosatce a orchideje (Kalina a Slavíková, 2003).

#### 2.1.1 Rýže setá (*Oryza sativa*)

Rýže setá, latinsky *Oryza sativa*, je jednoděložná rostlina, která se stejně jako ječmen setý řadí mezi traviny a následně mezi obiloviny. Rod rýže obsahuje celkem 22 druhů, z toho 20 druhů je divoce rostoucích a dva jsou člověkem domestikované a pěstované druhy (Muthayya *et al.*, 2012; OECD, 1999). Jedním z nich je africká varianta rýže s názvem *Oryza glaberrima*, která byla pravděpodobně domestikována nezávisle na rýži seté zhruba před 3000 lety v Nigerii (Portéres, 1976). Tento druh ovšem není světově tak ekonomicky důležitý jako rýže setá. Samotná rýže setá se ještě dělí do dvou poddruhů s označením *japonica* a *indica* (Khush, 1997). První domestikovaný poddruh byl *Oryza japonica*, a to zhruba před 10000 lety v oblasti kolem Perlové řeky v jižní Číně z divokého druhu *Oryza rufipogon*. *Oryza indica* byla následně vytvořena, když došlo k rozšíření poddruhu *Oryza japonica* do dalších částí Asie, zejména do Indie a následnému křížení tohoto poddruhu s místními divokými druhy rýže (Huang *et al.*, 2012). V dnešní době existují tisíce jednotlivých kultivarů rýže, přičemž rýže je jednou z nejdůležitějších a nejvíce pěstovaných rostlin na světě, kdy 90% celkové úrody se vypěstuje v asijských zemích (Muthayya *et al.*, 2012).

Po genetické stránce je genom poddruhu *Oryza japonica* velký zhruba 420 megabází a měl by obsahovat 32000 až 50000 jednotlivých genů (Goff *et al.*, 2002).

Genom poddruhu *Oryza indica* je dlouhý zhruba 466 megabází a obsahuje 46022 až 55615 genů (Yu *et al.*, 2002). Jedním z důvodů, proč se rýže setá stala modelovým organismem pro obiloviny, je fakt, že má z obilovin nejkratší genom (Goff *et al.*, 2002) a díky tomu byla velice detailně prostudována. Díky znalostem o genomu rýže seté existují její podrobné genetické mapy a protokoly pro genetickou transformaci (Tao *et al.*, 1994; Umehara *et al.*, 1995). Druhým důvodem je, že k 98% genů v genomu rýže můžeme najít příslušné homology u ostatních obilovin jako kukuřice, ječmen a pšenice (Goff *et al.*, 2002). V neposlední řadě je také důležitý fakt, že rýže, oproti ostatním obilovinám, má nejvíce prostudované signální dráhy mimo jiné mitogenem-aktivované protein kinasy (MAPK) a používá se jako modelová rostlina při MAPK drahách pro ječmen setý (Chen *et al.*, 2021).

### **2.1.2 Ječmen setý (*Hordeum vulgare*)**

Ječmen setý, latinsky *Hordeum vulgare*, se řadí do třídy jednoděložných rostlin, řádu lipnicotvarých (*Poales*) a čeledi lipnicovitých (*Poaceae*) (Schnurbusch, 2019). Jedná se o obilovinu, která je jednou z nejvíce pěstovaných na světě společně s kukuřicí, rýží a pšenicí. Mezi největší pěstitele ječmene patří Rusko, Německo, Francie, Ukrajina, Austrálie a Kanada. Ječmen se nejvíce používá ke krmení užitkových zvířat a při výrobě piva, přesněji při výrobě sladu (Harwood, 2019). Obilovina se vyznačuje značnou odolností vůči různým biotickým a abiotickým stresům. K nejdůležitějším vlastnostem ječmene patří zvládání solného stresu a zvýšená rezistence vůči houbovému patogenu padlí (Kumar *et al.*, 2012).

Z historického hlediska došlo k domestikaci ječmene zhruba před 10000 lety na území dnešního Izraele, Jordánska, Turecka, Iráku a Iránu. Toto území je často označované jako tzv. úrodný půlměsíc (Zohary a Hopf, 2000). Další zmínky o domestikaci ječmene pochází z území Himalájí, Etiopie a Maroka (Dai *et al.*, 2012; Bekele, 1983; Molina-Cano *et al.*, 1987). Jako předek, ze kterého byl ječmen setý vyšlechtěný, se považuje druh *Hordeum spontaneum*. Jedná se o divoce rostoucí rostlinu ječmene, která se ve většině výše uvedených oblastech stále nachází (Badr *et al.*, 2000). Mezi nejdůležitější změny, ke kterým došlo u ječmene během domestikace, patří: zvýšení počtu produkovaných semen, zlepšení fertility semen, změna tvaru a velikosti semen a také celková změna morfologie samotné rostliny (Pourkheirandish a Kamatsuda, 2007).

Ječmen je jednoděložná rostlina a tomu také odpovídá stavba jejího těla. Stonek se skládá z dutých stébel, která jsou spojena jednotlivými kolénky. Listy vyrůstají po jednom ze stébla a každý list je umístěn naproti předchozímu. Stonek je zakončen klasem, který obsahuje jak samčí, tak samičí pohlavní orgány a po oplození obsahuje jednotlivá semena. Mezi odrůdami ječmene setého se vyskytují dvě varianty uspořádání klasů a to buď má klas celkem šest sloupců semen, nebo jen dva sloupce. Semena jsou též označována jako obilky. Kořenová soustava je tvořena svazčitými kořeny. (Reid, 1985).

Z genetického hlediska se jedná o diploidní rostlinu, která obsahuje celkem 7 párů chromozomů ( $2n = 14$ ) (Ramage, 1985). Díky své diploidii a malému počtu chromozomů se ječmen používá jako modelová rostlina při genetických studiích. Na druhou stranu má ovšem značně rozsáhlý genom, který čítá okolo 5,1 gigabázových párů (Gbp). Typické pro složení genomu ječmene jsou časté repetice určitých částí DNA (Mayer, 2012). Předpokládá se, že ječmen nese přes 39000 jednotlivých genů (Mascher *et al.*, 2017).

### **2.1.2.1 Odrůda Golden Promise**

Golden Promise je poněkud nová odrůda ječmene setého. Byla vyšlechtěna v roce 1956 pomocí ozáření odrůdy Maythorpe  $\gamma$ -zářením. Jedná se o polozakrslou jarní variantu ječmene. Vyznačuje se dobrým výnosem, dobrými vlastnostmi ve sladovnictví, zejména při výrobě whisky a vysokou tolerancí vůči soli. Její nevýhoda spočívá v náchylnosti na častý patogen padlí. V laboratořích je tato odrůda velice populární a hraje klíčovou roli při transformacích ječmene a zkoumání vlivů abiotických a biotických stresových faktorů na ječmen (Ohnoutková, 2019; Schreiber *et al.*, 2020).

### **2.1.2.2 Vztah ječmene setého a prospěšných bakterií**

Ječmen, jako všechny ostatní rostliny, ve své rhizosféře obsahuje velké množství různých mikroorganismů, které mají na rostlinu podstatný vliv. Složení mikrobiomu ječmene závisí na jeho odrůdě, na zeměpisné oblasti pěstování, stáří a stavu rostliny a okolních podmínkách. Velice užitečnou skupinou bakterií pro rostliny jsou tzv. prospěšné bakterie, které podporují růst rostliny (PGPR, z angl. Plant Growth Promoting Bacteria). Podle studií na více druzích ječmene vyplynulo, že nejvíce zastoupenými kmeny prospěšných bakterií jsou kmeny *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* a *Verrucomicrobia* (Terrazas *et al.*, 2020).

Díky intenzivnímu výzkumu prospěšných bakterií, jsou objevovány stále nové kmeny, které mají pozitivní efekty na různé druhy rostlin. Ječmen byl studován v kombinaci s řadou různých prospěšných bakterií, které se přirozeně nenacházejí v jeho rhizosféře. U ječmene se nejčastěji sledují prospěšné bakterie, které podporují růst rostliny v podmínkách abiotických stresů, zejména solného stresu (Chang *et al.*, 2014) a stresu z nízkých teplot (Turan *et al.*, 2012). Také byly zkoumány prospěšné bakterie, u kterých bylo prokázáno, že napomáhají rostlině s příjmem makro a mikroelementů z prostředí (N, P a Fe) (Canbolat *et al.*, 2006; Çakmakçı *et al.*, 2007). Například semena ječmene inokulovaná kmenem bakterií *Bacillus* RC01 a *Bacillus* M-13, které dokážou solubilizovat fosfor a vázat vzdušný dusík, měla lepší zkoumané parametry jako kontrolní rostliny a pozitivní efekt bakterie *Bacillus* RC01 na rostlinu byl zachován po dlouhou dobu (Canbolat *et al.*, 2006). Během solného stresu bylo prokázáno, že semena ječmene inokulována kombinací bakteriálních kmenů *Pseudomonas* sp. UW3 a UW4 lépe zvládala solný stres a došlo ke zvýšení růstu kořenových a stonkových částí rostliny oproti kontrolnímu vzorku (Chang *et al.*, 2014).

## **2.2 Mitogenem-aktivované protein kinasy u rostlin (MAPK)**

Mitogenem-aktivované protein kinasy, často označované zkratkou MAPK, jsou velice důležité enzymy, které se nacházejí uvnitř všech eukaryotických organismů (Komis *et al.*, 2018). Podílejí se na přenosu a zesílení signálu z vnějšího prostředí dovnitř do organismu a taky v rámci samotného organismu. Jsou součástí tzv. MAPK kaskád. Ta je tvořena mitogenem-aktivovanou protein kinasou kinasou kinasou (MAPKKK) dále mitogenem-aktivovanou protein kinasou kinasou (MAPKK) a mitogenem-aktivovanou protein kinasou (MPK). Signál, respektive vnější podnět je přijat na receptoru, který se nachází na povrchu buňky a je postupně přes MAPK kaskádu přenesen až na konečný substrát (místo účinku), kde dochází k odpovědi na přijatý podnět. Celý tento systém se podílí na různých důležitých biologických pochodech uvnitř rostliny, jako například na procesu dělení buněk, samotném buněčném cyklu, celkovém růstu a vývoji rostliny, dále se podílí na hormonální signalizaci u rostliny a v neposlední řadě na odpovědi rostliny na různé druhy biotického a abiotického stresu. Mezi nejdůležitější příklady abiotického stresu u rostlin patří solný stres, stres ze sucha a tepla a stres z nízkých teplot (Šamajová *et al.*, 2013; Rodriguez *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2006).

Z historického hlediska k prvním objevům rostlinných MAPK docházelo od roku 1993, kdy byla zdokumentovaná první kináza MsERK1 u rostliny *Medicago sativa* (Duerr *et al.*, 1993) a D5 kinasa u hrachu (Stafstrom *et al.*, 1993). Od té doby byly MAPK nalezeny a studovány u mnoha rostlinných druhů, kupříkladu u houseničky rolního (*Arabidopsis thaliana*), tabáku (*Nicotiana benthamiana*), tolíce vojtěšky (*M. sativa*), (Tena *et al.*, 2001), rýže seté (*Oryza sativa*) (Chen *et al.*, 2021), ječmene setého (*Hordeum vulgare*) (Křenek *et al.*, 2015; Cui *et al.*, 2019), atd. Z výše uvedených rostlin byly MAPK kaskády nejpodrobněji zmapovány a vysvětleny u *A. thaliana*, která obsahuje 20 MAPK, 10 MAPKK a 60 MAPKKK (Ichimura *et al.*, 2002).

### **2.2.1 Mitogenem-aktivované protein kinasy kinasy kinasy (MAPKKK)**

MAPKKK, zmiňovány i pod zkratkou MAP3K nebo MEKK, tvoří první linii enzymů signální kaskády. Jsou aktivovány pomocí signálů vznikajících na receptorech v důsledku různých vnějších podmětů a signál je pak dále přenášen na MAPKK (Šamajová *et al.*, 2013). Celkově se jedná o nejvíc zastoupenou skupinu kinas, která obsahuje řadu enzymů lišících se v jejich primárních strukturách (Ichimura *et al.*, 2002). Například rýže obsahuje 75 OsMAPKKK, které se dále dělí do tří skupin, z toho 43 patří do tzv. Raf OsMAPKKK rodiny, 22 do tzv. MEKK OsMAPKKK rodiny a 10 do tzv. ZIK OsMAPKKK rodiny (Chen *et al.*, 2021).

### **2.2.2 Mitogenem-aktivované protein kinasy kinasy (MAPKK)**

MAPKK, též označované MAP2K, MEK, MKK, jsou prostředním článkem kinasových kaskád a předávají signál z MAPKKK na MAPK. Ze studie různých rostlinných druhů vyplývá, že MAPKK jsou, oproti MAPK a MAPKKK, nejméně druhově rozmanitou skupinou kinas (Hamel *et al.*, 2006). Rýže má 15 OsMAPK, ale jen 8 OsMAPKK (Chen *et al.*, 2021). Z toho se dá usuzovat, že jedna MAPKK je schopna aktivovat více MAPK a také je pravděpodobné, že tyto kinasy zprostředkovávají tzv. cross-talk mezi jednotlivými signálními dráhami (Ichimura *et al.*, 2002).

### **2.2.3 Signalizace**

#### **2.2.3.1 Aktivace MAPK kaskády**

Jak už bylo výše zmíněno, MAPK kaskády jsou třístupňový systém, který se skládá ze tří úrovní kináz, MAPKKK, MAPKK a MAPK. K aktivaci kaskád a přenosu signálu dochází díky procesu fosforylace, kdy v prvním kroku dochází k fosforylaci MAPKKK,

v důsledku působení vnějšího podmětu, jako je např. sucho, vysoká nebo nízká teplota, zasolení, nedostatek živin, poranění, infekce patogenem nebo látkami, které rostlina produkuje za stresových podmínek, jako reaktivní formy kyslíku (ROS), reaktivní formy dusíku (RNS), rostlinné hormony atd. (Šamajová *et al.*, 2013; Morris, 2001; Xiong *et al.*, 2002; Devoto a Turner, 2003). Aktivovaná MAPKKK fosforyluje MAPKK na dvou serinových nebo threoninových místech v S/T-X<sub>5</sub>-S/T motivu v aktivační smyčce (kde S = serin, T = threonin a X = libovolná aminokyselina) (Nakagami *et al.*, 2005). Následně dojde k aktivaci MAPK díky dvojitě fosforylaci threoninu a tyrosinu v T-X-Y motivu v aktivační smyčce (kde T = threonin, Y = tyrosin a X = libovolná aminokyselina) MAPK kinázou (Jonak *et al.*, 2002). Aktivovaná MAPK je schopna dále ovlivňovat celou řadu efektorových proteinů v jádře a cytoplazmě, konkrétně se jedná o další kinasy, enzymy a různé transkripční faktory (Khokhlatchev *et al.*, 1998). Správné navázání a předání signálu je mezi všemi členy kaskády zprostředkováno pomocí dokovacích míst na jednotlivých kinasách a pomocí tzv. „scaffold“ proteinů (Hamel *et al.*, 2006; Ichimura *et al.*, 2006).

### **2.2.3.2 Negativní regulace MAPK kaskády**

K inaktivaci MAPK kaskády dochází pomocí defosforylace threoninu a tyrosinu v T-X-Y motivu v T-smyčce MAPKK. Podle některých zdrojů by měla stačit defosforylace pouze jedné ze dvou uvedených aminokyselin, aby došlo k inaktivaci kaskády (Tena *et al.*, 2001). Celý proces je zprostředkován pomocí enzymů - fosfatasy. Fosfatasy se dělí do dvou skupin: serin/threonin specifické protein fosfatasy, jako například PP2A a PP2C a fosfotyrosin protein fosfatasy (PTP). Mezi nejdůležitější PTP patří tyrosin specifické protein fosfatasy a dvojitě specifické fosfatasy (DSP). Fosfatasy se tvoří a nacházejí v různých částech buňky (Luan, 2003; Tonks a Neel, 2001). Častým regulačním mechanismem kaskády je tzv. negativní kontrolní smyčka, kdy při aktivaci MAPK kaskády dochází zároveň k transkripční aktivaci fosfatasy, které zpětně deaktivují danou kaskádu (Tena *et al.*, 2001).

### **2.2.4 Role MAPK během biotického stresu**

Během svého životního cyklu jsou rostliny vystavovány nespočtu různých mikroorganismů, které se nacházejí jak ve vodě a půdě tak i ve vzduchu. Tento kontakt vyvolává u rostliny tzv. biotický stres. Za miliony let evoluce si rostliny vyvinuly složitý



víceúrovňový systém obrany proti patogenům, ve kterém mají MAP kinasové kaskády nezastupitelnou úlohu.

Při napadení rostliny patogenem dochází k detekci tzv. patogen-asociovaných molekulárních vzorů (PAMP z angl., Pathogen Associated Molecular Pattern) nebo mikrobiálně-asociovaných molekulárních vzorů (MAMP z angl., Microbe Associated Molecular Pattern) na povrchu patogenu pomocí buněčných receptorů rozeznávajících tyto strukturní motivy (PRR z angl., Pattern Recognition Receptors) (Jaggi, 2018; Kishy-Kaboshi *et al.*, 2010). Mezi doposud prozkoumané PAMP molekulární vzory patří houbové chitinové oligomery, bakteriální lipopolysacharidy, bakteriální flagelinové peptidy a jiné (Macho a Zipfel, 2014). Detekce PAMP nebo MAMP motivů pomocí PRR následně u rostlin vyvolá tzv. PAMP-vyvolanou imunitní odpověď (PTI) nebo MAMP-vyvolanou imunitní odpověď (MTI). Při té dochází také k aktivaci MAPK signálních drah. Celý tento proces probíhá v buňce značně rychle, přičemž může docházet i k drastickým změnám celé buňky, jako je třeba programovaná buněčná smrt (Jaggi, 2018).

Některé patogeny se ve snaze obejít PTI imunitní odpověď adaptovaly a po napadení rostliny začínají produkovat tzv. efektorové proteiny, které mají za úkol zablokovat PTI imunitní odpověď rostliny (Boller a He, 2009; Feng a Zhou, 2012). V tomto případě se jedná o efektozem-vyvolanou imunitu (ETI) a rostlina tvoří imunitní odpověď jako reakci na intracelulární efektozy patogenu. Během ETI dochází k mnohem silnější a dlouhotrvající imunitní odpovědi na infekci patogenem a taky může vyústit až v programovanou smrt samotné buňky (Dodds a Rathjen, 2010; Jones a Dangl, 2006).

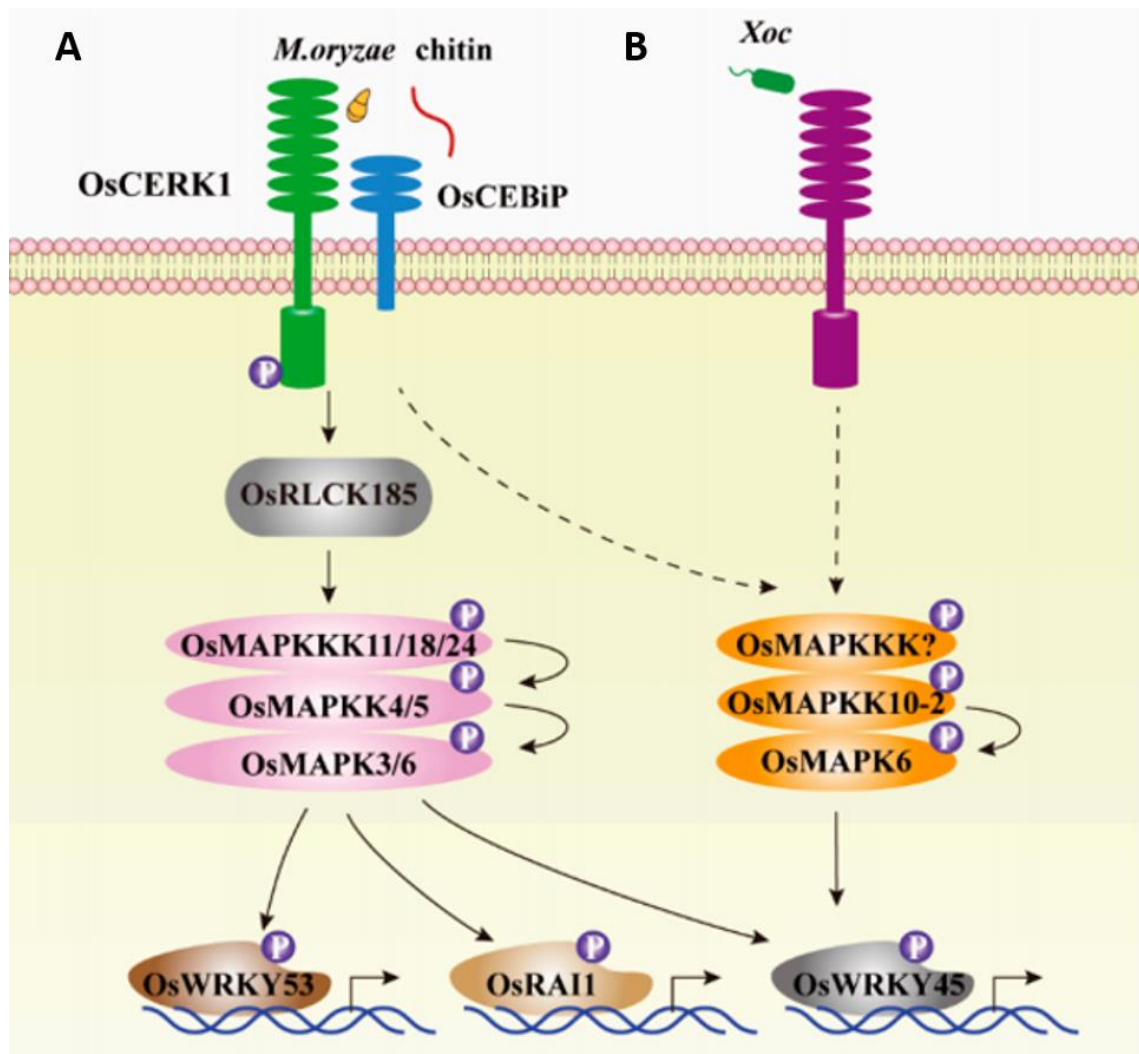
MAPK kaskády se tedy během biotického stresu podílejí na přenosu signálu a řízení různých metabolických procesů uvnitř rostliny a samotných buněk. Mezi nejdůležitější procesy, u kterých kinasové dráhy hrají roli, patří produkce a regulace reaktivních forem kyslíku, aktivace obraných genů, regulace hladin důležitých fytohormonů jako kyselina jasmonová a salicylová, ethylenu, syntéza fytoalexinu, který slouží jako antimikrobiální látka. Na buněčné úrovni se pak podílejí na změně stavby buněčné stěny, uzavírání průduchů a programované buněčné smrti (Šamajová *et al.*, 2013; Meng a Zhang, 2013).

Například u rýže byla dobře prostudována kinasová signální dráha, kdy jako PAMP slouží chitin, který se nachází v buněčné stěně hub. Na chitin reaguje receptor

v buněčné stěně rýže s označením CEBiP, který je navázán na receptorovou kinázu OsCERK1. OsCERK1 následně fosforyluje protein OsRLCK185, jež aktivuje kinasovou kaskádu. Signál je následně předáván z OsMAPKKK18 nebo OsMAPKKK24 přes OsMAKK4 až na jednotlivé MAP kinázy OsMPK3 a OsMPK6, které aktivují syntézu antimikrobiálních látek (Obr. 1) (Kawasaki *et al.*, 2017).

### 2.2.5 MAPK ječmene setého (HvMAPK)

I když je ječmen setý jednou z nejdůležitějších zemědělských plodin na světě (Harwood, 2019), tak ječmenové MAPK zatím nebyly zásadně prozkoumány. Jako modelová rostlina pro studium MAPK se používá *Arabidopsis thaliana*, protože má nejlépe



Obr. 1:: Schéma rýžové MAPK signální kaskády během vystavení biotickému stresu. (A) Jako PAMP slouží chitin nebo *M. oryzae*, na které reaguje receptor OsCEBiP na buněčné stěně, jež je navázaný na receptorovou kinázu OsCERK1, která dále fosforyluje protein OsRLCK185 a dojde ke spuštění MAPK signální dráhy a signál vede k aktivaci různých transkripčních faktorů. (B) Podobný efekt má i bakteriální patogen *Xoc* (Upraveno podle Chen *et al.*, 2021).

zdokumentované jak jednotlivé kinasy, tak celé kinasové kaskády. Problémem je, že se jedná o dvouděložnou rostlinu. Proto se jako modelová rostlina pro ječmen používá rýže setá, která patří mezi jednoděložné rostliny a v dnešní době má do značné míry prostudované nejdůležitější části MAPK kaskád (Chen *et al.*, 2021).

Podle posledních studií celkový počet ječmenných mitogenem-aktivovaných protein kinas s označením HvMAPK, odpovídá číslu 182, z toho je 20 HvMPK, 6 HvMAPKK a 156 HvMAPKKK. Takto přesné výsledky byly docílené díky dobré znalosti genomu ječmene a jeho následné analýze. Nejvíce MAPK genů bylo nalezeno v jádře, plasmatické membráně a cytoplasmě. Všem objeveným ječmenným kinasám byly přiřazeny příslušné orthology kinas z *A. thaliana* a rýže. Orthology mají mezi sebou velmi podobnou aminokyselinovou sekvenci. Nejpodobnější orthology kinas s ječmenem mají rostliny *Brachypodium*, rýže setá, čirok (*Sorghum*) a kukuřice setá (*Zea Mays*) (Cui *et al.*, 2019).

HvMAPKKK se dále dělí do 3 podskupin, kde 124 kinas se nachází v Raf podskupině, 28 v MEKK podskupině a nejmenší ZIK podskupina obsahuje pouze 4 kinas. Podskupiny se mezi sebou liší v aminokyselinové sekvenci aktivační smyčky a v uspořádání a počtu exonů a intronů v HvMAPKKK genech (Cui *et al.*, 2019). HvMAPKK se stejně jako HvMAPK dělí do 4 podskupin označovaných písmeny od A do D. U MAPK se podskupiny A až C se skládají z tzv. TEY MAPK a největší skupina D se skládá pouze z TDY MAPK. Mezi podskupinami mají kinasy rozdílné aminokyselinové složení motivu v T-smyčce, stejně jako u HvMAPKKK se liší obsahem exonů a intronů uvnitř genu, atd.. V podskupině A se nachází například HvMPK3, v podskupině B HvMPK4. HvMPK7 je v podskupině C a podskupina D obsahuje HvMPK16 a 17 (Goyal *et al.*, 2018).

Ze studií vyplynulo, že mezi nejvíce kosmopolitní kinasy u ječmene patří HvMPK6, HvMPK7, HvRaf64, HvRaf87 a HvZIK2. Na druhou stranu některé kinasy se vyskytovali pouze ve specifických stádiích vývoje a jen v některých částech rostliny. Například HvRaf103 a HvRaf49 se nacházeli u stárnoucích listů ječmene, HvMPK20-5 u pokožkových buněk a HvRaf66 u kořenů. Co se týká vztahu ječmenných kinas a různých abiotických stresů, tak je potřeba provést další podrobnější zkoumání. Zatím se předpokládá, že například HvRaf124 a HvMAPKK5 se podílí na regulování stresu z vysokých teplot, HvRaf28, HvRaf113, HvZIK4 a HvRaf56 hrají určitou roli u solného

stresu a HvMPK21-1, HvMPK11, HvRaf41, HvRaf4, HvRaf70, HvRaf109, HvZIK3 a HvZIK4 mají nějaký vliv během stresu způsobeného těžkými kovy (Cui *et al.*, 2019; Goyal *et al.*, 2018).

## 2.3 Prospěšné bakterie (PGPR)

Prospěšné mikroorganismy, také označované pod zkratkami PGPB (angl. Plant growth promoting bacteria), PGPR (angl. Plant growth promoting rhizobacteria), PGPM (angl. Plant growth promoting microbes) nebo také prospěšné endofytické mikroorganismy, jsou skupina mikroorganismů, které se vyskytují v okolí kořenových systémů rostlin a svou přítomností nijak neškodí dané rostlině, ba naopak mají různé kladné efekty na vývoj a přežití rostliny v prostředí. Do této skupiny patří různé druhy bakterií, jako například *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Micrococcus*, *Microbacterium*, *Stenotrophomonas*, (Lugtenberg a Kamilova, 2009; Bhattacharyya a Jha, 2011), ale i některé druhy hub, jako *Aspergillus*, *Penicillium*, *Piriformospora*, *Phoma* a *Trichoderma* (Hossain *et al.*, 2017)

Mezi nejdůležitější podpůrné mechanismy, kterými prospěšné bakterie prospívají hostitelské rostlině, patří: fixace důležitých živin z prostředí (dusík, fosfor a draslík), tvorba a regulace rostlinných hormonů (auxiny, cytokininy, gibereliny, ethylen a kyselina abscisová), ovlivnění tvorby sekundárních metabolitů rostliny během různých abiotických stresů (prolin, antioxidanty a polyamin) a napomáhání zvládnutí biotických stresů (viz kapitola Biotický stres) (Beris a Vassilakos, 2020).

Důvodem zvýšeného zájmu o tyto mikroorganismy je, kromě výše zmíněných přínosů, jejich minimální ekologická zátěž na životní prostředí. V dnešní době jsou často kladeny vysoké nároky na efektivitu a kvantitu produkce v zemědělství a proto jsou ve větším množství používány různé chemické látky, jako pesticidy a různá hnojiva, na obhospodařování zemědělské půdy. To má však za následek postupné znečišťování půdy a snižování její úrodnosti. Do popředí se tak dostávají metody pěstování plodin více šetrné k životnímu prostředí, mezi které patří i použití prospěšných mikroorganismů (Hossain a Sultana, 2020).

### 2.3.1 Rhizosféra

Kořeny hrají velice důležitou roli v životě rostliny, díky nim je rostlina přichycena k podkladu, na kterém roste a zároveň kořenový systém dodává rostlině vodu a potřebné

živiny nacházející se v půdě (Berg a Smalla, 2009). Důležitou součástí kořenového systému je tzv. rhizosféra. Pojmem rhizosféra je označována veškerá půdní hmota, která se dotýká nebo leží v blízkosti kořenů dané rostliny (Bringhurst *et al.*, 2001). Právě v této oblasti dochází ke klíčové interakci mezi rostlinou a půdními mikroorganismy. Rhizosféra je bohatá na různé druhy látek produkované rostlinou, které přitahují specifické druhy mikroorganismů (Haas a Defago, 2005). Díky těmto aktivitám rostliny se v 1 gramu půdy z rhizosféry může nacházet až  $10^{10}$  bakterií (Gans *et al.*, 2005). Soubor všech bakterií žijících v dané rhizosféře rostliny se označuje jako rhizo-mikrobiom (Chaparro *et al.*, 2013).

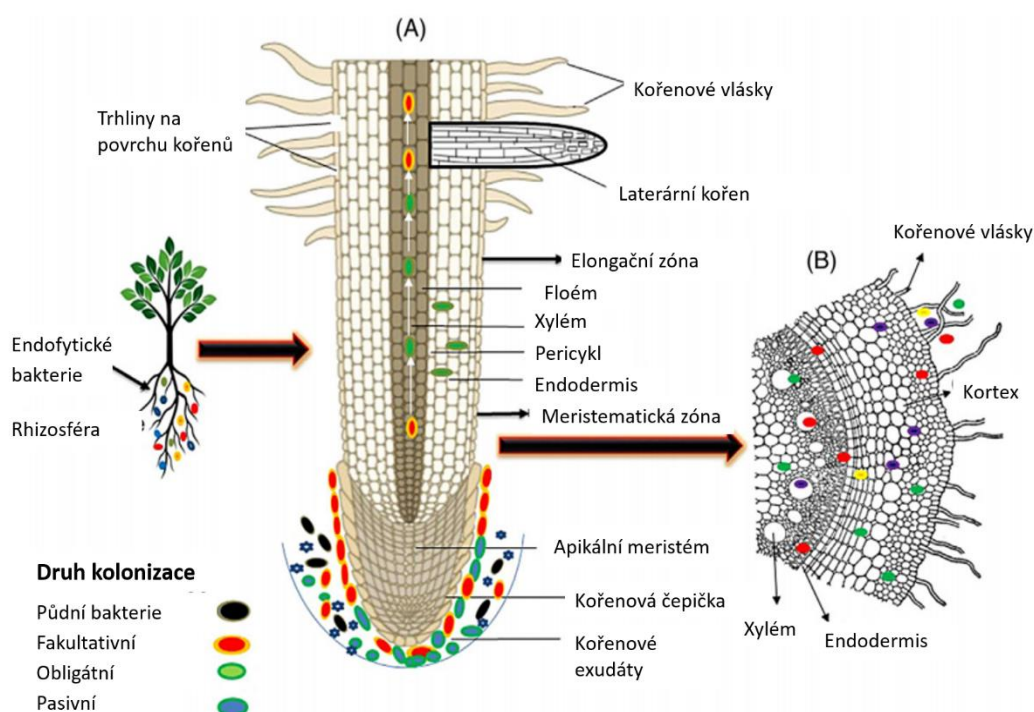
Rostlina vylučuje pomocí kořenů různé sloučeniny, též označované jako exudáty, které jsou bohaté na organické látky, například na sacharidy, lipidy, aminokyseliny, fenolické sloučeniny, flavonoidy a fyto siderofory (Badri a Vivanco, 2009). Složení produkovaných látek se liší v závislosti na druhu rostliny a jejím vývojovém stádiu (Kang *et al.*, 2010). Rostlina se pomocí těchto látek snaží do své blízkosti přilákat pro ni vyhovující mikroorganismy. Ty často dané exudáty používají jako svůj zdroj energie, který štěpí na další látky (Alexandre *et al.*, 2000). Díky tomu v rhizosféře dochází ke kompetici mezi jednotlivými druhy mikroorganismů a výsledné druhové složení rhizosféry se značně liší od okolní půdy a druhu rostliny (Gouda *et al.*, 2018). Problémem ovšem je, že tyto specificky produkované látky mohou často přitahovat i rostlinné patogeny.

### **2.3.2 Kolonizace**

Pro mnohé mikroorganismy slouží rhizosféra pouze jako taková „mezistanice“ při jejich dalším postupu v rostlině, protože značná část z nich je schopna kolonizovat nejen rhizodermu ale i pericyklové pletivo kořene. Většina prospěšných bakterií žije tzv. dvojitým životem, kdy tyto mikroorganismy dokáží bez větších potíží přežít v samotné rhizosféře kořene a na druhou stranu nemají problém s přizpůsobením se endofytickému způsobu života. Některé kmeny a druhy mikroorganismů je tedy možno najít jak v okolí kořenů tak i uvnitř různých pletiv rostliny (Lugtenberg a Kamilova, 2009; Bhattacharyya a Jha, 2011). Mikroorganismy žijící uvnitř těla jiných organismů se označují jako endofytické mikroorganismy. Podle způsobu vniku do organismu rozlišujeme tři druhy endofytů: obligátní, kteří se dostanou dovnitř rostliny tím, že kolonizují semena rostlin dále fakultativní a pasivní. Obě skupiny žijí volně v půdě

a rozdíl mezi nimi je v tom, že fakultativní aktivně využívají různé mechanismy k proniknutí do kořene rostliny zatím, co pasivní pro kolonizaci používají otevřené rány na povrchu kořene rostliny (Obr. 2) (Khare *et al.*, 2018).

Samotný proces kolonizace se dělí do tří kroků. V prvním kroku jsou mikroorganismy vábeny rostlinou pomocí exudátů a současně dochází k jejich postupnému přesunu do rhizosféry. Pohyb mikroorganismů se uskutečňuje díky tzv. chemotaxi, což je pohyb vyvolaný v závislosti na různé koncentraci nějaké chemické látky (Begonia a Kremer, 1994). Ve druhé fázi dochází k přilnutí jednotlivých mikroorganismů k povrchu kořene. Na adhezi se podílí bičíky a brvy mikroorganismu a chemické látky syntetizované bakterií, jako exopolysacharidy (EPS) a lipopolysacharidy (LPS) (Sauer a Camper, 2001). V posledním kroku dochází k samotné kolonizaci rostliny, kdy musí mikroorganismus nejprve projít přes rhizodermu kořene. Průchod rhizodermou je buď aktivní, nebo pasivní. Pasivní průchod se uskutečňuje přes různé trhliny v povrchové vrstvě kořene a mikroorganismus se nemusí nejprve přichytit na jeho povrch (Hardoim *et al.*, 2008). Během aktivní penetrace bakterie produkuje enzymy, které degradují buněčnou stěnu rhizodermu (Singh *et al.*, 2017).



Obr. 2: Schéma postupu kolonizace kořene rostliny prospěšnými bakteriemi a jejich následné rozmístění v pletivech kořene. (A) Prospěšné bakterie kolonizují rostlinu různými způsoby a v různých místech kořene. (B) Detailní rozmístění endofytických bakterií uvnitř kořenových tkání na příčném průřezu (Upraveno podle Kumar *et al.*, 2020).

Kromě kořenů a kořenových vlásků mohou sloužit jako místa vniku mikroorganismů do rostliny taky stomata na listech a stoncích (Roos a Hattingh, 1983).

Po vniku do rostliny se endofyty musí přizpůsobit prostředí v rostlině a co nejvíce předejít zpuštění různých obranných mechanismů. Mnohé endofytické bakterie si navíc vytvořili v odezvě na dané obranné mechanismy vlastní ochranu. Například jsou schopny tvořit enzymy jako katalasa, glutation peroxidasa (Hardoim *et al.*, 2015; Santoyo *et al.*, 2016) nebo obsahují různé efluxní pumpy (Aswani *et al.*, 2020). Po kolonizaci mohou mikroorganismy zůstat na jednom místě nebo jsou schopny migrovat do jiných částí a pletiv rostliny (Afzal *et al.*, 2019).

### 2.3.3 Vzájemné interakce

Celá rhizosféra včetně kořenových systémů rostlin a všech mikroorganismů je velice komplexní soustava. Vzájemné interakce probíhají nejen mezi rostlinou a prospěšnými bakteriemi, ale také mezi jednotlivými mikroorganismy navzájem (Zhang *et al.*, 2017). Jak už bylo uvedeno rostliny pro atrakci s prospěšnými bakteriemi nejčastěji používají vylučované exudáty. Důležitou roli hrají také rostlinné fytohormony, jejich signální dráhy a rostlinné receptory (Aswani *et al.*, 2020). Rostlinné receptory zachytávají MAMP a PAMP z bakterií a spouštějí imunitní reakce (Jones a Dangl, 2006). Díky postupnému vývoji některé prospěšné bakterie upravili složení produkovaných MAMP, která se tak liší od PAMP produkovaných patogenními organismy a rostlina je tak schopna rozlišit prospěšnou bakterii od patogenního mikroorganismu (Vandenkoornhuys *et al.*, 2015).

Prospěšné bakterie jsou schopny komunikovat s okolím pomocí různých fyzikálních a chemických mechanismů. Mezi fyzikální mechanismy patří přenos elektrických signálů, přenos signálu pomocí elektromagnetických a akustických vln (Besset-Manzoni *et al.*, 2018). Více probádané jsou ovšem interakce pomocí chemických mechanismů. Jedním z důležitých systémů je tzv. quorum sensing (QS). QS je propracovaný signální systém uvnitř bakterií produkující chemické signální molekuly. Díky ovlivňování genové exprese řídí řadu pochodů uvnitř bakterie, jako například produkce antibiotik a enzymů, tvorba biofilmu, změna hustoty buňky, dělení buněk, virulence, luminescence, atd.. Díky QS je možná komunikace mezi jednotlivými bakteriemi a dokonce snad i rostlinami (Miller a Bassler, 2001). Na vzájemných interakcích se také podílí řada chemických látek produkovaných prospěšnými bakteriemi a vliv těchto látek na rostlinu záleží na jejich množství a druhu cílového organismu.

Příkladem látek, které mohou sloužit k určité komunikaci mezi organismy, mohou být různá antibiotika, 2,4-diacetylfloroglucinol (Combes-Meynet *et al.*, 2011), fenaziny (Mavrodi *et al.*, 2006) a těkavé organické látky VOC (angl. Volatile Organic Compound) (Audrain *et al.*, 2015).

### **2.3.3.1 Quorum quenching**

Určité mikroorganismy a taky rostliny našli způsob jak narušit quorum sensing (QS) ostatních mikroorganismů (Grandclément *et al.*, 2016). Quorum sensing hraje klíčovou roli u většiny pochodů uvnitř buňky (Elias a Banin, 2012). Prospěšné bakterie nebo rostliny produkují chemické látky, nejčastěji se jedná o enzymy, které slouží jako inhibitory QS (QSi) (Hirakawa a Tomita, 2013). Tyto enzymy mohou narušit funkci QS a následně způsobit inhibici růstu patogenních mikroorganismů. Celý tento proces se označuje jako quorum quenching (QQ) (Faure *et al.*, 2009).

### **2.3.4 Podpůrné mechanismy pro růst rostliny**

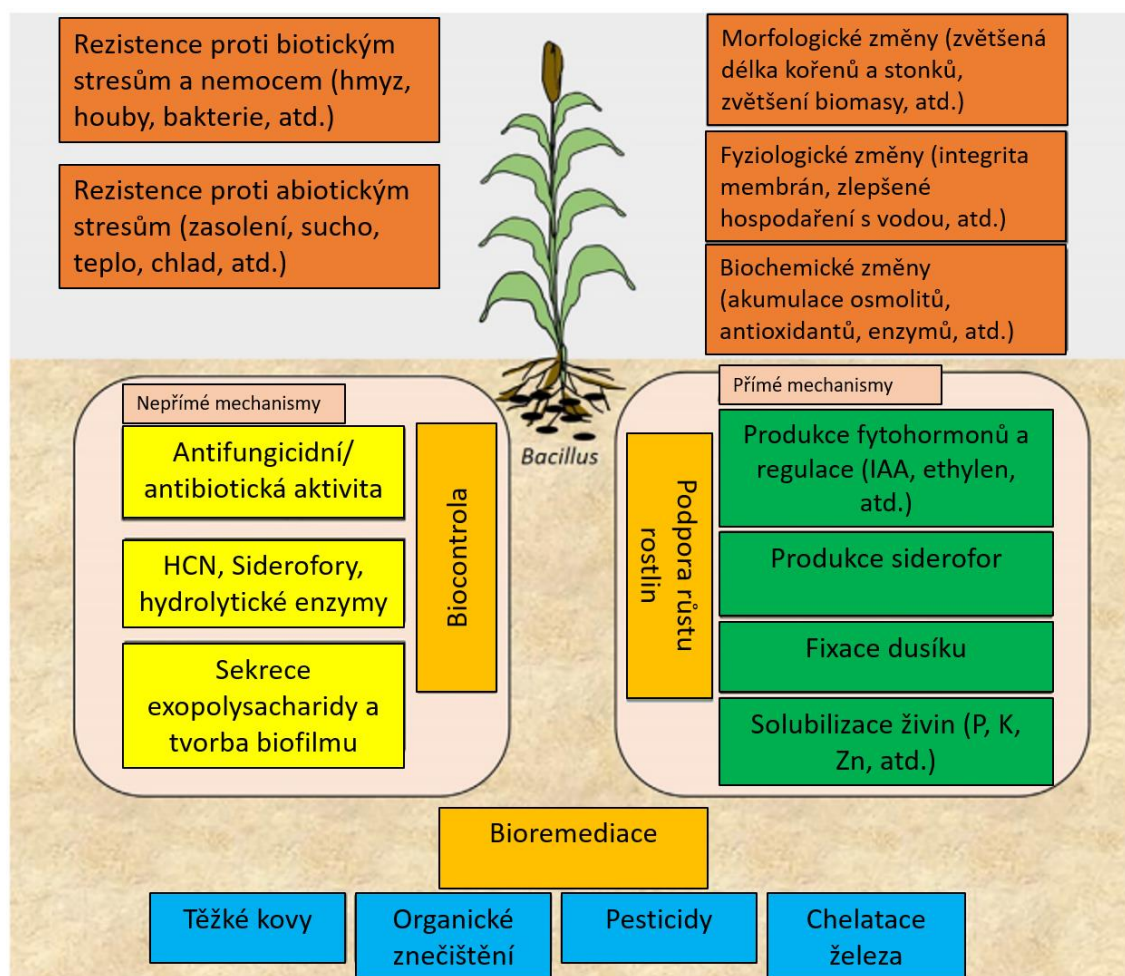
Hlavním důvodem, proč se prospěšným bakteriím dostává v posledních letech takovému zájmu, je jejich schopnost podporovat růst a vývoj rostlin nejen za normálních podmínek, ale také napomáhat rostlinám lépe zvládat stresové situace. Doposud byla prozkoumána řada mechanismů, kterými mikroorganismy přispívají rostlině. Může se jednat o přímou nebo nepřímou podporu (Obr. 3) (Aswani *et al.*, 2020).

#### **2.3.4.1 Fixace živin**

Jedním z nejdůležitějších prvků, který jsou bakterie schopny fixovat, je dusík. Dusík je klíčovým makro nutriem pro všechny druhy rostlin (Jayakumar *et al.*, 2020). Některé prospěšné bakterie jsou schopny fixovat atmosférický  $N_2$  a zvyšují tak obsah nitrátů ( $NO_3^-$ ) a amoniaku ( $NH_4^+$ ) v půdě. Tyto látky s obsahem dusíku už jsou rostliny schopné dále zpracovávat (Xu *et al.*, 2012). Mezi bakteriální kmeny fixující atmosférický dusík se řadí rody *Rhizobium* sp., *Azoarcus* sp., *Beijerinckia* sp., *Pantoea agglomerans* a další (Ahemad a Kibret, 2014).

Dalším důležitým prvkem pro výživu rostlin je fosfor. Nejzákladnějším problémem u fosforu je, že se v přírodě většinou nachází pouze v nerozpustných nebo pro rostliny imobilizovaných formách. Rostliny jsou schopny přijímat fosfor pouze ve formě iontů jako  $H_2PO_4^-$  nebo  $HPO_4^{2-}$  (Gouda *et al.*, 2018). Prospěšné bakterie jsou schopny různými způsoby solubilizovat fosfor z nerozpustných nebo imobilizovaných forem





Obr. 3: Schéma mechanismů působení prospěšných bakterií (*Bacillus*) na hostitelskou rostlinu, kterými napomáhají jejímu růstu a chrání ji před různými druhy biotických a abiotických stresů (upraveno podle Tiwari *et al.*, 2019).

na ionty a tak jej zpřístupnit pro rostliny. Nejčastěji se jedná o chelatační nebo o acidifikační mechanismy (Jayakumar *et al.*, 2020). Nejdůležitějšími kmeny bakterií, které jsou schopny zpracovávat fosfor, jsou *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Microbacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* a *Serratia* (Oteino *et al.*, 2015).

Posledním zmíněným makro nutriemem je draslík. Stejně jako u fosforu se draslík nachází v přírodě jen v nerozpustných minerálech a horninách a proto v půdě chybí (Parmar a Sindhu, 2013). Tato tematika zatím nebyla tak intenzivně studována jako v případě dusíku a fosforu. Předpokládané prospěšné bakterie se schopností solubilizovat draslík pro rostliny jsou *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Ferrooxidans* sp., *Burkholderia* sp. a další (Liu *et al.*, 2012).

### 2.3.4.2 Tvorba chemických látek

První důležitou skupinou chemických látek produkovanou mikroorganismy jsou fytohormony. Fytohormony jsou signální molekuly, které jsou produkovány rostlinou a rozhodující mírou se podílejí na vývoji a růstu rostliny (Damam *et al.*, 2016). Bylo zaznamenáno, že řada mikroorganismů je schopna některé fytohormony syntetizovat a následně je dodávat rostlině a ovlivňovat v ní mnohé pochody (Sureshababu *et al.*, 2016). Velice dobře je prostudován například auxin (kyselina indol-3-octová (IAA)), který se podílí na dělení a prodlužování buněk (Jayakumar *et al.*, 2020). Doposud byly u různých mikroorganismů objeveny biosyntetické dráhy, díky kterým se IAA tvoří přímo v bakteriích (Li *et al.*, 2018). Dalším klíčovým hormonem, jenž hraje důležitou roli v životě rostliny, je ethylen. Některé bakterie dokážou ovlivňovat hladinu ethylenu v rostlině a tím regulovat růst a vývoj rostliny (Dubois *et al.*, 2018).

Prospěšné bakterie tvoří další důležité látky jako různá antibiotika, siderofory, těžké organické látky a enzymy, ale těmto látkám se více věnuji v kapitole role prospěšných bakterií během biotického stresu (Gouda *et al.*, 2018).

### 2.3.4.3 Bioremediace

V dnešní době je častým problémem kontaminace orné půdy různými chemickými látkami, které nemají kladný vliv na růst rostlin, dokonce mohou na rostliny působit toxicky. Nejčastěji se jedná o rezidua pesticidů v půdě a odpady z průmyslové výroby (Saleh *et al.*, 2004). V těchto případech se uplatňuje tzv. bioremediace. Je to proces, při kterém se využívají určité druhy mikroorganismů za účelem odstranění nebezpečných chemických látek ze životního prostředí tedy i z okolí rostlin (Gianfreda a Rao, 2004). Některé mikroorganismy napomáhají růstu rostlin tím, že čistí okolí rostliny od různého znečištění nebo alespoň pomáhají rostlině se lépe daným podmínkám přizpůsobit. Mezi mikroorganismy schopné bioremediace patří *Pseudomonas* sp. a *Bacillus* sp. (Kuijper *et al.*, 2004).

### 2.3.5 Role prospěšných bakterií během biotického stresu

Kromě abiotických stresů jsou rostliny ohrožovány i biotickým stresem. Biotický stres je nejčastěji způsoben vystavením rostliny nějakým patogenním mikroorganismům nebo virům, které následně mohou způsobovat u rostliny různé nemoci. Do této skupiny patří i stres způsobený vyššími organismy jako jsou například různé druhy hmyzu

a býložravých druhů zvířat (de Carvalho *et al.*, 2020; Panpatte *et al.*, 2020). Na rozdíl od abiotického stresu, tomu biotickému je rostlina vystavena prakticky neustále, protože mikroorganismy jsou v okolním prostředí všudypřítomné a rostlina se s novými patogeny setkává prakticky denně (Baker *et al.*, 1997). Prospěšné bakterie mohou rostlině proti patogenům pomáhat buď přímou kompeticí a následnou inhibicí patogenních mikroorganismů nejčastěji v prostředí rhizosféry nebo mohou ovlivňovat tzv. indukovanou systémovou rezistenci (ISR) rostliny (Aswani *et al.*, 2020).

### **2.3.5.1 Indukovaná systémová rezistence (ISR)**

Pojem ISR znamená schopnost prospěšných bakterií aktivovat v rostlině imunitní odpověď, která následně slouží jako obranný mechanismus vůči infekci patogenem, útoku býložravců a vůči přidání určitých chemických látek (fytohormony) (Pieterse *et al.*, 2014; Gouda *et al.*, 2018). Rostlina je pak mnohem efektivnější v odpovědi vůči různým patogenům a její imunitní systém je schopen rychlejšího a efektivnějšího fungování. Ke změnám ale nedochází jen v místě, kde se prospěšné bakterie v rostlině nacházejí, ale indukovanou rezistenci obdrží i další části rostliny (Panpatte *et al.*, 2020). ISR se přímo nezaměřuje na usmrcení patogenu, spíše podporuje a ovlivňuje tvorbu chemických látek jako je tvorba enzymů, antibiotik a jiných antimikrobiálních látek, které vytváří obranu vůči patogenům (Gouda *et al.*, 2018; Jacob *et al.*, 2020). Bylo zjištěno, že vyvolání ISR pomocí užitečných bakterií je úzce spojeno se signální dráhou kyseliny jasmonové a signální dráhou ethylenu u rostlin (Panpatte *et al.*, 2020).

### **2.3.5.2 Produkované chemické látky**

Prospěšné bakterie jsou schopny produkovat značné množství chemických látek, část kterých dodávají rostlině, ale spousta z těchto látek se využívá v kompetici s ostatními mikroorganismy v rhizosféře.

Jedním z takových látek jsou antimikrobiální látky. Mikroorganismy jsou schopny produkovat velkou škálu těchto látek. Mezi jejich nejvýznamnější vlastnosti patří antibakteriální, antifungální, antioxidační, antivirální, imunosupresivní, cytotoxické a protinádorové účinky (Fernando *et al.*, 2006). Antimikrobiální látky se dají dále dělit na těkavé a netěkavé, kdy mezi těkavé patří alkoholy, ketony, aldehydy, sulfidy, atd. a mezi netěkavé patří fenylpyrroly, cyklické lipopeptidy, aminopolyalkoholy, heterocyklické dusíkaté sloučeniny a další (Fouzia *et al.*, 2015). Doposud byla tvorba

těchto látek studována u kmenů jako *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp., *Azospirillum* spp., *Rhizobium* spp., a *Serratia* spp. (Haas a Keel, 2003).

Další produkovanou skupinou jsou lytické enzymy. Hlavní úlohou lytických enzymů je degradace buněčné stěny patogenů, hlavně hub a následná inhibice růstu houbových patogenů (Bouizgarne, 2013). Nejběžnějšími skupinami lytických enzymů využívaných v obranných mechanismech rostlin jsou chitinasy, celulasy, lipasy, pektinasy, glukonasy a proteasy (Abdallah *et al.*, 2019).

Dvojitou funkci mají tzv. siderofory. Siderofory jsou malé organické sloučeniny, které mají zhruba 400 až 1500 Da a slouží k chelataci železa v prostředí. K aktivaci jejich tvorby dochází při nedostatku železa v prostředí. Jejich dvojitá funkce spočívá v tom, že zaprvé dodávají potřebné železo rostlině a zadruhé ubírají dostupné železo v rhizosféře a to se pak nedostává patogenům a dochází k inhibici jejich růstu. Siderofory se dělí do tří základních skupin na katecholáty, hydroxymáty a karboxyláty (Jayakumar *et al.*, 2020; Jacob *et al.*, 2020).

Posledními zmíněnými látkami jsou těkavé organické sloučeniny (VOC). Tyto sloučeniny mají více rolí. Podílejí se na různých pochodech uvnitř těla mikroorganismů, zabezpečují komunikaci mezi mikroorganismy a rostlinou a podílejí se na odpovědi na biotický stres (Audrain *et al.*, 2015). Některé VOC přímo působí jako antimikrobiální látky a inhibují tak růst patogenů. Určité VOC jsou zase schopny ovlivňovat přímo indukovanou systémovou rezistenci rostliny (Bennett *et al.*, 2012). Mezi důležitými VOC, které ovlivňují vztah mezi mikroorganismy a rostlinami řadíme alkoholy, alkeny, aldehydy, ketony, terpeny a další (Venturi a Keel, 2016).

### **2.3.6 Budoucí výzkum a možnosti využití prospěšných bakterií**

I když doposud bylo provedeno mnoho studií, které se věnují vlastnostem užitečných bakterií, tato oblast stále zůstává plná otázek. Většina výzkumů zatím probíhala v laboratorních podmínkách, případně došlo ke zkoumání rostlin ve sklenicích. Může však docházet k tomu, že určitý mikroorganismus má slibné výsledky v laboratoři, nebo ve skleníku ale v reálném prostředí v ochraně hostitele značně poklesne účinnost a efektivita prospěšných bakterií. Velkým úkolem do budoucna proto bude lépe pochopit všechny mechanismy týkající se prospěšných bakterií, pochopit vztahy mezi jednotlivými mikroorganismy a samotnými rostlinami, lépe určovat potencionální prospěšné bakterie a následně zvolit správné kombinace jednotlivých mikroorganismů, které budou ideální

pro danou rostlinu v daném prostředí. V neposlední řadě je nutné přenést slibné výsledky výzkumu z laboratorních podmínek do reálného prostředí (Lugtenberg a Kamilova, 2009).

V budoucnosti by správně zvolené a skombinované prospěšné mikroorganismy mohli nahradit používání umělých hnojiv a pesticidů v zemědělství a zamezit tak negativním jevům, které tyto chemické látky mají na životní prostředí a člověka. Jedná se zejména o nárůst neúrodnosti půdy, znečišťování podzemní vody a další nepříznivé jevy. Jak už bylo zmíněno, tak prospěšné mikroorganismy jsou schopné dodávat rostlinám potřebné živiny a účinně je chránit před biotickými a abiotickými stresy. Zároveň ale nemají negativní vliv na okolní prostředí (Jayakumar *et al.*, 2020; Kumar *et al.*, 2020). Využití prospěšných mikroorganismů se samozřejmě nevztahuje jen na zemědělství, ale bylo by možné jejich využití i v jiných odvětvích, například v lesnictví (Lucy *et al.*, 2003).

U některých prospěšných mikroorganismů byla prokázána schopnost tzv. bioremediace, tedy schopnost mikroorganismů rozkládat různé znečišťující látky z prostředí. Této skutečnosti by se v budoucnu dalo využít právě k čištění okolního životního prostředí (Wu *et al.*, 2006). Velkým příslibem do budoucna je vztah prospěšných mikroorganismů a farmaceutického průmyslu. Díky stále intenzivnějšímu studiu metabolitů produkovaných prospěšnými mikroorganismy, je objeveno stále více látek, které by mohli pomoci i člověku. Některé metabolity produkované právě prospěšnými mikroorganismy mají protinádorové a protirakovinové účinky některé slouží jako antioxidanty a další jako imunosupresiva (Singh *et al.*, 2020).

### **2.3.7 Další používané mikroorganismy**

#### **2.3.7.1 Houbové mikroorganismy**

Mezi prospěšné mikroorganismy jsou řazeny i mikroskopické houby. Často jsou samostatně označovány pod zkratkou PGPF (angl., plant growth-promotion fungi) houby prospěšné pro růst rostlin (Hossain *et al.*, 2017). Jedná se o nepatogenní saprofytické houby, které žijí v rhizosféře, na kořenech rostlin nebo přímo uvnitř rostlinného těla. Díky této definici se například mykorhizní houby nepočítají do této skupiny (Bent, 2006). Největší část těchto hub patří do kmene *Ascomycota* a zbylé pak do kmenů *Basidiomycota*, *Zygomycota* a *Oomycetes* (Hossain *et al.*, 2017).

Zvládání biotických a abiotických stresů rostlinou zlepšují pomocí obdobných mechanismů jako prospěšné bakterie. Mezi nejdůležitější mechanismy, kterými užitečné houby ovlivňují růst rostlin, se řadí tvorba fytohormonů, enzymů, antibiotik a VOC, dodávání důležitých prvků rostlinám jako fosfor, dusík, draslík, kompetice s ostatními mikroorganismy, vyvolání ISR a v neposlední řadě rhizoremediace (Hossain a Sultana, 2020). Zvláště účinné jsou užitečné houby při zvládání stresů zapříčiněných těžkými kovy, kdy některé houby pomáhají rostlinám lépe zvládat stres spojený s  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^+$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  a  $\text{Pb}^{2+}$  (Khan *et al.*, 2013; Babu *et al.*, 2014; Hiruma *et al.*, 2018). Dále některé užitečné houby poskytují ochranu rostlinám proti hmyzu, protože produkují chemické látky, které působí proti hmyzu (Jaber a Ownley, 2018). Některé houby mají dokonce funkci jako hmyzí patogeny (Arnold a Lewis, 2005).

Zajímavé jsou taky tzv. houbové elicitory. Elicitory jsou malé látky, které spouštějí rostlinnou imunitní reakci (Suzuki, 1999). Houbové elicitory jsou schopné u rostliny způsobit různé změny jejího fyziologického stavu a tím pomoci rostlině při zvládání různých abiotických i biotických stresů. Po indukcii imunitní odpovědi v rostlině houbovými elicitory dochází například ke zvýšené tvorbě ochranných enzymů, PR proteinů a fenolů a může taky dojít k zesílení buněčné stěny rostlinných pletiv (Patel *et al.*, 2020).

### **2.3.7.2 Viry**

Viry jsou velmi malé nebuněčné organismy, které jsou schopny napadat všechny ostatní druhy organismů. Velmi často jsou označovány jako původci velké škály nemocí nejen u rostlin. Díky jejich velikosti, nebyla tato skupina organismů příliš prostudována a pochopena. Dosavadní výzkumy se věnovaly především virům, které způsobují vážné nemoci jak u člověka a zvířat tak u rostlin. Některé studie ovšem ukázali, že ne všechny viry rostlině jen škodí a naopak některé mohou rostlině přímo pomáhat (Kumar *et al.*, 2020).

Zatím byly popsány tři způsoby, jakými viry rostlině napomáhají. Prvním je přenos genů, kdy rostliny obsahují ve svém genomu části genetické informace převzaté od virů a naopak některé viry obsahují geny pocházející z rostlin. Tyto geny mohou i nemusejí mít nějaký vliv na rostlinu. V druhém případě bylo prokázáno, že některé viry chrání hostitelskou rostlinu před různými abiotickými stresy. A posledním mechanismem je tzv. cross protection, kdy určité viry jsou schopny blokovat funkce ostatních, zejména

patogenních virů a tím chránit hostitelskou rostlinu. Ovšem dosud není známo, jakými mechanismy jsou viry schopné tyto schopnosti zabezpečovat (Kumar *et al.*, 2020).

### 2.3.8 Nejvíce studované rody bakterií

#### 2.3.8.1 Rod *Bacillus*

Rod *Bacillus* je jedním z nejlépe prostudovaných rodů prospěšných bakterií pro růst rostlin. Mnohé bakterie, které do něj patří, mají slibné výsledky ve zlepšování růstu a vývoje různých druhů rostlin. V rostlinné rhizosféře se jedná o nejčteněji zastoupený rod a podle studie tvoří až 95% všech grampozitivních bakterií (Prashar *et al.*, 2013). Bakterie se mohou vyskytovat jak vně tak uvnitř kořenového systému rostliny (Gadhav *et al.*, 2018). Svůj pozitivní efekt na rostlinu mají díky svým vlastnostem, jako např. fyto stimulace, biofertilizace a bioprotekce (Aloo *et al.*, 2018). Důvody, proč mohou být bakterie *Bacillus* vhodné pro použití v zemědělství, je fakt, že bakterie v nepříznivém prostředí vytváří odolné spory (Rayavarapu a Padmavathi, 2016), dokážou přežít za anaerobních podmínek (Silini-Cherif *et al.*, 2012) a rychle se množí (Cavaglieri *et al.*, 2005).

Fyto stimulace je způsobena produkcí fytohormonů bakterií *Bacillus*. Bakterie rodu *Bacillus* jsou schopny produkce kyseliny gibberelové a kyseliny indol-3-octové (García-Fraile *et al.*, 2015). Biosyntéza těchto hormonů zlepšuje příjem a rozvod živin a následně zlepšuje růst rostliny (Stamenkovic *et al.*, 2018). Kyselina indol-3-octová pozitivně ovlivňuje vývoj kořenů a bočních kořenů, přesněji ovlivňují dělení buněk a proces jejich prodlužování (Ng *et al.*, 2015). Kyselina gibberelová má zase kladný vliv na klíčení semen, prodlužování stonku, kvetení a vývoj plodu (Hedden a Phillips, 2000).

Další důležitou vlastností je bioprotekce. Prospěšné bakterie jsou, díky produkci určitých látek, schopny ochraňovat hostitelskou rostlinu proti různým patogenům. Rod *Bacillus* je zvláště účinný proti houbovým patogenům (Bjelić *et al.*, 2018). Mezi ochranné látky, které jsou produkovány tímto rodem bakterií patří siderofory, antibiotika (Jayaprakashvel a Mathivanan, 2011), enzymy (chitinasy, glukonasy) (Shafi *et al.*, 2017), těžké organické sloučeniny (kyanovodík) (Patel a Minocheherhomji, 2018).

Bakterie rodu *Bacillus* jsou velmi důležité také v procesu biofertilizace. Jsou efektivní při solubilizaci anorganických prvků z prostředí a jejich následném zpřístupnění

roślinám (Podile a Kishore, 2006). Bylo prokázáno, že bakterie *Bacillus* dokáží fixovat fosfor (Marra *et al.*, 2012), dusík i některé ostatní prvky (Bhattacharyya a Jha, 2012).

### **2.3.8.2 Rod *Pseudomonas***

Bakterie rodu *Pseudomonas* jsou gramnegativní, aerobní a chemoheterotrofní. Mají tyčinkovitý tvar (Haas a Défago, 2005). Jsou schopné samostatného pohybu pomocí bičíků. Se svou hostitelskou rostlinou mohou žít buď v endosymbióze, nebo se vyskytují volně v oblasti rhizosféry rostliny. Většina kmenů *Pseudomonas* je velice univerzální s nepříliš velikými nároky na výživu. Společně s rodem *Bacillus* je rod *Pseudomonas* jedním z nejvíce prostudovaných druhů prospěšných bakterií. Rostlině napomáhá celou škálou podpůrných a obranných mechanismů, z kterých většina je podobných nebo stejných jako u rodu *Bacillus* ssp. (Mercado-Blanco a Bakker, 2007).

### **2.3.8.3 Rod *Enterobacter***

Rod *Enterobacter* patří do čeledi *Enterobacteriaceae*, ve kterém se nachází další rody, jež jsou klasifikovány jako prospěšné bakterie. Mezi další významné rody patří *Citrobacter*, *Erwinia*, *Klebsiella*, *Kluyvera*, *Pantoea* a *Serratia*. U bakterií tohoto rodu byl prokázán podpůrný vliv na kořenovou soustavu rostlin a také byla prokázána ochranná funkce proti rostlinným patogenům (Jha *et al.*, 2011). Mezi zatím nejvíce studované zástupce patří *E. cloacae* UW5, *E. ludwigii* sp., *E. radicincitans* sp., *E. asburiae* PSI3 a PS2, *E. sakazakii*, *E. cancerogenus* (Jha *et al.*, 2011) a *Enterobacter* sp. SA 187.

### **2.3.9 Kmen *Enterobacter* sp. SA187**

Obecně byl rod *Enterobacter* popsán výše. *Enterobacter* s označením SA187, jsme použili v našem výzkumu.

Tento bakteriální kmen byl objeven poměrně nedávno. Byl vyizolován z kořenových vlásků pouštní rostliny *Indigofera argentea*, která roste v Saudské Arábii v regionu Jizan (Lafi *et al.*, 2017). Jedná o endofytickou bakterii, jejíž genom je dlouhý 4 429 597 bp a skládá se z jednoho chromozomu. Rozborem genomu bylo zjištěno, že obsahuje mnoho genů, které se podílejí na zvýšené toleranci symbiotické rostliny vůči solnému stresu, stresu ze sucha a dalších abiotických a biotických stresů (Andrés-Barrao *et al.*, 2017). Dále také podporuje celkový růst rostliny a její přežití.



### 2.3.9.1 Bližší popis kmene

Z biochemického hlediska je bakterie schopna tvorby siderofor a zpřístupněním sloučenin zinku pro hostitelskou rostlinu. To zabezpečuje zlepšený růst rostliny. Dále bakterie obsahují geny rezistence vůči antibiotikům ampicilin a penicilin G. Tato skutečnost pomáhá bakterii *Enterobacter* sp. SA 187 v soutěži s ostatními druhy, jež také žijí v rhizosféře rostliny. Bakterie je také značně odolná proti suchu, vysokým teplotám a zasolení do koncentrace 1M NaCl, což ji činí lehce halofilní. Příčinou tohoto jevu může být právě schopnost bakterie kompletní biosyntézy prolinu (Andrés-Barrao *et al.*, 2017), který uděluje organismu vyšší toleranci vůči soli (Ren *et al.*, 2010). Dalším klíčovým osmoprotektantem produkovaným bakterií *Enterobacter* sp. SA187 je trehalosa (Andrés-Barrao *et al.*, 2017). Ta také pomáhá zvládat zasolení prostředí, což bylo prokázáno například u rodu *Klebsiella* sp. BRL6-2 (Woo *et al.*, 2014). Studie ukázala, že bakterie *Enterobacter* sp. SA187 je také schopná vstřebávat různé osmoprotektanty z prostředí rhizosféry, jež jsou produkovány jinými mikroorganismy. Jedná se například o betain a karnitin. Tento transport je umožněn díky membránovým transportérům (Andrés-Barrao *et al.*, 2017).

Pro endofytické bakterie je značně důležitá výměna živin s jejich okolím, tzn. hostitelskou rostlinou a ostatními mikroorganismy v rhizosféře (Chibucos a Tyler, 2009). Mezi nejdůležitější přijímané živiny patří kovy, fosfáty, sulfáty, cukr, nitráty, aminokyseliny, a jiné. *Enterobacter* sp. SA 187 je schopna používat více sloučenin jako zdroj uhlíku. Dále je schopna zpracovat anorganický fosfor a dusík, který je dále využíván rostlinným hostitelem. Na druhou stranu do prostředí vylučuje látky např. enzymy, peptidy, toxiny, antibiotika nebo sekundární metabolity, které mohou být využity hostitelskou rostlinou nebo působí na ostatní mikroorganismy (Green a Meccas, 2016).

### 2.3.9.2 Kolonizace rostlin

Z dosavadních studií vyplývá, že *Enterobacter* je schopný účinně kolonizovat i rostlinu *Arabidopsis thaliana*, která není její primární hostitel. U sazenic *Arabidopsis thaliana* pěstovaných v prostředí obsahujícím sledovanou bakterii došlo ke kolonizaci kořenů a dokonce i stonkových výhonků. Kolonie se vyskytovaly na povrchu epidermy, přesněji v rýhách mezi jednotlivými buňkami. V elongační zóně kořene se nacházely většinou menší shluky bakterií a během růstu a vývoje kořene dochází k postupnému rozrůstání kolonií do dalších částí kořene. U mladých čerstvě kolonizovaných semenáčků

*Arabidopsis thaliana* ještě nedochází k průniku kolonií do vnitřních částí kořenů, ale u několikátýdenních rostlin můžeme pozorovat shluky bakterií v apoplastu endodermis a dokonce i v centrálním cylindru kořenů. V případě nadzemní části rostliny se bakterie dostaly do apoplastu hypokotylu, kotyledonu a prvních pravých listů (de Zélicourt *et al.*, 2018).

Mechanismus samotné kolonizace rostliny *Arabidopsis* bakterií *Enterobacter* sp. SA 187 ještě nebyl úplně prozkoumán, ale důležitou roli budou hrát celulóza a další exopolysacharidy, jež jsou využívány i jinými druhy bakterií při kolonizaci hostitelských rostlin (Römling a Galperin, 2015). Genom bakterie *Enterobacter* SA 187 obsahuje všechny potřebné geny, které jsou nutné k syntéze celulózy a také kyseliny kolanikovou, jež se podílí na tvorbě biofilmu na povrchu rhizodermis (Rättö *et al.*, 2006). Další důležitou složkou, která pomáhá při přežití bakterie v rhizosféře, jsou karotenoidy. Kmen SA 187 produkuje kolonie dvou zbarvení a to žluté (SA 187Y) a bílé (SA 187W). Tato problematika nebyla zatím dostatečně prozkoumána, ale při kolonizaci rostliny *Arabidopsis thaliana* může docházet postupem času k úbytku žluté formy bakterie. Toto může být způsobeno modifikací metabolismu bakterie po kolonizaci (Andrés-Barrao *et al.*, 2017). Během bakalářské práce jsem používal obě barevné verze bakterie *Enterobacter* sp. SA 187.

### **2.3.9.3 Vliv na rostliny**

Jedním z významných přínosů bakterie *Enterobacter* sp. SA 187 pro hostitelskou rostlinu je fakt, že bakterie produkuje různé antimikrobiální látky, které působí proti rostlinným patogenům. SA 187 obsahuje enzymy na biosyntézu fenazinu a 4-hydroxybenzoátu (Andrés-Barrao *et al.*, 2017), jež jsou účinné proti rostlinným patogenním bakteriím (Duan *et al.*, 2013; Gupta *et al.*, 2014), dále tvoří enzym chitinasu, která působí proti buněčné stěně hub a hmyzu (Hamid *et al.*, 2013).

Podle studie má tento kmen velice dobré účinky na růst rostliny *Medicago sativa*. Během kultivace rostlin *M. sativa* v prostředí bakterie *Enterobacter* sp. SA 187 a rostlin pěstovaných jenom v čistém médiu byl pozorován nárůst zelené hmoty rostlin o 12 a 16% u rostlin kultivovaných v prostředí bakterie *Enterobacter* sp. SA 187 než u rostlin pěstovaných v kontrolních podmínkách (de Zélicourt *et al.*, 2018).

### 2.3.9.4 Solný stres

Nejvíce zkoumanou vlastností bakterie kmene *Enterobacter* sp. SA 187 je jeho vliv na zlepšení tolerance solného stresu u rostlin. Za kontrolních podmínek semenáčky *Arabidopsis thaliana* nevykazují žádné fenotypové rozdíly. Mezi rostlinami pěstovanými v prostředí bakterie a rostlinami pěstovanými na čistém médiu nebyl větší rozdíl kromě zvýšené délky kořenových vlásků u inokulovaných rostlin. Ovšem při vystavení rostlin zvýšenému obsahu soli docházelo ke značným rozdílům mezi rostlinami. Rostliny *Arabidopsis thaliana* kultivované v prostředí bakterie *Enterobacter* sp. SA 187 měly více vyvinutou jak podzemní tak i nadzemní část v porovnání s kontrolními rostlinami. Délka hlavního kořene zůstala stejná u inokulovaných i neinokulovaných rostlin, nicméně hustota bočních kořenů a kořenových vlásků byla mnohem větší u inokulovaných než u neinokulovaných rostlin (de Zélicourt *et al.*, 2018).

Důležitou roli při solném stresu hraje koncentrace sodných a draselných iontů ve stonkových výhoncích a kořenech rostliny. U kontrolní i bakterií ošetřené rostliny dochází ke stejnému hromadění sodných iontů v kořenech i nadzemní části. Rozdíl nastává v případě draselných iontů, kdy rostliny ošetřené bakterií *Enterobacter* sp. SA 187 hromadily více draselných iontů, což mělo za následek menší poměr sodných a draselných iontů u rostliny a tento fakt přispíval ke zvýšenému růstu rostlin ošetřených bakterií *Enterobacter* sp. SA 187 oproti kontrolním rostlinám během solného stresu (de Zélicourt *et al.*, 2018).

Další klíčovou vlastností při působení stresu na rostlinu je produkce různých rostlinných hormonů. Během solného stresu docházelo u kontrolních rostlin k hromadění kyseliny abscisové a kyseliny jasmonové uvnitř těla rostliny. Sledovaná bakterie *Enterobacter* sp. SA 187 byla schopna tuto akumulaci značně snížit. Zajímavý byl také fakt, že u rostlin ošetřených bakterií *Enterobacter* sp. SA 187 při solném stresu došlo k aktivaci etylénové signální dráhy a tedy k produkci etylénu, co by taky mohlo přispět k zvýšenému růstu rostlin ošetřených bakterií (de Zélicourt *et al.*, 2018). Samotná bakterie ovšem není schopna tvorby etylenu. Bližší studie ovšem ukázala, že bakterie obsahuje tzv. 5'-metylthioadenosinový cyklus, kdy z 5'-metylthioadenosinu vzniká metionin a jednou z jeho částí je sloučenina 2-keto-4-metylthiobutyryát, která může sloužit jako prekurzor pro tvorbu etylénu (Eckert *et al.*, 2014).

## 2.4 Hydroponie

Hydroponie je proces pěstování rostlin mimo půdní prostředí ve vodném roztoku obohaceném potřebnými živinami nebo v jiném živném médiu. Součástí systému může být zahrnuta pevná opora kořenů, nejčastěji ve formě písku nebo štěrku. Místo názvu hydroponie se dají použít termíny jako vodní kultura, hydrokultura, nutrikultura, bezpůdní kultura, chemická kultura nebo nádržová kultura (Jones, 2005). První zmínky a studie o hydroponii vznikaly od roku 1937 (Gericke, 1937). V dnešní době se v hydroponických podmínkách nejvíce pěstují různé druhy ovoce a zeleniny, jako například rajčata (*Lycopersicon esculentum*), papriky (*Capsicum annum*), okurky (*Cucumis sativus*), fazol (*Phaseolus vulgaris*), melouny (*Cucumis melo*), jahody (*Fragaria ananassa*) a některé okrasné druhy rostlin jako růže (*Rosa berberifolia*) a měsíčky (*Tagetes patula*) (Sardare a Admane, 2013).

Princip této metody spočívá v tom, že se kořenová část rostliny ponoří do tekutého živného média. Existují dva druhy systémů hydroponie. Jeden, během kterého dochází k neustálému přívodu nových živin a druhý, který je statický a nové živiny se nepřidávají (Sardare a Admane, 2013). V tomto případě je při dlouhodobém pěstování potřeba hydroponické médium pravidelně vyměňovat. Živné médium musí obsahovat potřebné koncentrace makro- a mikroprvků. Mezi makroprvky patří uhlík, vodík, kyslík, dusík, fosfor, draslík, vápník, hořčík a síra a mezi mikroprvky patří bór, chlór, železo, molybden, mangan, zinek a měď. Většina těchto prvků je přidávána ve formě chemických sloučenin. Podle cílů experimentu je následně možné přidávat další chemické látky (Jones, 2005; Trejo-Téllez *et al.*, 2012).

Důvodem, proč se při pěstování rostlin využívají metody pěstování mimo půdu, jsou některá negativa, které obnáší pěstování rostlin v půdě, jež mají dopad na rostlinu nebo samotný proces pěstování. Mezi nejčastější negativní stránky pěstování rostlin v půdě patří výskyt půdních patogenních mikroorganismů, obsah nežádoucích látek v půdě, možnost eroze, postupné vysychání nebo naopak zavodňování půdy a v neposlední řadě úbytek orné půdy vhodné k pěstování rostlin (Mhadhbi, 2012; Raviv *et al.*, 2019). Na řadu tedy přichází metody pěstování rostlin v hydroponických podmínkách, které má z vědeckého hlediska několik výhod. Například při pěstování je možné lépe určovat a regulovat koncentrace všech přítomných látek a hodnoty pH, snadněji se předchází kontaminaci cizorodými látkami a hlavně mikroorganismy (Nathoo

*et al.*, 2017), živiny se dostávají přímo ke kořenům a rostlina tak roste rychleji (Silberbush a Ben-Asher, 2001) a při následném zkoumání se rostlina nemusí čistit od půdního znečištění, během kterého by mohlo dojít k poranění rostliny (Nguyen *et al.*, 2016). Na druhou stranu má hydroponické pěstování i některé nevýhody. Během zkoumání určité problematiky v laboratoři může rostlina reagovat jinak v hydroponických podmínkách a jinak v půdě (Strojny a Nowak, 2004). Každá rostlina má taky trochu jiné nároky na živiny v médiu, a když dojde ke kontaminaci hydroponického roztoku patogeny, tak se v roztoku velmi rychle šíří. Systém musí být taky bedlivě sledován kvůli doplňování živin do hydroponie (Jones, 2005).

### 3 Experimentální část

#### 3.1 Materiál

##### 3.1.1 Chemikálie

Duchefa Biochemie: pentahydrát síranu měďnatého ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ )

Penta: ethanol ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ )

Sigma-Aldrich: dihydrát molybdenanu disodného ( $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ ), dihydrogenfosforečnan draselný ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), dusičnan amonný ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ), dusičnan draselný ( $\text{KNO}_3$ ), heptahydrát síranu hořečnatého ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ ), heptahydrát síranu zinečnatého ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ ), hydroxid draselný (KOH), hypochlorid sodný (NaClO), kyselina trihydrogenboritá ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ), tetrahydrát dusičnanu vápenatého ( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ ), tetrahydrát chloridu manganatého ( $\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ ), Tween 20, železná sůl EDTA (Fe-EDTA).

##### 3.1.2 Přístroje

Analytické váhy XA110/2X - Radwag (Polsko), centrifuga Scan Speed 1730 MR - Scala Scientific (Nizozemsko), digestoř – Merci (ČR), elektromagnetická míchačka MSH-420 - Boeco (Německo), kultivační komora - Weiss Gallenkamp (Velká Británie), laboratorní předvážky S1502 - BEL (Itálie), laminární box Faster – Schoeller instruments (ČR), lednice (4°C) Space plus – Electrolux (Švédsko), pH metr PC 2700 - Eutech Instruments (Singapur), pipety Eppendorf Research plus – Eppendorf (Německo), spektrofotometr – SmartSpec, BioRad (USA), vortex Genie – Scientific Industries (USA),

##### 3.1.3 Rostlinný materiál

Zrna divokého typu ječmene setého – *Hordeum vulgare* cv. Golden Promise

##### 3.1.4 Bakteriální kultury

Bakteriální kultura *Enterobacter* sp. SA187 W a *Enterobacter* sp. SA187 Y

#### 3.2 Metody

##### 3.2.1 Sterilizace rostlinného materiálu

Semena divokého typu ječmene setého (*H. vulgare* cv. Golden Promise) byla povrchově vysterilizována v laminárním boxu. Semena byla umístěna do 50 ml plastové zkušavky.

Následně byl přidán roztok 70% ethanolu (7,29 ml 96% ethanolu; 2, 71 ml MiliQ vody) a semena byla po dobu 30 sekund promývána. Následně byl ethanol odlit a zrna byla promyta MiliQ vodou. Poté byl do zkumavky přidán roztok 5% hypochloridu sodného (5 ml 10% hypochloridu sodného; 5 ml MiliQ vody) s malým množstvím 0,1% Tweenu (10  $\mu$ l) a obsah zkumavky byl 6-8 minut protřepáván. Roztok hypochloridu byl odlit a semena byla 5 krát promyta MiliQ vodou. Vysterilizovaná semena byla nechána v plastové zkumavce s destilovanou vodou přes noc při 4 °C v lednici. Zkumavka byla uzavřena parafilmem.

### **3.2.2 Klíčení semen**

Dále byla semena vyjmuta a přemístěna na nachystaný filtrační papír na Petriho misce. Filtrační papír byl předtím navlhčen destilovanou vodou. Petriho miska byla uzavřena víkem a utěsněna parafilmem. Pro stratifikaci byla semena na dva dny umístěna při 4 °C v lednici. Práce probíhala v laminárním boxu za sterilních podmínek.

### **3.2.3 Namnožení bakteriální kultury**

Bakterie *Enterobacter* sp. SA187 W a *Enterobacter* sp. 187 Y ze zásobní kultury byly inkubovány v tekutém LB médiu v plastové zkumavce při 28°C v inkubované třepačce cca 2 dny.

### **3.2.4 Centrifugace bakteriální kultury**

Namnožené kultury byly v plastových zkumavkách vloženy do centrifugy. Centrifuga byla vyvážena plastovými zkumavkami s destilovanou vodou. Kultury byly centrifugovány při 200 g x 10 min. Supernatant byl následně odlit. Pelet byl dále použit.

### **3.2.5 Příprava Hoaglandova roztoku**

Hoaglandův roztok byl připraven smícháním daných objemů z připravených zásobních roztoků a doplněn MiliQ vodou na 1 litr. Složky byly přidávány ve stejném pořadí jako v tabulce 1 (Tab. 1).

#### **Zásobní roztoky na Hoaglandův roztok**

##### **A. 1 mol·l<sup>-1</sup> dusičnanů**

- 101,1 g KNO<sub>3</sub>; 236,1 g Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> · 4 H<sub>2</sub>O; 80 g NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>
- MiliQ voda doplněna na 1 litr

Tab. 1: Dané objemy zásobních roztoků na přípravu 1 l Hoaglandova roztoku

Zásobní roztok	Objem (ml)
MiliQ voda	990
1 mol·l <sup>-1</sup> dusičnanů	5
1 mol·l <sup>-1</sup> MgSO <sub>4</sub>	2
4 mol·l <sup>-1</sup> Fe - EDTA	1
Mikronutrienty	1
1 mol·l <sup>-1</sup> KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (pH = 6)	1

#### B. 1 mol·l<sup>-1</sup> MgSO<sub>4</sub>

- 246,5 g MgSO<sub>4</sub> 7 H<sub>2</sub>O
- MiliQ voda doplněna na 1 litr

#### C. 4 mol·l<sup>-1</sup> Fe – EDTA

- 30 g Fe – EDTA
- MiliQ voda doplněna na 0,5 litru

#### D. Mikronutrienty

- 2,86 g H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>; 1,8 g MnCl<sub>2</sub> · 4 H<sub>2</sub>O; 0,2 g ZnSO<sub>4</sub> · 7 H<sub>2</sub>O; 0,08 g CuSO<sub>4</sub> · 5 H<sub>2</sub>O; 0,025 g Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> · 2 H<sub>2</sub>O
- MiliQ voda doplněna na 1 litr

#### E. 1 mol·l<sup>-1</sup> KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (pH = 6)

- 136,1 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>
- pH bylo upraveno pomocí 10 mol·l<sup>-1</sup> KOH
- MiliQ voda doplněna na 1 litr

### 3.2.6 Inokulace Hoaglandova roztoku bakteriálními kulturami

Do 50 ml plastové zkumavky, ve které se nacházel bakteriální pelet bakterií *Enterobacter* sp. SA187 W a *Enterobacter* sp. 187 Y bylo nalito 2-3 ml Hoaglandova roztoku a pelet byl v roztoku postupně rozsuspendován. Roztok byl přelit do připravené kádinky. Zkumavka byla ještě jednou vymyta 50 ml Hoaglandova roztoku a objem byl přidán do připravené kádinky. Výsledný objem roztoku bakterií 52 ml ve zkumavce byl doplněn do 100 ml Hoaglandovým roztokem. Následně byla v roztoku bakterií změřena optická hustota (OD<sub>600</sub>) při 600 nm ve spektrofotometru. Jako tzv. blank byl použit čistý Hoaglandův roztok. Výsledná OD<sub>600</sub> měla nabývat hodnoty 0,19 - 0,2. V případě potřeby



byl roztok ještě dále zředěn přidáním Hoaglandova roztoku. Postup přípravy živného media probíhal u obou bakteriálních kmenů stejně.

### **3.2.7 Pěstování rostlin v hydroponii**

Tři dny staré semenáčky WT ječmene byly z filtračního papíru v Petriho miskách postupně přeneseny do upravených laboratorních špiček, aby se kořenová část rostliny vycházela mimo špičku. Do jednotlivých nádob s připravenými roztoky (čistý Hoaglandův roztok, Hoaglandův roztok + *Enterobacter* sp. SA187 W, Hoaglandův roztok + *Enterobacter* sp. SA187 Y) byly vloženy semenáčky ječmene ve špičkách tak, aby se kořenová část rostliny nacházela v Hoaglandově roztoku. Nádoby byly zakryty alobalem, aby byla kořenová část ve tmě a došlo tak k simulaci reálného prostředí. Následně byly nádoby s rostlinami a s roztoky přeneseny z laboratoře do skleníku. Ve skleníku byly rostliny takto pěstovány 3 týdny při teplotě 21-23°C, světelném režimu světlo/tma 16h/8h. Hoaglandovy roztoky s bakteriemi i čistý roztok (kontrolní podmínky) byly měněny 2 krát týdně.

### **3.2.8 Fenotypová analýza**

Semenáčky byly vyfotografovány před vložením do roztoků, ve kterých probíhalo jejich pěstování, a následně byly znovu vyfotografovány po 3 týdnech pěstování v roztocích. V programu ImageJ byla následně změřena délka všech kořenů semenáčků a určen jejich celkový počet před a po kultivaci. Naměřená data byla zpracována pomocí tabulkové aplikace Microsoft Excel.

### **3.2.9 Statistická analýza**

Naměřené výsledky fenotypových kořenových změn u rostlin kultivovaných společně s bakteriemi byly porovnány s kontrolními rostlinami a pomocí Studentova t-testu byla určena statistická hladina významnosti u hodnot naměřených po 21 dnech kultivace.

## 4 Výsledky a diskuze

### 4.1 Fenotypové projevy na kořenové části ječmene setého cv. Golden Promise kultivovaného v přítomnosti bakterií *Enterobacter* sp.

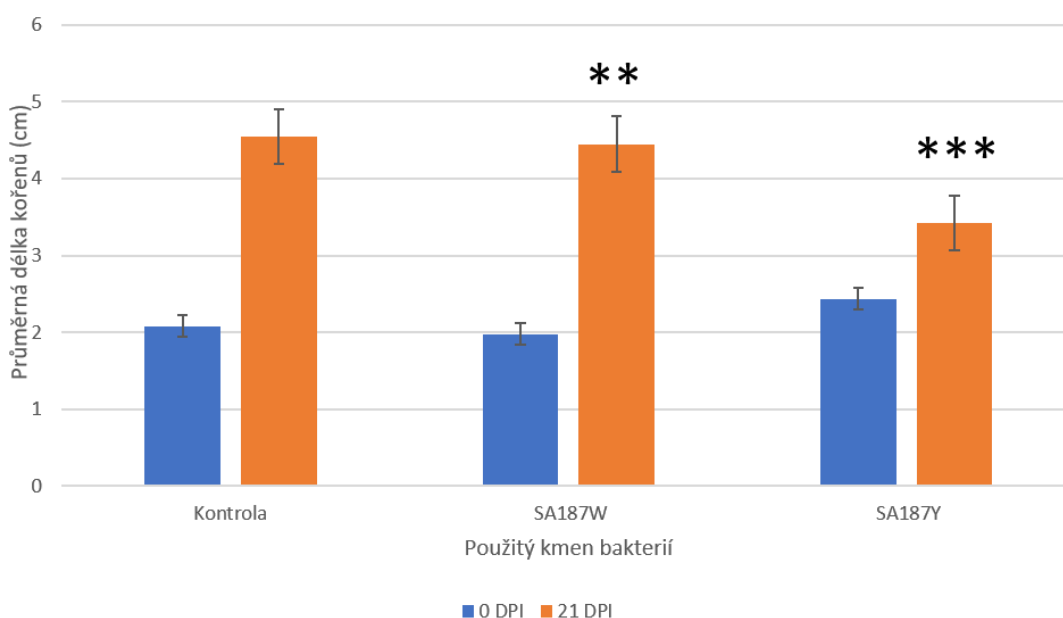
Účinky prospěšných bakterií *Enterobacter* sp. SA187 W a SA187 Y na kořenový fenotyp byl studován u ječmene setého (*Hordeum vulgare*) cv. Golden Promise. Celkově byla analyzována dvě biologická opakování. U obou opakování byly v programu ImageJ změřeny délky a tloušťky jednotlivých kořenů a počty jednotlivých kořenů před a po 3 týdnech kultivace.

#### 4.1.1 Změny délky kořenů ječmene setého cv. Golden Promise kultivovaného v přítomnosti bakterií *Enterobacter* sp.

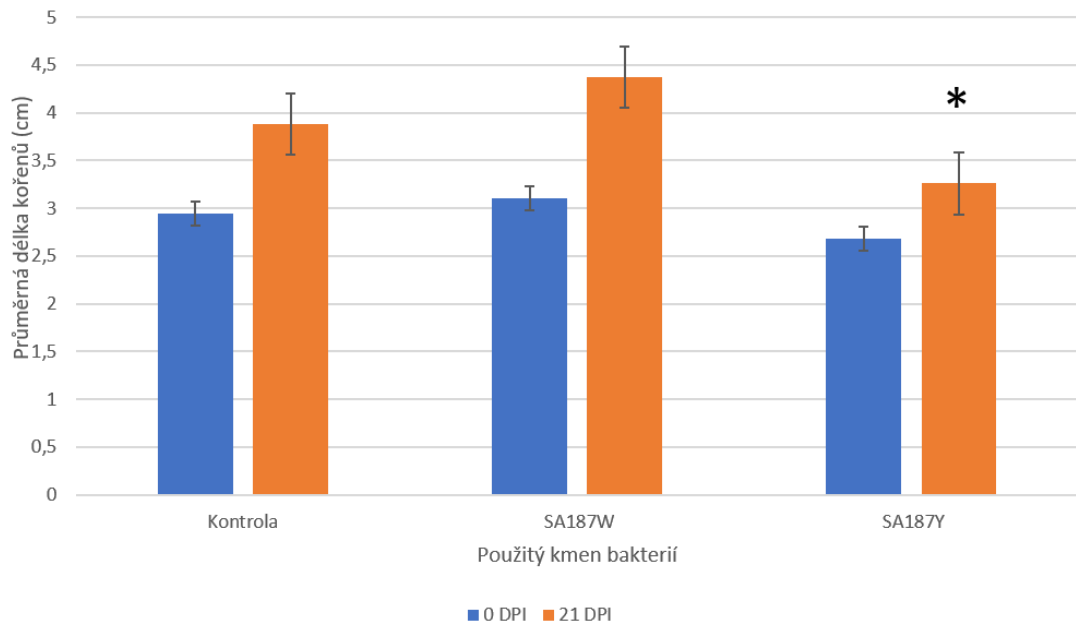
Prospěšné bakterie jsou velice slibnou skupinou bakterií. Řada druhů a kmenů má prokázané kladné účinky na růst a vývoj rostliny a také na lepší snášení různých biotických a abiotických stresů rostlinami. Jejich vliv je ovšem do značné míry ovlivněn druhem rostliny a druhem stresu, kterému je rostlina vystavena (Lugtenberg a Kamilova, 2009; Bhattacharyya a Jha, 2011). U kmene *Enterobacter* sp. SA187 byly za normálních nestresových podmínek prokázány kladné účinky na nárůst biomasy u vojtěšky seté (*Medicago sativa*) během polních testů. Na druhou stranu u *Arabidopsis thaliana* nedošlo k žádným velkým fyziologickým změnám během nestresových podmínek a vliv bakterie se projevil až během vystavení rostlin solnému stresu (de Zélicourt *et al.*, 2018). U jednoděložných rostlin, mezi které patří i ječmen, zatím vliv tohoto kmene nebyl vůbec zkoumán a cílem práce tedy bylo zjistit vliv bakterie *Enterobacter* sp. SA187 na růst a vývoj ječmene v podmínkách hydroponie.

Prvním parametrem, který byl u kontrolních rostlin ječmene a rostlin pěstovaných v přítomnosti bakterie *Enterobacter* sp. SA187 W a SA187 Y sledován, byla délka kořenů před a po 21 denní kultivaci v hydroponických podmínkách. Byla provedena dvě nezávislá biologická měření. U prvního měření byl pozorován větší průměrný nárůst délek kořenů než u druhého biologického opakování. Výsledky nárůstu délek kořenů ječmene z obou biologických replik jsou zobrazeny zvlášť ve dvou oddělených grafech pro každé opakování zvlášť (Obr. 4; Obr. 5). Výsledky nárůstu průměrných délek kořenů byly ovšem v obou opakováních podobné, kdy nejmenší nárůst délky kořenů po 21 dnech kultivace byl naměřen u rostlin kultivovaných v přítomnosti bakterie kmenu SA187 Y,

který činil v prvním opakování zhruba 0,99 cm a v druhém jen asi 0,58 cm za 21 dní. Hodnota průměrného nárůstu délky kořenů u rostlin pěstovaných společně s kmenem bakterie SA187 W byla v prvním opakování 2,47 cm a v druhém 1,27 cm. Tyto délky kořenů byly delší než u kontrolních rostlin, které dosahovali průměrného nárůstu 2,46 cm respektive 0,94 cm. Pomocí t-testu byla určena statistická hladina významnosti pro průměrné délky kořenů po 21 dnech kultivace, kdy v prvním opakování činila statistická hladina významnosti 99% ( $p \leq 0,01$ ; 9 měřených rostlin) pro SA187 W a pro SA187 Y dokonce 99,9% ( $p \leq 0,001$ ; 10 měřených rostlin). U druhého opakování u bakterie SA187 W nebyl ovšem zaznamenán signifikantní statistický rozdíl a u bakterie SA187 Y statistická hladina významnosti klesla na 95% ( $p \leq 0,05$ ; 9 měřených rostlin).



Obr. 4: Grafický záznam průměrných délek kořenů rostlin ječmene setého před a po 21 denní kultivaci v hydroponii s kmeny bakterie *Enterobacter* sp. (1. biologické opakování); (U jednotlivých sloupců jsou vyznačené směrodatné odchylky; hvězda je symbolem statistické hladiny významnosti (\*\*  $p \leq 0,01$ ; \*\*\*  $p \leq 0,001$ )); (Bylo měřeno 10 semenáčků od každého druhu (0 DPI) a následně 10 rostlin u kontroly a SA187 Y a 9 rostlin u SA187 W (21 DPI)).

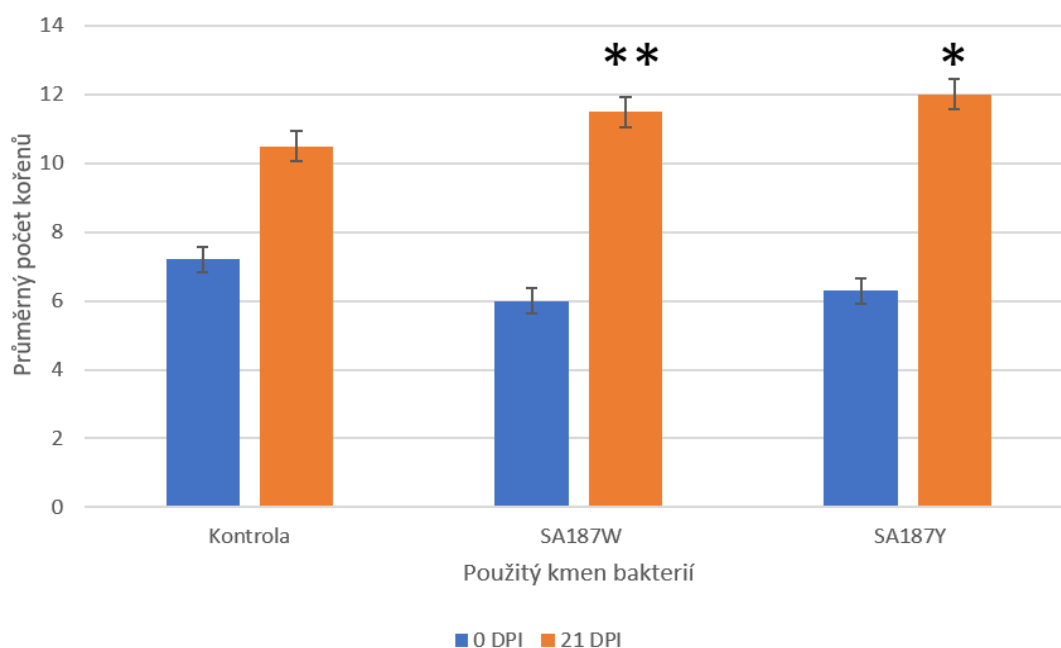


Obr. 5: Grafický záznam průměrných délek kořenů rostlin ječmene setého před a po 21 denní kultivaci v hydroponii s bakteriálními kmeny *Enterobacter* sp. (2. biologické opakování); (U jednotlivých sloupců jsou vyznačené směrodatné odchylky; hvězda je symbolem statistické hladiny významnosti (\*  $p \leq 0,05$ )); (Bylo měřeno 12 semenáčků u každého druhu (0 DPI) a následně 9 rostlin u kontroly a SA187 Y a 10 rostlin SA187 W (21 DPI)).

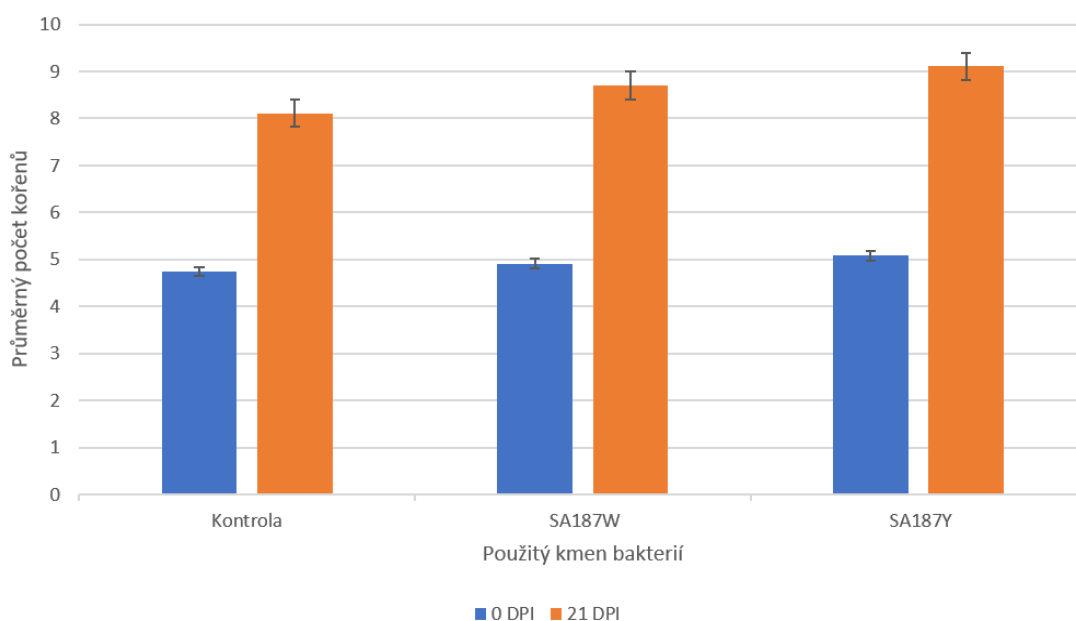
#### 4.1.2 Změny počtu kořenů ječmene setého cv. Golden Promise v přítomnosti bakterií *Enterobacter* sp.

Druhým zkoumaným parametrem byl nárůst počtu kořenů po 21 denní kultivaci s bakteriemi ve srovnání s kontrolními rostlinami. Opět byly vytvořeny dvě sady grafů pro dvě biologická opakování (Obr. 6; Obr. 7). Semenáčky ječmene v prvním opakování na začátku experimentu vytvořili více kořenů než semenáčky ve druhém opakování. Porovnání bylo ovšem, obdobné u obou měření. Největší nárůst počtu kořenů po 21 denní kultivaci byl zaznamenán u rostlin kultivovaných s bakterií SA187 Y, kdy v prvním opakování došlo k průměrnému nárůstu o 5,72 a v druhém opakování o 4,03 kořenů za 21 dní. U rostlin ječmene kultivovaných s bakterií SA187 W došlo k průměrnému nárůstu počtu kořenů o 5,5, respektive 3,79 kořenů za 21 dní. Nárůst průměrného počtu kořenů za 21 dnů se u kontrolních rostlin pohyboval okolo 3,3, respektive 3,36 kořenů. Pomocí t-testu byla opět určena statistická hladina významnosti pro průměrné počty kořenů po 21 dnech kultivace u rostlin kultivovaných s bakteriálními kmeny. V prvním opakování činila statistická hladina významnosti 99% ( $p \leq 0,01$ ; 9 měřených rostlin) u rostlin kultivovaných s SA187 W a 95% ( $p \leq 0,05$ ; 10 měřených rostlin) u rostlin

kultivovaných s SA187 Y. U druhého opakování nebyl ani v jednom případě zaznamenán signifikantní statistický rozdíl.



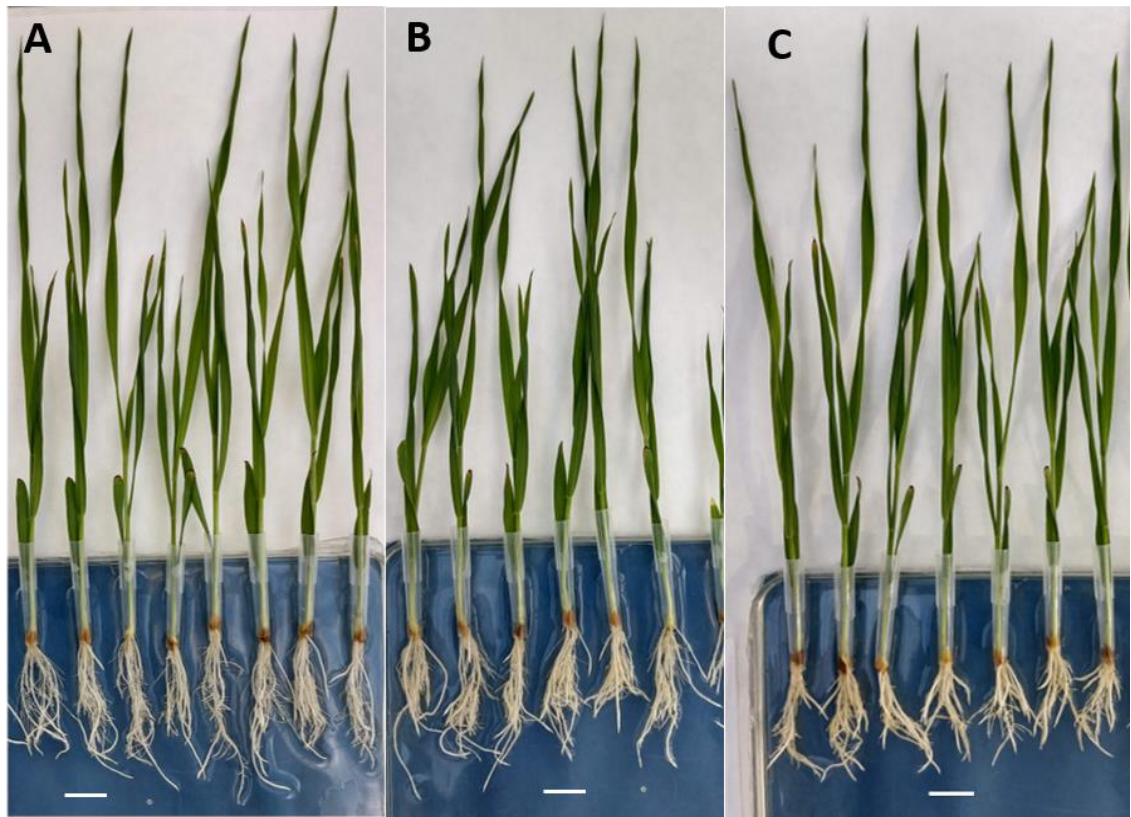
Obr. 6: Grafický záznam průměrného počtu kořenů rostlin ječmene setého před a po 21 denní kultivaci v hydroponii s bakteriálními kmeny *Enterobacter* sp. (1. biologické opakování); (U jednotlivých sloupců jsou vyznačené směrodatné odchylky; hvězda je symbolem statistické hladiny významnosti (\*  $p \leq 0,05$ ; \*\*  $p \leq 0,01$ )); (Bylo měřeno 10 semenáčků od každého druhu (0 DPI) a následně 10 rostlin u kontroly a SA187 Y a 9 rostlin u SA187 W (21 DPI)).



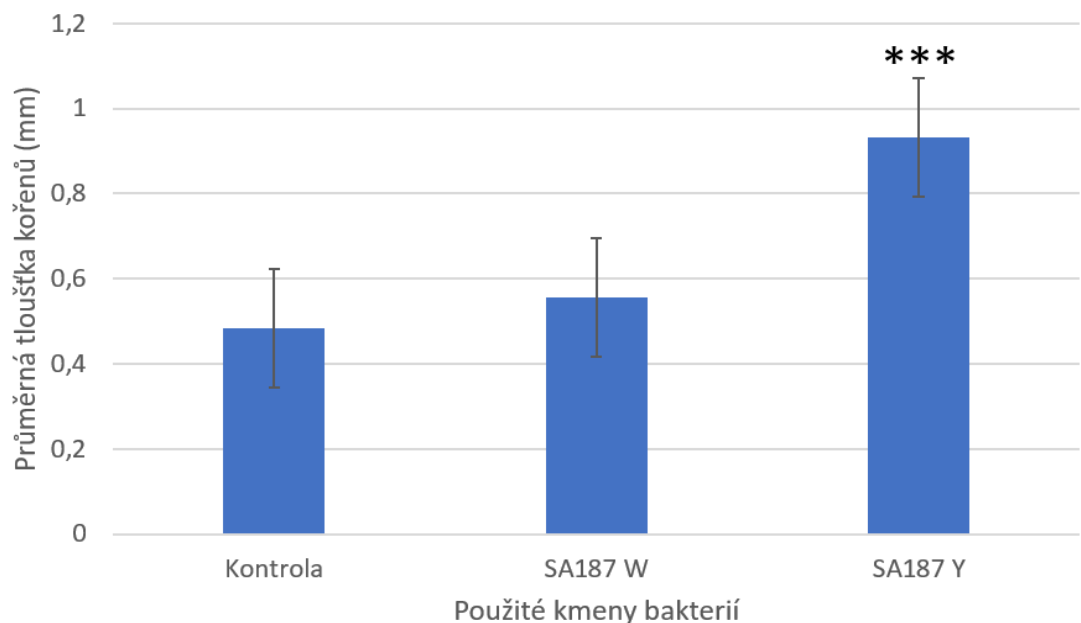
Obr. 7: Grafický záznam průměrného počtu kořenů rostlin ječmene setého před a po 21 denní kultivaci v hydroponii s bakteriálními kmeny *Enterobacter* sp. (2. biologické opakování); (U jednotlivých sloupců jsou vyznačené směrodatné odchylky); (Bylo měřeno 12 semenáčků u každého druhu (0 DPI) a následně 9 rostlin u kontroly a SA187 Y a 10 rostlin SA187 W (21 DPI)).

### 4.1.3 Změny tloušťky kořenů ječmene setého cv. Golden Promise v přítomnosti bakterií *Enterobacter* sp.

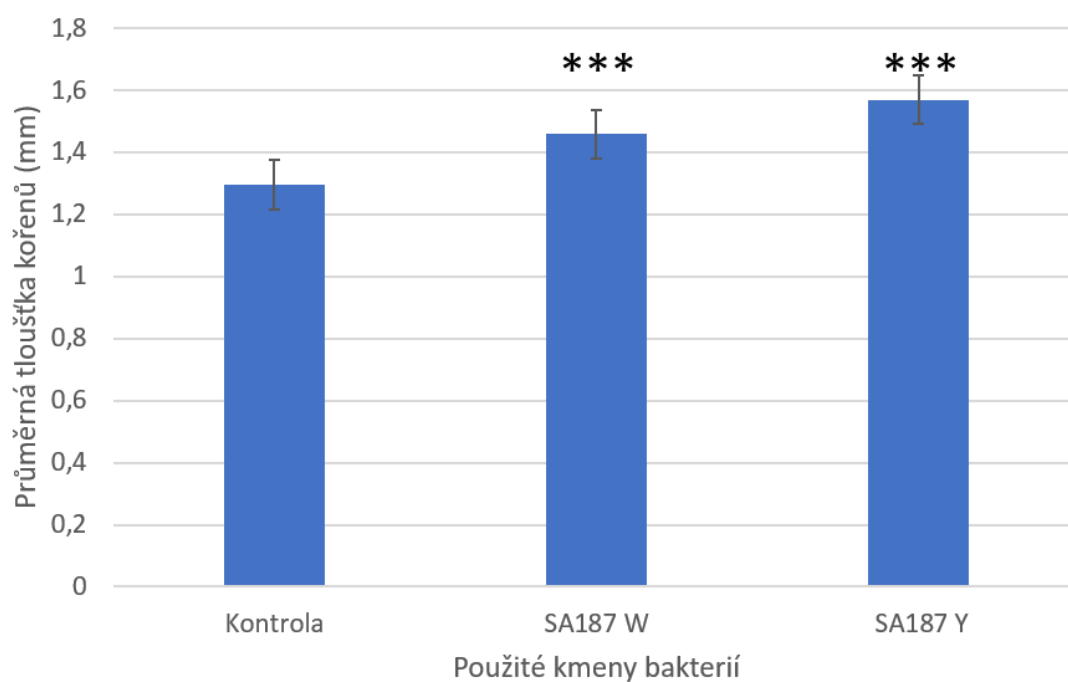
Další vlastností kořenů ječmene, která se sledovala zejména u rostlin kultivovaných s bakterií SA187 Y, bylo nápadnější ztluštění samotných kořenů (Obr. 8). Výsledky prvního biologického opakování však byly výraznější než u druhého opakování, což je ukázáno na dvou příslušných grafech (Obr. 9; Obr. 10). Z naměřených výsledků u prvního opakování vyplynulo, že průměrná tloušťka kořenů rostlin kultivovaných 21 dní společně s SA187 Y byla 0,93 mm, oproti 0,48 mm u kontrolních rostlin a 0,56 mm u rostlin kultivovaných společně s SA187 W. Pomocí t-testu byla určena statistická hladina významnosti, která v případě SA187 Y činila 99,9% ( $p \leq 0,001$ ; 10 měřených rostlin), v případě SA187 W nebyl zaznamenán dostatečný statistický rozdíl. V druhém opakování činila průměrná tloušťka kořenů u rostlin kultivovaných společně s SA187 Y 1,57 mm, u rostlin kultivovaných s SA187 W byla 1,46 mm a u kontrolních rostlin 1,3 mm. Pomocí t-testu byla určena statistická hladina významnosti, která v případě SA187 Y i SA187 W činila 99,9% ( $p \leq 0,001$ ; 10 měřených rostlin s SA187 W a 9 měřených rostlin s SA187 Y). Rostliny kultivované společně s SA187 Y měly také v průměru největší průměrný přírůstek počtu kořenů po 21 dnech. Díky zmožnění dojde ke zvětšení povrchu kořene a k možnosti absorpce většího množství živin a vody z okolního prostředí. Společně s větším počtem kořenů můžou uvedené fenotypové projevy rostlin kultivovaných s bakterií SA187 Y kompenzovat výslednou kratší délku jednotlivých kořenů. Fenotyp kořene ječmene u kmene SA187 Y je tedy poněkud odlišný od kmene SA187 W. Avšak v důsledku nejednotných výsledků získaných z prvního a druhého biologického opakování by bylo třeba vypěstovat další biologické opakování pro potvrzení tohoto jevu.



Obr. 8: Kvalitativní porovnání kořenového systému kontrolních rostlin ječmene (A), rostlin kultivovaných s *Enterobacter* sp. SA187 W (B) a rostlin kultivovaných s *Enterobacter* sp. SA187 Y (C) po 21 denní kultivaci v hydroponických podmínkách (měřítko: 2 cm).



Obr. 9: Grafický záznam průměrné tloušťky kořenů rostlin ječmene setého po 21 denní kultivaci v hydroponii s bakteriálními kmeny *Enterobacter* sp. (1. biologické opakování); (U jednotlivých sloupců jsou vyznačené směrodatné odchylky; hvězda je symbolem statistické hladiny významnosti (\*\*\*)  $p \leq 0,001$ ); (Bylo měřeno 10 rostlin u kontroly a SA187 Y a 9 rostlin u SA187 W (21 DPI)).



Obr. 10: Grafický záznam průměrné tloušťky kořenů rostlin ječmene setého po 21 denní kultivaci v hydroponii s bakteriálními kmeny *Enterobacter* sp. (2. biologické opakování); (U jednotlivých sloupců jsou vyznačené směrodatné odchylky; hvězda je symbolem statistické hladiny významnosti (\*\*\*)  $p \leq 0,001$ ); (Bylo měřeno 9 rostlin u kontroly a SA187 Y a 10 rostlin u SA187 W (21 DPI)).



## 5 Závěr

Bakalářská práce se v teoretické části zabývá MAPK signálními drahami a hlavně jejich rolí během biotického stresu. Velký důraz je kladen zejména na MAPK kaskády u rýže seté (*Oryza sativa*) a ječmene setého (*Hordeum vulgare*), které patří mezi jednoděložné rostliny. Druhá část je věnována poznatkům týkajících se prospěšných bakterií a jejich vlivu na růst a vývoj rostlin a také na zlepšování odolnosti rostlin vůči různým druhům abiotických a biotických stresů. Větší pozornost se věnuje biotickým stresům. V práci jsou dále shrnuty vztahy mezi prospěšnými bakteriemi a ječmenem setým.

Praktická část byla zaměřena na studium fenotypových projevů na kořenech divokého typu ječmene setého kultivovaného 21 dní v přítomnosti bakteriálních kmenů *Enterobacter* sp. SA187 W a SA187 Y a výsledky porovnány s kontrolními rostlinami kultivovanými jenom v čistém Hoaglandově médiu. Z výsledků vyplynulo, že u rostlin kultivovaných s kmenem bakterií *Enterobacter* sp. SA187 W došlo k většímu nárůstu průměrné délky kořenů u obou opakování po 21 dnech kultivace a také k většímu nárůstu průměrného počtu kořenů po 21 dnech. Rostliny kultivované s kmenem bakterií *Enterobacter* sp. SA187 Y měly nejmenší průměrný nárůst délky kořenů oproti rostlinám kultivovaným s SA187 W i kontrolním rostlinám. Naopak rostliny kultivované s tímto bakteriálním kmenem dosáhli nejlepších výsledků v nárůstu průměrného počtu kořenů za 21 dní a navíc bylo během prvního biologického opakování a méně během druhého opakování u těchto kořenů pozorováno značné zmožutnění oproti kořenům u ostatních sledovaných rostlin. Mechanismus, kterým oba studované kmeny bakterií *Enterobacter* sp. SA187 W a SA187 Y ovlivňují kořenový fenotyp ječmene setého, je možná nepatrně odlišný. Tyto kmeny by podle zatím shromážděných poznatků a našich předběžných výsledků měly být schopny podpořit růst kořenové části ječmene setého, ale pro potvrzení těchto hypotéz by bylo potřeba provést další nejen fenotypové experimenty jak na makro, tak i na mikroskopické úrovni a taky provést navazující biochemické popřípadě proteomické analýzy kořenů. Na tyto experimenty ovšem kvůli stíženým akademickým podmínkám nezbyl čas.

## 6 Literatura

- Abdallah R.A.B., Jabnoun-Khiareddine H., Daami-Remadi M. (2019): Exploring the Beneficial Endophytic Microorganisms for Plant Growth Promotion and Crop Protection: Elucidation of Some Bioactive Secondary Metabolites Involved in Both Effects. In: *Secondary Metabolites of Plant Growth Promoting Rhizomicroorganisms: Discovery and Applications*. (Singh H.B., Keswani C., Reddy M.S., Sansinenea E., García-Estrada C), Springer, Singapore, 319–352.
- Afzal I., Shinwari Z.K., Sikandar S., Shahzad S. (2019): Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants. *Microbiological Research* **221**, 36–49.
- Ahemad M., Kibret M. (2014): Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *Journal of King Saud University - Science* **26**, 1–20.
- Alegria Terrazas R., Balbirnie-Cumming K., Morris J., Hedley P.E., Russell J., Paterson E., Baggs E.M., Fridman E., Bulgarelli D. (2020): A footprint of plant eco-geographic adaptation on the composition of the barley rhizosphere bacterial microbiota. *Scientific Reports* **10**, 12916 <https://www.nature.com/articles/s41598-020-69672-x>.
- Alexandre G., Greer S.E., Zhulin I.B. (2000): Energy Taxis Is the Dominant Behavior in *Azospirillum brasilense*. *Journal of Bacteriology* **182**, 6042–6048.
- Aloo B.N., Makumba B.A., Mbega E.R. (2019): The potential of Bacilli rhizobacteria for sustainable crop production and environmental sustainability. *Microbiological Research* **219**, 26–39.
- Andrés-Barrao C., Lafi F.F., Alam I., de Zélicourt A., Eida A.A., Bokhari A., Alzubaidy H., Bajic V.B., Hirt H., Saad M.M. (2017): Complete Genome Sequence Analysis of *Enterobacter* sp. SA187, a Plant Multi-Stress Tolerance Promoting Endophytic Bacterium. *Frontiers in Microbiology* **8**, 2023. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2017.02023/full>.
- Arnold A.E., Lewis L.C. (2005): Ecology and Evolution of Fungal Endophytes and Their Roles against Insects. In: *Insect-Fungal Associations: Ecology and Evolution*. (Vega F.E., Blackwell M.), Oxford University press, New York, 74-96.
- Aswani R., Vipina Vinod T.N., Ashitha Jose, Radhakrishnan E.K. (2020): Benefits of plant-endophyte interaction for sustainable agricultur. In: *Microbial Endophytes*. 1st ed., (Kumar A., Radhakrishnan E.K.), Woodhead Publishing, Cambrdige, 35-55.
- Audrain B., Farag M.A., Ryu C.-M., Ghigo J.-M. (2015): Role of bacterial volatile compounds in bacterial biology. *FEMS Microbiology Reviews* **39**, 222–233.
- Babu A.G., Shim J., Bang K.S., Shea P.J., Oh B.T. (2014): *Trichoderma virens* PDR-28: A heavy metal-tolerant and plant growth-promoting fungus for remediation and bioenergy crop production on mine tailing soil. *Journal of Environmental Management* **132**, 129–134.
- Badr A., M, K., Sch R., Rabey H.E., Effgen S., Ibrahim H.H., Pozzi C., Rohde W., Salamini F. (2000): On the Origin and Domestication History of Barley (*Hordeum vulgare*). *Molecular Biology and Evolution* **17**, 499–510.
- Badri D.V., Vivanco J.M. (2009): Regulation and function of root exudates. *Plant, Cell & Environment* **32**, 666–681.
- Baker B., Zambryski P., Staskawicz B., Dinesh-Kumar S.P. (1997): Signaling in Plant-Microbe Interactions. *Science* **276**, 726–733.
- Begonia M.F.T., Kremer R.J. (1994): Chemotaxis of deleterious rhizobacteria to velvetleaf (*Abutilon theophrasti* Medik.) seeds and seedlings. *FEMS Microbiology Ecology* **15**, 227–235.
- Bekele E. (1983): A differential rate of regional distribution of barley flavonoid patterns in Ethiopia, and a view on the center of origin of barley. *Hereditas* **98**, 269–280.
- Bennett J.W., Hung R., Lee S., Padhi S. (2012): 18 Fungal and Bacterial Volatile Organic Compounds: An Overview and Their Role as Ecological Signaling Agents, In: *Fungal Associations*. (Hock B.), Springer, Berlin, Heidelberg, 373–393.
- Berg G., Smalla K. (2009): Plant species and soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere. *FEMS Microbiology Ecology* **68**, 1–13.
- Beris D., Vassilakos N. (2020): Plant beneficial microbes: do they have a role as antiviral agents in agriculture?. In: *Molecular Aspects of Plant Beneficial Microbes in Agriculture*. 1st ed., (Sharma V., Salwan R., Al-Ani L.K.T.), Academic Press, Cambridge, 19–33.

- Besset-Manzoni Y., Rieusset L., Joly P., Comte G., Prigent-Combaret C. (2018): Exploiting rhizosphere microbial cooperation for developing sustainable agriculture strategies. *Environmental Science and Pollution Research* **25**, 29953–29970.
- Bhattacharyya P.N., Jha D.K. (2012): Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* **28**, 1327–1350.
- Bjelić D., Marinković J., Tintor B., Mrkovački N. (2018): Antifungal and Plant Growth Promoting Activities of Indigenous Rhizobacteria Isolated from Maize (*Zea mays* L.) Rhizosphere. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* **49**, 88–98.
- Boller T., He S.Y. (2009): Innate Immunity in Plants: An Arms Race Between Pattern Recognition Receptors in Plants and Effectors in Microbial Pathogens. *Science* **324**, 742–744.
- Bouizgarne B. (2013): Bacteria for Plant Growth Promotion and Disease Management, In: *Bacteria in Agrobiolgy: Disease Management*. (Maheshwari D.K.), Springer, Berlin, Heidelberg, 15–47.
- Bringham R.M., Cardon Z.G., Gage D.J. (2001): Galactosides in the rhizosphere: Utilization by *Sinorhizobium meliloti* and development of a biosensor. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **98**, 4540–4545.
- Çakmakçı R., Dönmez M.F., Erdoğan Ü. (2007). The Effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Barley Seedling Growth, Nutrient Uptake, Some Soil Properties, and Bacterial Counts. *TURKISH JOURNAL OF AGRICULTURE AND FORESTRY* **31**, 189–199. <https://journals.tubitak.gov.tr/agriculture/abstract.htm?id=8939>.
- Canbolat M.Y., Bilen S., Çakmakçı R., Şahin F., Aydın A. (2006): Effect of plant growth-promoting bacteria and soil compaction on barley seedling growth, nutrient uptake, soil properties and rhizosphere microflora. *Biology and Fertility of Soils* **42**, 350–357.
- Cavaglieri L., Orlando J., Rodríguez M.I., Chulze S., Etcheverry M. (2005): Biocontrol of *Bacillus subtilis* against *Fusarium verticillioides* in vitro and at the maize root level. *Research in Microbiology* **156**, 748–754.
- Combes-Meynet E., Pothier J.F., Moëgne-Loccoz Y., Prigent-Combaret C. (2010): The Pseudomonas Secondary Metabolite 2,4-Diacetylphloroglucinol Is a Signal Inducing Rhizoplane Expression of Azospirillum Genes Involved in Plant-Growth Promotion. *Molecular Plant-Microbe Interactions* **24**, 271–284.
- Cui L., Yang G., Yan J., Pan Y., Nie X. (2019): Genome-wide identification, expression profiles and regulatory network of MAPK cascade gene family in barley. *BMC Genomics* **20**, 750. <https://bmcbgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12864-019-6144-9>.
- Dai F., Nevo E., Wu D., Comadran J., Zhou M., Qiu L., Chen Z., Beiles A., Chen G., Zhang G. (2012): Tibet is one of the centers of domestication of cultivated barley. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **109**, 16969–16973.
- Damam M., Kaloori K., Gaddam B., Kausar R. (2016): Plant growth promoting substances (phytohormones) produced by rhizobacterial strains isolated from the rhizosphere of medicinal plants. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* **37**, 130–136.
- de Carvalho J.O., Broll V., Martinelli A.H.S., Lopes F.C. (2020): Endophytic fungi: positive association with plants. In: *Molecular Aspects of Plant Beneficial Microbes in Agriculture*. 1st ed., (Sharma V., Salwan R., Al-Ani L.K.T.), Academic Press, Cambridge, 321–332.
- de Zélicourt A., Synek L., Saad M.M., Alzubaidy H., Jalal R., Xie Y., Andrés-Barrao C., Rolli E., Guerard F., Mariappan K.G., Daur I., Colcombet J., Benhamed M., Depaepe T., Van Der Straeten D., Hirt H. (2018): Ethylene induced plant stress tolerance by *Enterobacter* sp. SA187 is mediated by 2-keto-4-methylthiobutyric acid production. *PLoS genetics* **14**, e1007273. <https://journals.plos.org/plosgenetics/article?id=10.1371/journal.pgen.1007273>.
- Devoto A., Turner J.G. (2003): Regulation of jasmonate-mediated plant responses in arabidopsis. *Annals of Botany* **92**, 329–337.
- Dodds P.N., Rathjen J.P. (2010): Plant immunity: towards an integrated view of plant–pathogen interactions. *Nature Reviews Genetics* **11**, 539–548.
- Duan J., Jiang W., Cheng Z., Heikkilä J.J., Glick B.R. (2013): The Complete Genome Sequence of the Plant Growth-Promoting Bacterium *Pseudomonas* sp. UW4. *PLOS ONE* **8**, e58640. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0058640>.
- Dubois M., Van den Broeck L., Inzé D. (2018): The Pivotal Role of Ethylene in Plant Growth. *Trends in Plant Science* **23**, 311–323.

- Duerr B., Gawienowski M., Ropp T., Jacobs T. (1993): MsERK1: a mitogen-activated protein kinase from a flowering plant. *Plant Cell* **5**, 87–96.
- Eckert C., Xu W., Xiong W., Lynch S., Ungerer J., Tao L., Gill R., Maness P.C., Yu J. (2014): Ethylene-forming enzyme and bioethylene production. *Biotechnology for Biofuels* **7**, 33. <https://biotechnologyforbiofuels.biomedcentral.com/articles/10.1186/1754-6834-7-33>.
- Elias S., Banin E. (2012): Multi-species biofilms: living with friendly neighbors. *FEMS Microbiology Reviews* **36**, 990–1004.
- Faure D., Vereecke D., Leveau J.H.J. (2009): Molecular communication in the rhizosphere. *Plant Soil* **321**, 279–303.
- Feng F., Zhou J.M. (2012): Plant–bacterial pathogen interactions mediated by type III effectors. *Current Opinion in Plant Biology* **15**, 469–476.
- Fernando W.G.D., Nakkeeran S., Zhang Y. (2006): Biosynthesis of Antibiotics by PGPR and its Relation in Biocontrol of Plant Diseases. In: *PGPR: Biocontrol and Biofertilization*. (Siddiqui Z.A.), Springer Netherlands, Dordrecht, 67–109.
- Fouzia A., Allaoua S., Hafsa C.S., Mostefa G. (2015): PLANT GROWTH PROMOTING AND ANTAGONISTIC TRAITS OF INDIGENOUS FLUORESCENT PSEUDOMONAS SPP. ISOLATED FROM WHEAT RHIZOSPHERE AND A. HALIMUS ENDOSPHERE. *European scientific journal* **11**, 129-148. <https://eujournal.org/index.php/esj/article/view/6104>.
- Gadhav K.R., Devlin P.F., Ebertz A., Ross A., Gange A.C. (2018): Soil Inoculation with *Bacillus* spp. Modifies Root Endophytic Bacterial Diversity, Evenness, and Community Composition in a Context-Specific Manner. *Microbial Ecology* **76**, 741–750.
- Gans J., Wolinsky M., Dunbar J. (2005): Computational Improvements Reveal Great Bacterial Diversity and High Metal Toxicity in Soil. *Science* **309**, 1387–1390.
- García-Fraile P., Menéndez E., Rivas R., García-Fraile P., Menéndez E., Rivas R. (2015): Role of bacterial biofertilizers in agriculture and forestry. *AIMS Bioengineering* **2**, 183–205. <http://www.aimspress.com/article/doi/10.3934/bioeng.2015.3.183>.
- Gericke W.F. (1937): Hydroponics—Crop Production in Liquid Culture Media. *Science* **85**, 177–178.
- Gianfreda L., Rao M.A. (2004): Potential of extra cellular enzymes in remediation of polluted soils: a review. *Enzyme and Microbial Technology* **35**, 339–354.
- Goff S.A., Ricke D., Lan T.H., Presting G., Wang R., Dunn M., Glazebrook J., Sessions A., Oeller P., Varma H., Hadley D., Hutchison D., Martin C., Katagiri F., Lange B.M., Moughamer T., Xia Y., Budworth P., Zhong J., Miguel T., Paszkowski U., Zhang S., Colbert M., Sun W., Chen L., Cooper B., Park S., Wood T.C., Mao L., Quail P., Wing R., Dean R., Yu Y., Zharkikh A., Shen R., Sahasrabudhe S., Thomas A., Cannings R., Gutin A., Pruss D., Reid J., Tavtigian S., Mitchell J., Eldredge G., Scholl T., Miller R.M., Bhatnagar S., Adey N., Rubano T., Tusneem N., Robinson R., Feldhaus J., Macalma T., Oliphant A., Briggs S. (2002): A Draft Sequence of the Rice Genome (*Oryza sativa* L. ssp. japonica). *Science* **296**, 92–100.
- Gouda S., Kerry R.G., Das G., Paramithiotis S., Shin H.S., Patra J.K. (2018): Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. *Microbiological Research* **206**, 131–140.
- Goyal R.K., Tulpan D., Chomistek N., González-Peña Fundora D., West C., Ellis B.E., Frick M., Laroche A., Foroud N.A. (2018): Analysis of MAPK and MAPKK gene families in wheat and related Triticeae species. *BMC Genomics* **19**, 178. <https://bmcbgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12864-018-4545-9>.
- Grandclément C., Tannières M., Moréra S., Dessaux Y., Faure D. (2016): Quorum quenching: role in nature and applied developments. *FEMS Microbiology Reviews* **40**, 86–116.
- Green E.R., Mecsas J. (2016): Bacterial Secretion Systems: An Overview, In: *Virulence Mechanisms of Bacterial Pathogens*. 5th ed., (Kudva I.T., Cornick N.A., Plummer P.J., Zhang Q., Nicholson T.L., Bannantine J.P., Bellaire B.H.), ASM Press, Washington DC., 213–239.
- Gupta A., Gopal M., Thomas G.V., Manikandan V., Gajewski J., Thomas G., Seshagiri S., Schuster S.C., Rajesh P., Gupta R. (2014): Whole Genome Sequencing and Analysis of Plant Growth Promoting Bacteria Isolated from the Rhizosphere of Plantation Crops Coconut, Cocoa and Arecanut. *PLOS ONE* **9**, e104259. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0104259>.

- Haas D., Défago G. (2005): Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nature Reviews Microbiology* **3**, 307–319.
- Haas D., Keel C. (2003): Regulation of Antibiotic Production in Root-Colonizing Pseudomonas Spp. and Relevance for Biological Control of Plant Disease. *Annual Review of Phytopathology* **41**, 117–153.
- Hamel L.P., Nicole M.C., Sritubtim S., Morency M.-J., Ellis M., Ehltling J., Beaudoin N., Barbazuk B., Klessig D., Lee J., Martin G., Mundy J., Ohashi Y., Scheel D., Sheen J., Xing T., Zhang S., Seguin A., Ellis B.E. (2006): Ancient signals: comparative genomics of plant MAPK and MAPKK gene families. *Trends in Plant Science* **11**, 192–198.
- Hamid R., Khan M.A., Ahmad M., Ahmad M.M., Abdin M.Z., Musarrat J., Javed S. (2013): Chitinases: An update. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences* **5**, 21–29.
- Hardoim P.R., van Overbeek L.S., Berg G., Pirttilä A.M., Compant S., Campisano A., Döring M., Sessitsch A. (2015): The Hidden World within Plants: Ecological and Evolutionary Considerations for Defining Functioning of Microbial Endophytes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* **79**, 293–320.
- Hardoim P.R., van Overbeek L.S., van Elsas J.D. (2008): Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. *Trends in Microbiology* **16**, 463–471.
- Harwood W.A. (2019): An introduction to barley: The crop and the model. In: *Barley: Methods and protocols*. (Harwood W.A.), Humana Press, New York, NY, 1-5.
- Hedden P., Phillips A.L. (2000): Gibberellin metabolism: new insights revealed by the genes. *Trends in Plant Science* **5**, 523–530.
- Hirakawa H., Tomita H. (2013): Interference of bacterial cell-to-cell communication: a new concept of antimicrobial chemotherapy breaks antibiotic resistance. *Frontiers in Microbiology* **4**. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2013.00114/full>.
- Hiruma K., Kobae Y., Toju H. (2018): Beneficial associations between Brassicaceae plants and fungal endophytes under nutrient-limiting conditions: evolutionary origins and host–symbiont molecular mechanisms. *Current Opinion in Plant Biology* **44**, 145–154.
- Hossain M.M., Sultana F. (2020): Application and Mechanisms of Plant Growth Promoting Fungi (PGPF) for Phytostimulation. In: *Organic Agriculture*. (Das S.K.), IntechOpen. <https://www.intechopen.com/books/organic-agriculture/application-and-mechanisms-of-plant-growth-promoting-fungi-pgpf-for-phytostimulation>.
- Hossain M.M., Sultana F., Islam S. (2017): Plant Growth-Promoting Fungi (PGPF): Phytostimulation and Induced Systemic Resistance. In: *Plant-Microbe Interactions in Agro-Ecological Perspectives*. Vol. 2, *Microbial Interactions and Agro-Ecological Impacts*. (Singh D.P., Singh H.B., Prabha R. ), Springer, Singapore, 135–191.
- Huang X., Kurata N., Wei X., Wang Z.X., Wang A., Zhao Q., Zhao Y., Liu K., Lu H., Li W., Guo Y., Lu Y., Zhou C., Fan D., Weng Q., Zhu C., Huang T., Zhang L., Wang Y., Feng L., Furuumi H., Kubo T., Miyabayashi T., Yuan X., Xu Q., Dong G., Zhan Q., Li C., Fujiyama A., Toyoda A., Lu T., Feng Q., Qian Q., Li J., Han B. (2012): A map of rice genome variation reveals the origin of cultivated rice. *Nature* **490**, 497–501.
- Chang P., Gerhardt K.E., Huang X.D., Yu X.M., Glick B.R., Gerwing P.D., Greenberg B.M. (2014): Plant Growth-Promoting Bacteria Facilitate the Growth of Barley and Oats in Salt-Impacted Soil: Implications for Phytoremediation of Saline Soils. *International Journal of Phytoremediation* **16**, 1133–1147.
- Chaparro J.M., Badri D.V., Bakker M.G., Sugiyama A., Manter D.K., Vivanco J.M. (2013): Root Exudation of Phytochemicals in Arabidopsis Follows Specific Patterns That Are Developmentally Programmed and Correlate with Soil Microbial Functions. *PLOS ONE* **8**, e55731. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0055731>.
- Chen J., Wang L., Yuan M. (2021): Update on the Roles of Rice MAPK Cascades. *International Journal of Molecular Sciences* **22**. <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/4/1679>.
- Chibucos M.C., Tyler B.M. (2009): Common themes in nutrient acquisition by plant symbiotic microbes, described by the Gene Ontology. *BMC Microbiol* **9**, S6. <https://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2180-9-S1-S6>.

- Ichimura K., Casais C., Peck S.C., Shinozaki K., Shirasu K. (2006): MEKK1 Is Required for MPK4 Activation and Regulates Tissue-specific and Temperature-dependent Cell Death in Arabidopsis\*. *Journal of Biological Chemistry* **281**, 36969–36976.
- Ichimura K., Shinozaki K., Tena G., Sheen J., Henry Y., Champion A., Kreis M., Zhang S., Hirt H., Wilson C., Heberle-Bors E., Ellis B.E., Morris P.C., Innes R.W., Ecker J.R., Scheel D., Klessig D.F., Machida Y., Mundy J., Ohashi Y., Walker J.C. (2002): Mitogen-activated protein kinase cascades in plants: a new nomenclature. *Trends in Plant Science* **7**, 301–308.
- Jaber L.R., Ownley B.H. (2018): Can we use entomopathogenic fungi as endophytes for dual biological control of insect pests and plant pathogens?. *Biological Control* **116**, 36–45.
- Jacob J., Krishnan G.V., Thankappan D., Amma D.K.B.N.S. (2020): Endophytic bacterial strains induced systemic resistance in agriculturally important crop plants. In: *Microbial Endophytes*. 1st ed., (Kumar A., Radhakrishnan E.K.), Woodhead Publishing, Cambridge, 75–105.
- Jaggi M. (2018): Recent Advancement on Map Kinase Cascade in Biotic Stress, In: *Molecular Aspects of Plant-Pathogen Interaction*. (Singh, A., Singh, I.K), Springer, Singapore, 139–158.
- Jayakumar A., Kumar V.P., Joseph M., Nair I.C., Remakanthan A., Radhakrishnan E.K. (2020): Plant growth-promoting mechanisms of endophytes. In: *Microbial Endophytes*. 1st ed., (Kumar A., Radhakrishnan E.K.), Woodhead Publishing, Cambridge, 57–74.
- Jayaprakashvel M., Mathivanan N. (2011): Management of plant diseases by microbial metabolites. In: *Bacteria in Agrobiolgy: Plant nutrient Management*. (Maheshwari, D.K.), Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 237–265.
- Jha C.K., Aeron A., Patel B.V., Maheshwari D.K., Saraf M. (2011): Enterobacter: Role in Plant Growth Promotion, In: *Bacteria in Agrobiolgy: Plant Growth Responses*. (Maheshwari D.K.), Springer, Berlin, Heidelberg, 159–182.
- Jonak C., Ökrész L., Bögre L., Hirt H. (2002): Complexity, Cross Talk and Integration of Plant MAP Kinase Signalling. *Current Opinion in Plant Biology* **5**, 415–424.
- Jones J.D.G., Dangl J.L. (2006): The plant immune system. *Nature* **444**, 323–329.
- Jones Jr J.B. (2016): *Hydroponics: A Practical Guide for the Soilless Grower*. 2nd ed., CRC Press, Boca Raton, 439 stran.
- Kalina T., Slavíková Z. (2003): Systém rostlin. In: *Nový přehled biologie*. 1st ed. (Rozsypal S.), Scientia, Praha, ČR, 262–283.
- Kang B.G., Kim W.T., Yun H.S., Chang S.C. (2010): Use of plant growth-promoting rhizobacteria to control stress responses of plant roots. *Plant Biotechnology Reports* **4**, 179–183.
- Kawasaki T., Yamada K., Yoshimura S., Yamaguchi K. (2017): Chitin receptor-mediated activation of MAP kinases and ROS production in rice and Arabidopsis. *Plant Signaling & Behavior* **12**, e1361076. <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/15592324.2017.1361076>.
- Khan A.L., Waqas M., Hussain J., Al-Harrasi A., Lee I.J. (2014): Fungal endophyte *Penicillium janthinellum* LK5 can reduce cadmium toxicity in *Solanum lycopersicum* (Sitiens and Rhe). *Biology and Fertility of Soils* **50**, 75–85.
- Khare E., Mishra J., Arora N.K. (2018): Multifaceted Interactions Between Endophytes and Plant: Developments and Prospects. *Frontiers in Microbiology* **9**. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2018.02732/full>.
- Khokhlatchev A.V., Canagarajah B., Wilsbacher J., Robinson M., Atkinson M., Goldsmith E., Cobb M.H. (1998): Phosphorylation of the MAP Kinase ERK2 Promotes Its Homodimerization and Nuclear Translocation. *Cell* **93**, 605–615.
- Khush G.S. (1997): Origin, dispersal, cultivation and variation of rice. *Plant Molecular Biology* **35**, 25–34.
- Kishi-Kaboshi M., Okada K., Kurimoto L., Murakami S., Umezawa T., Shibuya N., Yamane H., Miyao A., Takatsuji H., Takahashi A., Hirochika H. (2010): A rice fungal MAMP-responsive MAPK cascade regulates metabolic flow to antimicrobial metabolite synthesis. *The Plant Journal* **63**, 599–612.
- Komis G., Šamajová O., Ovečka M., Šamaj J. (2018): Cell and Developmental Biology of Plant Mitogen-Activated Protein Kinases. *Annual Review of Plant Biology* **69**, 237–265.
- Křenek P., Niks R.E., Vels A., Vyplelová P., Šamaj J. (2015): Genome-wide analysis of the barley MAPK gene family and its expression patterns in relation to *Puccinia hordei* infection. *Acta Physiologiae Plantarum* **37**, 254. <https://link.springer.com/article/10.1007/s11738-015-2010-9>.

- Kuiper I., Lagendijk E.L., Bloemberg G.V., Lugtenberg B.J.J. (2004): Rhizoremediation: A Beneficial Plant-Microbe Interaction. *Molecular Plant-Microbe Interactions* **17**, 6–15.
- Kumar A., Droby S., Singh V.K., Singh S.K., White J.F. (2020): Entry, colonization, and distribution of endophytic microorganisms in plants, In: *Microbial Endophytes*. 1st ed., (Kumar A., Radhakrishnan E.K.), Woodhead Publishing, Cambridge, 1–33.
- Kumar S., Kumari R., Hallan V. (2020): Beneficial role of viruses in plants. In: *Molecular Aspects of Plant Beneficial Microbes in Agriculture*. 1st ed., (Sharma V., Salwan R., Al-Ani L.K.T.), Academic Press, Cambridge, 179–184.
- Kumar S., Mishra C., Sarkar B., Singh S.S. (2012): Barley (*Hordeum vulgare* L.). In: *Breeding of Field Crops*. (Bharadwaj D.N.), Agrobios, India, 99–112.
- Lafi F.F., Alam I., Geurts R., Bisseling T., Bajic V.B., Hirt H., Saad M.M. (2017): Draft Genome Sequence of *Enterobacter* sp. Sa187, an Endophytic Bacterium Isolated from the Desert Plant *Indigofera argentea*. *Genome Announcements* **5**. <https://mra.asm.org/content/5/7/e01638-16>.
- Li M., Li S., Yang X., Zhang Y., Liang Z. (2018): Fiber laser cutting of CFRP laminates with single- and multi-pass strategy: A feasibility study. *Optics & Laser Technology* **107**, 443–453.
- Liu D., Lian B., Dong H. (2012): Isolation of *Paenibacillus* sp. and Assessment of its Potential for Enhancing Mineral Weathering. *Geomicrobiology Journal* **29**, 413–421.
- Luan S. (2003): Protein Phosphatases in Plants. *Annual Review of Plant Biology* **54**, 63–92.
- Lucy M., Reed E., Glick B.R. (2004): Applications of free living plant growth-promoting rhizobacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek* **86**, 1–25.
- Lugtenberg B., Kamilova F. (2009): Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology* **63**, 541–556.
- Macho A.P., Zipfel C. (2014). Plant PRRs and the Activation of Innate Immune Signaling. *Molecular Cell* **54**, 263–272.
- Marra, L.M., Soares C.R.F.S, de Oliveira S.M., Ferreira P.A.A., Soares B.L., Carvalho, R.F., de Lima J.M., Moreira, F.M.S. (2012): Biological nitrogen fixation and phosphate solubilization by bacteria isolated from tropical soils. *Plant Soil* **357**, 289–307.
- Mascher M., Gundlach H., Himmelbach A., Beier S., Twardziok S.O., Wicker T., Radchuk V., Dockter C., Hedley P.E., Russell J., Bayer M., Ramsay L., Liu H., Haberer G., Zhang X.Q., Zhang Q., Barrero R.A., Li L., Taudien S., Groth M., Felder M., Hastie A., Šimková H., Staňková H., Vrána J., Chan S., Muñoz-Amatriaín M., Ounit R., Wanamaker S., Bolser D., Colmsee C., Schmutzer T., Aliyeva-Schnorr L., Grasso S., Tanskanen J., Chailyan A., Sampath D., Heavens D., Clissold L., Cao S., Chapman B., Dai F., Han Y., Li H., Li X., Lin C., McCooke J.K., Tan C., Wang P., Wang S., Yin S., Zhou G., Poland J.A., Bellgard M.I., Borisjuk L., Houben A., Doležel J., Ayling S., Lonardi S., Kersey P., Langridge P., Muehlbauer G.J., Clark M.D., Caccamo M., Schulman A.H., Mayer K.F.X., Platzer M., Close T.J., Scholz U., Hansson M., Zhang G., Braumann I., Spannagl M., Li C., Waugh R., Stein N. (2017): A chromosome conformation capture ordered sequence of the barley genome. *Nature* **544**, 427–433.
- Mavrodi D.V., Blankenfeldt W., Thomashow L.S. (2006): Phenazine Compounds in Fluorescent *Pseudomonas* Spp. Biosynthesis and Regulation. *Annual Review of Phytopathology* **44**, 417–445.
- Meng X., Zhang S. (2013): MAPK cascades in plant disease resistance signaling. *Annual Review of Phytopathology* **51**, 245–266.
- Mercado-Blanco J., Bakker P.A.H.M. (2007): Interactions between plants and beneficial *Pseudomonas* spp.: exploiting bacterial traits for crop protection. *Antonie Van Leeuwenhoek* **92**, 367–389.
- Mhadhbi H. (2012): Plant Hydroponic Cultivation: A Support for Biology Research in the Field of Plant-Microbe-Environment Interactions. In: *Hydroponics - A Standard Methodology for Plant Biological Researches*. (Asao T.), IntechOpen, Londýn, 101–112
- Miller M.B., Bassler B.L. (2001): Quorum Sensing in Bacteria. *Annual Review of Microbiology* **55**, 165–199.
- Molina-Cano J.L., Fra-Mon P., Salcedo G., Aragoncillo C., de Toghres F.R., García-Olmedo F. (1987): Morocco as a possible domestication center for barley: biochemical and agromorphological evidence. *Theoretical and Applied Genetics* **73**, 531–536.
- Morris P.C. (2001): MAP kinase signal transduction pathways in plants. *New Phytologist* **151**, 67–89.
- Muthayya S., Hall J., Bagriansky J., Sugimoto J., Gundry D., Matthias D., Prigge S., Hindle P., Moench-Pfanner R., Maberly G. (2012): Rice fortification: an emerging opportunity to contribute

- to the elimination of vitamin and mineral deficiency worldwide. *Food and Nutrition Bulletin* **33**, 296–307.
- Nakagami H., Pitzschke A., Hirt H. (2005): Emerging MAP kinase pathways in plant stress signalling. *Trends in Plant Science* **10**, 339–346.
- Nathoo N., Bernardis M.A., MacDonald J., Yuan Z.C. (2017): A Hydroponic Co-cultivation System for Simultaneous and Systematic Analysis of Plant/Microbe Molecular Interactions and Signaling. *Journal of Visualized Experiments: JoVE*. <https://www.jove.com/t/55955/a-hydroponic-co-cultivation-system-for-simultaneous-systematic>.
- Ng J.L.P., Perrine-Walker F., Wasson A.P., Mathesius U. (2015): The Control of Auxin Transport in Parasitic and Symbiotic Root–Microbe Interactions. *Plants* **4**, 606–643.
- Nguyen N.T., McInturf S.A., Mendoza-Cózatl D.G. (2016): Hydroponics: A Versatile System to Study Nutrient Allocation and Plant Responses to Nutrient Availability and Exposure to Toxic Elements. *Journal of Visualized Experiments: JoVE*. <https://www.jove.com/t/54317/hydroponics-versatile-system-to-study-nutrient-allocation-plant>.
- OECD (1999): Consensus document on the biology of *Oryza sativa* (rice). Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology No. 14, Organisation for Economic Co-operation and Development, Paříž, Francie, 52 stran.
- Ohnoutkova L. (2019): Mutation Breeding in Barley: Historical Overview. In: *Barley: Methods and protocols*. (Harwood W.A.), Humana Press, New York, NY, 7-19.
- Otieno N., Lally R.D., Kiwanuka S., Lloyd A., Ryan D., Germaine K.J., Dowling D.N. (2015): Plant growth promotion induced by phosphate solubilizing endophytic *Pseudomonas* isolates. *Frontiers in Microbiology* **6**. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2015.00745/full>.
- Panpatte D.G., Jhala Y.K., Vyas R.V. (2020): Signaling pathway of induced systemic resistance. In: *Molecular Aspects of Plant Beneficial Microbes in Agriculture*. 1st ed., (Sharma V., Salwan R., Al-Ani L.K.T.), Academic Press, Cambridge, 133-141.
- Parmar P., Sindhu S.S. (2013): Potassium Solubilization by Rhizosphere Bacteria: Influence of Nutritional and Environmental Conditions. *Journal of Microbiology Research* **3**, 25-31.
- Patel S.T., Minocheherhomji F.P. (2018): Plant Growth Promoting Rhizobacteria: Blessing to Agriculture. *Indian Journal of Pure & Applied Biosciences* **6**, 481–492. <http://dx.doi.org/10.18782/2320-7051.6383>.
- Patel Z.M., Mahapatra R., Jampala S.S.M. (2020): Role of fungal elicitors in plant defense mechanism. In: *Molecular Aspects of Plant Beneficial Microbes in Agriculture*. 1st ed., (Sharma V., Salwan R., Al-Ani L.K.T.), Academic Press, Cambridge, 143-158.
- Pieterse C.M.J., Zamioudis C., Berendsen R.L., Weller D.M., Van Wees S.C.M., Bakker P.A.H.M. (2014): Induced Systemic Resistance by Beneficial Microbes. *Annual Review of Phytopathology* **52**, 347–375.
- Podile A.R., Kishore G.K. (2006): Plant growth-promoting rhizobacteria. In: *Plant-Associated Bacteria*. (Gnanamanickam S.S.), Springer Netherlands, Dordrecht, 195–230.
- Porteres R. (1976): African cereals: Eleusine, fonio, black ' fonio, teff, *Brachiaria*, *Paspalum*, *Pennisetum*, and African rice. In: *Origins of African Plant Domestication*. (Harlan J.R., De Wet J.M.J., Stemler A.B.L.), The Hague: Mouton Press, Paříž, Francie, 409-452.
- Pourkheirandish M., Komatsuda T. (2007): The importance of barley genetics and domestication in a global perspective. *Annals of Botany* **100**, 999–1008.
- Prashar P., Kapoor N., Sachdeva S. (2014): Rhizosphere: its structure, bacterial diversity and significance. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* **13**, 63–77.
- Ramage R.T. (1985): Cytogenetics, In: *Barley*. (Rasmusson D.C.), John Wiley & Sons, Ltd, U.S.A., 127-154.
- Rättö M., Verhoef R., Suihko M.L., Blanco A., Schols H.A., Voragen A.G.J., Wilting R., Siika-aho M., Buchert J. (2006): Colanic acid is an exopolysaccharide common to many enterobacteria isolated from paper-machine slimes. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* **33**, 359–359.
- Raviv M., Lieth J.H., Bar-Tal A. (2019): *Soilless Culture: Theory and Practice*. 2nd ed., Elsevier, Londýn, 691.
- Rayavarapu V.G.B., Padmavathi T. (2016): *Bacillus* sp as potential plant growth promoting rhizobacteria. *International Journal of Advanced Life Sciences* **9**, 29–36.



- Reid D.A. (1985): Morphology and Anatomy of the Barley Plant, In: *Barley*. (Rasmusson D.C.), John Wiley & Sons, Ltd, U.S.A., 73–101.
- Ren W., Wang Z.F., Xu A.K. (2010): Advancement in the research of salt-alkali tolerance genes in alkaligrass. *Acta Prataculturae Sinica* **19**, 260–266.
- Rodriguez M.C.S., Petersen M., Mundy J. (2010): Mitogen-activated protein kinase signaling in plants. *Annual Review of Plant Biology* **61**, 621–649.
- Römling U., Galperin M.Y. (2015): Bacterial cellulose biosynthesis: diversity of operons, subunits, products, and functions. *Trends in Microbiology* **23**, 545–557.
- Roos I.M.M., Hattingh M.J. (1983): Scanning Electron Microscopy of *Pseudomonas syringae* pv. morsprunorum on Sweet Cherry Leaves. *Journal of Phytopathology* **108**, 18–25.
- Saleh S., Huang X.D., Greenberg B.M., Glick B.R. (2004): Phytoremediation of Persistent Organic Contaminants in the Environment, In: *Applied Bioremediation and Phytoremediation*. (Singh A., Ward O.P.), Springer, Berlin, Heidelberg, 115–134.
- Santoyo G., Moreno-Hagelsieb G., del Carmen Orozco-Mosqueda M., Glick B.R. (2016): Plant growth-promoting bacterial endophytes. *Microbiological Research* **183**, 92–99.
- Sardare M.D., Admane S.V. (2013): A REVIEW ON PLANT WITHOUT SOIL – HYDROPONICS. *International Journal of Research in Engineering and Technology* **2**, 299-304. <https://ijret.org/volumes/2013v02/i03/IJRET20130203013.pdf>.
- Sauer K., Camper A.K. (2001): Characterization of Phenotypic Changes in *Pseudomonas putida* in Response to Surface-Associated Growth. *Journal of Bacteriology* **183**, 6579–6589.
- Shafi J., Tian H., Ji M. (2017): *Bacillus* species as versatile weapons for plant pathogens: a review. *Biotechnology & Biotechnological Equipment* **31**, 446–459.
- Schnurbusch T. (2019): Wheat and barley biology: Towards new frontiers. *Journal of Integrative Plant Biology* **61**, 198–203.
- Schreiber M., Mascher M., Wright J., Padmarasu S., Himmelbach A., Heavens D., Milne L., Clavijo B.J., Stein N., Waugh, R. (2020). A Genome Assembly of the Barley ‘Transformation Reference’ Cultivar Golden Promise. *G3 Genes/Genomes/Genetics* **10**, 1823–1827.
- Silberbush M., Ben-Asher J. (2001): Simulation study of nutrient uptake by plants from soilless cultures as affected by salinity buildup and transpiration. *Plant and Soil* **233**, 59–69.
- Silini-Chérif H., Silini A., Ghoul M., Yadav S. (2012): Isolation and characterization of plant growth promoting traits of a rhizobacteria: *Pantoea agglomerans* lma2. *Pakistan Journal of Biological Sciences : PJBS* **15**, 267–276. <https://europepmc.org/article/med/24175423>.
- Singh M., Singh R.K., Shrivastava A., Yadav A., Srivastava A.K. (2020): Endophytic bacteria as a source of bioactive compounds, In: *Microbial Endophytes*. (Kumar A., Singh V.K.), Woodhead Publishing, Cambridge, 175–188.
- Singh V.K., Singh A.K., Kumar A. (2017): Disease management of tomato through PGPB: current trends and future perspective. *3 Biotech* **7**, 255. <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs13205-017-0896-1>.
- Stafstrom J.P., Altschuler M., Anderson D.H. (1993): Molecular cloning and expression of a MAP kinase homologue from pea. *Plant Molecular Biology* **22**, 83–90.
- Stamenković S., Beškoski V., Karabegović I., Lazić M., Nikolić N. (2018): Microbial fertilizers: A comprehensive review of current findings and future perspectives. *Spanish Journal of Agricultural Research* **16**. <https://revistas.inia.es/index.php/sjar/article/view/12117>.
- Strojny Z., Nowak J.S. (2004): EFFECT OF DIFFERENT GROWING MEDIA ON THE GROWTH OF SOME BEDDING PLANTS. *Acta Horticulturae* **644**. 157–162. [https://www.actahort.org/books/644/644\\_19.htm](https://www.actahort.org/books/644/644_19.htm).
- Sureshbabu K., Amaresan N., Kumar K. (2016): Amazing Multiple Function Properties of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in the Rhizosphere Soil. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* **5**, 661-683.
- Suzuki K. (1999): Elicitor Signal Transduction That Leads to Hypersensitive Reaction in Cultured Tobacco Cells. *Plant Biotechnology* **16**, 343–351. [https://www.jstage.jst.go.jp/article/plantbiotechnology1997/16/5/16\\_5\\_343/article/-char/en](https://www.jstage.jst.go.jp/article/plantbiotechnology1997/16/5/16_5_343/article/-char/en).
- Šamajová O., Plíhal O., Al-Yousif M., Hirt H., Šamaj J. (2013): Improvement of stress tolerance in plants by genetic manipulation of mitogen-activated protein kinases. *Biotechnology Advances* **31**, 118–128.

- Tao Q., Zhao H., Qiu L., Hong G. (1994): Construction of a full bacterial artificial chromosome (BAC) library of *Oryza sativa* genome. *Cell Research* **4**, 127–133.
- Tena G., Asai T., Chiu W.L., Sheen J. (2001): Plant mitogen-activated protein kinase signaling cascades. *Current Opinion in Plant Biology* **4**, 392–400.
- Tiwari S., Prasad V., Lata C. (2019): Bacillus: Plant Growth Promoting Bacteria for Sustainable Agriculture and Environment. In: *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*. (Singh J.S., Singh D.P.), Elsevier, Amsterdam, 43–55.
- Tonks N.K., Neel B.G. (2001): Combinatorial control of the specificity of protein tyrosine phosphatases. *Current Opinion in Cell Biology* **13**, 182–195.
- Trejo-Télez L.I., Gómez-Merino F.C. (2012): Nutrient Solutions for Hydroponic Systems. In: *Hydroponics - A Standard Methodology for Plant Biological Researches*. (Asao T.), IntechOpen, Londýn, 1-22.
- Turan M., Gulluce M., Şahin F. (2012): Effects of Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria on Yield, Growth, and Some Physiological Characteristics of Wheat and Barley Plants. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* **43**, 1658–1673.
- Umehara Y., Inagaki A., Tanoue H., Yasukochi Y., Nagamura Y., Saji S., Otsuki Y., Fujimura T., Kurata N., Minobe Y. (1995): Construction and characterization of a rice YAC library for physical mapping. *Molecular Breeding* **1**, 79–89.
- Vandenkoornhuysen P., Quaiser A., Duhamel M., Van A.L., Dufresne A. (2015): The importance of the microbiome of the plant holobiont. *New Phytologist* **206**, 1196–1206.
- Venturi V., Keel C. (2016): Signaling in the Rhizosphere. *Trends in Plant Science* **21**, 187–198.
- Woo H.L., Ballor N.R., Hazen T.C., Fortney J.L., Simmons B., Davenport K.W., Goodwin L., Ivanova N., Kyrpidis N.C., Mavromatis K., Woyke T., Jansson J., Kimbrel J., DeAngelis K.M. (2014): Complete genome sequence of the lignin-degrading bacterium *Klebsiella* sp. strain BRL6-2. *Standards in Genomic Sciences* **9**, 19. <https://environmentalmicrobiome.biomedcentral.com/articles/10.1186/1944-3277-9-19>.
- Wu C.H., Wood T.K., Mulchandani A., Chen W. (2006): Engineering Plant-Microbe Symbiosis for Rhizoremediation of Heavy Metals. *Applied and Environmental Microbiology* **72**, 1129–1134. <https://aem.asm.org/content/72/2/1129>.
- Xiong L., Schumaker K.S., Zhu J.K. (2002): Cell signaling during cold, drought, and salt stress. *Plant Cell* **14**, 165-183.
- Xu G., Fan X., Miller A.J. (2012): Plant Nitrogen Assimilation and Use Efficiency. *Annual Review of Plant Biology* **63**, 153–182.
- Zhang R., Vivanco J.M., Shen Q. (2017): The unseen rhizosphere root–soil–microbe interactions for crop production. *Current Opinion in Microbiology* **37**, 8–14.
- Zhang T., Liu Y., Yang T., Zhang L., Xu S., Xue L., An L. (2006): Diverse signals converge at MAPK cascades in plant. *Plant Physiology and Biochemistry* **44**, 274–283.
- Zohary D., Hopf M. (2000): The origin and spread of cultivated plants in West Asia, Europe and the Nile Valley. In: *Domestication of Plants in the Old World*. 3rd ed., Oxford University Press, Oxford, UK, 316 stran.

## 7 Seznam použitých zkratk

cv. – odrůda

ETI – efektoem-vyvolaná imunita

HvMAPK – mitogen-aktivované protein kinasy ječmene setého

IAA – kyselina indol-3-octová

ISR – indukovaná systémová rezistence

MAMP – mikrobiálně-asociované molekulární vzory

MAPK – mitogen-aktivované protein kinasy

MAPKK – mitogen-aktivované protein kinasy kinasy

MAPKKK – mitogen-aktivované protein kinasy kinasy kinasy

OsMAPK – mitogen-aktivované protein kinasy rýže seté

PAMP – patogen-asociované molekulární vzory

PGPB – plant growth promoting bacteria

PGPF – plant growth promoting fungi

PGPR – plant growth promoting rhizobacteria

PRR – vzory-rozlišující receptory

PTI – PAMP-vyvolaná imunita

PTP – fosfotyrosin protein fosfatasy

QS – quorum sensing

sp. – druh bakterie

spp. – poddruh bakterie

VOC – těkavé organické látky