



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗ
επένδυση στην κοινωνία της γνώσης

ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



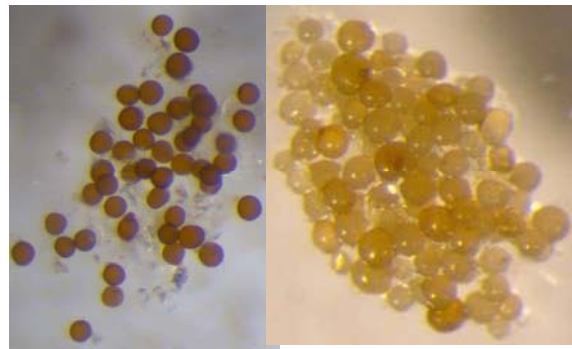
ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗΣ ΑΕΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΠΙΚΑΙΡΟΠΟΙΗΣΗ ΓΝΩΣΕΩΝ ΑΠΟΦΟΙΤΩΝ ΑΕΙ (ΠΕΓΑ)

«Οι σύγχρονες τεχνικές βιο-ανάλυσης στην υγεία, τη γεωργία, το περιβάλλον και τη διατροφή»

Βιοτεχνολογία και νέα βιολογικά γεωργικά προϊόντα

Ενισχυτικά φυτικής ανάπτυξης Βιολογικά λιπάσματα



Ορισμός

Βιολογικό λίπασμα είναι κάθε σκεύασμα που περιέχει ζωντανούς μικροοργανισμούς, οι οποίοι όταν εφαρμοστούν σε σπόρους, φυτικές επιφάνειες ή στο έδαφος μπορούν να αποικίσουν την ριζόσφαιρα ή το εσωτερικό του φυτού και να βοηθήσουν την ανάπτυξη του φυτού αυξάνοντας την παροχή ή την διαθεσιμότητα των θρεπτικών στοιχείων για το φυτό

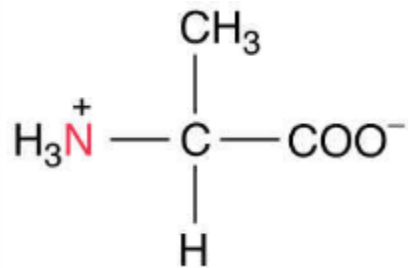


Είδη βιολογικών λιπασμάτων

- **Συμβιωτικά αζωτοδεσμευτικά βακτήρια**
- Συμβιωτικοί μυκορριζικοί μύκητες
- Βακτήρια Ενίσχυσης Φυτικής Ανάπτυξης (Plant Growth Promoting Rhizobacteria, PGPR)



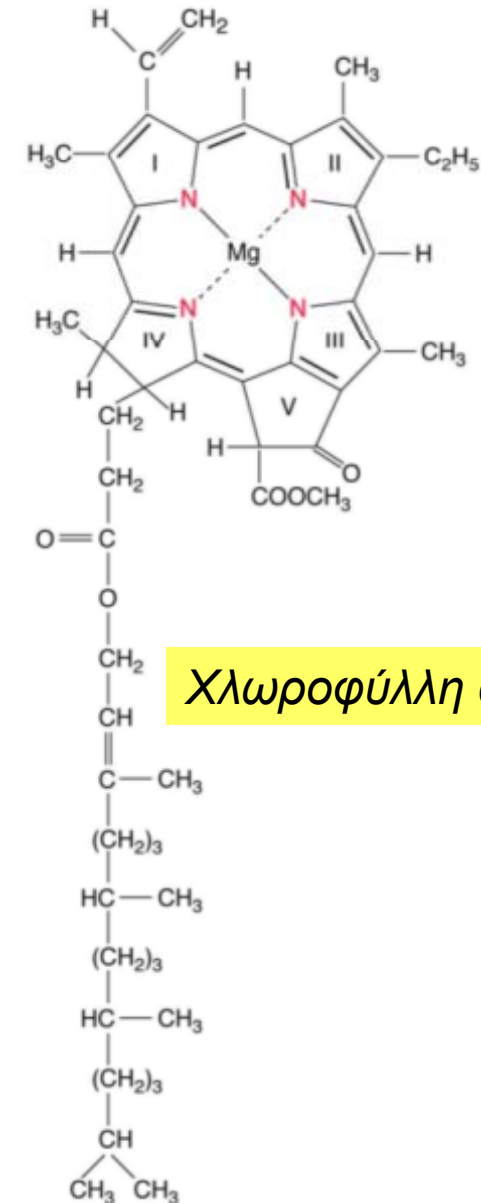
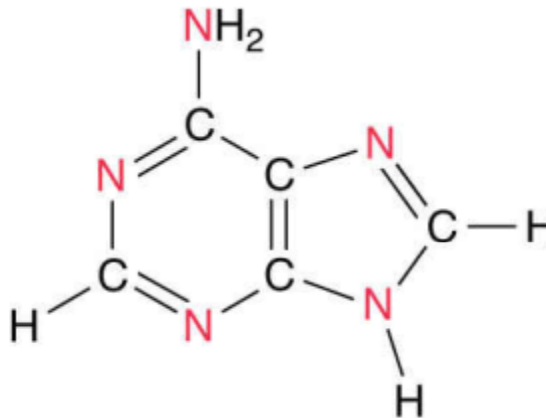
Το άζωτο είναι απαραίτητο θρεπτικό στοιχείο



αλανίνη

Το 4^ο πλέον άφθονο στοιχείο στους έμβιους οργανισμούς- συστατικό των αμινοξέων και πρωτεϊνών, των νουκλεϊκών οξέων, της χλωροφύλλης, ορμονών και εξειδικευμένων δευτερογενών μεταβολιτών.

αδενίνη



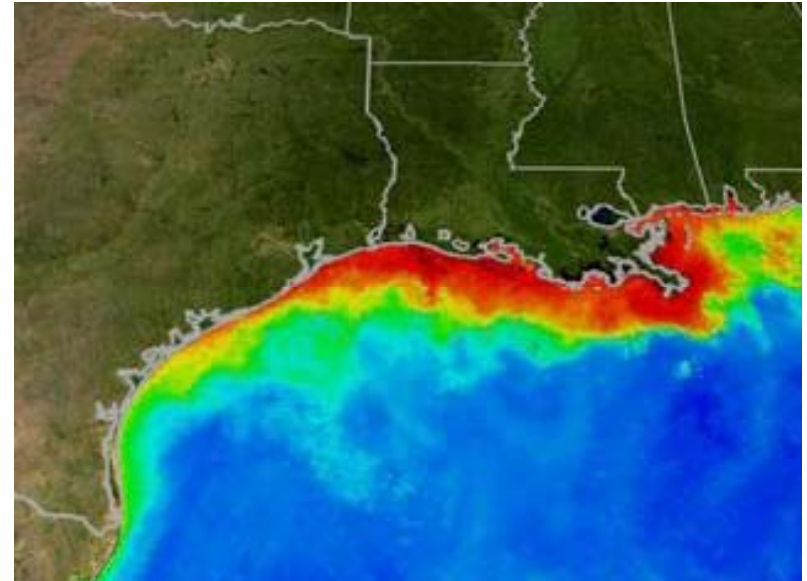
Χλωροφύλλη α



Τα αμμωνιακά λιπάσματα προκαλούν σημαντική ρύπανση στο περιβάλλον



The surface of a pond showing algal overgrowth

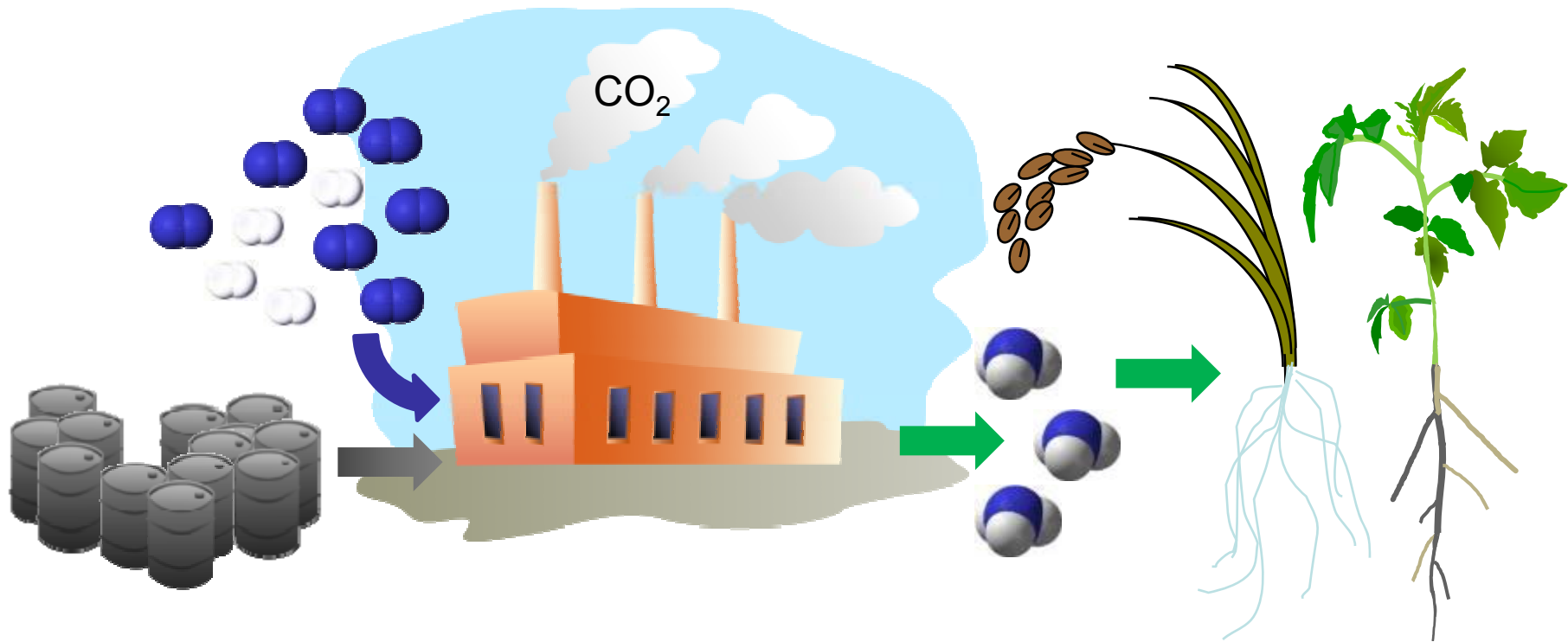


Algal bloom due to nitrogen run-off in the Gulf of Mexico

Image source: [Lamiot](#) Sources: IFA and UN; [Photo](#) courtesy of NASA/Goddard Space Flight Center Scientific Visualization Studio

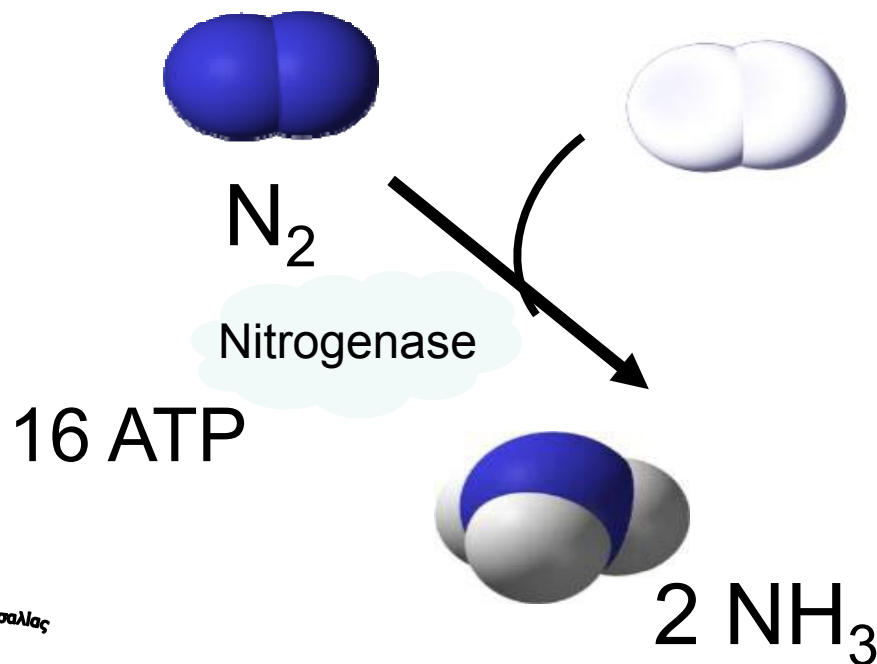


Η παραγωγή των αζωτούχων λιπασμάτων είναι ενεργοβόρα-
απαιτεί ~2% της παγκόσμιας ενέργειας



Βιολογική Δέσμευση Αζώτου

Η δέσμευση N από συμβιωτικά συστήματα μεταξύ φυτών και μικροοργανισμών είναι η σημαντικότερη μορφή φυσικού εμπλουτισμού των εδαφών με άζωτο

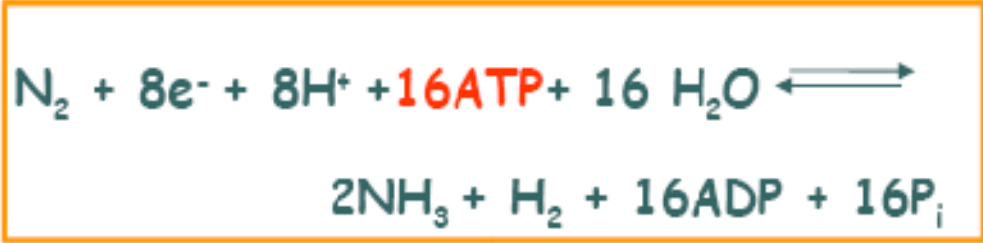


Το ένζυμο που επιτελεί αυτή την αντίδραση ονομάζεται νιτρογενάση.

Η διαδικασία απαιτεί μεγάλη κατανάλωση ενέργειας του κυττάρου με τη μορφή ATP



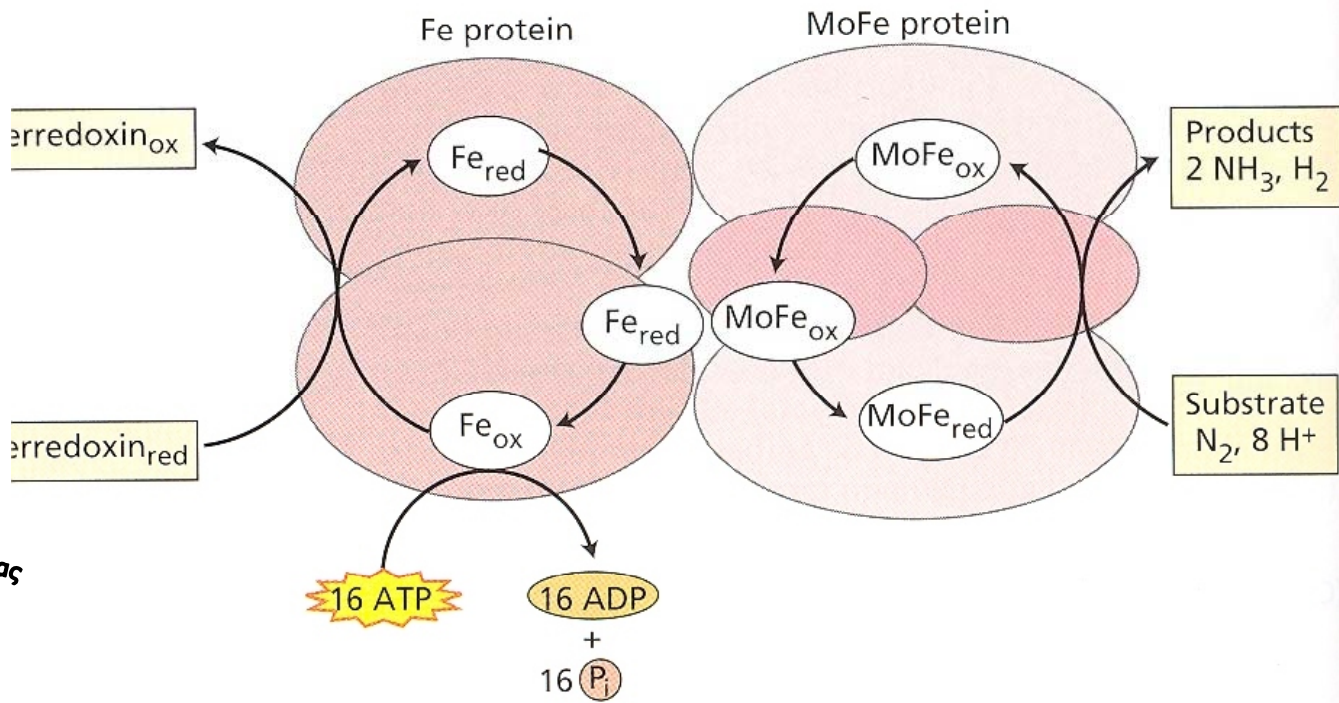
Βιολογική Δέσμευση (Καθήλωση) του Αζώτου



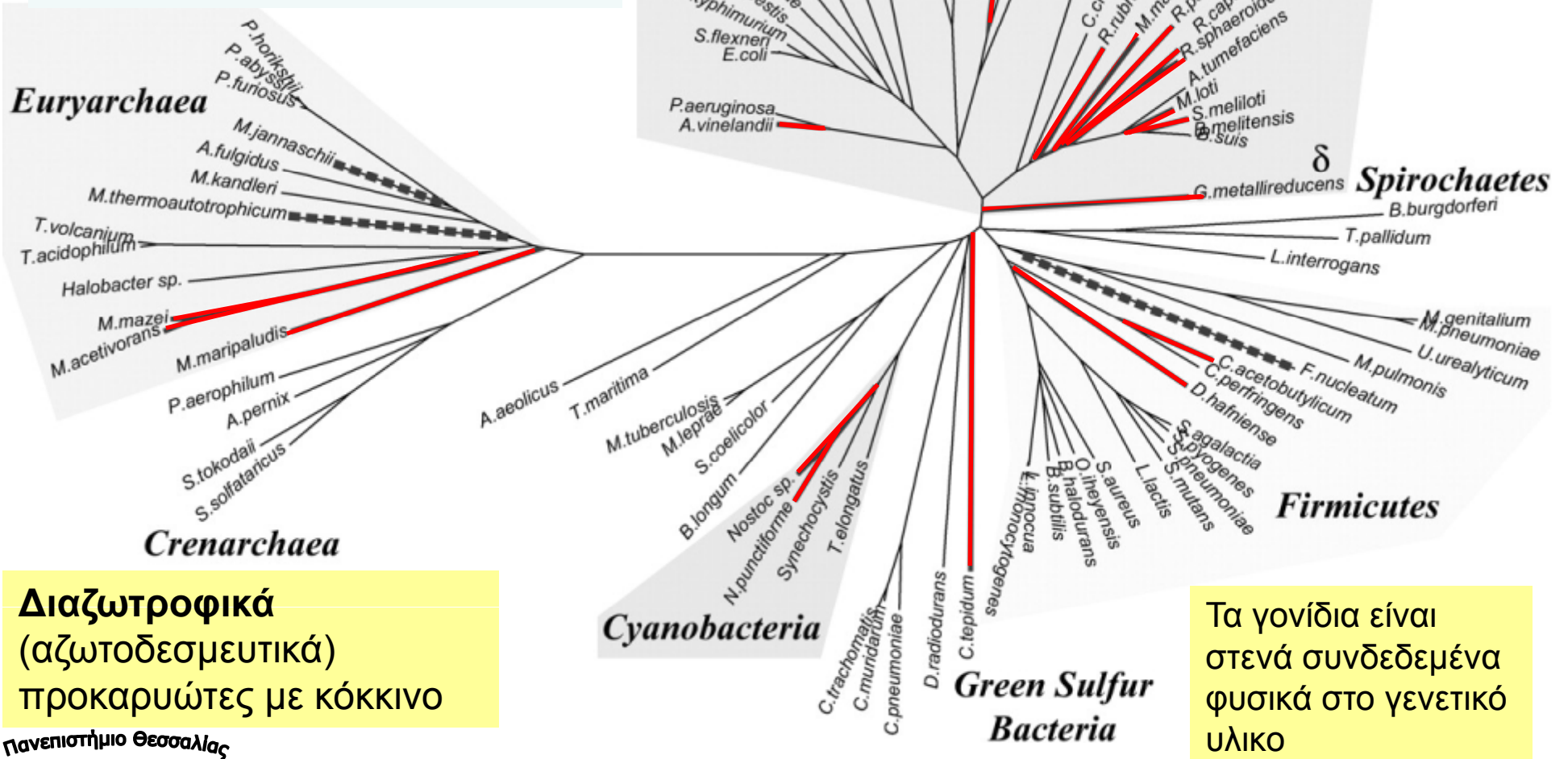
Νιτρογενάση: Δινιτρογενάση αναγωγάση και Δινιτρογενάση

Δινιτρογενάση αναγωγάση (dinitrogenase reductase): ομοδιμερές με Fe
 Δινιτρογενάση (dinitrogenase): ετεροτετραμερές με Fe, Mo και συμπαράγοντα Fe Mo Co

Nitrogenase enzyme complex



Η παρουσία των *nif* γονιδίων αζωτοδέσμευσης σε διάφορους προκαρυώτες πιστεύεται ότι έχει προκύψει από οριζόντια μεταφορά γονιδίων



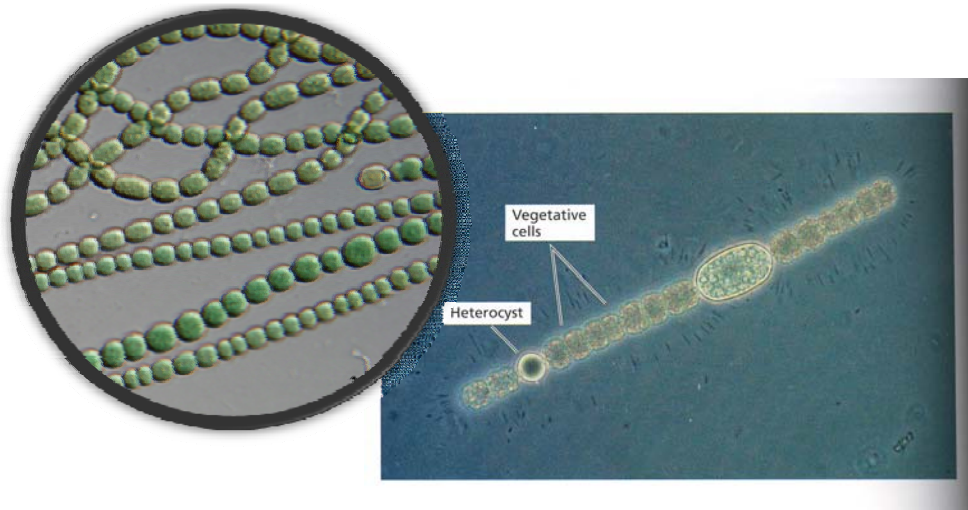
Διαζωτροφικά (αζωτοδεσμευτικά) προκαρυώτες με κόκκινο

Τα γονίδια είναι στενά συνδεδεμένα φυσικά στο γενετικό υλικό

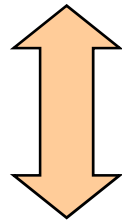
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας



Raymond, J., Siefert, J.L., Staples, C.R. and Blankenship, R.E. (2004). The natural history of nitrogen fixation. *Mol. Biol. Evol.* 21: [541-554](#) by permission of Oxford University Press.

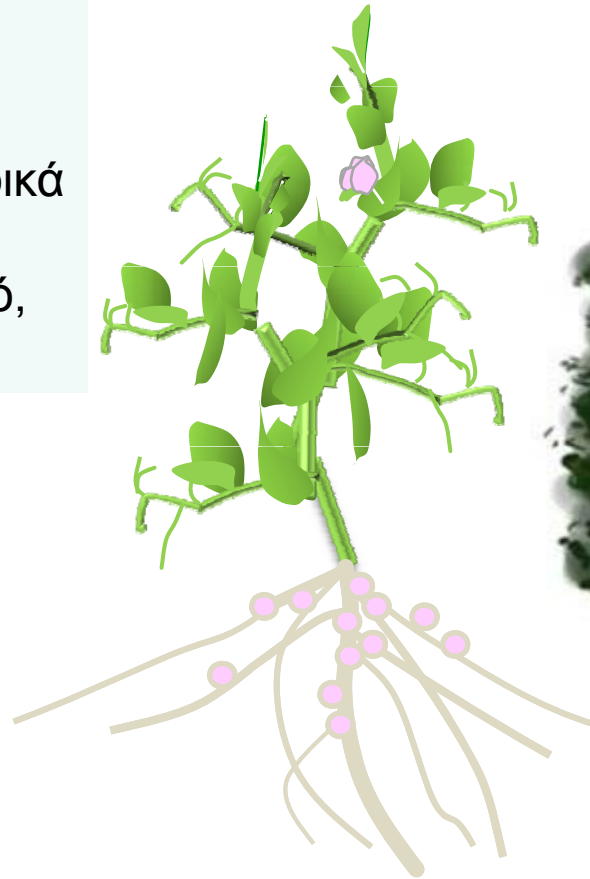


Το παλαιότερο παράδειγμα εφαρμογής της συμβιωτικής δέσμευσης αζώτου είναι η συμβίωση του **κυανοβακτηρίου *Anabaena azolla*** με ένα είδος υδροχαρούς φτέρης του γένους ***Azolla*** που χρησιμοποιείται για τον εμπλουτισμό εδαφών όπου καλλιεργείται ρύζι με άζωτο



Συμβιωτική δέσμευση αζώτου

Μερικά
αζωτοδεσμευτικά
βακτήρια ζουν
συμβιωτικά σε ειδικά
όργανα που
επάγουν στο φυτό,
τα φυμάτια



Ψυχανθή-Ριζόβια



Σημυδα- *Frankia*



Κατηγορίες συμβιωτικών αζωτοδεσμευτικών μικροοργανισμών

- **Αζωτοδεσμευτικών βακτηρίων *Rhizobium* με ψυχανθή**
(*Leguminosae*)
- **Αζωτοδεσμευτικών ακτινοβακτήρια *Frankia* με**
αγγειόσπερμα που έχουν ξυλώδεις ρίζες.



Συμβιωτική δέσμευση αζώτου

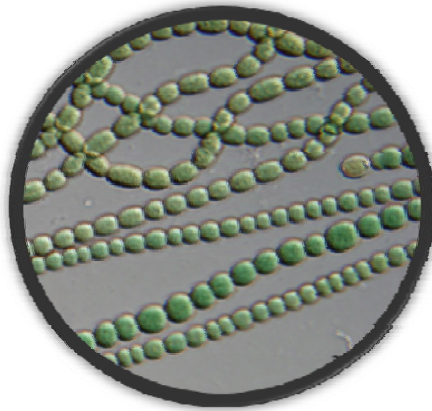
- Βακτήρια *Rhizobium* και ακτινοβακτήρια *Frankia* περιέχουν όλο το γενετικό υλικό για να δεσμεύουν N_2 και στην ελεύθερη τους μορφή αλλά μπορούν να δεσμεύσουν N_2 μόνο σε συμβιωτικά συστήματα
- Στα συμβιωτικά συστήματα οι αζωτοδεσμευτικοί μικροοργανισμοί παρέχουν στο φυτό περίσσεια N υπό την μορφή NH_3 που την ενσωματώνουν σε οργανικές ενώσεις ενώ τα φυτά παρέχουν στους μικροοργανισμούς άνθρακα για την επιβίωση τους



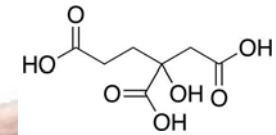
Diazotrophs that fix nitrogen as free-living bacteria have *nifV* genes

Free-living diazotroph (e.g. cyanobacteria):

- *nifV*
- Homocitrate produced
- Nitrogenase activity



The plant provides the homocitrate to the bacteroids

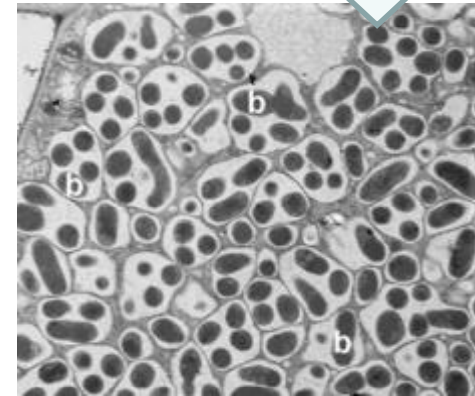


Free-living rhizobia:

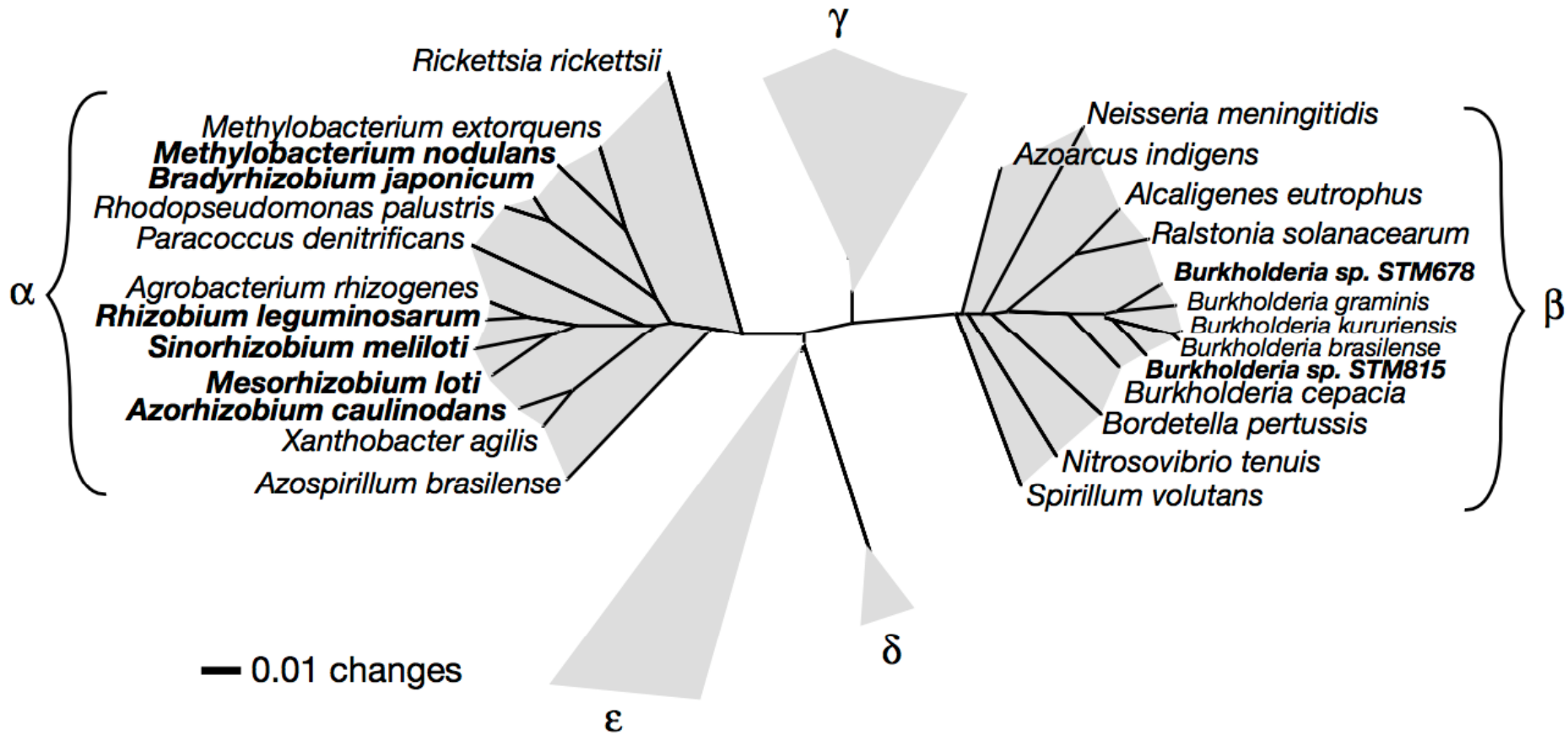
- No *nifV*
- No homocitrate
- No nitrogenase activity



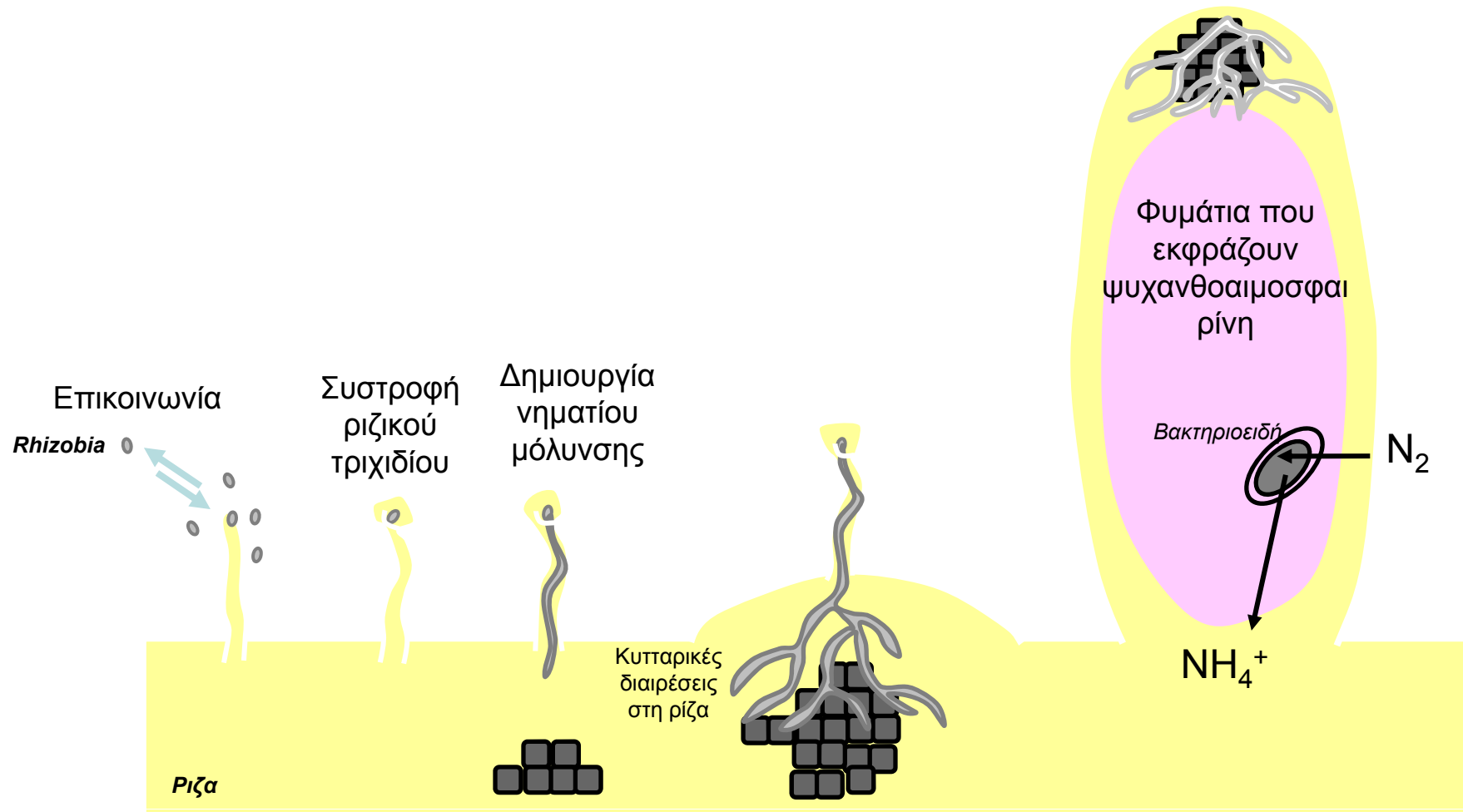
How do bacteroids fix nitrogen without *nifV*?



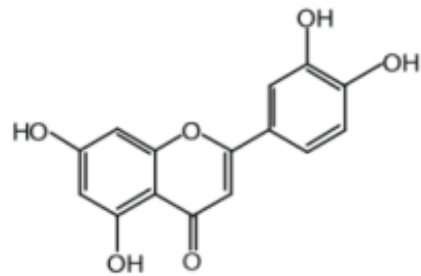
Τα ριζόβια είναι μια μεγάλη ομάδα διαφόρων βακτηρίων



Οργανογένεση φυματίου

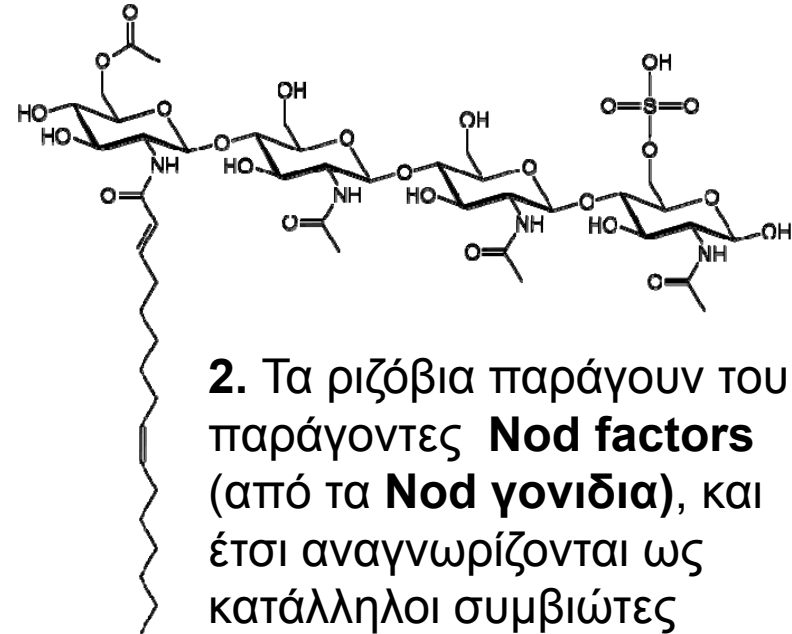


Επικοινωνία ανάμεσα στους δυο συμβιώτες: Flavonoids and Nod factors



1. Η ρίζα εκκρίνει φλαβονοειδή που ελκύουν τα ριζόβια

Rhizobia

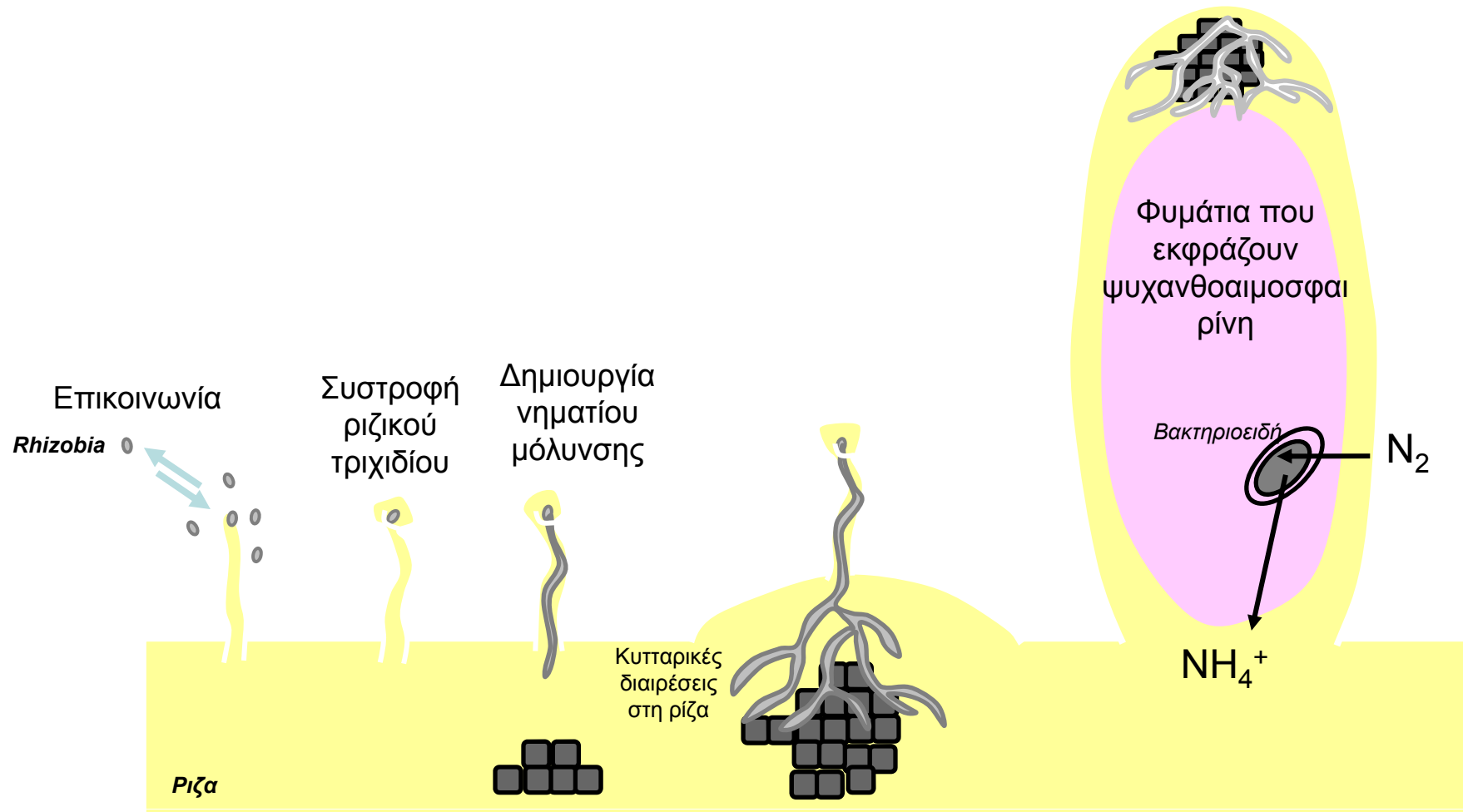


2. Τα ριζόβια παράγουν του παράγοντες **Nod factors** (από τα **Nod γονιδια**), και έτσι αναγνωρίζονται ως κατάλληλοι συμβιώτες

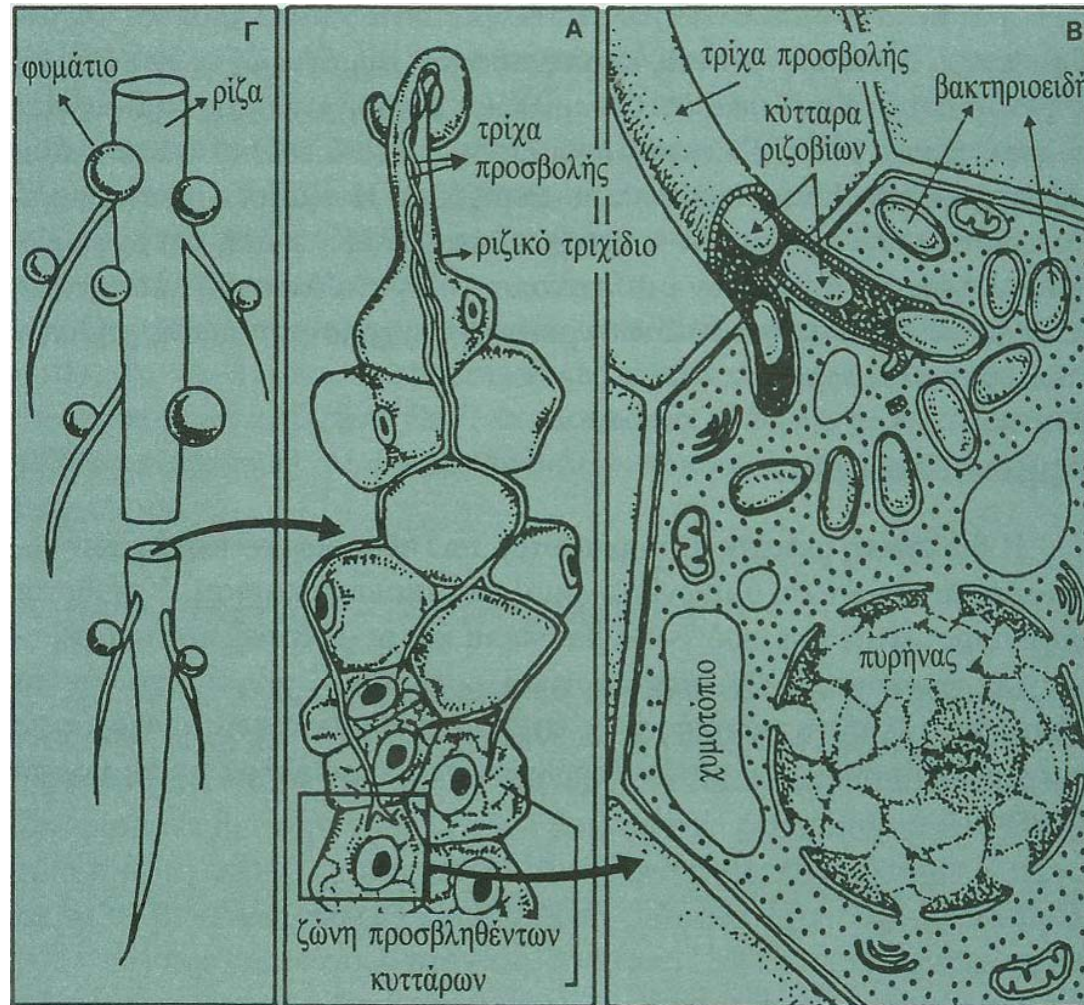
Φυτικό κύτταρο

3. Το φυτό δημιουργεί ένα νέο όργανο, το φυμάτιο

Οργανογένεση φυματίου



Μηχανισμός Αζωτοδέσμευσης



Γονίδια *Nod*: ελέγχουν την έκκριση ουσιών απαραίτητων για την αναγνώριση του φυτού-ξενιστή, την έναρξη προσβολής και την δημιουργία φυματίων

Γονίδια *Nif & Fix*: Τα **γονίδια *nif*** εκφράζονται στο εσωτερικό των φυματίων και ελέγχουν την παραγωγή της νιτρογενάσης ενώ τα **γονίδια *fix*** ελέγχουν την μεταφορά ηλεκτρονίων στην νιτρογενάση



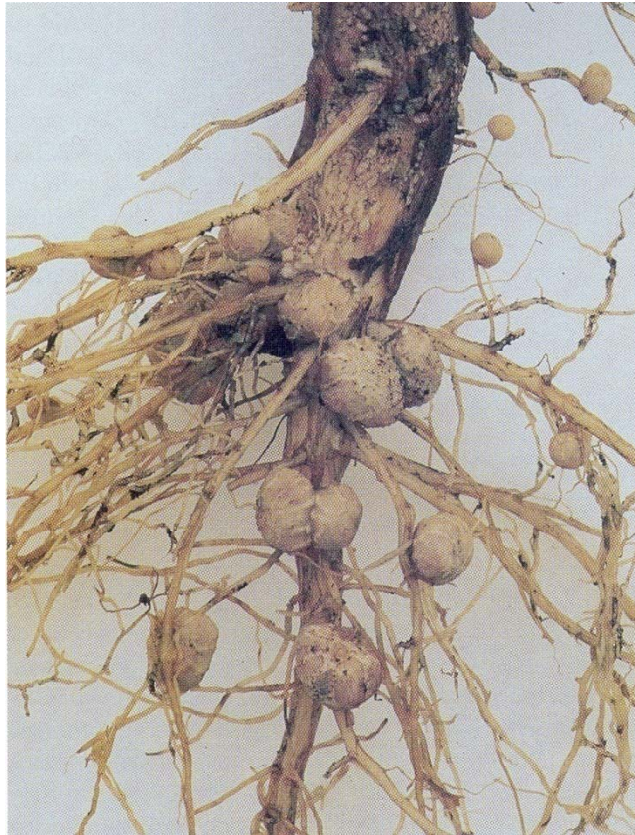
Γενετικά χαρακτηριστικά συμβιωτικών αζωτοδεσμευτικών βακτηρίων

- Στα *Rhizobium* sp. και *Sinorhizobium meliloti* τα οπερόνια που ελέγχουν την ικανότητα συμβιωτικής δέσμευσης αζώτου βρίσκονται συγκεντρωμένα σε ένα **μέγα-πλασμίδιο**
- *Mesorhizobium loti* περιέχει όλα τα απαραίτητα γονίδια για την συμβιωτική δέσμευση στο χρωμόσωμα

Τα γονίδια και οι συνολικές περιοχές του γονιδιώματος των παραπάνω αζωτοδεσμευτικών βακτηρίων παρουσιάζουν χαμηλή ομολογία μεταξύ τους



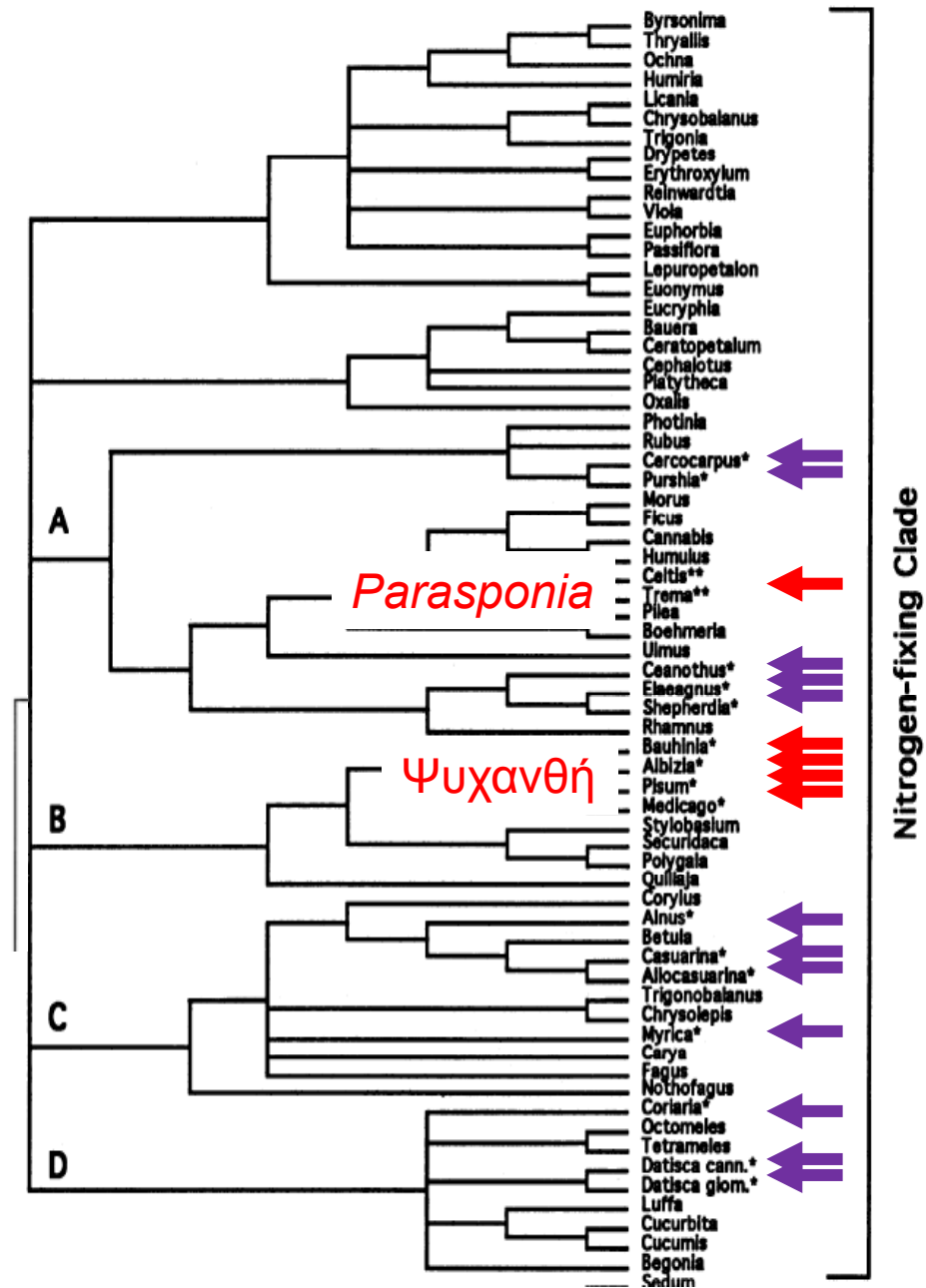
Συμβιωτική δέσμευση του αζώτου



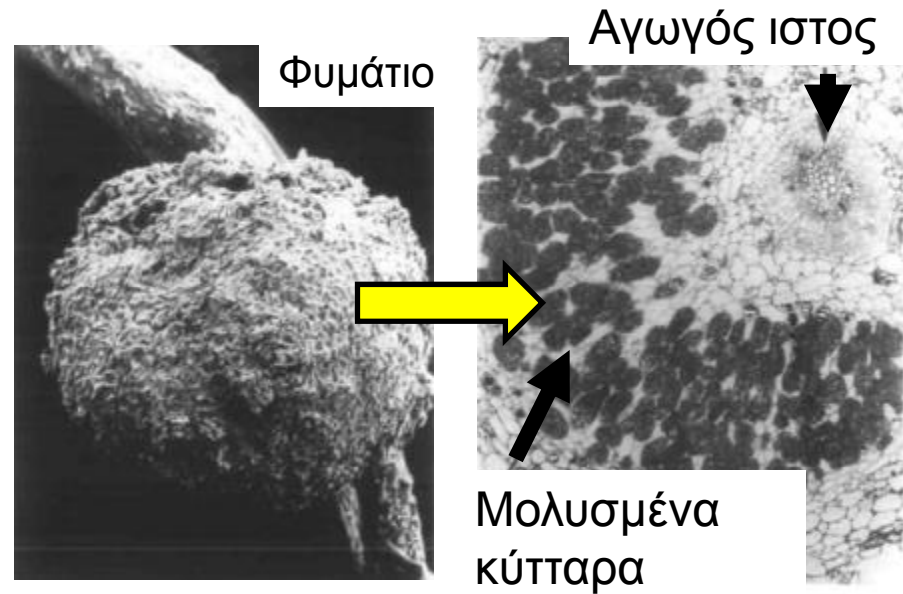
Εμφάνιση φυματίων εκτός ψυχανθών

Parasponia είναι το μοναδικό γένος φυτών που σχηματίζει φυμάτια με ριζόβια εκτός των ψυχανθών

Τα ακτινοριζικά φυτά είναι ποικίλα και σχετίζονται μόνο με το γένος *Frankia*



Ριζόβια- *Parasponia*



Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας



Photo credit: [Leonardo Co](#) c/o [Phytoimages](#); Webster, G., Poulton, P.R., Cocking, E.C. and Davey, M.R. (1995). The nodulation of micro-propagated plants of *Parasponia andersonii* by tropical legume rhizobia. J. Exp.Bot. 46: [1131-1137](#) by permission of Oxford University Press; Op den Camp, R., Streng, A., De Mita, S., Cao, Q., Polone, E., Liu, W., Ammiraju, J.S.S., Kudrna, D., Wing, R., Untergasser, A., Bisseling, T., and Geurts, R. (2011). LysM-type mycorrhizal receptor recruited for rhizobium symbiosis in nonlegume *Parasponia*. Science 331: 909-912 reprinted with permission from AAAS.

Frankia - ~200 είδη ΑΚΤΙΝΟΡΡΙΖΙΚΩΝ ΕΙΔΩΝ ΦΥΤΩΝ

Casuarina equisetifolia



Myrica gale



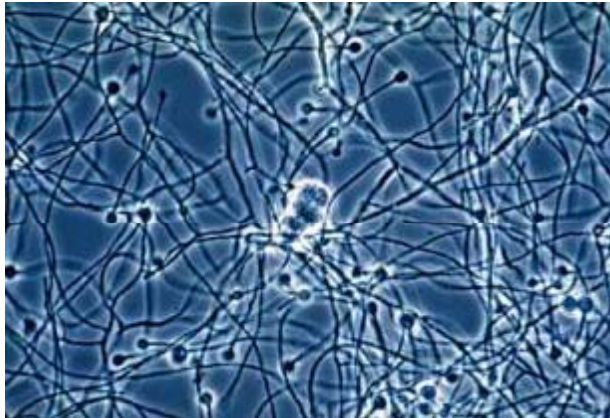
Φυμάτια
σημύδας

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

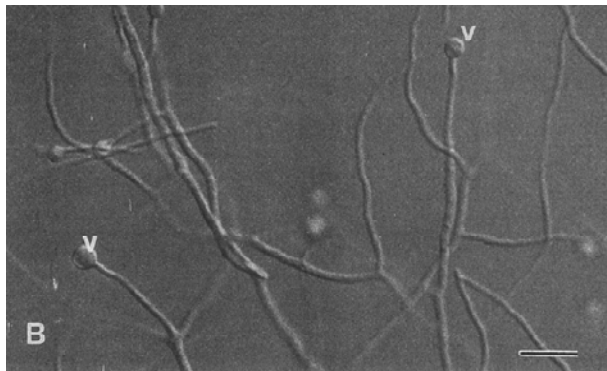


Photo credits: [Amy Ferriter](#), State of Idaho, Bugwood.org; [Scott Hamlin](#); [Rosser1954](#); [Sten Porse](#).

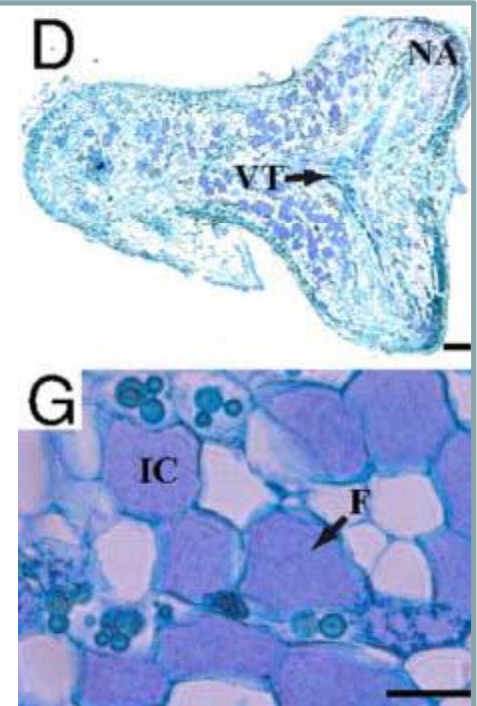
Frankia are filamentous bacteria that form nitrogen-fixing vesicles



Frankia showing vesicles (V) in which nitrogen-fixation takes place



Frankia nodules with infected cells



Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας



Photo credit: [Ann Hirsch](#) Benson, D.R. and Silvester, W.B. (1993). Biology of *Frankia* strains, actinomycete symbionts of actinorhizal plants. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 57: 293-319 reproduced with permission from the American Society for Microbiology. Gherbi, H., Markmann, K., Svistoonoff, S., Estevan, J., Autran, D., Giezey, G., Auguy, F., Péret, B., Laplaze, L., Franche, C., Parniske, M., and Bogusz, D. (2008). SymRK defines a common genetic basis for plant root endosymbioses with arbuscular mycorrhiza fungi, rhizobia, and Frankiacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105: 4928-4932. Copyright National Academy of Sciences.

Συμβιωτική Αζωτοδέσμευση – Εφαρμογές

Η αζωτοδέσμευση από μικροοργανισμούς έχει θεωρηθεί ως μια ιδανική ευκαιρία για την αντικατάσταση των χημικών αζωτούχων λιπασμάτων από μια φυσική διεργασία

Εδώ και περίπου 100 έτη βακτήρια του γένους *Rhizobium* χρησιμοποιούνται για τον εμβολιασμό εδαφών που καλλιεργούνται με ψυχανθή (τριφύλλι, σόγια) για εμπλουτισμό των εδαφών σε N



Συμβιωτική Αζωτοδέσμευση – Εφαρμογές

Σε ορισμένες χώρες (Βραζιλία) η καλλιέργεια της σόγιας πλέον δεν δέχεται αζωτούχο λίπανση διότι τα φυτά εμβολιάζονται με βακτήρια *Rhizobium*

Ανάλογες πρακτικές χρησιμοποιούνται και σε άλλες χώρες παγκοσμίως όπως ΗΠΑ, Αργεντινή, Αυστραλία, Αίγυπτος, Ισραήλ, Ν. Αφρική και Ν. Ζηλανδία



Εμπορικά σκευάσματα *Rhizobium*

Στις αρχές του 20ου αιώνα κυκλοφόρησε και το πρώτο βιολογικό λίπασμα με το όνομα Nitragin® που περιείχε βακτήρια *Rhizobium*

- **Soil Implant** ®: σκεύασμα με φορέα τύρφη
- **Gold Coat**™: σκεύασμα με φορέα βερμικουλίτη
- **Cell -Tech** ®: υγρό σκεύασμα επικάλυψης σπόρων σόγιας
- **Nitragin Gold** ®: σκεύασμα ξηρής αργιλικής σκόνης



Προβλήματα εφαρμογής αζωτοδεσμευτικών συστημάτων

- Υψηλό φόρτο εργασίας (πολλαπλασιασμός, μεταφορά, διατήρηση)
- Βελτίωση των μεθόδων εγκατάστασης και συντήρησης ιδανικών συνθηκών για την επιτυχημένη εγκατάσταση



Λύσεις μέσω της Βιοτεχνολογίας

1. Ενσωμάτωση *nif* γονιδίων σε ριζοβακτήρια όπως βακτήρια του γένους *Pseudomonas*. **Πρόβλημα η πιθανότητα ανάπτυξης συμβιωτικού μηχανισμού με ζιζάνια και όχι με καλλιεργούμενο φυτό**
2. Ενσωμάτωση των γονιδίων *nif* σε άλλα καλλιεργούμενα φυτά ή των υποδοχέων των Nod παραγόντων, όπως τα σιτηρά αποτελεί εδώ και χρόνια στόχο ερευνητών χωρίς επιτυχία



Setaria viridis



Είδη βιολογικών λιπασμάτων

- Συμβιωτικά αζωτοδεσμευτικά βακτήρια
- **Συμβιωτικοί μυκορριζικοί μύκητες**
- Βακτήρια Ενίσχυσης Φυτικής Ανάπτυξης (Plant Growth Promoting Rhizobacteria, PGPR)

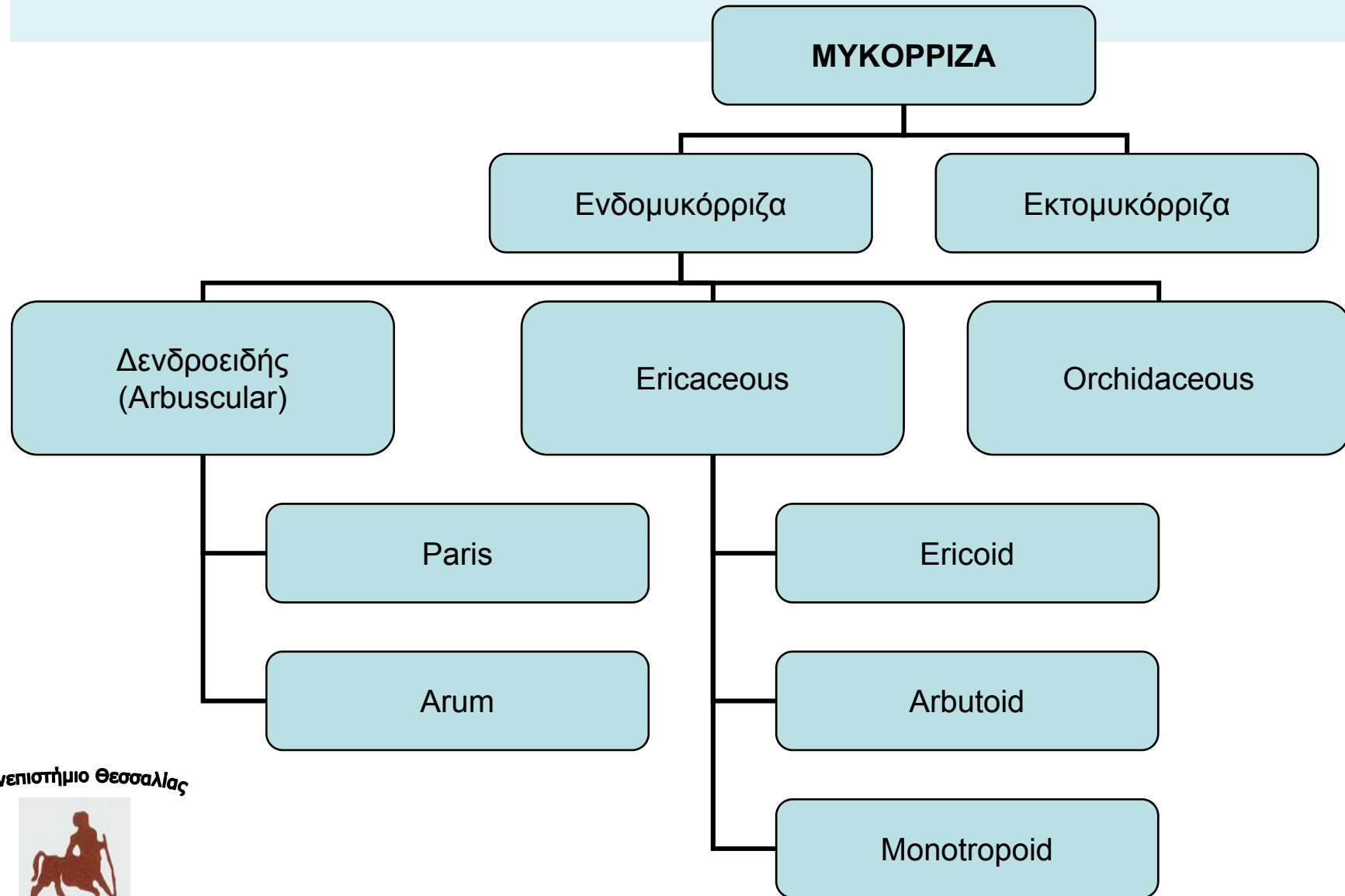


Συμβιωτική σχέση Μυκορριζικών Μυκήτων - Φυτών

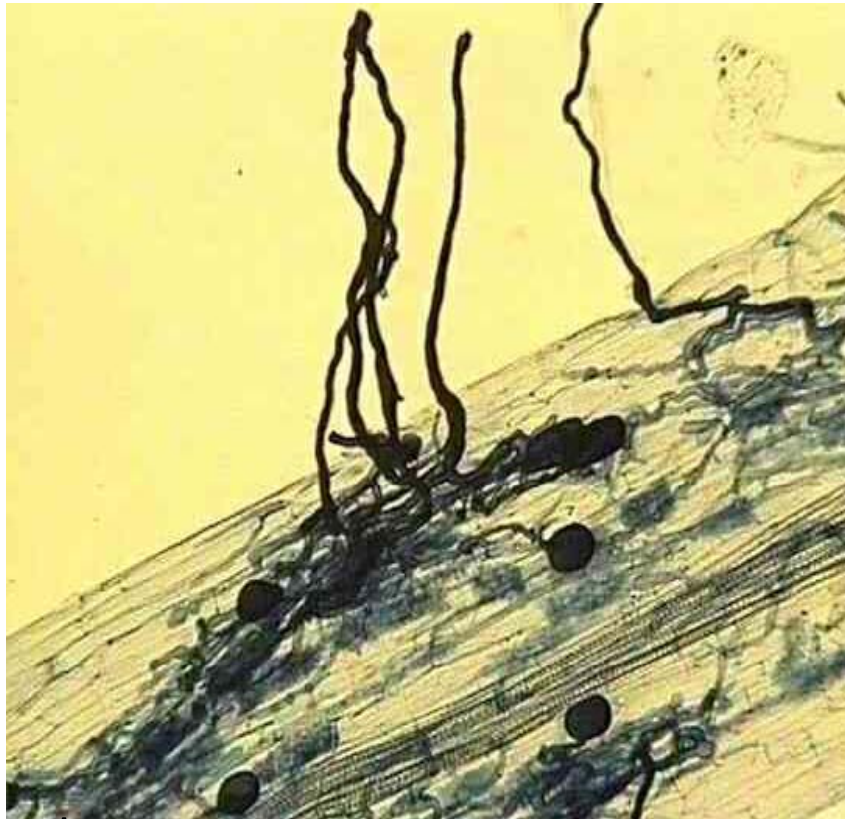
- Οι μυκόρριζες αποτελούν την συμβίωση μεταξύ μυκήτων και φυτών
- Οι μυκορριζικοί μύκητες που συμβιώνουν στο ριζικό σύστημα των φυτών παρέχοντας διάφορα πλεονεκτήματα στα φυτά
- Με ελάχιστες εξαιρέσεις όλα σχεδόν τα φυτά (95%) είναι «μυκορριζικά»



Ποια είδη μυκόρριζας συναντούμε;



Ενδομυκόρριζα

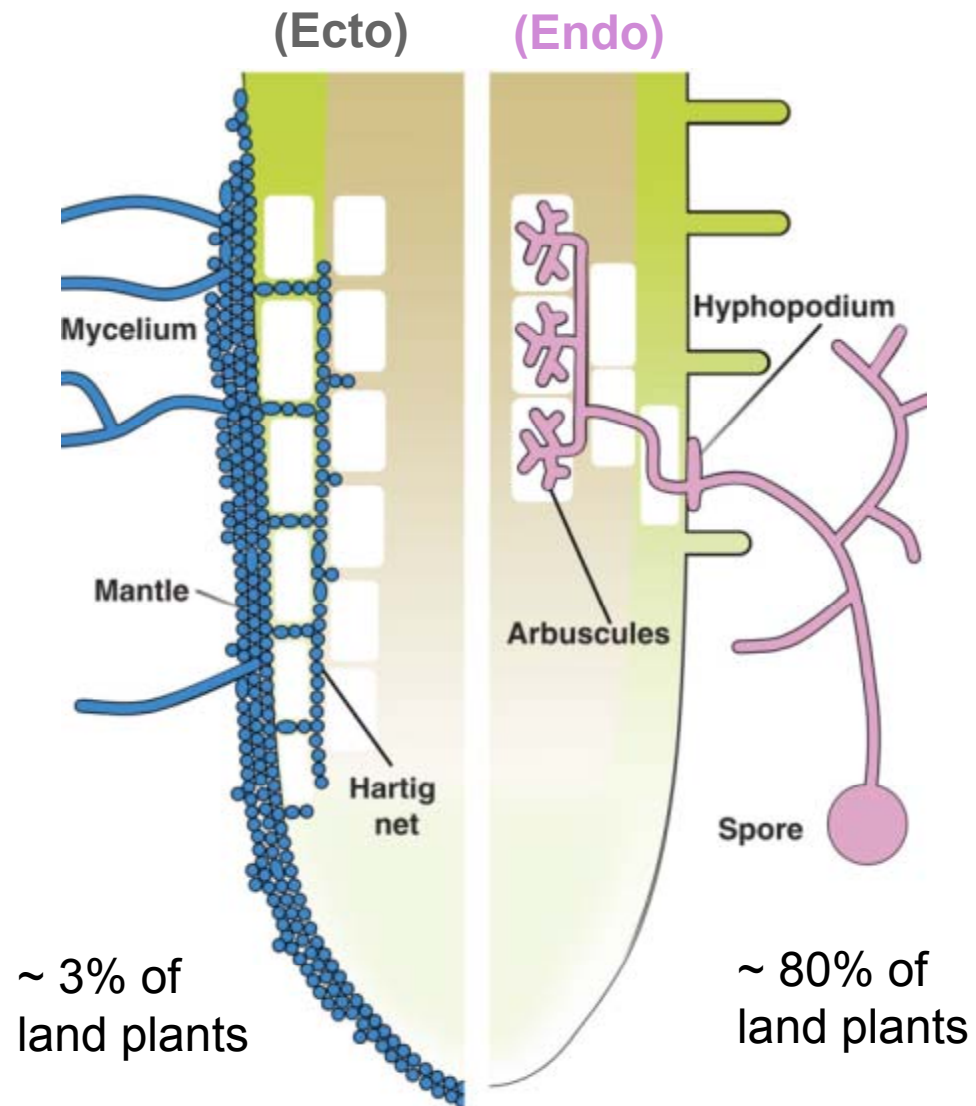


Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας



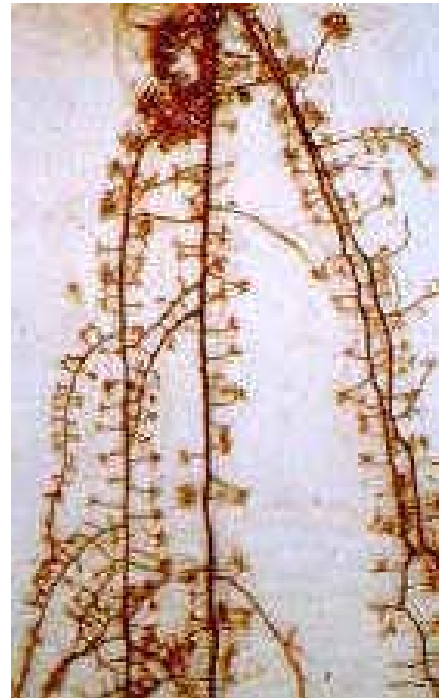
Εκτομυκόρριζα





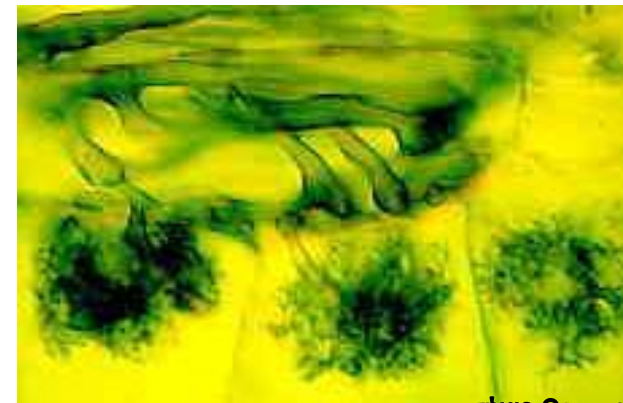
Εκτομυκόρριζες

Παρατηρούνται στις ρίζες δασικών δένδρων όπως πεύκα, έλατα. Κυρίως βασιδιομύκητες αλλά και ασκομύκητες έχει βρεθεί ότι σχηματίζουν **εκτομυκόρριζες**



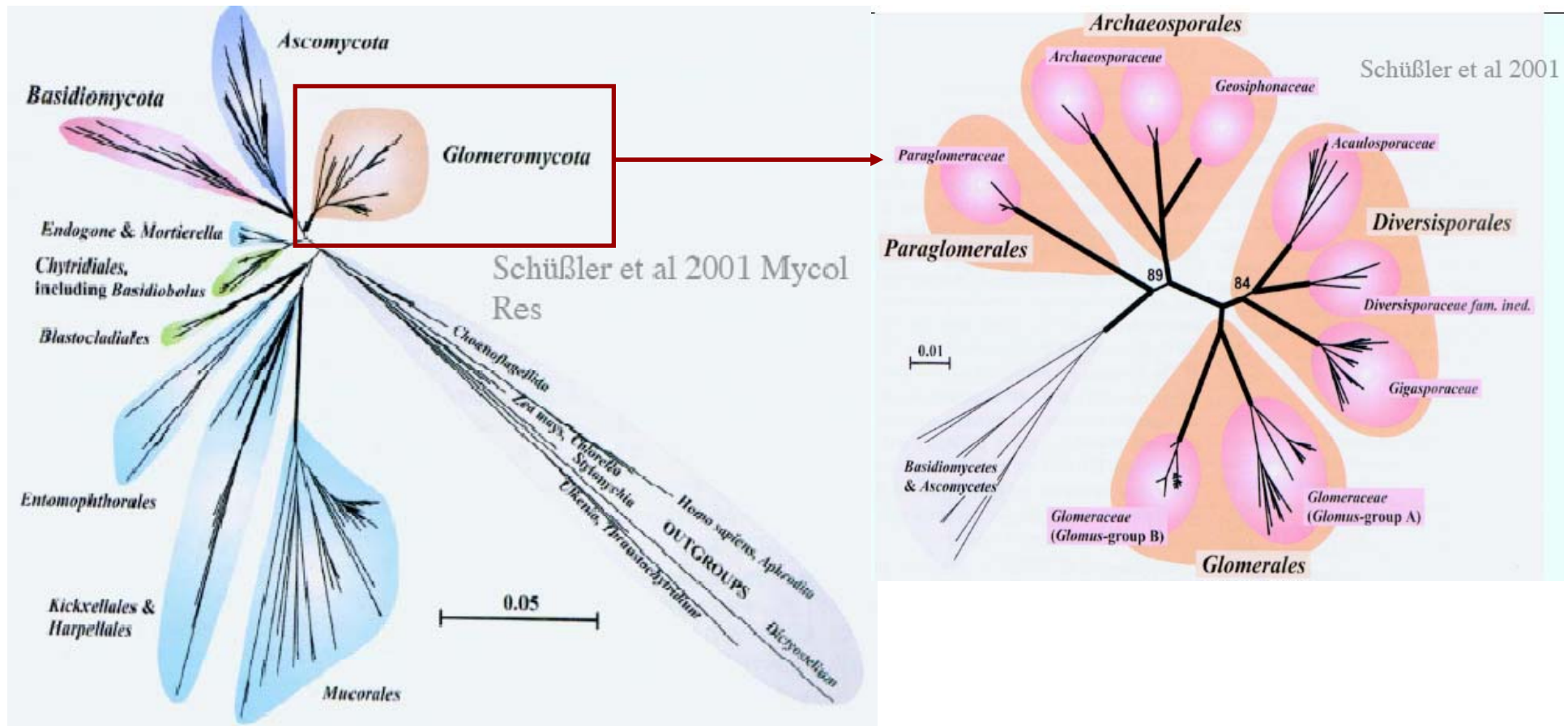
Δενδρόμορφες μυκόρριζες

- Ονομάσθηκε έτσι λόγω των ενδοκυτταρικών οργάνων που σχηματίζουν και ονομάζονται arbuscules
- Δημιουργούνται από μύκητες των γενών *Glomus*, *Gigaspora*, *Acaulospora*, *Sclerocystis*, *Paraglomus* etc



Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας





Όλοι οι δενδρόμορφοι μυκορριζικοί μύκητες (ΔΜΜ) ανήκουν όλες στην τάξη Glomeromycota



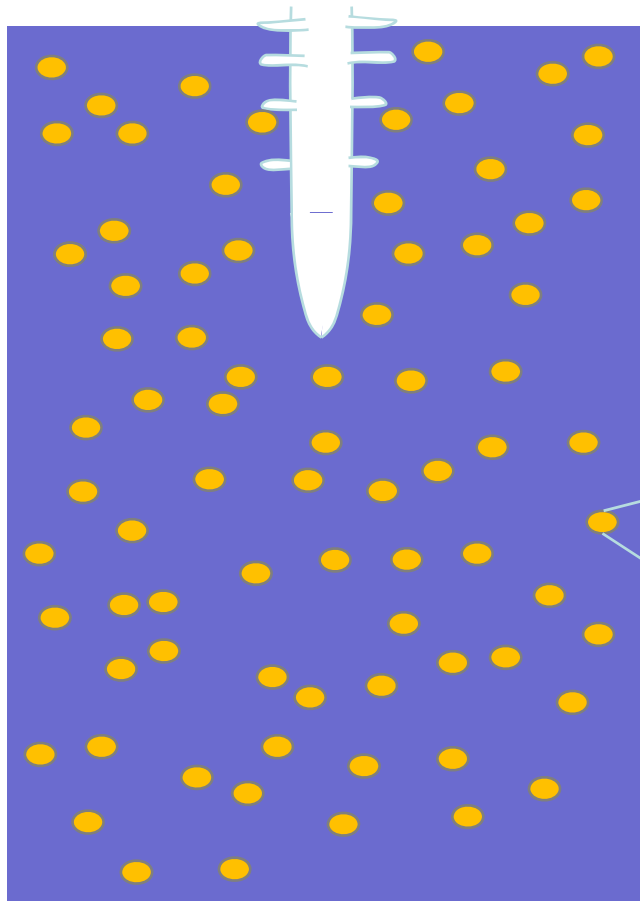
Τι προσφέρει η μυκορριική συμβίωση στο φυτό;

- Αυξημένη ικανότητα πρόσληψης θρεπτικών στοιχείων και **κυρίως φώσφορο**
- Αντοχή σε ξηρασία
- Αυξημένη προστασία από προσβολές από μύκητες, νηματώδεις και τοξικότητα μετάλλων

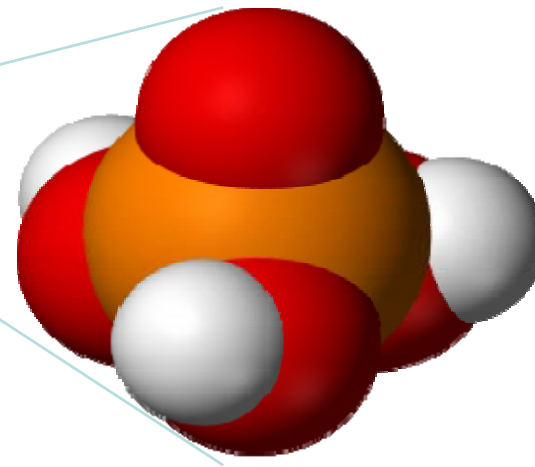
Γενικότερα, μυκορριζικά φυτά συνήθως παρουσιάζουν αυξημένη ανάπτυξη και παραγωγή σε σχέση με αντίστοιχα μη-μυκορριζικά φυτά

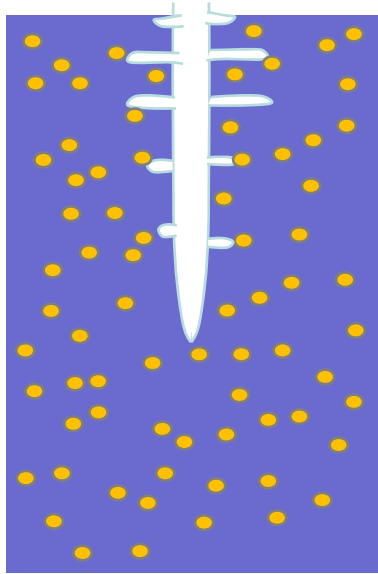


Τα φυτά απορροφούν το φώσφορο με δυσκολία από το έδαφος

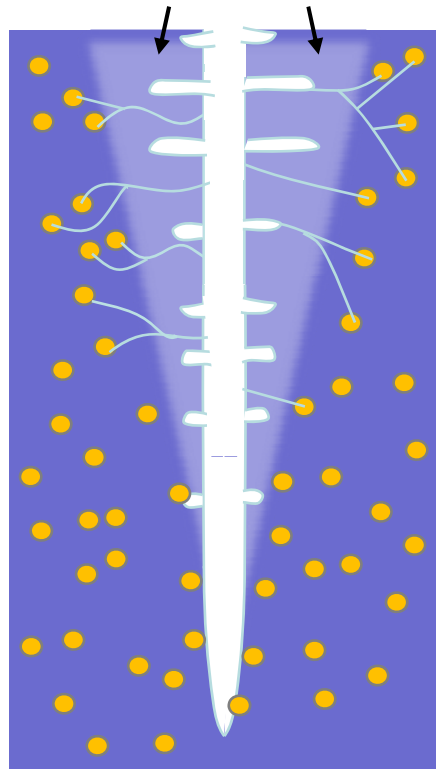


...ως ανόργανα HPO_3^-



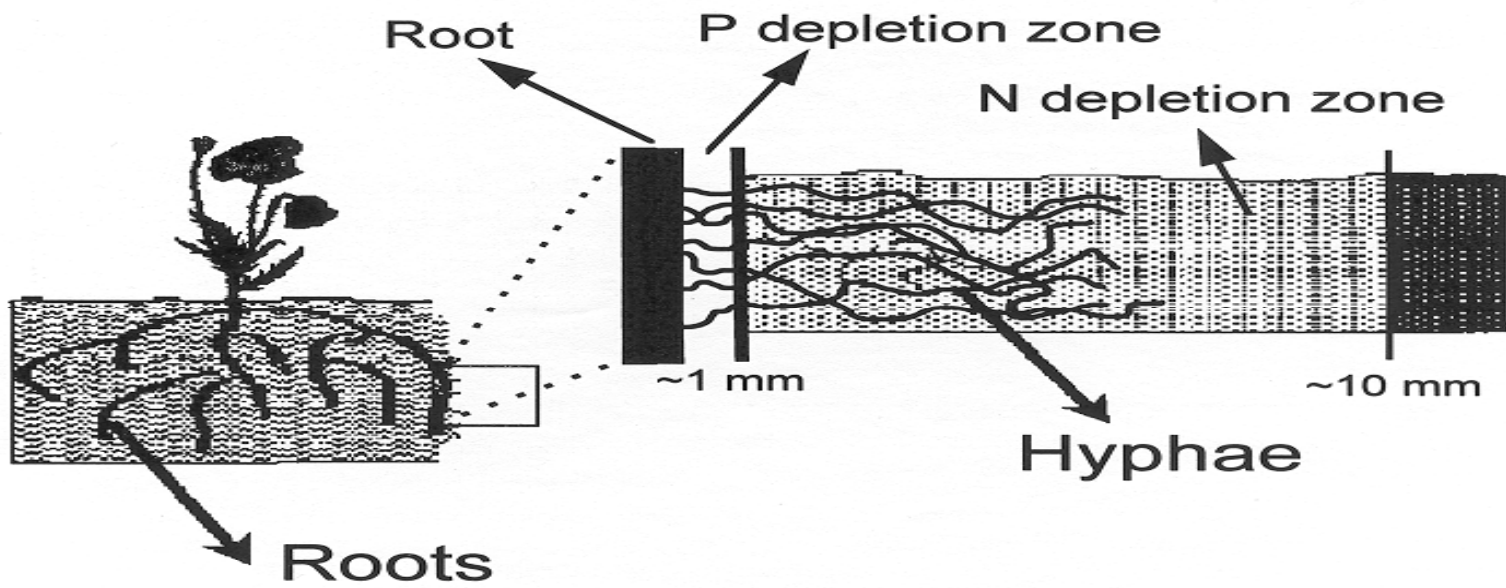


Εξαιτίας της μικρής διαλυτότητας
γρήγορα γίνεται μη διαθέσιμος στα
φυτά



Οι μυκορριζικοί μύκητες
επεκτείνουν με τις υφές
τους τη ζώνη
απορρόφησης των ριζών





Πως γίνεται η απορρόφηση φωσφορικών από τα φυτά;

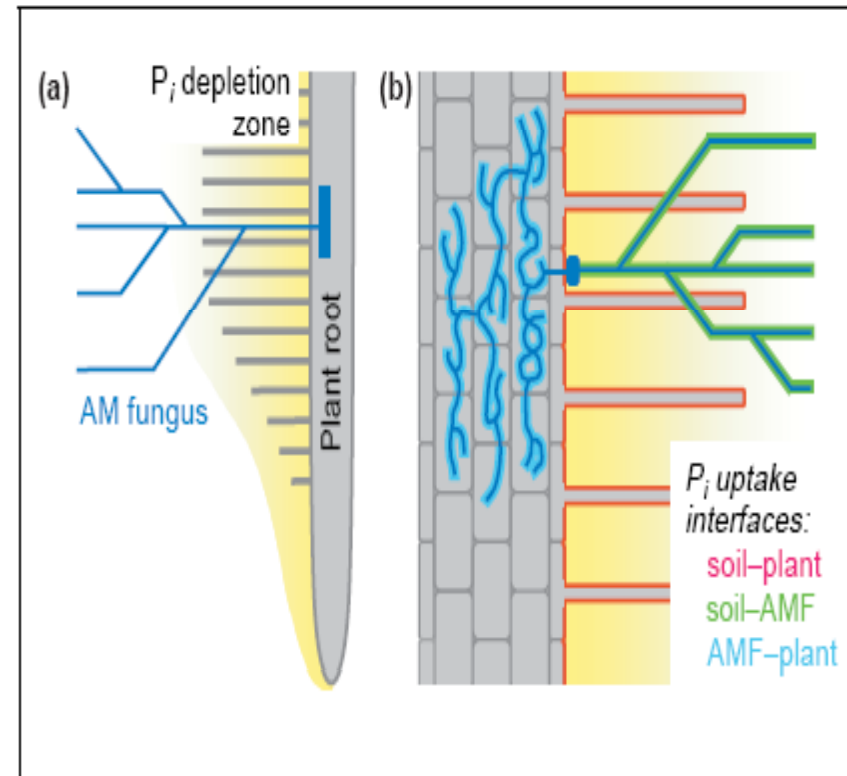
1. Μονοπάτι «άμεσης» πρόσληψης:

Έδαφος → Ριζοδερμίδα

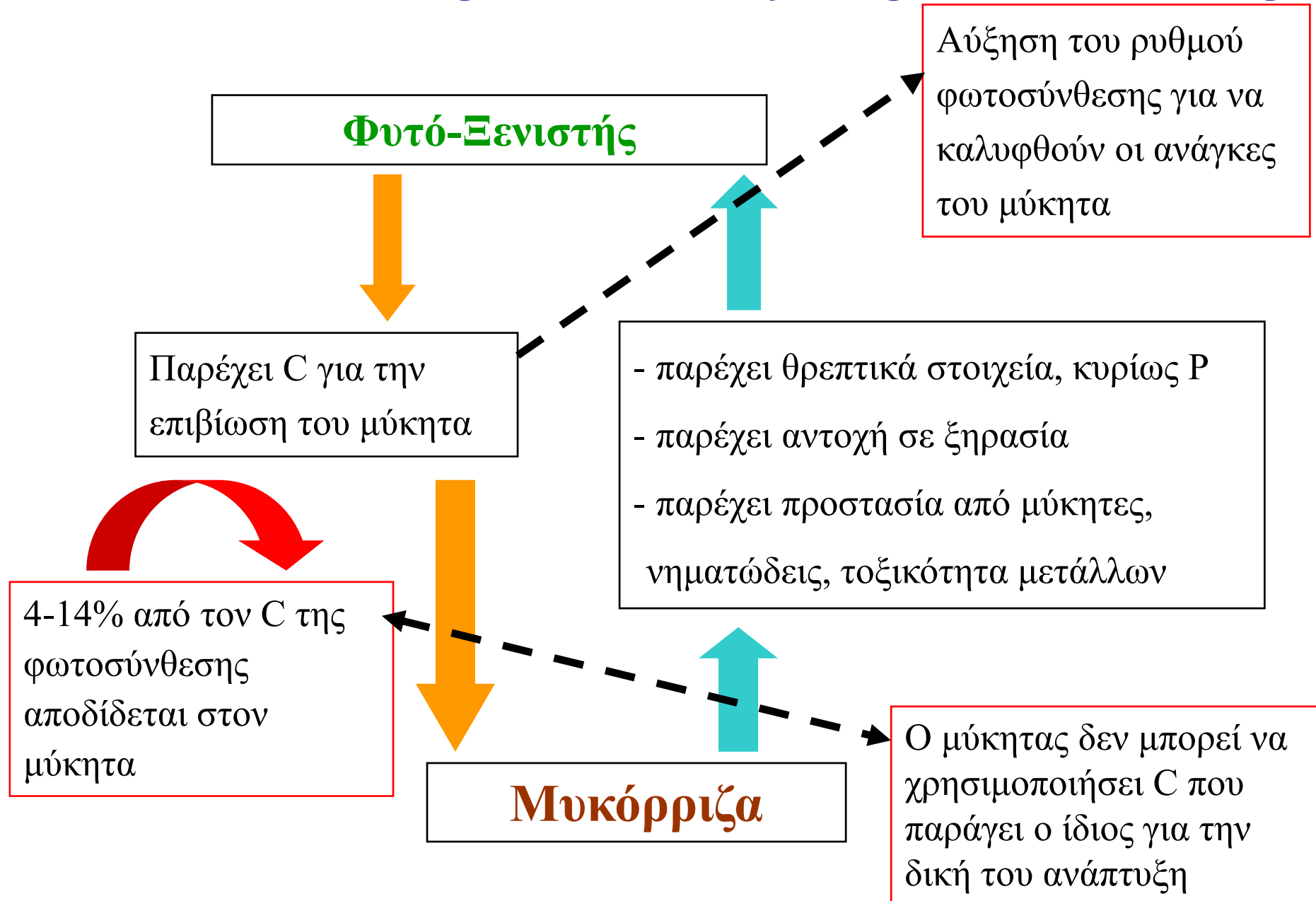
2. Μονοπάτι της μυκόρριζας:

Έδαφος → Μύκητας → Ρίζα

- ▶ Σε κάθε μονοπάτι:
διαφορετικοί μεταφορείς φωσφορικών



Φυσιολογία της μυκορριζικής συμβίωσης



Προβλήματα πρακτικής εφαρμογής των ΔΜΜ

1. Δεν είναι δυνατή η καλλιέργεια τους σε τριβλίο
2. Για διατήρηση πληθυσμών και απομόνωση τους απαιτείται απαραίτητα η παρουσία φυτού και ριζικού συστήματος



Πολύ δύσκολη έως αδύνατη η μαζική παραγωγή τους σε βιομηχανική κλίμακα



Παραγωγή σποροφύτων «εμβολιασμένων» με μυκόρριζες

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας



Εφαρμογές Βιοτεχνολογίας - Μυκόρριζες

Πιθανή εφαρμογή των μυκορριζών στην βιολογική γεωργία ή γενικότερα σε συστήματα με μικρές εισροές (γεωργικά φάρμακα, λιπάσματα)

Σε εντατικά συστήματα καλλιέργειας (θερμοκηπιακές καλλιέργειες) το φυτό δεν χρειάζεται τις μυκόρριζες για να παραλάβει φώσφορο από το έδαφος καθώς του παρέχεται άμεσα με την χρήση συνθετικών φωσφορικών λιπασμάτων





Είδη βιολογικών λιπασμάτων

- Συμβιωτικά αζωτοδεσμευτικά βακτήρια
- Συμβιωτικοί μυκορριζικοί μύκητες
- **Βακτήρια Ενίσχυσης Φυτικής Ανάπτυξης (Plant Growth Promoting Bacteria, PGPB)**



Plant Growth Promoting Rhizobacteria

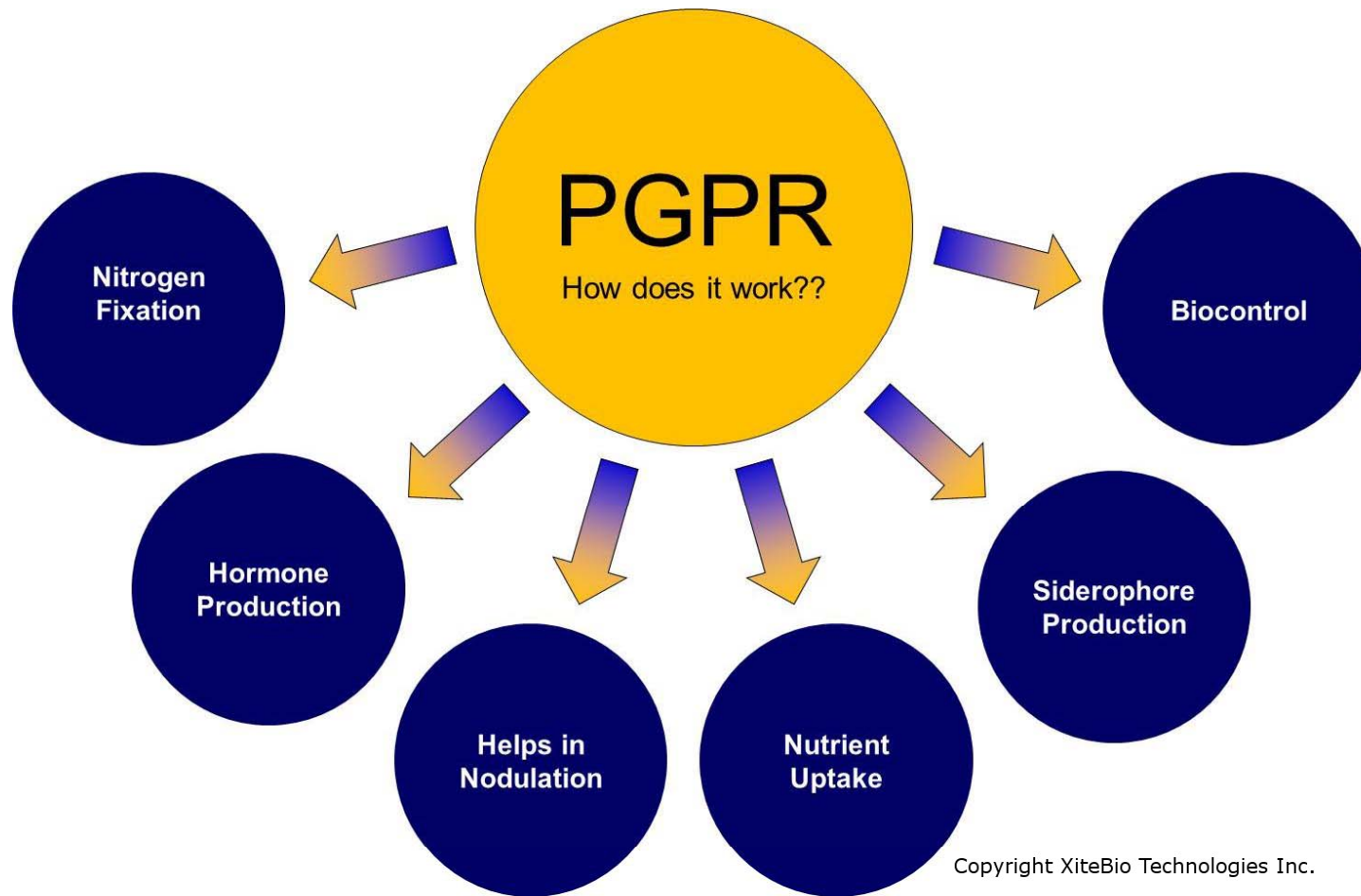
Βακτήρια που όταν αναπτυχθούν στην ριζόσφαιρα φυτών –
ξενιστών ευνοούν την ανάπτυξη των φυτών με διάφορους
έμμεσους ή άμεσους μηχανισμούς



Με ποιούς μηχανισμούς ενισχύουν την φυτική ανάπτυξη τα PGPR;

1. Δέσμευση και παροχή N_2 στα φυτά (αζωτοδέσμευση και όχι συμβιωτική αζωτοδέσμευση)
2. Αύξηση της διαθεσιμότητας θρεπτικών στοιχείων στο έδαφος
3. Αύξηση της επιφάνειας του ριζικού συστήματος
4. Υποβοήθηση δημιουργίας άλλων συμβιωτικών συστημάτων
5. **Συνδυασμός των παραπάνω μηχανισμών**





1. Δέσμευση και παροχή ελεύθερου N_2 στα φυτά

Πολλά ριζοβακτήρια κατέχουν το **ένζυμο νιτρογενάση** που είναι υπεύθυνο για την **δέσμευση αερίου N_2** αλλά μέχρι τώρα δεν υπάρχουν πειραματικά δεδομένα που να αποδεικνύουν ότι παρέχουν N_2 σε καλλιεργούμενα φυτά χωρίς την ανάπτυξη *συμβίωσης*



Βακτήρια που αζωτοδεσμεύουν αέριο N₂

- *Azoarcus*
- *Beijerinckia sp.*
- *Klebsiella pneumoniae*
- *Pantoea agglomerans*
- *Rhizobium sp.*

Τα παραπάνω βακτήρια έχουν συνδεθεί με την παροχή N σε φυτά χωρίς όμως σημαντικές αποδείξεις ότι πραγματικά προωθούν την καλύτερη θρέψη των φυτών



Τα περισσότερα PGPR που έχουν
απομονωθεί ως σήμερα είναι και
αζωτοδεσμευτικά !!!!!!!

Αυτό οφείλεται πιθανότατα στο ότι σε όλες τις μελέτες για
απομόνωση PGPB από το έδαφος χρησιμοποιούνται
υποστρώματα εκλεκτικά ως προς αζωτοδεσμευτικά βακτήρια
(minimal N media)



Με ποιούς μηχανισμούς ενισχύουν την φυτική ανάπτυξη τα PGPR;

1. Δέσμευση και παροχή N_2 στα φυτά (αζωτοδέσμευση και όχι συμβιωτική αζωτοδέσμευση)
- 2. Αύξηση της διαθεσιμότητας θρεπτικών στοιχείων στο έδαφος**
3. Αύξηση της επιφάνειας του ριζικού συστήματος
4. Υποβοήθηση δημιουργίας άλλων συμβιωτικών συστημάτων
5. Συνδυασμός των παραπάνω μηχανισμών



2. Αύξηση διαθεσιμότητας θρεπτικών στοιχείων

Για σημαντικό αριθμό PGPR έχει βρεθεί ότι αυξάνουν την διαθεσιμότητα διαφόρων μακροστοιχείων για το φυτό ή διευκολύνουν την μετακίνηση τους προς το ριζικό σύστημα του φυτού διευκολύνοντας έτσι την πρόσληψη τους

- i. Διαλυτοποίηση αδιάλυτων μορφών P στο έδαφος*
- ii. Αυξημένη απορρόφηση Fe από το φυτό*



ι. Διαλυτοποίηση P στο έδαφος

Ο P είναι το δεύτερο σε συχνότητα στοιχείο μετά το N που αποτελεί περιοριστικό παράγοντα για την ανάπτυξη των φυτών

Ο P βρίσκεται σε αφθονία στο έδαφος αλλά κυρίως σε αδιάλυτες **ανόργανες (οξειδία, υδροξειδία Fe, Al) ή οργανικές μορφές (φυτικό οξύ)**

Τα φυτά μπορούν να προσλάβουν P από το έδαφος μόνο σε δύο μορφές: **$H_2PO_4^-$ (μονοβασική) και HPO_4^{2-} (διβασική)**



ι. Διαλυτοποίηση ανόργανου P στο έδαφος

Τα βακτήρια μετατρέπουν μη διαθέσιμες μορφές ανόργανου P σε διαθέσιμες μορφές **παράγοντας οξέα όπως, γλυκονικό, 2-κετογλυκονικό οξύ, οξαλικό, μαλονικό και ηλεκτρικό οξύ** που προκαλούν οξίνιση του βακτηριακού μικρο-περιβάλλοντος και διαλυτοποίηση των οξειδίων Fe, Al που περιέχουν P



ι. Διαλυτοποίηση οργανικού P στο έδαφος

Τα βακτήρια μετατρέπουν οργανικές μορφές P (**νουκλεϊκά οξέα, φωσφολιπίδια, σάκχαρα, φυτικό οξύ, πολυφωσφορικά και φωσφονικά**) σε διαθέσιμες μορφές με την βοήθεια **φωσφατασών** (υδρολυτικά ένζυμα που διασπούν φωσφοεστερικούς δεσμούς)

- **Όξινες φωσφοεστεράσες**
- **Αλκαλικές φωσφοεστεράσες**



Εφαρμογές βακτηρίων που διαλυτοποιούν Ρ στο έδαφος

Βιολογικά Λιπάσματα που περιέχουν φώσφορο-
διαλυτοποιητικά βακτήρια περιέχονται σε δύο προϊόντα :

- **Phylazonit – M[®]**: *Bacillus megaterium* και *Azotobacter chroococcum* για αυξημένη παροχή N, P στα φυτά
- **Kyusei EM[®]**: Βακτήρια που παράγουν λακτικό οξύ και διαλυτοποιούν ανόργανο P



ii. Αυξημένη απορρόφηση Fe

Ο Fe στο έδαφος βρίσκεται υπό την μορφή Fe^{+2} (προτιμάται από τα φυτά) και Fe^{+3} που επικρατεί σε καλά αεριζόμενα εδάφη αλλά μπορεί να καταστεί μη διαθέσιμος σχηματίζοντας οξείδια

Τα φυτά παράγουν **χηλικές ενώσεις ή σιδηροφόρες ουσίες** που συμπλοκοποιούν τον Fe και διευκολύνουν την πρόσληψη
ΤΟΥ



ii. Αυξημένη απορρόφηση Fe

Τα βακτήρια παράγουν **σιδηροφόρες ουσίες (siderophores)** που δημιουργούν σύμπλοκα με Fe^{+3} με την οποία μορφή είναι πιο διαλυτά στο έδαφος και προσλαμβάνονται με ευκολία από τις ρίζες των φυτών

Η σπουδαιότητα των **βακτηριακών σιδηροφόρων** στην πρόσληψη Fe από τα φυτά έχει αμφισβητηθεί και έχει προταθεί ότι τα βακτήρια βρίσκονται σε ανταγωνισμό με τις φυτικές σιδηροφόρες ουσίες για τον Fe στο έδαφος



Με ποιούς μηχανισμούς ενισχύουν την φυτική ανάπτυξη τα PGPR;

1. Δέσμευση και παροχή N_2 στα φυτά (αζωτοδέσμευση και όχι συμβιωτική αζωτοδέσμευση)
2. Αύξηση της διαθεσιμότητας θρεπτικών στοιχείων στο έδαφος
- 3. Αύξηση της επιφάνειας του ριζικού συστήματος**
4. Υποβοήθηση δημιουργίας άλλων συμβιωτικών συστημάτων
5. Συνδυασμός των παραπάνω μηχανισμών



3. Αύξηση επιφάνειας ριζών

Σημαντικός αριθμός βακτηρίων έχει βρεθεί ότι ενεργοποιούν την αύξηση του όγκου της ρίζας και μεταβάλουν της μορφολογίας της με σκοπό την αυξημένη πρόσληψη θρεπτικών στοιχείων από το έδαφος

Το *Azospirillum brasilense* προκάλεσε 63% αύξηση του ξηρού βάρους του ριζικού συστήματος φυτών σόγιας και 10 φορές αύξηση στο συνολικό μήκος των ριζών



Αύξηση ριζών από PGPR – Μηχανισμός I

Μεγάλος αριθμός PGPR παράγουν **ινδολιλοξικό οξύ (IAA)**, που αποτελεί την ενδογενή αυξίνη των φυτών και έχει βρεθεί ότι είναι υπεύθυνη για την διαφοροποίηση των ριζών, κυτταρική διαίρεση και αύξηση.

Τα PGPB που παράγουν IAA προκαλούν αύξηση της συνολικής επιφάνειας των ριζών και κατά συνέπεια αύξηση της πρόσληψης θρεπτικών στοιχείων από τα φυτά



Αύξηση ριζών από PGPR – Μηχανισμός II

Πρόσφατα έχει βρεθεί ότι ορισμένα PGPR παράγουν στο έδαφος και άλλες φυτικές ορμόνες που ενεργοποιούν την κυτταρική διαίρεση, επιμήκυνση και αύξηση συγκεκριμένων φυτικών ιστών

- **Κυτοκινίνη**
- **Γιβεριλλίνη**
- **ACC απαμινάση**



Η ACC απαμινάση (Απαμινάση του 1-αμινοκυκλοπροπανο – 1 – καρβοξυλικού οξέος) είναι υπεύθυνη για την διάσπαση του ACC που αποτελεί την πρόδρομη ουσία για την παραγωγή αιθυλενίου

Η δράση του ενζύμου αυτού μειώνει την παραγωγή αιθυλενίου από το φυτό και έτσι περιορίζει την ανάπτυξη της ριζικής ανάπτυξης που προκαλείται από την παραγωγή αιθυλενίου



Φυτοορμόνη	Βακτήρια	Φυτό - Ξενιστής
ΙΑΑ	<i>Aeromonas veronii</i>	Ρύζι
	<i>Agrobacterium</i> sp.	Λάχανο
	<i>Azospirillum brasilense</i>	Σιτάρι
	<i>Comamonas acidovorans</i>	Λάχανο
Κυτοκινίνη	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	Σιτάρι
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Σόγια, πεύκο
Γιβεριλλίνη	<i>Bacillus</i> sp.	
ACC απαμινάση	<i>Alcaligenes</i> sp.	Ελαιοκράμβη
	<i>Bacillus pumilus</i>	Ελαιοκράμβη
	<i>P. ceracia</i>	Σόγια
	<i>Variovorax paradoxus</i>	Ελαιοκράμβη

Με ποιούς μηχανισμούς ενισχύουν την φυτική ανάπτυξη τα PGPR;

1. Δέσμευση και παροχή N_2 στα φυτά (αζωτοδέσμευση και όχι συμβιωτική αζωτοδέσμευση)
2. Αύξηση της διαθεσιμότητας θρεπτικών στοιχείων στο έδαφος
3. Αύξηση της επιφάνειας του ριζικού συστήματος
- 4. Υποβοήθηση δημιουργίας άλλων συμβιωτικών συστημάτων**
5. Συνδυασμός των παραπάνω μηχανισμών



4. Υποβοήθηση δημιουργίας συμβιωτικών συστημάτων

- i. Συστήματα Ψυχανθών – Αζωτοδεσμευτικών βακτηρίων
- ii. Συστήματα Φυτών – Μυκορριζικών μυκήτων

Τα συγκεκριμένα PGPR βακτήρια ονομάζονται και **helping**
bacteria



ι. Υποβοήθηση δημιουργίας συμβίωσης Ψυχανθών – Αζωτοδεσμευτικών βακτηρίων

Δύο βασικοί μηχανισμοί έχουν προταθεί:

- **Παραγωγή IAA από PGPR** που ευνοούν την αύξηση του ριζικού συστήματος και παρέχουν μεγαλύτερη επιφάνεια για τα *Rhizobium* να σχηματίσουν συμβιωτικά φυμάτια
- **Ενεργοποίηση από PGPR αυξημένης παραγωγής φλαβονοειδών** που αποτελούν τις ουσίες – ενεργοποιητές για την έκφραση των *nod* γονιδίων και την έναρξη της συμβίωσης ψυχανθών - *rhizobium*



PGPR που ευνοούν την ανάπτυξη συμβίωσης μεταξύ
Rhizobium – Ψυχανθών (helping bacteria)

Φυτό	Βακτήριο
Τριφύλλι	<i>Pseudomonas syringae</i>
Κουκιά	<i>Azospirillum brasilense</i>
Ρεβύθια	<i>P. putida</i>
Φυστικιά	<i>Azospirillum lipoferum</i>
Σόγια	<i>Bacillus sp. & Pseudomonas sp.</i> <i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Serratia proteamaculans</i> <i>Azospirillum brasilense</i>



ii. Υποβοήθηση δημιουργίας συμβίωσης φυτών – Μυκορριζικών μυκήτων

Οι μηχανισμοί που έχουν προταθεί:

- Παραγωγή φυτοορμονών που ευνοούν την ανάπτυξη του ριζικού συστήματος και παρέχουν περισσότερη επιφάνεια για προσβολή από τις μυκόρριζες
- Συνεργισμός μεταξύ μυκορριζών και P-solubilizing βακτήρια για αυξημένη πρόσληψη P από τα φυτά



Με ποιούς μηχανισμούς ενισχύουν την φυτική ανάπτυξη τα PGPR;

1. Δέσμευση και παροχή N_2 στα φυτά (αζωτοδέσμευση και όχι συμβιωτική αζωτοδέσμευση)
2. Αύξηση της διαθεσιμότητας θρεπτικών στοιχείων στο έδαφος
3. Αύξηση της επιφάνειας του ριζικού συστήματος
4. Υποβοήθηση δημιουργίας άλλων συμβιωτικών συστημάτων
- 5. Συνδυασμός των παραπάνω μηχανισμών**

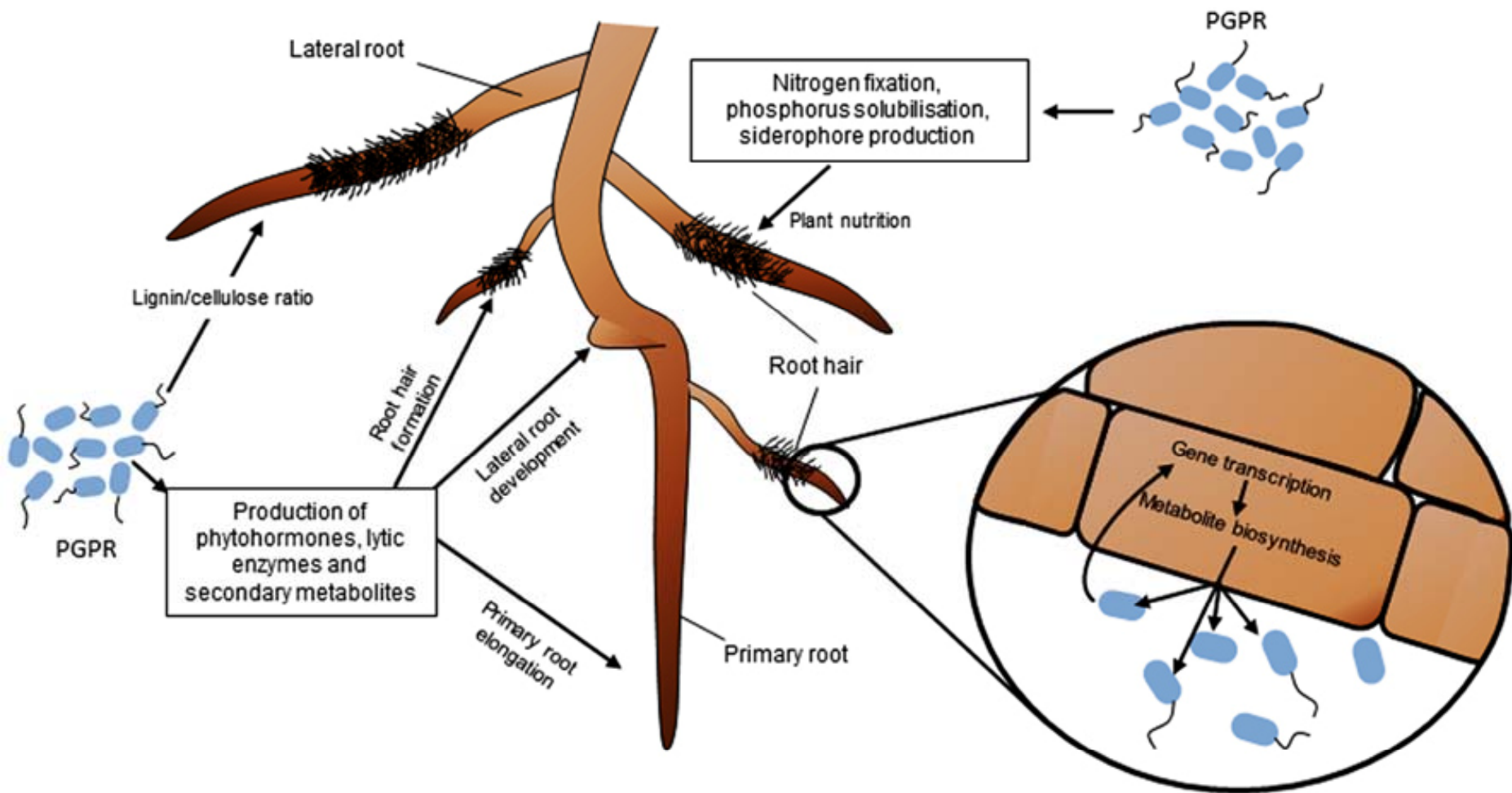
5. Συνδυασμός μηχανισμών PGPR

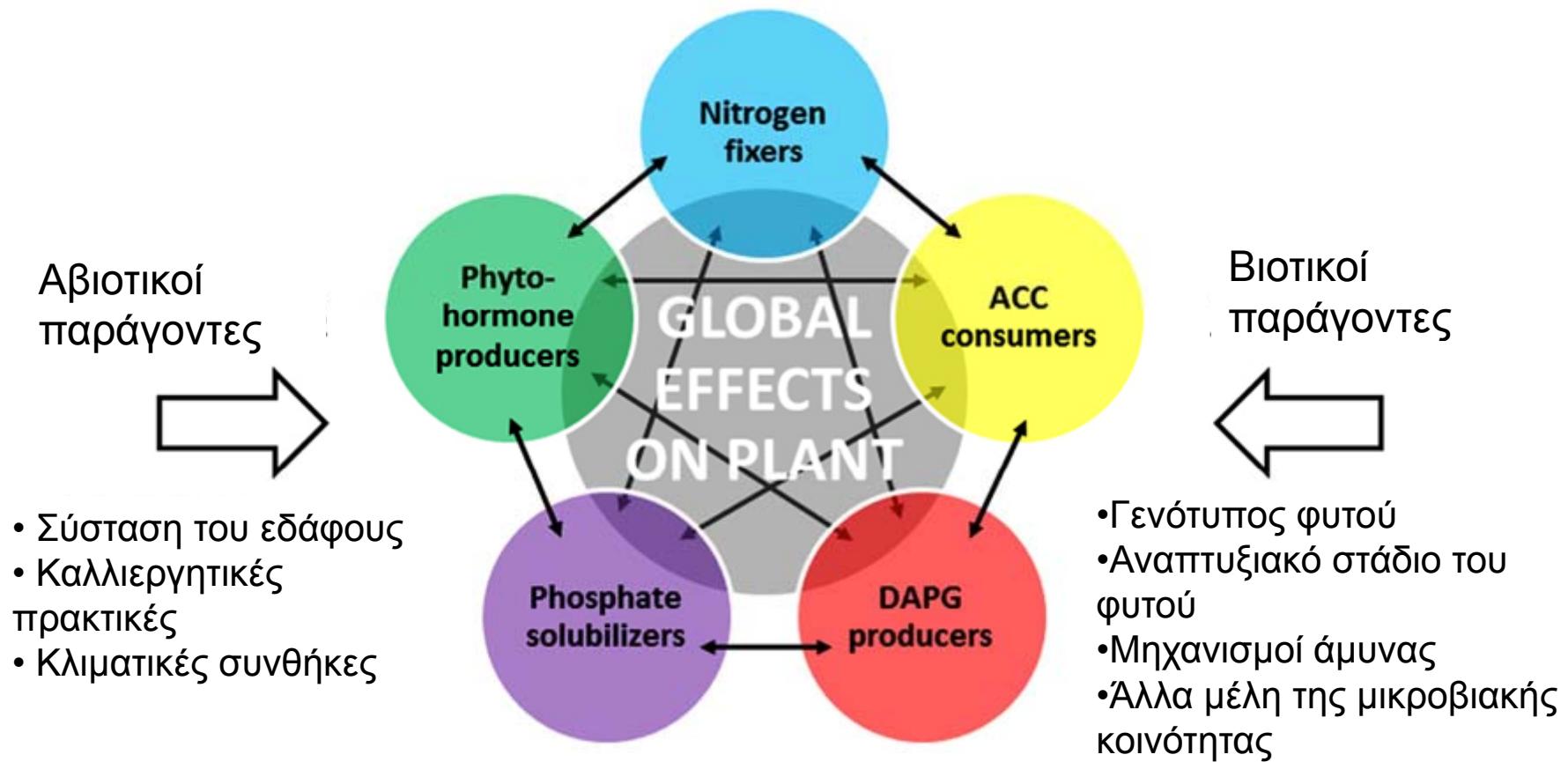
Συνήθως PGPR που έχουν απομονωθεί κατέχουν περισσότερες από έναν μηχανισμούς δράσης

Από τα 266 PGPR που απομονώθηκαν από το έδαφος:

- **83%** παρήγαγαν σιδηροφόρες ουσίες
- **58%** παρήγαγαν IAA
- **54%** διαλυτοποιούσαν P







PROMOCION DE CRECIMIENTO

**Tratamiento
con *B. subtilis***

Testigo



Πρακτική εφαρμογή PGPR

Τα πιο γνωστά PGPB ανήκουν στο γένος *Azospirillum*

- *A. brasilense*
- *A. lipoferum*
- *A. amazonense*
- *A. halopraeferens*
- *A. irakense*

Αναπτύσσονται υπό αερόβιες αλλά και αναερόβιες συνθήκες και κατέχουν την ικανότητα να δεσμεύουν ατμοσφαιρικό N



Μηχανισμοί ενίσχυσης φυτικής ανάπτυξης που παρουσιάζουν τα *Azospirillum* sp.

1. Δέσμευση και παροχή N σε φυτά
2. Παραγωγή φυτικών ορμονών στο έδαφος (IAA, γιβεριλλίνη, κυτοκινίνη)
3. Αύξηση των ριζικών τριχιδίων και του μήκους των ριζών
4. Υποστήριξη της δημιουργίας συμβίωσης μεταξύ *Rhizobium* – ψυχανθών φυτών



Πρακτική εφαρμογή *Azospirillum* sp.

Γενικά θεωρείται ότι ένα **πληθυσμός 10^7 κύτταρα *Azospirillum* ανά φυτό ή σπόρο** είναι απαραίτητη προϋπόθεση για αποτελεσματική δράση των PGPB στην ανάπτυξη των φυτών

Επίσης, το **στάδιο ανάπτυξης των PGPB είναι σημαντικός παράγοντας επιτυχίας** και ως γενικός κανόνας ισχύει: τα PGPB να συσκευάζονται όταν 1) βρίσκονται σε ανθεκτικά στάδια (σπόρια) 2) έχουν συσσωρεύσει υψηλές συγκεντρώσεις αποθηκευτικών ουσιών (πολυδροξυαλκανοϊκά, PAHs) ή ουσίες που ευνοούν την αύξηση των φυτών



Εμπορικά σκευάσματα *Azospirillum*

- **Azo-Green™**: σκεύασμα που περιέχει *Azospirillum brasilense* και προτείνεται για αύξηση της παραγωγής σε καλλιέργεια καλαμποκιού
- **Zea-Nit™**: σκεύασμα που περιέχει μίγμα *A. brasilense* και *A. lipoferum* με φορέα βερμικουλίτη ή υγρό σκεύασμα που χρησιμοποιείται στην καλλιέργεια καλαμποκιού



Γιατί η βιομηχανία να επενδύσει σε βιολογικά λιπάσματα;

- Μειωμένο κόστος για έγκριση χρήσης
- Μειωμένος χρόνος για ολοκλήρωση διαδικασιών έγκρισης
- Περιβαλλοντικά φιλικά
- Χρήση σε συστήματα βιολογικής γεωργίας

