

Karlova Univerzita v Praze
Přírodovědecká fakulta
Studijní program: Biologie
Studijní obor: Experimentální biologie rostlin



Mgr. Jan Konečný

Identifikace membránových transportérů účastnících se toku uhlíku v arbuskulárně mykorhizní symbióze

Identification of membrane transporters involved in carbon flux in arbuscular mycorrhizal symbiosis

Rigorózní práce

Praha, 2021

Poděkování:

Chtěl bych poděkovat Mgr. Janovi Jansovi, Ph.D. za jeho nejenom odborné rady, zásadovost, příkladnou schopnost přetvářet mé myšlenky do srozumitelných a publikovatelných vět, i že jsem mohl být po jeho boku a učit se vědě. Velký dík patří též všem spoluautorům naší publikace, díky které mohla vzniknout tato rigorózní práce, a také dalším kolegům z laboratoře biologie hub, MBÚ AV ČR za příjemné pracovní prostředí a cenné připomínky i do života. Poděkovat chci i Doc. RNDr. Heleně Lipavské, Ph.D., Katedře experimentální biologie rostlin a Mikrobiologickému ústavu Akademie věd ČR, neboť na publikaci mají též zásluhy.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, dne 30.9.2021

Abstrakt

Arbuskulárně mykorhizní symbióza je jednou z nejstarších a přitom stále nejrozšířenějších interakcí. Tento vztah mezi pro člověka nepatrnými půdními houbami a kořeny rostlin, především bylin, je předmětem výzkumu s mj. nadějným využitím v trvale udržitelném zemědělství. Intenzivní výzkum však probíhá i na úrovni buněčné a molekulární, neboť přesné mechanismy fungování této symbiózy jsou stále zastřeny tajemstvím. Pochopení těchto pochodů je žádoucí nejenom v době rozmachu genového inženýrství.

Běžně využívaným modelovým organismem pro výzkum rostlinných symbióz je menší bobovitá rostlina z rodu tolíce – *Medicago truncatula*. Využitím DNA čipu na všechny známé geny *M. truncatula* a porovnáním mykorhizních a nemykorhizních rostlin autor vytypoval několik genů, které by se symbiózy mohly účastnit, a z výsledků sepsal diplomovou práci. Navazujícím experimentem se zásahem do fyziologie rostliny poukazují autoři článku (Konečný a kol., 2019) na pravděpodobné zapojení některých dříve nehlášených genů v symbióze, ale také na rozdílné módy regulace u genů, jejichž pravděpodobná symbiotická funkce je publikována.

Tato rigorózní práce se zaměřuje na uvození prvoautorské publikace, bližší výklad experimentu, který není součástí diplomové práce a je stěžejní informací v recenzovaném článku, a komentář k pracím, které publikaci citují.

Klíčová slova:

Arbuskulárně mykorhizní symbióza, kvantitativní PCR, *Medicago truncatula*, sacharidový přenašeč, světelná deprivace

Abstract

Arbuscular mycorrhizal symbiosis is one of the oldest and still most common interactions. This relationship between small soil fungi and plant roots, especially herbs, is the subject of research with, among other things, a promising use in sustainable agriculture. However, intensive research is also taking place at the cellular and molecular level, as the exact mechanisms of functioning of this symbiosis are still shrouded in mystery. Understanding these processes is desirable not only in the boom of genetic engineering.

A commonly used model organism for the research of plant symbioses is a smaller legume of the genus medick - *Medicago truncatula*. Using a microarray for all known *M. truncatula* genes and by comparing mycorrhizal and non-mycorrhizal plants, the author identified several genes that could participate in symbiosis and he wrote a thesis from these results. In a follow-up experiment with an intervention in plant physiology, the authors of the article (Konečný et al., 2019) point to the probable involvement of some previously unreported genes in symbiosis, but also to different modes of regulation in genes whose probable symbiotic function is already published.

This rigorous thesis focuses on the introduction of the first-author publication, a closer explanation of the experiment, which is not part of the diploma thesis and is key information in the peer-reviewed article, and comments on literature, which cite this publication.

Keywords:

Arbuscular mycorrhizal symbiosis, light deprivation, *Medicago truncatula*, saccharide transporter, quantitative PCR

Obsah

Seznam zkratk.....	7
Úvod.....	8
Korelování hladin transkriptů po experimentálním zásahu stíněním	11
Citování publikace cizími autory.....	15
Závěr.....	18
Seznam použité literatury.....	19
Příloha – Konečný a kol., 2019.....	24

Seznam zkratek

AMS – arbuskulárně mykorhizní symbióza

DNA – deoxyribonucleic acid (deoxyribonukleová kyselina)

GPT – glukóza-6-fosfát / fosfát translokátor

MBÚ AV ČR – Mikrobiologický ústav Akademie věd České republiky

NDPST – nucleotid-diphospho-sugar transferase (nukleotid-difosfo-cukr transferáza)

PCR – polymerase chain reaction (polymerázová řetězová reakce)

PT – phosphate transporter (fosfátový přenašeč)

SWEET – sugars will be eventually exported transporter (sacharidový přenašeč z rodiny SWEET)

Úvod

Fenomén houbových útvarů v kořenových buňkách rostlin začal být popisován v 19. století a dokonce první badatelé byli schopni určit některé zásadní vlastnosti tohoto symbiotického vztahu, které byly potvrzeny až moderními metodami konce 20. století (Koide a Mosse, 2004). Výzkum se ubíral mimo jiné i směrem anatomickým a právě houbovitá struktura připomínající stromeček, pojmenovaná arbuskul, dala název celému vztahu – arbuskulárně mykorhizní symbióza (AMS). Arbuskul je zásadním symbiotickým orgánem. Houbové vlákno se zde netradičně větví a vrůstá do kořenových buněk, čímž vzniká speciální rozhraní dvou buněčných membrán – houbové a rostlinné – a právě zde dochází k čilé výměně hmoty, energie a informace mezi symbionty. Jací hostitelé mohou AMS utvářet, jaké signály předcházejí a udržují ustanovení vztahu, a jak AMS vypadá na buněčné úrovni pěkně shrnuje Martin Parniske (2008). Z hlediska rostlin je důležitá výměna živin v podobě minerálních látek, které je houbový symbiont schopen získat v půdním prostředí snadněji, než rostlina. Zisk minerálních živin je odměňován „platbou“ energeticky bohatými uhlíkatými molekulami jako jsou sacharidy a lipidy (Rich a kol., 2017). Vzhledem k tomu, že jeden houbový symbiont je schopen vrůstat do kořenů vícero rostlinných jedinců i různých druhů, a v jedné rostlině může být vícero houbových jedinců také různých druhů, je často využíváno ekonomických termínů pro popis fungování této složité mykorhizní sítě (v angl. „common mycorrhizal network“) či vztahu mezi dvěma jedinci (Kiers a kol., 2011).

Houbový partner však není pouhou prodlouženou rukou rostlinných kořenů. Oboustranně kontrolovaná symbióza ani nemusí dospět k oboustranně výhodné spolupráci. Mykorhizní rostliny tak mohou vykazovat lepší charakteristiky, které se týkají

například biomasy, obsahu živin či odolnosti proti stresům, ale v závislosti na jedincích a druzích v interakci a zejména na prostředí a dostupnosti živin v něm může být AMS i nevýhodnou v porovnání s rostlinami bez mykorhizy (Rillig a kol., 2019; Qin a kol., 2021). Vliv dostupnosti živin na efektivitu AMS dobře popisují naše znalosti o příjmu fosforu rostlinou. Tento důležitý makroprvek je z půdního roztoku vstřebáván ve formě volných fosfátů za pomoci fosfátových transportérů. Je-li fosfátu dostatek, rostlina exprimuje transportéry v kořenové pokožce a kořenovém vlášení a aktivně fosfáty vychytává tzv. přímou cestou. Fosfát je však díky svým chemicko-fyzikálním vlastnostem málo rozpustný do půdního roztoku a kolem kořenů tak záhy vzniká fosfátem chudá, depleční zóna. Mykorhizní rostliny proto mají ještě jiné geny pro fosfátové transportéry, které se exprimují v buňkách s arbuskuly (viz např. má bakalářská práce: Konečný, 2014). Tyto transportéry tzv. mykorhizní cesty příjmu fosforu nejsou exprimovány v nemykorhizních rostlinách (tj. mykorhizy schopných rostlinách bez houbového symbionta) a jsou považovány za reportérové geny ustanovení funkční AMS (Harrison a kol., 2002; Javot a kol., 2007; Tan a kol., 2012). Nutno podotknout, že zásobování rostlin živinami na přímo, například intenzivním hnojením, potlačuje mykorhizní cestu, a tím i život symbiotické mikrobioty, která je na rostlinném uhlíku závislá.

Porovnávání exprese genů u mykorhizních a nemykorhizních rostlin je jednou z možností, jak nalézt geny účastnící se AMS (Mohammadi-Dehcheshmeh a kol., 2018). Ne všechny geny důležité pro funkční AMS však vykazují jasný expresní vzor téměř nulové exprese u nemykorhizních rostlin, ale jsou exprimovány i v nemykorhizních rostlinách a / nebo v buňkách mimo styk s houbovým partnerem (typicky buňky prýtu) – příkladem mohou být geny zodpovědné za zpracování a homeostázy fosfátu (Hasan a

kol., 2016) či geny pro syntézu mastných kyselin (Keymer a kol., 2017). Na řadu tak přichází metody fyziologického ovlivnění rostliny, například stíněním. Takový experimentální zásah omezující dostupnost uhlíkatých látek pocházejících z asimilace oxidu uhličitého nutí rostliny spořit, což se projeví mimo jiné potlačením mykorhizní cesty příjmu živin včetně snížení exprese mykorhizně-specifických fosfátových transportérů (Konvalinková a Jansa, 2016). Tyto dva přístupy vedly k publikaci, která je základem této rigorózní práce. Tradiční přístup porovnávání genové exprese vedl k úspěšnému vytipování několika genů zejména díky komerční dostupnosti DNA čipů obsahujících veškeré známé geny modelové rostliny *Medicago truncatula* a kvalitního zázemí a zkušeností týmu Laboratoře biologie hub, AV ČR. Experiment přinesl výsledky především díky kompletní sadě genů na využitém DNA čipu, kdežto v raných fázích molekulárního arbuskulárně mykorhizního výzkumu bylo využíváno čipů obsahujících neúplnou sadu genů či nebylo využito čipů vůbec. Společně s metodickou stránkou mykorhizních pokusů, především zabezpečením a ověřením ne/mykorhizních variant a měřením základních fyziologických parametrů, jsou tyto výsledky součástí i mé diplomové práce (Konečný, 2017). Stínící experiment, jehož výsledky jsou nosnou částí publikovaného článku, však přináší informace nové.

Korelování hladin transkriptů po experimentálním zásahu stíněním

Zastínění rostliny má nesporný vliv na její fyziologii – okamžitým potlačením fotosyntetických reakcí počínaje a změnou růstu konče (Skálová, 2004). Vliv světelné deprivace na mykorhizní rostliny byl v minulosti studován, ale modelová rostlina *Medicago truncatula* byla prověřena až nedávno (Konvalinková a kol., 2015). Přestože stínění negativně ovlivnilo mykorhizní i nemykorhizní rostliny obdobně co se růstových charakteristik týče, pouze mykorhizní rostliny omezovaly alokaci fosforu do nadzemních částí v závislosti na intenzitě stínění. To neplatí pro kořenovou část mykorhizních rostlin, což autoři vysvětlují zadržováním fosforu ve vnitrokořenovém myceliu houbového symbionta. Arbuskulárně mykorhizní houby transportují polyfosfátové granule skrze svá vlákna a musí je depolymerovat pro uvolnění fosfátu rostlinnému symbiontu (Ohtomo a Saito, 2005).

Zadržování „houbových“ živin v závislosti na snížené dostupnosti „rostlinného“ uhlíku bylo experimentálně prokázáno (Hammer a kol., 2011) a tato provázanost byla dokonce simulována *in silico* na základě sdíleného protonového gradientu fosfátovými (houbovými) i sacharidovými (rostlinnými) přenašeči v symbiotickém rozhraní (Schott a kol., 2016). Tato tvrzení jsou však stále komplikována nejasností v přesné podobě uhlíkové cesty mezi symbionty, která je stále předmětem světového výzkumu. Regulační mechanismy také nejsou prozatím známy, avšak aktivní účast obou symbiontů na úrovni celého jedince pokládám za jasnou (Walder a van der Heijden, 2015). To dokládá množství experimentů využívajících značení stabilními izotopy uhlíku, dusíku či fosforu (např. Kiers a kol., 2011; Konvalinková, 2017;

Argüello a kol., 2016) či např. nové využití fluorescentních nanočástic (Whiteside a kol., 2019; van't Padje a kol., 2020).

Vyvozování závěrů z transkriptomických dat má svá úskalí, protože neobsahuje informaci o množství, lokalizaci ani aktivitě proteinového produktu daného genu. Fosfátové transportéry jsou navíc regulovány na různých úrovních (Gu a kol., 2016). Aktivita mykorhizně specifických fosfátových transportérů je ale se svou transkripcí úzce propojena, protože jsou exprimovány autonomně a specificky v kolonizovaných buňkách po zhruba 2 až 3 dny, po které je arbuskul v aktivní fázi, a poté je transkripce utlumena a veškerý protein degradován (Pumplin a Harrison, 2009; Kobae a kol., 2010). Proto má měření hladiny transkriptu mykorhizně specifických fosfátových transportérů za pomoci kvantitativní PCR větší vypovídací hodnotu, než je tomu v jiných případech.

Podíváme-li se na hladiny transkriptu PT4 (mykorhizně specifického fosfátového transportéru *Medicago truncatula*) ve stínícím experimentu (Příloha, Fig 2), výsledky nejsou překvapivé. Po drastickém zastínění vzrostlých, dvouměsíčních rostlin tmavě zelenou síťovinou umožňující průchod pouze 10 % původního světla po dobu 3 dní byly naměřené hodnoty PT4 zhruba třikrát nižší oproti nemykorhizní kontrole. Jelikož je exprese PT4 řízena spíše přítomností arbuskulu (tj. vývojovým programem dočasné organely) než přítomností fosfátu, jak je tomu nejspíše u fosfátových transportérů přímé cesty, lze usuzovat, že i kolonizace kořenů byla ponížena (Tan a kol., 2012), avšak množství arbuskulí v kořenech nebylo u těchto vzorků prověřeno mikroskopicky.

Zajímavým výsledkem je však téměř nulová reakce glukózového přenašeče SWEET1b (Příloha, Fig 3), jehož úloha v AMS se zdá být potvrzena (Sameeullah a kol., 2016; Manck-Götzenberger a Requena, 2016; An a kol., 2019). Pokud je exprese mykorhizně specifických genů ovlivněna mírou kolonizace, proč

SWEET1b nereaguje obdobně, jako PT4? Přestože SWEET1b hraje v AMS důležitou úlohu a jeho exprese je mykorhizou indukovaná (Doidy a kol., 2019), regulace sacharidového toku se pravděpodobně odehrává na jiné úrovni, než-li je transkripce obousměrného pasivního přenašeče typu **SWEET**. Jednou z možností posttranslační regulace aktivity membránových přenašečů je jejich internalizace, jejíž úloha v AMS již byla nastíněna (Bitterlich a kol., 2014). Další možností je retrakce substrátu jeho realokací do vakuoly či metabolizací na netransportovatelný produkt, například hexokinázou.

Relativně nově objevený uhlíkový tok v podobě lipidů, které si houboví symbionti pravděpodobně neumí syntetizovat *de novo* (Keymer a kol., 2017) ale nabízí možnost, že uhlíkový tok v AMS, respektive funkční AMS, je regulována přes tuto cestu. Pokud jsou arbuskulárně mykorhizní houby obligátně závislé právě na 16:0- β -monoacylglycerolu, je regulace AMS přes lipidovou cestu na snadě. Bohužel v době experimentů nebyla tato lipidová cesta veřejně známá a mé hledání bylo zaměřeno na membránové přenašeče. Troufám si však tvrdit, že tuto cestu doplňuji. Jeden z prověřených genů spadá do rodiny glukóza-6-fosfát / fosfát translokátorů (GPT), o kterých je známo, že zásobují plastidy heterotrofních buněk substrátem pro celou řadu metabolismů včetně neolipogeneze (Kammerer a kol., 1998). Schéma lipidové cesty v Keymer a kol. (2017) začíná právě až neolipogenezí a zdroj uhlíku pro tento anabolismus není nikterak vyznačen. Jelikož ponížení exprese prověřovaného GPT silně koreluje s ponížením exprese PT4 během stínícího experimentu (Příloha, Fig 4), je jeho zapojení do symbiotického toku velmi pravděpodobné (Příloha, Fig 5). Otázkou zůstává, do jaké míry je tento mykorhizně specifický gen pro fungování AMS nezbytný, neboť jeho funkce může být velmi pravděpodobně nahrazena jinými geny pro GPT či jiné transportní

možnosti. Dobrým zdrojem takové informace by bylo využití mutant, tedy vyřazení tohoto genu v *Medicago truncatula* a prověření funkčnosti AMS v této mutantě obdobně, jako ke svým výsledkům došli Keymer a kol. (2017).

Citování publikace cizími autory

Od doby vydání Konečný a kol. (2019) po sepsání této rigorózní práce byl článek třikrát citován v cizích člancích a jedenkrát v knižní publikaci. Rád bych se v této kapitole věnoval relevanci, pro kterou je náš článek (Konečný a kol. 2019) citován. Přestože autoři publikace včetně nás vždy sledují nějaké cíle a k nim přinášejí nové poznatky, vedlejším produktem výzkumné činnosti jsou i odpovědi na otázky řekněme postranní, méně vyčnívající či tak nějak brané za samozřejmé. Při snaze dosvědčit nějaké své tvrzení však mohou chybět publikované důkazy. To je, předpokládám, důvod, proč byl Konečný a kol. (2019) citován, protože uhlíkovému toku se, bohužel, nevěnují ani jedni autoři.

Nizozemští autoři van't Padje a kol., (2020) citovali náš článek po necelém roce od vydání. Jejich článek patří k těm průkopnickým využívající fluorescentních nanočástic. Značením apatitových granulí sledují distribuci živin v experimentálním systému AMS. Expresí rostlinných genů se nezabývají, neboť sledují osud apatitu za využití mikroskopie, ale diskutují regulační mechanismy fosfátového toku. Naší práce tak využívají jakožto důkaz neustále nově se objevujících možností, jak je tato prastará a komplexní symbióza řízena: „Nícméně v současnosti se objevuje mnoho dalších (a komplementárních) kandidátních genů pro vnímání živin a regulaci (Konečný a kol., 2019), včetně těch zapojených do přenosu mastných kyselin (Keymer a kol., 2017).“ Silnější tvrzení by bylo odvážné, protože naše kandidátní geny pouze koreluje, ale dále jejich skutečné zapojení v AMS nedosvědčujeme.

Knihu „Udržitelná řešení pro nedostatek a nadbytek prvků v plodinách“ vydal Springer v roce 2020. Kapitulu „Biologické intervence směřující k řízení esenciálních prvků zemědělských plodin“ sepsali dva indičtí autoři: Dwaipayan Sinha a Pramod

Kumar Tandon. Jak název dává tušit, opět se autoři nevěnují uhlíkovému toku. V krátké podkapitole o mykorhize přikládají tabulku 9.6 se souhrnem transportérů zapojených do přenosu živin v mykorhizních rostlinách. U fosforu předkládají mykorhizně specifické fosfátové transportéry pro 5 druhů rostlin včetně *Medicago truncatula*, kde se jako reference objevuje právě náš článek. Osobně si myslím, že citace dosvědčující specifitu MtPT4 pro AMS lze nalézt vhodnější (Harrison a kol., 2002). Indičtí autoři tedy nejspíše oceňují nejnovější důkaz pro toto specifikum, které není pouze s vědeckou důvěrou opakováno, nýbrž i jaksi na novo dosvědčeno.

Zatímco jsem vyjadřoval pochyby nad výběrem indických autorů, nad touto citací jsem se pozastavil ještě více. Na první pohled totiž nemá článek „Nový vývoj v oblasti biologické dostupnosti a znovuzískávání fosforu z půdy a odpadních toků“ s naší prací nic společného. Je však pravda, že v rámci základních fyziologických parametrů, které jsme na rostlinách měřili, též prokazují navýšení fosforu v prýtu mykorhizních rostlin. Vučić a Müller (2020) využívají v kapitole „Dostupnost fosforu v půdě“ právě tohoto poznatku: „AMS mezi rostlinami a houbami je dalším mikrobiálně řízeným procesem, který zvyšuje dostupnost fosfátů (Konečný a kol., 2019).“ V našem experimentálním designu je houba přítomna ve stejném kompartmentu jako rostlina a její kořeny, navíc byly rostliny hnojeny zálivkou – lze tak předpokládat stejnou dostupnost fosfátů pro mykorhizní i nemykorhizní rostliny, čemuž odporuje navýšení fosfátů v mykorhizních prýtech (Příloha, S3 Table). Za možnost získat a zpracovat taková data vděčím především Laboratoři biologie hub, MBÚ AV ČR, a jejich know-how, jak pořádat kvalitní a důvěryhodné mykorhizní experimenty. Otázkou zůstává, zda se v našem případě skutečně jedná o zvýšení dostupnosti fosfátu ze substrátu.

Stahlhut a kol. (2021) je měsíc starou citací. Autoři z USA a Německa poprvé využili celogenomovou studii pro identifikaci genomových úseků asociovaných s AMS u druhu ze skupiny Asterid, slunečnicí roční (*Helianthus annuus*). Za pomoci analýzy jednonukleotidových polymorfismů ukazují důležitost nukleotid-difosfo-cukr transferázy v AMS. To je podporováno označením člena této proteinové rodiny za mykorhizně specifický a v AMS konzervovaný gen (Bravo a kol., 2016). Expresi genu ze stejné rodiny jsme prověřili i my a je jedním z těch, jejichž expresní profil silně koreluje s PT4 během stínění (NDPST – Příloha, Fig 4). Z dostupné anotace jsem predikoval funkci v glykosylaci komponent buněčné stěny, která ale v symbiotickém rozhraní nevzniká. Vliv těchto genů na složení sekundární buněčné stěny je však publikováno (Sakiroglu a kol., 2016). Nejistota ve funkci a produktu tohoto enzymu v AMS je patrná ve shrnujícím schématu (Příloha, Fig 5). Překvapivé je proto využití naší publikace: „Zatímco funkce tohoto genu nebyla charakterizována, tento gen může zastávat funkci v glykosylaci komponent buněčné membrány (Konečný a kol., 2019).“ Vzhledem k malému množství informace o nukleotid-difosfo-cukr transferázách zůstane jejich funkce v AMS nějakou tu dobu záhadou.

Závěr

V arbuskulárně mykorhizní symbióze předává rostlina houbě uhlíkaté látky výměnou za minerální živiny. Zatímco příjem fosfátu tzv. mykorhizní cestou je široce probádán a rostlina k tomu využívá mykorhizně specifický gen pro fosfátový transportér – v případě modelové rostliny *Medicago truncatula* je to PT4 – přenos uhlíku není dosud zcela objasněn.

Základní hypotézou uhlíkového toku je přenos sacharidů, což pramení zejména z objevu mykorhizně indukovaných sacharidových transportérů v počátku molekulárního výzkumu AMS (Harrison, 1996). S touto hypotézou jsem počítal i já při výběru kandidátních genů. Jelikož nebyl objeven žádný mykorhizně specifický sacharidový transportér, v experimentální práci byla AMS ovlivněna fyziologickým zásahem – 90% zastíněním. Měření hladiny transkriptů kandidátních genů po 3 a 7 dnech stínění odhalilo podobnou změnu exprese u některých z nich, jako u reportérového genu PT4. Jelikož uhlíkový a fosfátový tok je úzce propojen a regulován oběma symbionty (Konvalinková, 2017), považujeme korelaci exprese těchto genů a PT4 za projev jejich zapojení do uhlíkového toku a výsledky jsme publikovali v odborném časopise PLOS ONE (Konečný a kol., 2019).

Náš výzkum tímto bohužel skončil. Další důkazy o zapojení těchto genů v AMS tak čeká na další autory. Vhodné by bylo využít mutanty defektní v těchto genech a prozkoumat funkčnost AMS. Využití značení stabilními izotopy a analýzy metabolitů je také způsob, jak rozkrýt sacharidovou cestu. Takovou precizní práci spatřuji v Keymer a kol. (2017), kteří tak vydobyli místo pro uhlíkový tok prostřednictvím lipidů. U sacharidů může být takovéto prokazování z podstaty sacharidového metabolismu mnohem složitější.

Seznam použité literatury

Závěrečné práce

KONEČNÝ, Jan. *Jak funguje mykorhizní cesta příjmu fosforu?*. 2014. Bakalářská práce. Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, Katedra experimentální biologie rostlin. Vedoucí práce Jansa, Jan.

KONEČNÝ, Jan. *Cukerné hospodářství rostlin a arbuskulární mykorhizní symbióza*. 2017. Diplomová práce. Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, Katedra experimentální biologie rostlin. Vedoucí práce Jansa, Jan.

KONVALINKOVÁ, Tereza. Dynamics of carbon and phosphorus flows in arbuscular mycorrhizal symbiosis. Praha, 2017. Dizertační práce. Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, Katedra experimentální biologie rostlin. Vedoucí práce Jansa, Jan.

Odborné publikace

AN, Jianyong, Tian ZENG, Chuanya JI, et al. A Medicago truncatula SWEET transporter implicated in arbuscule maintenance during arbuscular mycorrhizal symbiosis. *New Phytologist* [online]. 2019, 224(1), 396-408 [cit. 2021-9-30]. ISSN 0028-646X. Dostupné z: doi:10.1111/nph.15975

ARGÜELLO, Alicia, Michael J. O'BRIEN, Marcel G.A. VAN DER HEIJDEN, Andres WIEMKEN, Bernhard SCHMID, Pascal A. NIKLAUS a Hafiz MAHERALI. Options of partners improve carbon for phosphorus trade in the arbuscular mycorrhizal mutualism. *Ecology Letters* [online]. 2016, 19(6), 648-656 [cit. 2021-9-30]. ISSN 1461023X. Dostupné z: doi:10.1111/ele.12601

BITTERLICH, Michael, Undine KRÜGEL, Katja BOLDT-BURISCH, Philipp FRANKEN a Christina KÜHN. Interaction of brassinosteroid functions and sucrose transporter SISUT2 regulate the formation of arbuscular mycorrhiza. *Plant Signaling & Behavior* [online]. 2014, 9(10) [cit. 2021-9-30]. ISSN 1559-2324. Dostupné z: doi:10.4161/15592316.2014.970426

BRAVO, Armando, Thomas YORK, Nathan PUMPLIN, Lukas A. MUELLER a Maria J. HARRISON. Genes conserved for arbuscular mycorrhizal symbiosis identified through phylogenomics. *Nature Plants* [online]. 2016, 2(2) [cit. 2021-9-30]. ISSN 2055-0278. Dostupné z: doi:10.1038/nplants.2015.208

DOIDY, Joan, Ugo VIDAL, Rémi LEMOINE a Janusz J. ZWIAZEK. Sugar transporters in Fabaceae, featuring SUT MST and SWEET families of the model plant Medicago truncatula and the agricultural crop Pisum sativum. *PLOS ONE* [online]. 2019, 14(9) [cit. 2021-9-30]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0223173

- GU, Mian, Aiqun CHEN, Shubin SUN a Guohua XU. Complex Regulation of Plant Phosphate Transporters and the Gap between Molecular Mechanisms and Practical Application: What Is Missing? *Molecular Plant* [online]. 2016, 9(3), 396-416 [cit. 2021-9-30]. ISSN 16742052. Dostupné z: doi:10.1016/j.molp.2015.12.012
- HAMMER, Edith C., Jan PALLON, Håkan WALLANDER a Pål Axel OLSSON. Tit for tat? A mycorrhizal fungus accumulates phosphorus under low plant carbon availability. *FEMS Microbiology Ecology* [online]. 2011, 76(2), 236-244 [cit. 2021-9-30]. ISSN 01686496. Dostupné z: doi:10.1111/j.1574-6941.2011.01043.x
- HARRISON, Maria J. A sugar transporter from *Medicago truncatula*: altered expression pattern in roots during vesicular-arbuscular (VA) mycorrhizal associations. *The Plant Journal* [online]. 1996, 9(4), 491-503 [cit. 2021-9-30]. ISSN 0960-7412. Dostupné z: doi:10.1046/j.1365-313X.1996.09040491.x
- HARRISON, Maria J., Gary R. DEWBRE a Jinyuan LIU. A Phosphate Transporter from *Medicago truncatula* Involved in the Acquisition of Phosphate Released by Arbuscular Mycorrhizal Fungi. *The Plant Cell* [online]. 2002, 14(10), 2413-2429 [cit. 2021-9-30]. ISSN 1040-4651. Dostupné z: doi:10.1105/tpc.004861
- HASAN, Md. Mahmudul, Md. Mainul HASAN, Jaime A. TEIXEIRA DA SILVA a Xuexian LI. Regulation of phosphorus uptake and utilization: transitioning from current knowledge to practical strategies. *Cellular & Molecular Biology Letters* [online]. 2016, 21(1) [cit. 2021-9-30]. ISSN 1425-8153. Dostupné z: doi:10.1186/s11658-016-0008-y
- JAVOT, HÉLÈNE, NATHAN PUMPLIN a MARIA J. HARRISON. Phosphate in the arbuscular mycorrhizal symbiosis: transport properties and regulatory roles. *Plant, Cell & Environment* [online]. 2007, 30(3), 310-322 [cit. 2021-9-30]. ISSN 01407791. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-3040.2006.01617.x
- KAMMERER, Birgit, Karsten FISCHER, Bettina HILPERT, Sabine SCHUBERT, Michael GUTENSOHN, Andreas WEBER a Ulf-Ingo FLÜGGE. Molecular Characterization of a Carbon Transporter in Plastids from Heterotrophic Tissues: The Glucose 6-Phosphate/Phosphate Antiporter. *The Plant Cell* [online]. 1998, 10(1), 105-117 [cit. 2021-9-30]. ISSN 1040-4651. Dostupné z: doi:10.1105/tpc.10.1.105
- KEYMER, Andreas, Priya PIMPRIKAR, Vera WEWER, et al. Lipid transfer from plants to arbuscular mycorrhiza fungi. *ELife* [online]. 2017, 6 [cit. 2021-9-30]. ISSN 2050-084X. Dostupné z: doi:10.7554/eLife.29107
- KIERS, E. T., M. DUHAMEL, Y. BEESETTY, et al. Reciprocal Rewards Stabilize Cooperation in the Mycorrhizal Symbiosis. *Science* [online]. 2011, 333(6044), 880-882 [cit. 2021-9-30]. ISSN 0036-8075. Dostupné z: doi:10.1126/science.1208473
- KOBAE, Yoshihiro a Shingo HATA. Dynamics of Periarbuscular Membranes Visualized with a Fluorescent Phosphate Transporter in Arbuscular Mycorrhizal Roots of Rice. *Plant*

and Cell Physiology [online]. 2010, 51(3), 341-353 [cit. 2021-9-30]. ISSN 1471-9053. Dostupné z: doi:10.1093/pcp/pcq013

KOIDE, Roger T. a Barbara MOSSE. A history of research on arbuscular mycorrhiza. *Mycorrhiza* [online]. 2004, 14(3), 145-163 [cit. 2021-9-30]. ISSN 0940-6360. Dostupné z: doi:10.1007/s00572-004-0307-4

KONVALINKOVÁ, Tereza, David PÜSCHEL, Martina JANOUŠKOVÁ, Milan GRYNDLER a Jan JANSÁ. Duration and intensity of shade differentially affects mycorrhizal growth- and phosphorus uptake responses of *Medicago truncatula*. *Frontiers in Plant Science* [online]. 2015, 6 [cit. 2021-9-30]. ISSN 1664-462X. Dostupné z: doi:10.3389/fpls.2015.00065

KONVALINKOVÁ, Tereza a Jan JANSÁ. Lights Off for Arbuscular Mycorrhiza: On Its Symbiotic Functioning under Light Deprivation. *Frontiers in Plant Science* [online]. 2016, 7 [cit. 2021-9-30]. ISSN 1664-462X. Dostupné z: doi:10.3389/fpls.2016.00782

MANCK-GÖTZENBERGER, Jasmin a Natalia REQUENA. Arbuscular mycorrhiza Symbiosis Induces a Major Transcriptional Reprogramming of the Potato SWEET Sugar Transporter Family. *Frontiers in Plant Science* [online]. 2016, 7 [cit. 2021-9-30]. ISSN 1664-462X. Dostupné z: doi:10.3389/fpls.2016.00487

MOHAMMADI-DEHCHESHMEH, Manijeh, Ali NIAZI, Mansour EBRAHIMI, Mohammadreza TAHSILI, Zahra NUROLLAH, Reyhaneh EBRAHIMI KHAKSEFID, Mahdi EBRAHIMI a Esmail EBRAHIMIE. Unified Transcriptomic Signature of Arbuscular Mycorrhiza Colonization in Roots of *Medicago truncatula* by Integration of Machine Learning, Promoter Analysis, and Direct Merging Meta-Analysis. *Frontiers in Plant Science* [online]. 2018, 9 [cit. 2021-9-30]. ISSN 1664-462X. Dostupné z: doi:10.3389/fpls.2018.01550

OHTOMO, Ryo a Masanori SAITO. Polyphosphate dynamics in mycorrhizal roots during colonization of an arbuscular mycorrhizal fungus. *New Phytologist* [online]. 2005, 167(2), 571-578 [cit. 2021-9-30]. ISSN 0028-646X. Dostupné z: doi:10.1111/j.1469-8137.2005.01425.x

PARNISKE, Martin. Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. *Nature Reviews Microbiology* [online]. 2008, 6(10), 763-775 [cit. 2021-9-30]. ISSN 1740-1526. Dostupné z: doi:10.1038/nrmicro1987

PUMPLIN, Nathan a Maria J. HARRISON. Live-Cell Imaging Reveals Periarbuscular Membrane Domains and Organelle Location in *Medicago truncatula* Roots during Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis. *Plant Physiology* [online]. 2009, 151(2), 809-819 [cit. 2021-9-30]. ISSN 1532-2548. Dostupné z: doi:10.1104/pp.109.141879

QIN, Zefeng, Hongyan ZHANG, Gu FENG, Peter CHRISTIE, Junling ZHANG, Xiaolin LI a Jingping GAI. Soil phosphorus availability modifies the relationship between AM

fungal diversity and mycorrhizal benefits to maize in an agricultural soil. *Soil Biology and Biochemistry* [online]. 2020, 144 [cit. 2021-9-30]. ISSN 00380717. Dostupné z: doi:10.1016/j.soilbio.2020.107790

RICH, Mélanie K., Eva NOURI, Pierre-Emmanuel COURTY a Didier REINHARDT. Diet of Arbuscular Mycorrhizal Fungi: Bread and Butter? *Trends in Plant Science* [online]. 2017, 22(8), 652-660 [cit. 2021-9-30]. ISSN 13601385. Dostupné z: doi:10.1016/j.tplants.2017.05.008

RILLIG, Matthias C., Carlos A. AGUILAR-TRIGUEROS, Tessa CAMENZIND, et al. Why farmers should manage the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *New Phytologist* [online]. 2019, 222(3), 1171-1175 [cit. 2021-9-30]. ISSN 0028-646X. Dostupné z: doi:10.1111/nph.15602

SAKIROGLU, Muhammet a E. Charles BRUMMER. Identification of loci controlling forage yield and nutritive value in diploid alfalfa using GBS-GWAS. *Theoretical and Applied Genetics* [online]. 2017, 130(2), 261-268 [cit. 2021-9-30]. ISSN 0040-5752. Dostupné z: doi:10.1007/s00122-016-2782-3

SAMEEULLAH, Muhammad, Tijen DEMIRAL, Noreen ASLAM, Faheem Shehzad BALOCH a Ekrem GUREL. In Silico Functional Analyses of SWEETs Reveal Cues for Their Role in AMF Symbiosis. HAKEEM, Khalid Rehman a Mohd Sayeed AKHTAR, ed. *Plant, Soil and Microbes* [online]. Cham: Springer International Publishing, 2016, 2016-06-22, s. 45-58 [cit. 2021-9-30]. ISBN 978-3-319-29572-5. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-319-29573-2_3

SCHOTT, Stephan, Braulio VALDEBENITO, Daniel BUSTOS, Judith L. GOMEZ-PORRAS, Tripti SHARMA a Ingo DREYER. Cooperation through Competition—Dynamics and Microeconomics of a Minimal Nutrient Trade System in Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis. *Frontiers in Plant Science* [online]. 2016, 7 [cit. 2021-9-30]. ISSN 1664-462X. Dostupné z: doi:10.3389/fpls.2016.00912

SINHA, Dwaipayan a Pramod Kumar TANDON. Biological Interventions Towards Management of Essential Elements in Crop Plants. MISHRA, Kumkum, Pramod Kumar TANDON a Sudhakar SRIVASTAVA, ed. *Sustainable Solutions for Elemental Deficiency and Excess in Crop Plants* [online]. Singapore: Springer Singapore, 2020, 2020-11-29, s. 209-258 [cit. 2021-9-30]. ISBN 978-981-15-8635-4. Dostupné z: doi:10.1007/978-981-15-8636-1_9

STAHLHUT, Katherine N., Jordan A. DOWELL, Andries A. TEMME, John M. BURKE, Eric W. GOOLSBY a Chase M. MASON. Genetic control of arbuscular mycorrhizal colonization by *Rhizophagus intraradices* in *Helianthus annuus* (L.). *Mycorrhiza* [online]. [cit. 2021-9-30]. ISSN 0940-6360. Dostupné z: doi:10.1007/s00572-021-01050-5

SKÁLOVÁ, Hana. Jak rostliny reagují na změny světelných podmínek ve svém okolí. *Časopis ŽIVA. Academia*, 2004, (6), 241-254. Dostupné také z:

<https://ziva.avcr.cz/files/ziva/pdf/jak-rostliny-reaguj-na-zmeny-svetelnych-podminek.pdf>

TAN, Zhijing, Yuanlei HU a Zhongping LIN. Expression of NtPT5 Is Correlated with the Degree of Colonization in Tobacco Roots Inoculated with *Glomus etunicatum*. *Plant Molecular Biology Reporter* [online]. 2012, 30(4), 885-893 [cit. 2021-9-30]. ISSN 0735-9640. Dostupné z: doi:10.1007/s11105-011-0402-6

VAN'T PADJE, Anouk, Loreto OYARTE GALVEZ, Malin KLEIN, Mark A. HINK, Marten POSTMA, Thomas SHIMIZU a E. Toby KIERS. Temporal tracking of quantum-dot apatite across in vitro mycorrhizal networks shows how host demand can influence fungal nutrient transfer strategies. *The ISME Journal* [online]. 2021, 15(2), 435-449 [cit. 2021-9-30]. ISSN 1751-7362. Dostupné z: doi:10.1038/s41396-020-00786-w

VUČIĆ, Vedran a Susann MÜLLER. New developments in biological phosphorus accessibility and recovery approaches from soil and waste streams. *Engineering in Life Sciences* [online]. 2021, 21(3-4), 77-86 [cit. 2021-9-30]. ISSN 1618-0240. Dostupné z: doi:10.1002/elsc.202000076

WALDER, Florian a Marcel G.A. VAN DER HEIJDEN. Regulation of resource exchange in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Nature Plants* [online]. 2015, 1(11) [cit. 2021-9-30]. ISSN 2055-0278. Dostupné z: doi:10.1038/nplants.2015.159

WHITESIDE, Matthew D., Gijsbert D.A. WERNER, Victor E.A. CALDAS, et al. Mycorrhizal Fungi Respond to Resource Inequality by Moving Phosphorus from Rich to Poor Patches across Networks. *Current Biology* [online]. 2019, 29(12), 2043-2050.e8 [cit. 2021-9-30]. ISSN 09609822. Dostupné z: doi:10.1016/j.cub.2019.04.061

Příloha – Konečný a kol., 2019

KONEČNÝ, Jan, Hana HRŠELOVÁ, Petra BUKOVSKÁ, Martina HUJSLOVÁ, Jan JANSA a Zhijing TAN. Correlative evidence for co-regulation of phosphorus and carbon exchanges with symbiotic fungus in the arbuscular mycorrhizal *Medicago truncatula*. *PLOS ONE* [online]. 2019, 14(11) [cit. 2021-9-30]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0224938