

**Univerzita Karlova**  
**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



**Johana Kaiserová**

Význam extracelulárních enzymů mykorrhizních hub v ekofyziologii hostitelských  
rostlin

The importance of extracellular enzymes of mycorrhizal fungi in the ecophysiology of  
host plants

Bakalářská práce

Vedoucí práce: Mgr. Petr Kohout, Ph.D.

Praha, 2022



## Poděkování

Tímto bych chtěla poděkovat svému školiteli Mgr. Petru Kohoutovi, Ph.D. za jeho vstřícný přístup a rady o světě hub i vědy. Dále doc. Mgr. Ondřeji Koukolovi, Ph.D. za jeho bakalářskou přednášku Mykologie, která jistě nenadchla pro tyto fascinující organismy pouze mě. A v neposlední řadě také všem, kteří byli ochotni vyslechnout si mé zapálené monology o mykorrhize, houbách a rostlinách. Děkuji Vám.

## Prohlášení

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

V Praze, 3.8.2022

Podpis:

## **Abstrakt**

Houby jsou organismy s významnou rolí v koloběhách pro život esenciálních prvků, C, N a P. Houby saprotrofní získávají dekompozicí organické hmoty, tedy pozůstatků rostlin i živočichů, kde se tyto prvky hromadí, energii. Patří mezi hrstku organismů, které ji umí zcela rozložit. Činí tak prostřednictvím extracelulárních enzymů, které sekretují do substrátu. Tím často bývá rostlinný materiál, složený z velké části z lignocelulózy, již rozkládají enzymy s karbohydrátovou aktivitou, ve zkratce nazývané CAZymy. Právě ty zajišťují, že se jinak imobilizované prvky dostanou do dalšího kroku svého cyklu. Tím může být v případě N a P i přijetí kořeny rostlin. Více než 90 % vyšších rostlin v tomto pomáhají mykorhizní houby, s nimiž tvoří význačný mutualistický vztah. Jelikož tyto houby získávají energii od rostlin v podobě jednoduchých cukrů, CAZymy během vývoje této strategie ztratily. V poslední době však především díky genomovým analýzám vychází najevo, že mykorhizní houby určitý, byť snížený, počet CAZymů stále vlastní. Jejich počet a typ se liší mezi mykorhizami arbuskulární, erikoidní a ektomykorhizou, adaptovanými na odlišná prostředí. Mají tedy potenciál atakovat organickou hmotu, a tím ovlivňovat cykly biogenních prvků, své hostitelské rostliny a v neposlední řadě i klima. V současné době je v plném proudu výzkum podoby a velikosti tohoto potenciálu a pomalu tak vychází na povrch procesy dosud skryté pod zemí.

## **Klíčová slova**

mykorhizní symbióza, extracelulární enzymy, CAZymy, dekompozice, půdní organická hmota, gildy hub

## **Abstract**

Fungi have a crucial role in the cycles of elements essential to life, C, N and P. Saprotrophic fungi gain energy by decomposing organic matter, consisting of remains of plants and animals, which is a massive pool of these elements. They are one of few life forms that can do so effectively. Plant material, which is made up of lignocellulose, is decomposed by extracellular carbohydrate-active enzymes, CAZymes for short. They ensure that the elements, otherwise immobilised, are sent into the next step of their cycles. This step can be, at least for N and P, uptake by plant roots. More than 90% of higher plants employ mycorrhizal fungi to help them with this, constituting a distinctive mutualistic relationship. Since mycorrhizal fungi gain energy from their plant partners, they no longer need CAZymes, which they lost in the process of evolution of their strategy. However, mainly due to genome analyses, it has lately been noted that many of them have retained at least some amount of CAZymes. The number and type differ for arbuscular, ericoid and ectomycorrhiza, which are each adapted for different environments. That means that mycorrhizal fungi have potential to attack soil organic matter and therefore impact the cycles of biogenic elements, their host plants, and the climate. As of today, much research is being made to uncover the likes of this potential, and let the processes hidden underground come to light.

## **Key words**

mycorrhizal symbiosis, extracellular enzymes, CAZymes, decomposition, soil organic matter, fungal guilds

## Obsah

Seznam použitých zkratk	7
1. Úvod	8
2. Degradativní extracelulární enzymy s karbohydrátovou aktivitou u hub	9
2.1. Glykosid hydrolázy	11
2.1.1. Celulázy	11
2.1.2. Hemicelulázy	12
2.2. Enzymy doplňkových aktivit	13
2.2.1. Lytické polysacharid-monooxygenázy	13
2.2.2. Degradace ligninu	15
2.2.2.1. Peroxidázy	15
2.2.2.2. Lakázy	16
3. Enzymatická výbava jednotlivých houbových gild	16
3.1. Saprotrofní houby	17
3.1.1. Houby bílé hniloby	17
3.1.2. Houby hnědé hniloby	17
3.2. Mykorhizní houby	18
3.2.1. Arbuskulárně-mykorhizní houby	18
3.2.2. Ektomykorhizní houby	19
3.2.3. Erikoidně-mykorhizní houby	23
4. Vliv enzymatických schopností mykorhizních hub na hostitelské rostliny a jejich prostředí	25
4.1. Cyklus C	25
4.1.1. Efekt Gadgilových	26
4.1.2. Efekt zvýšení rostlinné produkce	27
4.2. Vliv na distribuci mykorhizních rostlin	28
5. Závěr	30
Seznam použité literatury	32

## Seznam použitých zkratek

- ARM – arbuskulární mykorhiza  
BGL –  $\beta$ -glukosidáza  
CAZym – enzym s karbohydrátovou aktivitou  
CVD – celulózo-vazebná doména  
CBH – exo-1,4- $\beta$ -glukan cellobiohydroláza  
CDH – dehydrogenáza celobiózy  
ECM – ektomykorhiza  
EG – endo-1,4- $\beta$ -glukanáza  
ERM – erikoidní mykorhiza  
GH – glykosid hydroláza  
LiP – lignin peroxidáza  
LPMO – lytická polysacharid-monooxygenáza  
MnP – manganová peroxidáza  
POH – půdní organická hmota  
VP – versatilní peroxidáza

## 1. Úvod

Houby se řadí ke skupinám s největší zásluhou na rozkladu půdní organické hmoty v terestrických ekosystémech (Ehrlich, 2006). Tato schopnost má obrovský globální význam. Makrobiogenní prvky, jakožto základní stavební kameny těl všech organismů, je po odumření třeba poslat do dalšího kroku jejich globálních cyklů. Tento krok koloběhu živin zprostředkovávají saprotrofové, kteří svými detritovorními schopnostmi zajišťují, že odumřením organismu cesta molekul a atomů, ze kterých se skládá, nekončí.

Pro saprotrofní houby je schopnost rozkládat organickou hmotu hlavním způsobem, jakým získávají živiny potřebné k základnímu buněčnému metabolismu a růstu. V rámci ekosystémů se odumřelá organická hmota typicky vyskytuje ve formě rostlinných či živočišných zbytků nebo v interakci s půdními minerály ve formě půdní organické hmoty (POH). POH bývá vlivem složení svých hlavních komponent, kterými jsou pozůstatky rostlin, zvířat i hub, značně chemicky odolná (Six *et al.*, 2002), a tak pro její efektivní zpracování musí být rozkladači vybaveni specializovanými mechanismy. Výkonnými jednotkami rozkladu živin integrovaných do větších organických komplexů na jednodušší molekuly jsou enzymy. Tyto biokatalyzátory umožňují proběhnutí daných reakcí rychle, specificky a bez potřeby extrémních teplot či tlaků (Voet & Voet, 2011). Houby jsou jako jedny z mála organismů obdařeny extracelulárními enzymy schopnými vyvazování uhlíku z tak komplexních organických polymerů, jako jsou celulóza či lignin. V prvotní degradaci těchto sloučenin hrají tu vůbec nejdůležitější roli (Ehrlich, 2006, Damon *et al.*, 2012). To je nesmírně důležité pro globální cyklus uhlíku, vždyť právě tyto komponenty rostlinných buněčných stěn jsou nejhojnějšími polymery naší planety.

V průběhu evoluce kromě rozkladu odumřelých částí organismů objevily i další cesty, jak získat organický uhlík. Jednou z nejrozšířenějších strategií je mykorhizní symbióza. Mykorhizní houby žijí v symbiotickém vztahu s kořeny většiny vyšších rostlin; udává se, že jen 8 % druhů rostlin je kompletně nemykorhizních (Brundrett & Tedersoo, 2018). Uhlíkaté látky nezískávají jako saprotrofové primárně rozkladem organické hmoty, nýbrž naasimilované od svých autotrofních partnerů ve formě sacharidů či lipidů, za což jim houby na oplátku poskytují minerální živiny, vodu a ochranu před patogeny a stresem (Smith & Read, 2008). Přizpůsobení se symbiotickému životnímu stylu vedlo u mykorhizních hub ke ztrátě značné části



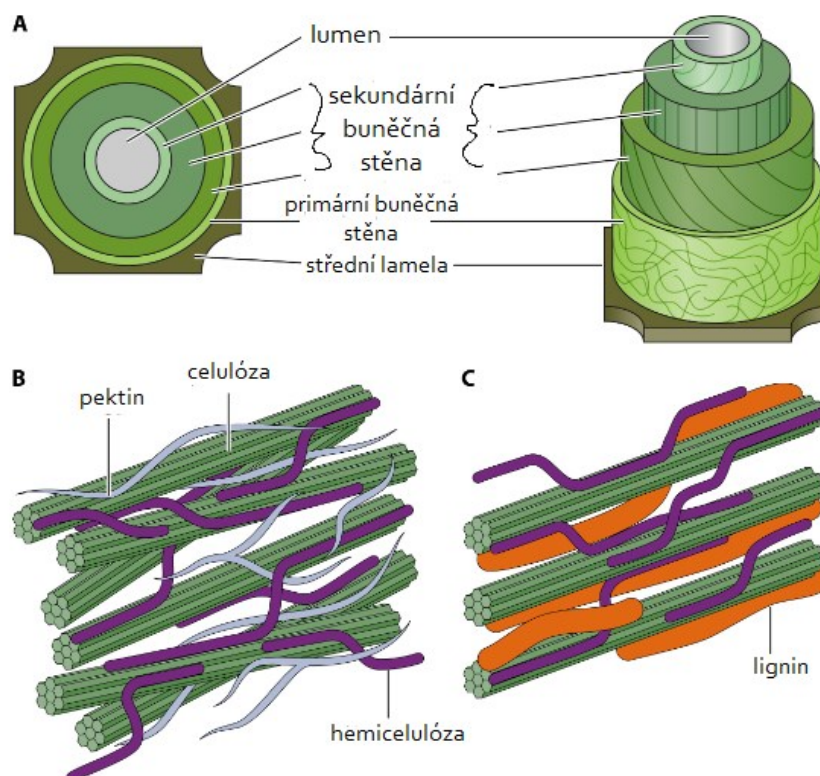
enzymů zodpovědných za saprotrofní aktivity (Kohler *et al.*, 2015). Vychází však najevo, že alespoň některé z nich si celulytickou či lignolytickou aktivitu zachovaly. Z tohoto faktu vyvstává mnoho dalších otázek. K čemu jsou mykorrhizním houbám tyto degradativní enzymy? Které z nich a v jakých množstvích exprimují? Co to znamená pro jejich hostitelské rostliny? Přináší jim výhodu, pokud jejich symbiotický partner těmito enzymy disponuje? Odráží se to nějak v jejich distribuci napříč ekosystémy?

Tato práce je shrnutím dosavadních poznatků o tématu celulytických a lignolytických schopností mykorrhizních hub, které je v odborné literatuře aktuálně hojně diskutováno. Je zde představena diverzita houbových extracelulárních enzymů s karbohydrátovou aktivitou, se zaměřením na enzymy používané pro rozklad celulózy, hemicelulóz a ligninu. Tato škála enzymů je následně uvedena do kontextu jednotlivých houbových ekologických skupin či potravních gild, hub saprotrofních dřevokazných, tradičně rozdělovaných na houby bílé a hnědé hniloby, a dále hub mykorrhizních, s podtypy ektomykorrhizní, arbuskulární a erikoidní mykorrhizy. V neposlední řadě je zde představeno několik hypotéz a příkladů působení enzymatických vlastností mykorrhizních hub na ekofyziologii a distribuci hostitelských rostlin a na koloběh uhlíku v půdním prostředí.

## **2. Degradativní extracelulární enzymy s karbohydrátovou aktivitou u hub**

Některé komplexnější sloučeniny jsou příliš rozměrné na to, aby mohly být pro zpracování dopraveny běžnými mechanismy dovnitř buňky. Aby mohly být buňce zpřístupněny živiny, které tyto polymery obsahují, musí být nejprve rozštěpeny na menší molekuly vně buňky. O tuto prvotní degradaci se stará široká skupina extracelulárních enzymů. Vlákňité houby jsou heterotrofní organismy prorůstající hyfami substrát, přičemž jsou obdařeny výjimečnou schopností sekretovat do něj značné množství extracelulárních enzymů u ostatních eukaryot nevídané diverzity. Houby tedy tráví nejen extracelulárně, ale vlastně i extraorganismálně, a jejich mycelia

tím pádem představují, dá se nadneseně říci, „střeva naruby“ (Read, 2011). Substrátem, z něhož tímto způsobem získávají velmi účinně živiny, je většinou rostlinný materiál s výrazným podílem lignocelulózy. Do výroby tohoto komponentu buněčné stěny totiž rostliny investují až polovinu jimi fixovaného uhlíku (Sánchez, 2008). Lignocelulózu tvoří zejména polysacharidy celulóza, hemicelulózy a heteropolymer lignin, poskládaný z nepravidelně pospojovaných fenolických podjednotek (Chen, 2014). Jejich vzájemné postavení vidíme na Obrázku 1.



Obrázek 1: Zjednodušená struktura rostlinné buněčné stěny (A), a vzájemné polohy polymerů primární (B) a sekundární (C) buněčné stěny, převzato a upraveno dle Rytioja *et al.*, 2014.

Enzymy, které degradují, syntetizují či modifikují komplexní uhlovodíky, bývají sdružovány pod názvem CAZy (Carbohydrate-Active enZymes). Spolehlivou a stále aktualizovanou databází těchto enzymů je CAZy.org. Enzymy jsou zde klasifikovány do tříd dle podobnosti jejich aminokyselinové sekvence (Drula *et al.*, 2022). Extracelulární enzymy, které houby používají pro degradaci lignocelulózy, náleží v této databázi zejména do třídy glykosid hydroláz a pak také do třídy nazvané „auxiliary activities“, tedy enzymů doplňkových aktivit (Andlar *et al.*, 2018).

## 2.1. Glykosid hydrolázy

Soubor extracelulárních hydrolytických enzymů houbám slouží k degradaci polysacharidové části buněčných stěn, tedy zejména k rozkladu celulózy a hemicelulóz (Sánchez, 2008).

### 2.1.1. Celulózy

Celulóza je lineární polysacharid tvořený D-glukózami propojenými  $\beta$ -1,4-glykosidovou vazbou. V buněčné stěně lze odlišit oblasti pravidelně uspořádaných a vodíkovými můstky provázaných vláken krystalické celulózy, a následně oblasti amorfní, které jsou vlivem menší provázanosti lépe dostupné právě hydrolytickým enzymům. Základní jednotkou je celobióza, sestávající z dvou D-glukóz, které jsou v krystalické oblasti proti sobě natočeny o  $180^\circ$  (Chen, 2014). Houby pro degradaci celulózy často využívají extracelulární sadu sestávající z endo- a exo-1,4- $\beta$ -glukanáz štěpících celobiohydroláz a  $\beta$ -glukosidáz (Baldrian & Valášková, 2008). Ty na štěpení tak odolného substrátu nepracují každá samostatně, nýbrž často koordinují exo- a endoglukanázy do synergistických dějů (Lynd *et al.*, 2002).

Endo-1,4- $\beta$ -glukanázy (EG) jsou monomerní enzymy štěpící vlákno celulózy na náhodných místech, čímž produkují různě dlouhé oligosacharidy s redukujícím a neredukujícím koncem (Lynd *et al.*, 2002). Je poměrně běžné, že jeden druh houby syntetizuje vícero typů EG, například stopkovýtrusná houba bílé hniloby *Phanerochaete chrysosporium* využívá EG38<sup>1</sup> a EG44, které obsahují celulózo-vazebnou doménu (Uzcategui *et al.*, 1991a), a EG28, která tuto doménu neobsahuje, je tedy menší a snadněji pronikne do míst, kam se jiné EG nevejdou. Patrně zajišťuje bobtnání, a tedy zvětšování přístupného povrchu celulózy. Endoglukanáza totiž dokáže štěpit téměř výhradně v oblastech amorfní celulózy. Vřeckovýtrusná *Trichoderma reesei* syntetizuje funkčně podobné EG; její EG I a EG II funkčně odpovídají EG38 a EG44. EG III u *Trichoderma* stejně jako EG28 u *P. chrysosporium* chybí celulózo-vazebná doména (CVD) (Henriksson *et al.*, 1999) a geny pro ně jsou dokonce homologní, přičemž dotyčné druhy patří každý do jiného kmene Dikaryí (Lynd *et al.*, 2002), které se od sebe oddělily již před 635 miliony let (Kohler *et al.*, 2015). Oproti *P. chrysosporium* má tato vřeckovýtrusná houba navíc ještě dvě další EG, označované jako EG IV a EG V (Karlsson *et al.*, 2001).

---

<sup>1</sup> Číslo v názvu značí molekulární hmotnost v kDa.

Exo-1,4- $\beta$ -glukan celobiohydrolázy (CBH) jsou monomerické exoglukanázy. Z konce narušeného vlákna celulózy, na které se všechny vážou prostřednictvím CVD, odštěpují celobiózu. Pokud se CVD nachází na C-konci proteinu, štěpí od redukujícího konce vlákna, a pokud na N-konci, štěpí od konce neredukujícího. U *P. chrysosporium* byly zaznamenány tři CBH. CBH58 a CBH62 se vážou na redukující konec a CBH50 na konec neredukující (Uzcategui *et al.*, 1991b, Baldrian & Valášková, 2008). U CBH *T. reesei* opět nacházíme funkční podobnosti, její CBH I štěpí vlákno od redukujícího, a CBH II od neredukujícího konce (Henriksson *et al.*, 1999). Geny pro ně jsou rovněž homologní ke genům mechanismem odpovídajícím CBH58 a CBH50 (Uzcategui *et al.*, 1991b). Je patrné, že tyto dva typy CBH musí být pro efektivní zpracování celulózy přítomny oba, a štěpit ji každý od svého konce ve vzájemném exo-exo synergismu (Fägerstam & Pettersson, 1980, Lynd *et al.*, 2002). Synergismus se v houbovém celulolytickém aparátu vyskytuje i v endo-exo podobě. Vlákno celulózy narušeno v amorfní oblasti díky konání EG může být nadále štěpeno i v oblasti krystalické, do které se postupným odštipováním celobiáz dostanou právě CBH (Henrissat *et al.*, 1985).

$\beta$ -glukosidázy (BGL) štěpí zejména celobiózu za vzniku dvou glukóz. Tento enzym umí syntetizovat kromě hub a celulolytických bakterií, jako tomu bylo u enzymů předchozích, řada dalších mikroorganismů a je tedy co do velikosti velmi variabilní. Navíc kromě zde popsaných extracelulárních existují i jeho vnitrobuněčné, či s buněčnou stěnou asociované varianty, kterých je vně buňky většina, a to patrně za účelem zabránění difuze glukózy do okolí (Lynd *et al.*, 2002). Tato variabilita je patrná i v rámci jednotlivých druhů; u *P. chrysosporium* bylo zaznamenáno přes 10 různě velkých (45-410 kDa) a situovaných BGL. Jsou inhibované glukózou a některé z nich obsahují i CVD (Baldrian & Valášková, 2008). U *T. reesei* byly popsány pouze dvě extracelulární BGL, menší zásaditá BG I (71 kDa, pI = 8,7) a větší kyselá BG II (114 kDa, pI = 4,8), přičemž obě jsou inhibovány glukózou (Chen *et al.*, 1992). Endo-1,4- $\beta$ -glukanáza a CBH jsou inhibovány celobiózou, z čehož plyne důležitost BGL, pro niž je právě celobióza substrátem, v regulaci celkové rychlosti rozkladu celulózy (Howell & Stuck, 1975).

### 2.1.2. Hemicelulózy

Hemicelulózy jsou na rozdíl od celulózy tvořeny různými typy glukanových podjednotek v různých poměrech, provázaných  $\beta$ -1,4 či  $\beta$ -1,3 vazbami do vlákna s postranními řetězci. Na rozštěpení vazeb mezi heterogenními podjednotkami, mezi

které patří D-xylóza, D-manóza, D-glukóza, D-galaktóza, L-arabinóza a D-kyseliny glukuronová, 4-O-metyl-glukuronová a galakturonová, je tedy třeba synergie řady rozličných hydrolytických enzymů (Sánchez, 2008). O hemicelulázách je v odborné literatuře pojednáváno podstatně méně než o celulázách, a proto zde budou představeny stručněji.

Xylany, hemicelulózy s páteří z xylóz, štěpí na xylo-oligosacharidy v náhodných místech řetězce endo-1,4- $\beta$ -xylanáza, jejíž činnost dokončí rozdělením na jednotlivé xylózy exo-1,4- $\beta$ -xylosidáza. Stejně koncovky značí obdobnou funkci enzymů zaměřených na manózy, endo-1,4- $\beta$ -manáza produkuje oligosacharidy a exo-1,4-manosidáza zase monomery tohoto sacharidu. I zde se uplatňují  $\beta$ -glukosidázy, a to zejména na rozštěpení vazby mezi glukózou a manózou (Sánchez, 2008). Jednotlivé druhy hub opět exprimují vícero variant těchto enzymů, ty se mezi sebou liší například v afinitě k různým četnostem větvení hemicelulózového vlákna (Jeffries, 1994).

Dále mají houby ve svém hemicelulolytickém arzenálu rozličné pomocné enzymy, mezi něž se řadí i některé esterázy, ovšem ze zde diskutovaných hydroláz disponují například  $\alpha$ -glukuronidázou,  $\alpha$ -galaktosidázou či  $\alpha$ -L-arabinofuranosidázou pro případ napojení postranních řetězců na hlavní prostřednictvím  $\alpha$ -1,2- nebo  $\alpha$ -1,3-glykosidické vazby (Andlar *et al.*, 2018).

## 2.2. Enzymy doplňkových aktivit

Enzymy doplňkových aktivit (auxiliary activities) ve své různorodé skupině sdružují redoxní enzymy, které napomáhají CAZymům z ostatních tříd v jejich funkci, a to při degradaci komplexních substrátů, zejména ligninu (Levasseur *et al.*, 2013). Jejich synergie s hydrolázami spočívá taktéž v tom, že jim přes odolný lignin či krystalické úseky celulózy proklesávají cestu k jejich substrátu (Andlar *et al.*, 2018).

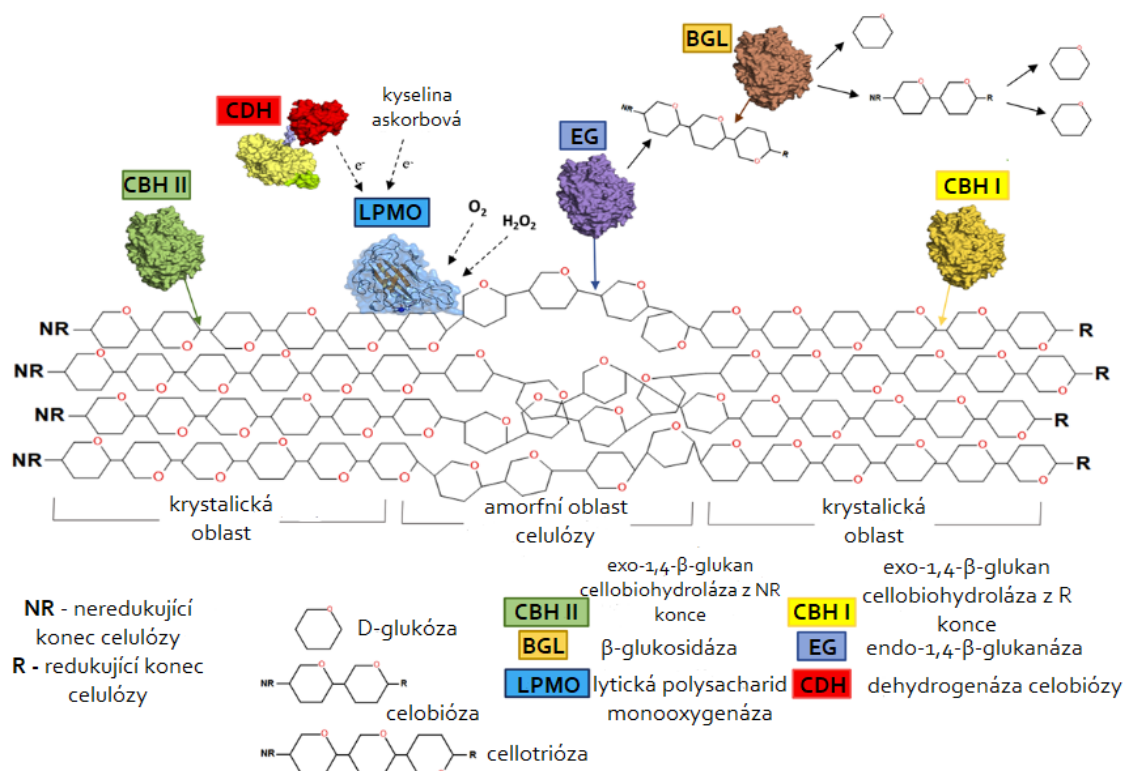
### 2.2.1. Lytické polysacharid-monooxygenázy

O funkci houbových lytických polysacharid-monooxygenáz (LPMO) se ví teprve od roku 2010, a od té doby se intenzivně pracuje na odkrývání jejich role v aparátu pro rozklad polysacharidů. Vaaje-Kolstad se spolupracovníky roku 2010 zjistili, že enzym dosud řazený do rodiny glykosid-hydroláz GH61 štěpí chitin na oligosacharidy, jejichž cukr je na nově vzniklém redukujícím konci oxidovaný. To znamená, že ač jsou LPMO svým plochým povrchem, přiléhajícím těsně na substrát (Karkehabadi *et al.*, 2008)<sup>2</sup>, podobné hydrolytickému mechanismu (hydrolytické enzymy vážou jednotlivé řetězce

---

<sup>2</sup> Ve svém výzkumu popsali strukturu, ale ještě jim byla neznámá funkce.

v tunelech či kapsách), využívají pro svou funkci oxidativní cestu. Ze studie Vaaje-Kolstada a kolektivu (2010) dále vyplývá, že stejný účinek bude enzym mít na celulózu, což se potvrdilo. Quinlan a spolupracovníci roku 2011 dodali, že je k jeho funkci potřeba mědnatý iont a donor elektronů, například kyselina askorbová či gallová. Elektrony ale mohou být dodávány i činností dalšího enzymu, dehydrogenázy celobiózy (CDH), která je získává oxidací disacharidu obsaženém ve svém názvu. Delecí genu pro CDH se výrazně snížila úroveň činnosti celuláz, které na oplátku závisí právě na LPMO (Phillips *et al.*, 2011). Objev LPMO poupravil dosavadní pohled na paradigma rozkladu celulózy; k doposud známé endo-exo a exo-exo synergii hydroláz dodal chybějící první krok, a to sice odpověď na problematiku rozpojení krystalických oblastí celulózy, na které LPMO nasedá, oxiduje je, a tak připraví pro činnost hydroláz, jejichž účinnost je tím pádem zvýšena (Horn *et al.*, 2012). Tuto kompletní představu synergie ukazuje Obrázek 2. Variabilita mezi jednotlivými členy této skupiny, dnes řazené mezi enzymy doplňkových aktivit, je značná, a jednotlivé druhy hub mají k dispozici větší množství těchto variant, kódovaných až ve 40 různých genech (Andlar *et al.*, 2018).



Obrázek 2: Schéma enzymatické degradace vláken celulózy synergistickou činností celuláz a enzymů doplňkových aktivit, převzato a upraveno dle Andlar *et al.*, 2018.

### 2.2.2. Degradace ligninu

Lignin je heterogenní polymer sestavený z 3 typů fenyylpropanových podjednotek, derivátů *p*-kumarylalkoholu, koniferylalkoholu a sinapylalkoholu. Jeho heterogenita, která je spolu s obsahem fenolů důvodem jeho obtížné rozložitelnosti, pramení z nepravidelnosti vazeb mezi monomery vzájemně, a rovněž mezi ligninem a ostatními komponenty rostlinné buněčné stěny. Tyto éterové nebo uhlík-uhlík vazby vznikají oxidativní radikálovou polymerizací vlivem rezonance na různých atomech, ovšem na některých s vyšší pravděpodobností (Dimmel, 2016). I při jeho rozkladu je využita neřízená síla kyslíkových radikálů, jde tedy o oxidativní proces. Úplnou degradaci ligninu i jeho podjednotek zajišťují peroxidázy, lakázy dokáží odštěpovat pouze celistvé ligninové podjednotky (Wong, 2008).

#### 2.2.2.1. Peroxidázy

Lignin peroxidáza (LiP) byla poprvé izolována z *Phanerochaete chrysosporium* Tienem a Kirkem (1983), kteří ji popsali jako extracelulární ligninázu o 42 kDa, vyžadující k oxidaci fenolických i jiných substrátů peroxid vodíku. Od té doby bylo objeveno vícero izoenzymů u *P. chrysosporium* i u jiných hub, ve velikostním rozpětí 38-46 kDa, a popsán reakční mechanismus, který spočívá v oxidaci nejprve hemového železa pomocí peroxidu vodíku, a posléze fenolů, které jsou tímto přeměněny na kyslíkové radikály (Wong, 2008). Je poměrně nespecifická, kromě fenolických složek ligninu zvládá rozkládat i některé nefenolické, a to skrz jejich přeměnu na kationtové radikály odejmutím jednoho elektronu (Kersten *et al.*, 1985).

Pro první izolaci manganové peroxidázy (MnP) byl pionýrským organismem také *P. chrysosporium*, a to ve studiích Glenna a Golda a rovněž Paszczyńského s kolektivem (vyšly téměř zároveň roku 1985). Popsána zde byla jako peroxidáza s aktivitou závislou na přítomnosti Mn<sup>II</sup> iontu, který je enzymem oxidován na Mn<sup>III</sup>. Trojmocný iont se následně od enzymu oddělí a je ihned stabilizován chelatačními činidly ve formě organických kyselin, které produkuje a do svého okolí vypouští sama houba. Tato sloučenina difunduje k substrátu, který jedním elektronem zoxiduje (Glenn *et al.*, 1986). Kromě fenolických dokáže rovněž rozkládat i nefenolické substráty, ovšem na rozdíl od LiP tak činí na základě odejmutí celého vodíku, k čemuž většinou potřebuje ještě radikálový mediátor, který může Mn<sup>III</sup> vytvořit například z nenasycené mastné kyseliny (Reddy *et al.*, 2003).

Versatilní peroxidáza (VP) je enzym, který nenajdeme u *P. chrysosporium*, nýbrž u jiných hub bílé hniloby, jako jsou rody *Bjerkandera* a *Pleurotus*. Ve své struktuře obsahuje vazebné místo pro manganatý iont, který také umí oxidovat, ale fungovat dokáže i bez něj, a pak je reakčním mechanismem bližší spíše LiP. Jedná se tedy patrně o hybrid těchto dvou enzymů (Mester & Field, 1998, Wong, 2008).

#### 2.2.2.2. Lakázy

Lakáza, objevená již roku 1883 ve škumpě lakodárné (*Toxicodendron vernicifluum*), podle níž se také nazývá, se řadí mezi vůbec první popsané enzymy. Kromě hub se vyskytuje právě i u některých rostlin a také bakterií (Yoshida, 1883, Wong, 2008). Patří mezi takzvané modré oxidázy využívající měď, ve své struktuře váže zpravidla čtyři ionty tohoto kovu. Spřahuje totiž jednoelektronovou oxidaci daného substrátu s redukcí molekulárního kyslíku na vodu, k čemuž je potřeba čtyř elektronů (Thurston, 1994). Lakáza rozkládá lignin oxidací jeho fenolických, a za přítomnosti mediátoru i častějších nefenolických podjednotek (Bourbonnais & Paice, 1990). Kromě depolymerizace se ale účastní i opačného procesu, polymerizuje lignin a jiné makromolekuly, a to za účelem detoxifikace. Některé meziproducty rozkladu ligninu či fenolické polutanty totiž mohou jako monomery inhibovat růst hub, a je tedy třeba je vazbou inaktivovat (Bollag *et al.*, 1988, Wong, 2008).

### 3. Enzymatická výbava jednotlivých houbových gild

Pojem gilda v ekologii označuje skupinu organismů, které využívají podobné zdroje podobným způsobem. Houby můžeme v tomto ohledu v širším smyslu dělit na saprotrofy, symbionty a patogeny, přičemž tyto skupiny obsahují podkategorie, blíže specifikující jimi využívané zdroje. V této bakalářské práci bude pojednáváno o gildách hub saprotrofních, se zvláštním přihlédnutím na rozkladače dřeva, a jednotlivých typech hub mykorhizních, spadajících do skupiny symbiontů. Je nasnadě, že pokud je pojitkem gild právě způsob získávání živin, budou tyto skupiny disponovat podobným arzenálem extracelulárních enzymů, které houbám umožňují dané živiny zpřístupnit. Pro předpovězení míry a typu enzymatického působení houbových druhů v biogeochemii půd a opadu je právě příslušnost k dané gildě tím nejspolehlivějším ukazatelem. Předčí další dva význačné faktory, a to evoluční historii druhu a počet kopií genů pro degradativní enzymy (Talbot *et al.*, 2015).



### 3.1. Saprotrófní houby

Pro saprotrofy je primárním zdrojem uhlíkatých látek odumřelá organická hmota, kterou účinně rozkládají. Svou hydrolytickou a oxidativní aktivitou hrají důležitou roli v biologii půd (Damon *et al.*, 2012) a obecně v cyklu uhlíku, který je ve velkém množství uložen v rostlinné biomase v podobě lignocelulózy. Saprotrófní houby jsou vůbec nejúčinnějšími rozkladači těchto biopolymerů. V lesních ekosystémech tvoří největší část biomasy, a tedy nejvýznamnější zásobárnu uhlíku, dřevo (Worrall *et al.*, 1997). Tím se živí celá řada dřevokazných hub, nejvíce z nich náleží do třídy *Agaricomycota* (Krah *et al.*, 2018). Na zpřístupnění živin z tohoto špatně rozložitelného materiálu s vysokým obsahem ligninu jsou vybaveny rozličnými CAZymy. Tradičně se podle mechanismu, kterým dřevo rozkládají, dělí na houby bílé a hnědé hniloby.

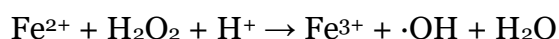
#### 3.1.1. Houby bílé hniloby

Houby bílé hniloby dokáží rozložit všechny složky rostlinných buněčných stěn. Jsou specialisté na dekompozici ligninu, jako jediné organismy jsou schopny jeho účinného rozkladu až na CO<sub>2</sub> (Worrall *et al.*, 1997, Floudas *et al.*, 2012). K dispozici pro to mají na jeden genom v průměru 14 genů pro peroxidázy, zahrnující LiP, MnP i VP. Nejvíce ze všech gild mají i glykosyl hydroláz a LPMO. Tato dosti extrémní potravní strategie přitom není ze zde diskutovaných gild odvozená, ale je právě naopak tou původní. Posledním společným předkem třídy *Agaricomycota*, která vznikla před cca 290 miliony let, byl právě zástupce hub bílé hniloby. To určuje startovní čáru, ze které se na nově vznikající potravní strategie v této třídě přestupovalo už jen snížením počtu CAZymů (Floudas *et al.*, 2012).

#### 3.1.2. Houby hnědé hniloby

Houby hnědé hniloby rozkládají ve dřevě pro akvizici uhlíku celulózu a hemicelulózu, zatímco lignin modifikují, ale nerozkládají (Worrall *et al.*, 1997). Tato strategie vzešla z hub bílé hniloby a její nejméně čtyři původy konvergentně doprovázely výrazné ztráty a modifikace v genech pro enzymatický rozklad lignocelulózy, v průměru jich na genom mají 46 oproti 87 u hub bílé hniloby (Floudas *et al.*, 2012). Ztratily je nejspíše jako odpověď na nově vznikající niku energeticky výhodněji rozložitelného dřeva krytosemenných rostlin (Krah *et al.*, 2018). Houbám hnědé hniloby chybí peroxidázy. Některým rodinám glykosyl hydroláz po přestupu na tuto strategii počty vzrostly, jako je tomu například u EG rodiny GH5, zatímco jiným, jako jsou EG a CBH z rodiny GH7, poklesly. Ztraceno bylo i množství LPMO (Eastwood *et al.*, 2011). Právě CBH a LPMO

jsou důležité pro rozklad krystalických oblastí celulózy (Baldrian & Valášková, 2008). Enzymů pro oxidativní dekompozici ligninu se vzdaly nejspíše z důvodu jejich vysokých energetických nároků (Eastwood *et al.*, 2011). Ty se nevyplatí pro získání C pokrývat, pokud dekompozitor nemá jiný spolehlivý přísun tohoto prvku, a proto se rozklad ligninu řadí mezi kometabolické procesy (Kirk *et al.*, 1976). Místo peroxidáz dřeva atakují nejprve neenzymatickým oxidativním mechanismem, při kterém do substrátu sekretují hydroxylový radikál, generovaný ve Fentonově reakci:



Následuje hydrolýza celulózy a hemicelulóz činnostmi zbylých GH, pracujících ve výše popsané synergii (Eastwood *et al.*, 2011).

### 3.2. Mykorhizní houby

Mykorhiza je mutualistický vztah, tvořený různými liniemi hub a kořeny až 92 % vyšších rostlin (Brundrett & Tedersoo, 2018). Mykorhizní houby dodávají rostlinám vodu, ochranu před stresem a také minerální látky, které svým myceliem těží v půdě. Na oplátku mají zajištěn stálý přísun fotoautotrofně asimilovaného redukováného uhlíku (Smith & Read, 2003). Vznik mykorhizní symbiózy sehrál důležitou roli při adaptaci rostlin na nový způsob čerpání živin při jejich přechodu na souš, časově se tyto události překrývají (Simon *et al.*, 1993). Mykorhizy ovšem vznikaly v evoluci z původní saprotrofní strategie opakovaně a rozlišily se na 4 základní typy, mykorhizu arbuskulární, erikoidní, orchideoidní a ektomykorhizu. Tyto typy jsou sice anatomicky a funkčně odlišené, ale přesto s nápadnými rysy konvergence. Ty jsou charakterizovány některými společnými genetickými událostmi. Patří mezi ně proliferace transponovatelných elementů, vznik nových genů či nových symbiotických funkcí pro geny původní a také rozsáhlé ztráty enzymů zodpovědných za rozklad rostlinných buněčných stěn, mezi něž patří i extracelulární CAZymy (Miyachi *et al.*, 2020).

#### 3.2.1. Arbuskulárně-mykorhizní houby

Arbuskulární mykorhiza (ARM) je nejstarším a nejrozšířenějším mykorhizním typem, v tomto mutualistickém vztahu je vázáno přibližně 72 % cévnatých rostlin (Brundrett & Tedersoo, 2018). Podle Simona a kolektivu (1993) vznikla přibližně před 400 miliony let a byla patrně důležitým faktorem pro přechod rostlin na souš. Arbuskulárně-mykorhizní houby se řadí do pododdělení *Glomeromycotina* s charakteristickými coenocytickými hyfami s obrovským množstvím jader. Pro symbiózu vytváří arbuskule, větvené útvary, kterými pronikají přes buněčnou stěnu

buněk kořenů a vezikuly, klubkovitá skladiště živin, které jsou z půdy čerpány extraradikálním myceliem. To funguje víceméně jako prodloužené rostlinné kořeny, schopné čerpat živiny pouze v rozpustné minerální formě. Za svou mimořádně dlouhou dobu existence se plně adaptovaly na symbiotický způsob života (Smith & Read, 2008). To se projevuje i naprostou ztrátou genů pro extracelulární CAZymy rozkládající rostlinné buněčné stěny (Tisserant *et al.*, 2013).

Po sekvenaci genomu druhu *Rhizophagus irregularis* vyšlo najevo, že tato houba zcela postrádá CAZymy oxidativního charakteru, peroxidázy, CDH i LPMO. Z glykosid hydroláz zbylo jen pomálu, a žádná z nich se nezapojuje do dekompozice rostlinných buněčných stěn. To znamená, že i částečné rozložení buněčné stěny pro průnik arbuskule zajišťuje svými enzymy sama rostlina (Tisserant *et al.*, 2013). U druhu *Glomus intraradices* byly výsledky obdobné. Chyběly GH pro degradaci krystalické i amorfni celulózy i hemicelulóz, kromě několika EG a CBH (Tisserant *et al.*, 2012).

Arbuskulárně-mycorhizní symbionti jsou významní hlavně pro absorpci fosforu, pro ARM rostliny často limitujícího prvku, nalézajícího se v půdě zejména ve velice málo mobilní inorganické podobě. Jejich role v absorpci dusíku není až tak jasná (Smith & Smith, 2011). Bylo pozorováno, že ARM houby aktivně směřují růst k ostrůvkům POH bohatým právě na dusík, a na to konto jim někteří autoři přisuzovali i saprotrofní schopnosti (Warner & Mosse, 1980). Dnes již víme, že dekompoziční schopnosti následkem adaptace na symbiotický život ztratily (Miyachi *et al.*, 2020) a že v ostrůvcích POH zřejmě kompetují o dusík, který byl z organických komplexů uvolněn činností mikrobů, jejichž činnost svou přítomností hyfy ARM hub stimuluje (Hodge *et al.*, 2001). V prostředí typickém pro ARM rostliny navíc N nebývá limitujícím prvkem, je totiž charakterizováno rychlým obratem živin a nízkým podílem POH (Read & Perez-Moreno, 2003).

### **3.2.2. Ektomykorhizní houby**

Při ektomykorhize vytváří hyfy mnoha druhů hub z řad stopkovýtrusných i vřeckovýtrusných především v kořenech dřevin dva specifické anatomicko-morfologické útvary. Vyplňují intercelulární prostory kořenů systémem zvaným Hartigova síť a objímají kořen z vnější hyfovým pláštěm. Do okolní půdy prorůstají extraradikálním myceliem. V naprosté většině jsou ektomykorhizní (ECM) houby asociovány s dřevinami, zvláště významným vztahem je jejich symbióza s čeledí *Pinaceae* v lesích mírného pásu a tajgy (Smith & Read, 2008). Obecně platí, že přechod na ECM životní strategii byl u hub doprovázen výraznými ztrátami genů pro

degradativní extracelulární enzymy rostlinných buněčných stěn, ovšem u některých z nich se kopie těchto genů zachovaly (Kohler *et al.*, 2015). Tento vývoj má tak paralely s vývojem gildy hub hnědé hniloby (Eastwood *et al.*, 2011).

Ektomykorhizním houbám a úrovni zachování jejich dekompozičních, či saprotrofních schopností bylo věnováno mnoho článků i experimentů. To poukazuje na významnost tohoto tématu, vždyť ektomykorhizní houby svou biomasou často dominují půdám lesních ekosystémů a jejich ekofyziologie tak nesmírně ovlivňuje nejen jejich prostředí (Tedersoo & Smith, 2013, Smith & Read, 2008). Diskuze na toto téma ovšem přinášela rozporuplné výsledky, které ho učinily poměrně kontroverzním.

Již v jednom z prvních pojednání o mykorhize v roce 1894 jeho autor Frank tvrdil, že aby mohly ECM houby poskytovat svým symbiontům dostatek živin, musí mít schopnost rozkládat opad. Na tento názor se však pozapomnělo a dlouhou dobu poté byly ECM houby vnímány de facto jako prodlužovací nástavby kořenů, schopné čerpat pouze rozpustné minerální živiny, podobně jako tomu je u ARM (Lindahl & Tunlid, 2014). Na prozkoumání dekompozičních vlastností byly od 80. let provedeny četné laboratorní i terénní výzkumy (shrnutí prací do začátku století viz např. Read & Perez-Moreno, 2003), z nichž některé byly zpochybněny pro jejich nepřesnost a příliš smělé domněnky (Cairney *et al.*, 2003, Baldrian, 2009). Nicméně začal převažovat názor, že hranice mezi houbami saprotrofními a symbiotickými nemusí být tak jasná, za jakou se dlouho považovala (Koide *et al.*, 2008). Světlo na tuto problematiku pak vrhl zejména prudce se zvyšující počet sekvenovaných genomů a následných srovnávacích genomických analýz. Do uvažování vědců vešla i skutečnost, že schopnost tvořit ECM symbiózu vznikla ve více než osmdesáti houbových fylogenetických skupinách nezávisle na sobě (Tedersoo & Smith, 2013). Ustavila se tak myšlenka, že byť úroveň konvergence při izolovaných vznikách této životní strategie udivuje (Miyachi *et al.*, 2020), přece jen záleží na tom, jaké geny si konkrétní druhy přinesly od svých předků z řad různých linií hub (Bödeker *et al.*, 2014, Pellitier & Zak, 2017). Obecně ale platí, že přechod na ECM životní strategii byl pokaždé doprovázen ztrátou genů pro degradativní extracelulární enzymy rostlinných buněčných stěn. Průměrná hodnota 133 genových kopií u hub bílé hniloby se u ECM snížila na v průměru 62 napříč všemi rodinami CAZymů (Kohler *et al.*, 2015). Ektomykorhizní houby z řad stopkovýtrusných mají méně celuláz, hemiceluláz i pektináz a oxidativních enzymů doplňkových aktivit než zástupci jakékoli jiné gildy v této větvi Dikaryí (Miyachi *et al.*, 2020). Enzymů schopných rozkladu rostlinných buněčných stěn se vzdaly nejspíše aby

nepoškozovaly své mutualistické partnery či aby unikly jejich obranným mechanismům (Doré *et al.*, 2015). Zároveň ovšem bylo výhodné si některé z enzymů ponechat, protože selekce obzvláště v prostředích chudých na živiny a bohatých na POH, které jsou pro růst ECM rostlin typické, směřovala k symbiontům s částečně ponechaným arzenálem zejména oxidativních enzymů (Read & Perez-Moreno, 2003). Následuje představení enzymatické výbavy modelových druhů ECM hub s předky z různých gild.

Při sekvenaci genomu druhu *Laccaria bicolor* (lakovka dvoubarevná) z řádu *Agaricales* bylo zjištěno, že došlo ke ztrátě téměř všech glykosid hydroláz. Z celuláz zbyla jen jedna z rodiny GH5 s CVD, hemicelulózy na tom byly obdobně, a to značí, že tato houba již nedokáže využívat rostlinné buněčné stěny jako zdroj uhlíku (Martin *et al.*, 2008). Malé množství extracelulárních enzymů, které jí zbyly, využívá pro ustavení struktur symbiózy, jak dokázali Zhang se spolupracovníky (2018), pro úpravy vlastních buněčných stěn. Novější studie u tohoto druhu objevila i jednu peroxidázu a nemalé množství LPMO (Miyachi *et al.*, 2020). *L. bicolor* pochází pravděpodobně z linie rozkladačů opadu (Shah *et al.*, 2015).

*Paxillus involutus* (čechratka podvinutá) je ECM druh z řádu *Boletales*. V tomto řádu ECM vznikla nezávisle vícekrát, většinou z předků náležících do hub hnědé hniloby (Kohler *et al.*, 2015). Tomu odpovídá mechanismus, kterým *P. involutus* rozkládá POH. Podobně jako ony depolymerizuje celulózu a hemicelulózy a modifikuje lignin, a to skrze oxidativní Fentonovy reakce a činnost oxidativních enzymů jako jsou lakázy a LPMO, ale nikoli peroxidázy. Z GH byla exprimována pouze jedna EG z rodiny GH9. Chybí mimo jiné CBH, zajišťující poslední krok rozkladu celulózy, což je jeden z důkazů, že částečně rozložené polysacharidy nevyužívá jako zdroj C. Při přechodu na symbiotický způsob života tedy došlo k výrazným ztrátám v enzymatické části degradačního aparátu, který běžně u hub hnědé hniloby pracuje synergisticky s radikálovým systémem, který si druh *P. involutus* ponechal (Rineau *et al.*, 2012). Ve studii z roku 2016 Shah a kolektiv postulovali, že radikálový mechanismus Fentonových reakcí by mohl být rozšířen napříč všemi ECM a doplňovat tak při dekompozici POH činnost oxidativních enzymů.

Rekordmany v počtech zachovaných peroxidáz jsou rody *Cortinarius* (pavučinec) a *Hebeloma* (slzivka) z řádu *Agaricales*. V genomu druhu *C. glaucopus* bylo nalezeno 11 genů pro peroxidázy, což je číslo, které nalezneme i u některých hub bílé hniloby. Jedná se zřejmě hlavně o MnP, jejichž počty korelovaly s poměrně vysokou abundancí

tohoto druhu v půdě tajgy (Bödeker *et al.*, 2014). V genomu *H. cylindrosporium* (který je nejmenší ze všech dosud sekvenovaných ECM) detekovala Kohler s kolektivem (2015) tři MnP, Doré a Perraud s kolektivem (2015) dokonce čtyři MnP, z nichž dvě byly pozitivně transkripčně regulované v médiu s vyšším podílem organických živin. S touto genetickou výbavou by tedy mohly tyto druhy být schopny rozkládat lignin, podobně jako jejich předci z řad hub bílé hniloby (Kohler *et al.*, 2015).

Pokud tedy ECM houby vlastní geny pro extracelulární enzymy schopné rozkladu organické hmoty, k čemu je používají? V první řadě je dobré si uvědomit, jak připomněli ve svém článku Lindahl a Tunlid (2014), že schopnost dekompozice automaticky neznamena saprotrofii. Pro saprofágy je hlavním zdrojem uhlíku odumřelá organická hmota, kterou jsou schopni rozložit. Toho jsou, jak se ukazuje, schopny i ECM houby, a instinkt velí předpokládat, že tak činí za stejným cílem jako saprofágové, tedy pro zisk redukovaného uhlíku. Jenže přísun tohoto prvku mají mykorrhizní houby zajištěný od asociovaných rostlin a dekompozičních schopností zřejmě využívají pro jiné účely. Důkazem může být to, že po podání glukózy ECM myceliu se míra exprese oxidativních extracelulárních nezměnila, jak by tomu bylo, pokud by byl jejich cílem zisk uhlíku, ale naopak zvýšila (Rineau *et al.*, 2013). Dostupná energie tedy byla využita na něco jiného, a tím se ukazuje být mobilizace dusíku, pevně zabudovaného do odolných organických polymerů v POH a samotným rostlinám tak nedostupným (Nannipieri & Eldor, 2009). Poukazuje na to mimo jiné fakt, že dodání amoniaku, zdroje N méně náročného na zpracování, způsobilo snížení aktivity MnP, jak ukázala Bödeker s kolektivem (2014).

Byť tedy o ECM houbách nelze říci, že by měly plné ani fakultativní saprotrofní schopnosti, k čemuž se vyjádřil již Baldrian (2009) a co je nyní podpořeno genomickými analýzami (Kohler *et al.*, 2015, Miyauchi *et al.*, 2020), ukazuje se, že určité dekompoziční vlastnosti zejména oxidativního charakteru si některé linie zachovaly. Extracelulární CAZymy jim slouží nikoli k zisku redukovaného C pro vlastní potřebu, nýbrž pro ustavení symbiózy s kořeny rostlin a také pro využití bohaté zásoby N, kterou je POH. Ačkoli přesné složení enzymatického arzenálu se mezi jednotlivými vývojovými liniemi ECM hub liší, a to nejspíše jako přízpůsobení jejich konkrétní nise (Buée *et al.*, 2007), výsledek jejich chemického působení na POH je podobný (Shah *et al.*, 2015). Transkripce oxidativních enzymů schopných rozkladu rostlinných buněčných stěn je kontrolována a lokalizovaná, dochází k ní mimo symbiotické tkáně, aby nedošlo k poškození buněk a spuštění obranných mechanismů rostlinného

partnera (Miyauchi *et al.*, 2020). V zatím jediném prokázaném případě u *L. bicolor* je EG z rodiny GH5 používána při tvorbě Hartigovy sítě a transkripce je tak lokalizovaná v symbiotických pletivech (Zhang *et al.*, 2018).

### 3.2.3. Erikoidně-mykorhizní houby

Erikoidní mykorhiza (ERM) je typ endomykorhizy, při kterém jsou buňky rhizodermis kořenů čeledi *Ericaceae* kolonizovány smotky hyf většinou vřeckovýtrusných hub (Smith & Read, 2008, Kohout, 2017). Houby, které se tohoto vztahu účastní, si zachovávají schopnost rozkládat organickou hmotu a exprimovat značný počet genů pro extracelulární CAZymy. Svou genetickou výbavou se v tomto ohledu velmi podobají saprotrofům, dokonce je převyšují v počtu genů pro glykosid hydrolázy. Disponují také mnohými lakázami, LPMO a CDH. Pro ustavení symbiózy je hladina regulace těchto genů zvýšena. Vzhledem k tomu, že ERM houby se vyskytují i jako endofyté<sup>3</sup>, je možné hypotetizovat, že jejich mykorhizní způsob života se vyvinul právě z této odlišné asociace s rostlinami (Martino *et al.*, 2018). Došlo k tomu však, na rozdíl od vývinu ECM, bez ztrát sady genů pro rozklad buněčných stěn (Kohler *et al.*, 2015). Erikoidní mykorhiza vznikla několikrát nezávisle na sobě a je ze všech mykorhizních typů nejmladší, její stáří je odhadováno na 118 milionů let. Je tedy možné, že výjimečná schopnost rozkládat organickou hmotu je pouze reliktem předchozí životní strategie, který se v postupu evoluce mutualistického vztahu vytratí (Martino *et al.*, 2018). Alternativní hypotéza naopak navrhuje, že právě tato schopnost byla driverem vzniku této enzymaticky mimořádně vybavené symbiózy (Read & Perez-Moreno, 2003).

Rostliny čeledi *Ericaceae* jsou schopny růst a dominovat na velmi kyselých a co do úživnosti chudých půdách, k čemuž jim výrazně napomáhá mutualistický vztah, který tvoří s ektomykorhizními houbami, jež si ponechaly výrazné saprotrofní schopnosti (Kohout, 2017). Nejvíce limitující je v jejich prostředí množství dusíku, který je vázán v chemicky odolné POH, tvořené zejména zbytky odumřelých rostlin a mycelií. Právě ERM houby jej dokážou zprostředkovat svým symbiontům, pro které by jinak byl nedostupný, a tak posílit jejich růst (Kerley & Read, 1998). Různé linie ERM hub se liší sadou enzymů, které podědily po svých předcích. Odlišují se i tři zástupci z třídy *Leotiomycetes*. *Oiodendron maius* má velké zastoupení genů pro proteiny s celulózo-vazebnou doménou a řadu hydroláz hemicelulóz a pektinů. Tento

---

<sup>3</sup> Endofytismus je forma symbiózy, při které hyfy mnoha druhů hub osidlují rostlinná pletiva. Zdá se, že endofytické houby se nacházejí ve všech volně žijících rostlinách, a může jim přinášet to jak zvýšení, tak i snížení fitness (Rodriguez *et al.*, 2009).

druh je dokonce schopen žít se saprotrofně a žít samostatně v rašelině (Rice & Currah, 2006). Rod *Hyaloscypha* se vyznačuje velkým počtem genů pro oxidativní rozklad lignocelulózy, jako jsou lakázy a CDH (Martino *et al.*, 2018). U *Hyaloscypha erica* už Kerley a Read (1998)<sup>4</sup> experimentálně zjistili schopnost rozkladu především chitinu, což potvrdila genomická analýza, když u něj Martino se spolupracovníky (2018) objevili značné množství genů pro chitinázy a chitin-vazebné domény. Každá z hub je tím pádem specializovaná na jiný substrát, což se promítá i na jejich rostlinné symbionty, kteří budou tím pádem lépe prospívat na jiném složení POH.

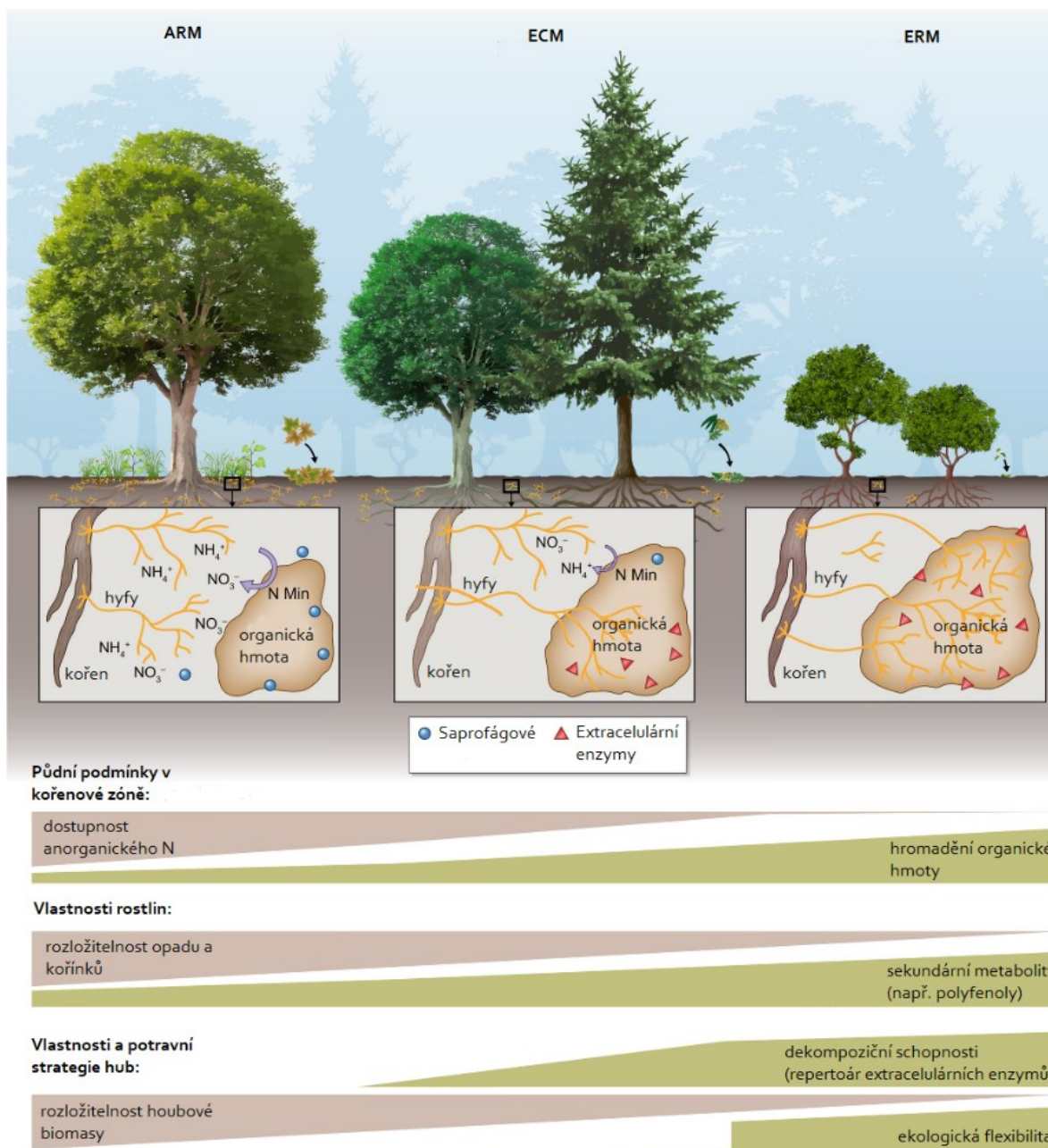
#### **4. Vliv enzymatických schopností mykorhizních hub na hostitelské rostliny a jejich prostředí**

Mykorhizní typy se liší způsobem, jakým z okolní půdy získávají živiny, a to má vliv na vlastnosti těchto půd, jako je rychlost dekompozice či obsah C (Orwin *et al.*, 2011). Společně s některými vlastnostmi mykorhizních rostlin a hub je toto ukázáno na Obrázku 3 na následující straně. Produkce CAZymů dále koreluje s dalšími faktory, jako je rostlinná produkce a distribuce rostlinných druhů na globální úrovni (Read & Perez-Moreno, 2003).

---

<sup>4</sup> V jejich studii je označován starším rodovým jménem *Hymenoscyphus*.





Obrázek 3: Vlastnosti hub, rostlin a půd jednotlivých mykorhizních typů ve vztahu k získávání živin, převzato a upraveno dle Ward *et al.*, 2022.

#### 4.1. Cyklus C

Mykorhizní houby byly až donedávna jakožto významní aktivní hráči v koloběhu uhlíku opomíjeny, jejich důležitá role se postupně objasňuje až v posledních letech. Výzkum tohoto fenoménu je stěžejní mimo jiné pro kvantifikace modelů vlivu změny klimatu na globální cyklus tohoto prvku (Lindahl & Tunlid, 2014).

Mezi půdami, ve kterých dominují ECM či ERM a mezi těmi, kde dominuje ARM, panuje zásadní rozdíl v půdním obsahu C, o přibližně 70 % více C na jednotku N je v ECM a ERM ekosystémech (Averill *et al.*, 2014). Za tímto markantním rozdílem stojí

především dva mechanismy, které souvisí s lišícími se schopnostmi jednotlivých mykorhizních typů v rozkladu POH a tím pádem s jejich vybaveností extracelulárními CAZy. První z nich hovoří o vlivu kompetice saprotrofů a mykorhizních hub o živiny, který ústí ve snížení hladiny dekompozice (Orwin *et al.*, 2011). Tento fenomén byl popsán již dříve jako efekt Gadgilových (Gadgil & Gadgil, 1971), a bude zde zmíněn právě v souvislosti s ním. Druhým mechanismem je zvýšení rostlinné fixace uhlíku v odpovědi na vyšší příjem minerálních živin dodávaných mykorhizními symbionty (Orwin *et al.*, 2011). Relativní velikost vlivu těchto dvou faktorů závisí na konkrétních podmínkách prostředí, největší efekt mají v půdách chudých na živiny, ale princip je stejný napříč všemi ekosystémy (Orwin *et al.*, 2011, Averill *et al.*, 2014). Nejnovější výzkum na hranici boreálního lesa a vřesoviště také poukazuje na to, že množství půdního C ovlivňují více rozdíly v enzymatických schopnostech mezi jednotlivými ECM druhy, než přítomnými ECM a ERM mykorhizními typy (Clemmensen *et al.*, 2021).

#### **4.1.1. Efekt Gadgilových**

Fakt, že některé ektomykorhizní houby disponují enzymatickým aparátem sestávajícím především z oxidativních enzymů schopných rozkladu půdní organické hmoty za účelem zisku minerálních látek, zejména dusíku, ovlivňuje množství uhlíku alokovaného v půdě. O půdní organickou hmotu kompetuje řada organismů, mezi nimi saprotrofní a ektomykorhizní houby, které se touto kompeticí vzájemně ovlivňují. Experimentální data ukazují, že v půdách, ve kterých se vyskytují ECM houby, je zpomalen rozklad a zvýšen obsah uhlíku (Gadgil & Gadgil, 1971). Tento jev se na počest manželského páru vědců, kteří jej popsali, nazývá efekt Gadgilových. Ve svém článku z roku 1971, popisujícím pokus zahrnující odstranění mykorhizních mycelií, ukazují, že díky stabilnímu přísunu energie a uhlíku od svých rostlinných partnerů jsou mykorhizní houby o krok napřed před saprotrofy. Ti totiž POH rozkládají jak za účelem zisku energie, tak živin, a tak mohou již energeticky zajištěné mykorhizní houby rychleji kolonizovat vhodný substrát a saprotrofní konkurenty vykompetovat (Smith & Read, 2008). Saprotrofní houby jsou tím pádem ještě více limitovány nedostatkem živin, a celková rychlost dekompozice se jejich omezováním snižuje (Orwin *et al.*, 2011).

Jak ve svém článku shrnují Fernandez a Kennedy (2015), ověřování výsledků experimentu z roku 1971 ústilo v rozporuplné výsledky. Představují zde i odlišné prostředky a následky kompetice saprotrofních a mykorhizních hub, které jsou zřejmě

vysoce závislé na kontextu abiotického i biotického prostředí. Silně se efekt Gadgilových projevuje zvláště v půdách s nízkým obsahem N, který je navíc vázán v odolných organických komplexech, a kde je tedy kompetice o něj ještě vyostřenější (Orwin *et al.*, 2011, Fernandez & Kennedy, 2015). Přispívá k němu například i rozdíl v nutriční kvalitě opadu mezi lesy dominovanými jehličnatými a listnatými stromy. V jehličnatých lesích s nižší nutriční hodnotou a vyšší odolností opadu se efekt Gadgilových projevuje silněji (Fernandez *et al.*, 2020). Dále záleží na konkrétním složení komunit ECM hub. Rod *Cortinarius* dokáže lesním půdám co do biomasy často dominovat, a díky své vysoké dekompoziční kapacitě dané i přítomností MnP v genomu (Bödeker *et al.*, 2014) dokáže konkrétně skupina jeho druhů *Cortinarius acutus* celkovou dekompozici v ekosystému urychlovat, což jde přímo proti efektu Gadgilových (Lindahl *et al.*, 2021). Je tedy otázka, zda lze derivovat nějakou obecnou zákonitost pro celou skupinu ECM hub, která je co do dekompozičního potenciálu velice variabilní (Pellitier & Zak, 2017).

Tato kompetice se podílí na udržování rozvrstvení půd, které ukázali při výzkumu borovicového lesa Lindahl a kolektiv (2007). Saprotrofní houby dominují v čerstvém opadu bohatém na lignin, kde množství C převyšuje množství N. Čím hlouběji v půdě klesáme, tím se tento poměr převažuje směrem k N, o nějž v POH, která již prošla částečnou dekompozicí saprotrofy, účinněji kompetují houby mykorhizní (Lindahl *et al.*, 2007).

#### **4.1.2. Efekt zvýšení rostlinné produkce**

Mykorhizní houby výrazně napomáhají svým asociovaným rostlinám v čerpání minerálních živin, které by samy rostliny nedokázaly získat, a to ústí v jejich vyšší produktivitu. V ekosystémech, kde jsou živiny vázány z velké části v odolné POH, došlo k selekci takových houbových symbiontů, kteří jim toto umí zajistit činností extracelulárních CAZymů (Read & Perez-Moreno, 2003). U ECM a ERM rostlin byla pozorována větší fixace uhlíku a koncentrace dusíku v pletivech (Orwin *et al.*, 2011). Za tuto službu rostliny mykorhizním houbám „platí“ měnou v podobě uhlíkatých látek, které vytvořily z fotosyntézou zafixovaného CO<sub>2</sub>. Houby tento uhlík využívají mimo jiné právě i pro výrobu oxidativních enzymů atakujících POH, což je luxus, který si mohou dovolit díky tomu, že mají stálý přísun C od rostlin. Oxidace POH je totiž označována jako kometabolický proces, který se pro získávání C nevyplatí, pokud nemá dekompozitor i jiný přísun tohoto prvku (Kirk *et al.*, 1976). Tato aktivita mycelií roste se zvyšující se koncentrací CO<sub>2</sub> (Treseder, 2004). Ta totiž zvedá rychlost fotosyntézy,

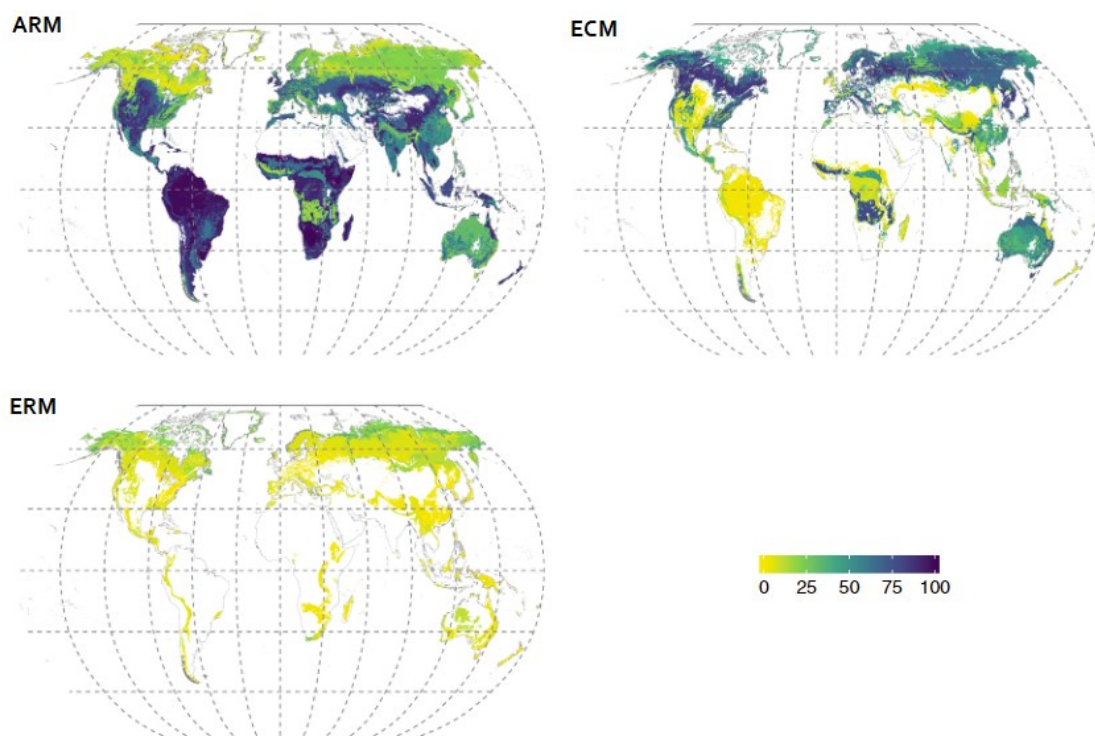
bezpodmínečně ovšem jen u ECM rostlin. ARM rostliny jsou v tomto růstu na rozdíl od ECM limitovány dostupností N. Pokud ho nemají dostatek v rozpustné formě, kterou dokážou ARM houby bez enzymatické výbavy přijmout, ke zvýšení efektivity nedojde. To je hodno pozornosti, protože fotosyntéza a potažmo mykorhiza působí jako pufr k antropogenně zvedajícím se hladinám atmosférického CO<sub>2</sub> (Terrer *et al.*, 2016).

Zvyšování půdního C přispívá i priming efekt. Při něm jsou do půdy vypouštěny jednoduché uhlíkaté sloučeniny, které stimulují dekompoziční činnost mikroorganismů, a tím pohánějí rozklad zejména starší POH (Kuzyakov *et al.*, 2000). V případě mykorhizní symbiózy můžeme najít paralelu tohoto fenoménu. Vlivem toho, že jsou mykorhizní houby závislé na rostlinách jako na zdroji uhlíku, mají právě rostliny kontrolu nad hladinou dekompozice POH svými symbionty. Čím více uhlíku jim poskytnou, tím více oxidativních enzymů mohou houby produkovat, a tím více dusíku mohou dobývat a ovlivňovat tak stav POH v půdě. Rostliny tak „primují“ své houbové symbionty (Lindahl & Tunlid, 2014). Pokud je tímto symbiontem například rod *Cortinarius* s peroxidázami a schopností celkovou míru dekompozice urychlovat, jeho „primováním“ rostliny obsah C v půdě naopak snižují, zvyšují uvolňování CO<sub>2</sub>, což by mohlo vést k ještě výraznějšímu pozitivnímu vlivu na fotosyntézu (Lindahl *et al.*, 2021). Studie na toto téma je novějšího data a kontrastní vliv rodu *Cortinarius* a podobně enzymaticky vybavených ECM hub i na rostlinnou produkci je jistě zajímavým tématem pro budoucí výzkumy. Důležitou složkou priming efektu je kořenová exudace (Kuzyakov *et al.*, 2000). Ektomykorhizní v porovnání s ARM stromy produkují více exudátů, a tím pádem více „primují“ činnost mikrobů (Yin *et al.*, 2014). Je to dáno odlišnými typickými půdami pro tyto dva mykorhizní typy, v ECM systémech jsou živiny vázány v POH, jejímuž rozložení musí pomoci dekompozitoři (Read & Perez-Moreno, 2003). Kromě toho mají, jak už bylo řečeno, ECM rostliny díky svým účinným symbiontům k dispozici více C k syntéze exudátů (Orwin *et al.*, 2011).

#### **4.2. Vliv na distribuci mykorhizních rostlin**

Sir David Read roztrídil roku 1991 ekosystémy dle jejich dominantního mykorhizního typu a napsal, že každý z těchto typů se dá propojit s charakteristickými vlastnostmi půd. Na základě těchto vlastností, a tím pádem výživových potřeb tamních rostlin, se vyvinuly jednotlivé mykorhizní typy odlišené specifickými vlastnostmi. Jedním z těchto rysů je vybavenost hub extracelulárními enzymy a z ní plynoucí dekompoziční schopnosti, které byly popsány výše. Právě díky nim jsou *Ericaceae* k nalezení především v půdách vysokých nadmořských výšek a zeměpisných šířek s vysokým

obsahem POH a nízkým pH, ve kterých díky schopnosti tolerovat tyto faktory, propůjčené jim ERM symbionty, dokážou zcela dominovat. ACM rostliny jsou naopak lokalizovány v nižších nadmořských výškách, s půdou bohatou na minerální živiny, generované díky zvýšené mikrobiální dekompozici. ECM rostlinám bylo po poněkud překvapivém objevu enzymatické vybavenosti jejich houbových symbiontů věnováno více pozornosti. Dominují v lesnatých porostech, kde tvoří opad dřevin svrchní půdní vrstvu s vysokým poměrem C vůči N, velkou koncentrací POH a sníženou mineralizací. Podle tohoto Readova článku a jeho pozdější práce s Perez-Morenem (2003) bylo konstatováno, že od rovníku k pólům se zvyšuje podíl ECM a ERM vůči ARM (což můžeme pozorovat na Obrázku 4), jelikož jsou v souladu s gradientem množství POH a proti gradientu dostupnosti minerálních živin selektovány pro svou větší dekompoziční kapacitu. Na jižní polokouli není tento efekt příliš výrazný vlivem absence tajgy, ohniska ECM (Obrázek 4). Steidinger a kolektiv (2019) provedli globální analýzu, kde toto potvrdili. Primárním určujícím faktorem rozmístění mykorhizních typů a jejich asociovaných rostlin je míra dekompozice závislá na klimatu. Vlivem zimy a sucha se dekompozice směrem k pólům zpomaluje. Na počest Readova článku navrhli, aby byla distribuce mykorhiz v závislosti na podnebí řízené míře dekompozice půd nazývána Readovým pravidlem.



Obrázek 4: Procentuální zastoupení nadzemní biomasy hostitelských rostlin jednotlivých mykorhizních typů, převzato a upraveno dle Soudzilovskaia et al., 2019.

ECM symbióza je co do investic fixovaného uhlíku nákladnější než ARM (Smith & Read, 2008), ale zato účinnější v získávání živin z POH. Na základě jejich distribuce je tedy patrné, jak se na odlišných typech půd promítá poměr „cena-výkon“ těchto symbióz a ukazuje, že rostlinám se vyplatí investovat více C na dusíkem limitovaných půdách. Zejména stromy volí tuto „dražší“ variantu, 60 % stromů je asociováno s ECM houbami a mimo tropy, kde převažuje limitace P a rozklad je vlivem tepla a vlhka účinnější, je to dokonce 80 % (Steidinger *et al.*, 2019).

Na tuto základní distribuci mykorhizních typů má však vliv lidská činnost. Způsob, jakým jsme změnilí kácením krajinu z lesních porostů na agroekosystémy, snížil počty ECM a ERM a vyzvedl ARM vztahy (Read, 1991). To mění přirozený koloběh C v půdě. Protože ECM ekosystémy jsou spojeny s vyšším obsahem C v půdě, jelikož zpomalují dekompozici, jejich změnou na ARM, asociovanou s intenzivnější půdní činností mikrobů a rychlejším rozkladem, se tento uhlík vyvazuje jako CO<sub>2</sub> do atmosféry (Soudzilovskaia *et al.*, 2019). Podobný efekt má i znečištění půd dusíkem. Vyšší obsah snadno dostupného anorganického N zvyhodňuje ARM stromy vůči ECM, mění distribuci lesů s dominantními ARM a ECM dřevinami, a ruší tak i jejich zpomalující efekt na dekompozici a vyvazování půdního C (Averill *et al.*, 2018).

O distribucích mykorhiz a jejich hostitelských rostlin, o tom, co přesně je ovlivňuje, se stále ještě příliš neví. Jak shrnul Read (1991), první století výzkumu mykorhiz, tedy století dvacáté, se zaměřovalo zejména na anatomický popis a z většiny laboratorní výzkumy pro zjištění jejich funkce. Na druhé mykorhizní, tedy 21. století nyní čeká aplikace těchto poznatků a jejich rozšíření na porozumění fungování mykorhiz v půdách a ekosystémech, vlivu jednotlivých typů na jejich tvorbu a udržování, a předpovědi jejich reakcí na změnu klimatu.

## 5. Závěr

Saprotrofní houby vlastní pro rozklad jedné ze složek organické hmoty, lignocelulózy, bohatý arzenál degradativních CAZymů i některých neenzymatických cest, jako je Fentonova reakce. Byť téměř sto let znělo obecné přesvědčení jinak, dnes již víme, že si schopnost exprimovat extracelulární CAZymy ponechaly i některé mykorhizní houby. Jejich množství a typ se liší mezi mykorhizami i mezi jednotlivými druhy (Kohler *et al.*, 2015, Martino *et al.*, 2018, Miyauchi *et al.*, 2020). Konkrétní podobě houbového enzymatického aparátu přispívá stáří symbióz (Martino *et al.*, 2018), evoluční historie jejich předků (Pellitier & Zak, 2017) a také prostředí se svými specifickými požadavky,

určující, co k prospívání potřebuje sama houba a také její hostitelská rostlina (Read & Perez-Moreno, 2003). Ektomykorhizní (shrnutí v Lindahl & Tunlid, 2014) a erikoidně-mykorrhizní (Kerley & Read, 1998) houby mají významný podíl na rozkladu půdní organické hmoty, ze které dobývají bez enzymů nepřístupný dusík pro sebe a své partnerské rostliny. Přímo tak svým hostitelům zvyšují produkci (Read & Perez-Moreno, 2003), umožňují jim efektivně využívat zvyšující se hladiny CO<sub>2</sub> (Terrer *et al.*, 2016) a dominovat celým ekosystémům. Ty jsou charakterizované pomalou dekompozicí, tajga v případě ECM a tundra v případě ERM a oblasti vysokých nadmořských výšek (Read & Perez-Moreno, 2003). Pomalá dekompozice přitom není jen příčinou, ale i následkem enzymatické vybavenosti některých mykorhizních hub, protože zejména na dusíkem vysoce limitovaných půdách umí vítězně kompetovat se saprotrofy (Gadgil & Gadgil, 1971, Orwin *et al.*, 2011). Snížení saprotrofní aktivity vede ke zpomalení cyklu uhlíku a jeho zadržování v půdách, které jsou právě v tajze a tundře jeho velkým sinkem a puřrem pro atmosféru (Averill *et al.*, 2014). Některé zvláště dobře enzymaticky vybavené ECM houby (jako rod *Cortinarius*) ovšem mohou mít efekt opačný a cyklus uhlíku naopak zrychlovat (Lindahl *et al.*, 2021), což má opět vliv na klima a rostlinnou produkci a zatím není tak dobře prozkoumáno. Tato otázka tedy udává možný směr budoucího výzkumu. Význam extracelulárních enzymů mykorhizních hub se tedy neprojevuje pouze v ekofyziologii hostitelských rostlin, ale i v podobě celých ekosystémů. Máloco se dá v tomto odvětví označit jako obecně platné a máloco je zatím uspokojivě vysvětleno a zařazeno do paradigmat o fungování půd, globálních koloběhů a klimatických činitelů. Výzkum se ale tímto směrem začíná stále intenzivněji ubírat a je jisté, že přinese četné ovoce.

## Seznam použité literatury

\* značí přehledový článek či metaanalýzu

\*Andlar, M., Rezić, T., Marđetko, N., Kracher, D., Ludwig, R., Šantek, B. (2018). *Lignocellulose degradation: An overview of fungi and fungal enzymes involved in lignocellulose degradation*. Engineering in Life Sciences (Vol. 18, Issue 11, pp. 768–778). Wiley.

Averill, C., Dietze, M. C., & Bhatnagar, J. M. (2018). *Continental-scale nitrogen pollution is shifting forest mycorrhizal associations and soil carbon stocks*. Global Change Biology (Vol. 24, Issue 10, pp. 4544–4553). Wiley.

Averill, C., Turner, B. L., & Finzi, A. C. (2014). *Mycorrhiza-mediated competition between plants and decomposers drives soil carbon storage*. Nature (Vol. 505, Issue 7484, pp. 543–545). Springer Science and Business Media LLC.

Baldrian, P. (2009). *Ectomycorrhizal fungi and their enzymes in soils: is there enough evidence for their role as facultative soil saprotrophs?* Oecologia (Vol. 161, Issue 4, pp. 657–660). Springer Science and Business Media LLC.

\*Baldrian, P., & Valášková, V. (2008). *Degradation of cellulose by basidiomycetous fungi*. FEMS Microbiology Reviews (Vol. 32, Issue 3, pp. 501–521). Oxford University Press.

Bödeker, I. T. M., Clemmensen, K. E., Boer, W., Martin, F., Olson, Å., & Lindahl, B. D. (2014). *Ectomycorrhizal Cortinarius species participate in enzymatic oxidation of humus in northern forest ecosystems*. New Phytologist (Vol. 203, Issue 1, pp. 245–256). Wiley

Bollag, J. M., Shuttleworth, K. L., & Anderson, D. H. (1988). *Laccase-mediated detoxification of phenolic compounds*. Applied and Environmental Microbiology (Vol. 54, Issue 12, pp. 3086–3091). American Society for Microbiology.

Bourbonnais, R., & Paice, M. G. (1990). *Oxidation of non-phenolic substrates. An expanded role for laccase in lignin biodegradation*. FEBS Letters (Vol. 267, Issue 1, pp. 99–102). Wiley.

Brundrett, M. C., & Tedersoo, L. (2018). *Evolutionary history of mycorrhizal symbioses and global host plant diversity*. New Phytologist (Vol. 220, Issue 4, pp. 1108–1115). Wiley.

Buée, M., Courty, P. E., Mignot, D., & Garbaye, J. (2007). *Soil niche effect on species diversity and catabolic activities in an ectomycorrhizal fungal community*. Soil Biology and Biochemistry (Vol. 39, Issue 8, pp. 1947–1955). Elsevier BV.

Cairney, J. W. G., Taylor, A. F. S., & Burke, R. M. (2003). *No evidence for lignin peroxidase genes in ectomycorrhizal fungi*. New Phytologist (Vol. 160, Issue 3, pp. 461–462). Wiley.



Clemmensen, K. E., Durling, M. B., Michelsen, A., Hallin, S., Finlay, R. D., & Lindahl, B. D. (2021). *A tipping point in carbon storage when forest expands into tundra is related to mycorrhizal recycling of nitrogen*. *Ecology Letters* (Vol. 24, Issue 6, pp. 1193–1204). Wiley.

Damon, C., Lehembre, F., Oger-Desfeux, C., Luis, P., Ranger, J., Fraissinet-Tachet, L., & Marmeisse, R. (2012). *Metatranscriptomics Reveals the Diversity of Genes Expressed by Eukaryotes in Forest Soils*. *PLoS ONE* (Vol. 7, Issue 1, p. e28967). Public Library of Science (PLOS).

\*Dimmel, D. (2016). *Overview*. V: Heitner, C., Dimmel, D., & Schmidt, J. (Eds.). (2016). *Lignin and Lignans* (pp. 1-10). CRC Press.

Doré, J., Perraud, M., Dieryckx, C., Kohler, A., Morin, E., Henrissat, B., Lindquist, E., Zimmermann, S. D., Girard, V., Kuo, A., Grigoriev, I. V., Martin, F., Marmeisse, R., & Gay, G. (2015). *Comparative genomics, proteomics and transcriptomics give new insight into the exoproteome of the basidiomycete Hebeloma cylindrosporum and its involvement in ectomycorrhizal symbiosis*. *New Phytologist* (Vol. 208, Issue 4, pp. 1169–1187). Wiley.

Drula, E., Garron M. L., Dogan, S., Lombard, V., Henrissat, B., Terrapon, N. (2022). *The carbohydrate-active enzyme database: functions and literature*. *Nucleic Acids Research* (Vol. 50, Issue D1, pp. 571–577). Oxford Academic.

Eastwood, D. C., Floudas, D., Binder, M., Majcherczyk, A., Schneider, P., Aerts, A., Asiegbu, F. O., Baker, S. E., Barry, K., Bendiksby, M., Blumentritt, M., Coutinho, P. M., Cullen, D., de Vries, R. P., Gathman, A., Goodell, B., Henrissat, B., Ihrmark, K., Kauserud, H., ... Watkinson, S. C. (2011). *The Plant Cell Wall–Decomposing Machinery Underlies the Functional Diversity of Forest Fungi*. *Science* (Vol. 333, Issue 6043, pp. 762–765). American Association for the Advancement of Science (AAAS).

\*Ehrlich, H. L. (2006). *Geomicrobiology: relative roles of bacteria and fungi as geomicrobial agents*. V: Gadd, G. M. (Ed.). (2006). *Fungi in Biogeochemical Cycles* (pp. 1-27). Cambridge University Press.

Fägerstam, L. G., & Pettersson, L. G. (1980). *The 1,4-β-glucan cellobiohydrolases of Trichoderma reesei QM 9414*. *FEBS Letters* (Vol. 119, Issue 1, pp. 97–100). Wiley.

\*Fernandez, C. W., & Kennedy, P. G. (2015). *Revisiting the ‘Gadgil effect’: do interguild fungal interactions control carbon cycling in forest soils?* *New Phytologist* (Vol. 209, Issue 4, pp. 1382–1394). Wiley.

Fernandez, C. W., See, C. R., & Kennedy, P. G. (2019). *Decelerated carbon cycling by ectomycorrhizal fungi is controlled by substrate quality and community composition*. *New Phytologist* (Vol. 226, Issue 2, pp. 569–582). Wiley.

Floudas, D., Binder, M., Riley, R., Barry, K., Blanchette, R. A., Henrissat, B., Martínez, A. T., Otilar, R., Spatafora, J. W., Yadav, J. S., Aerts, A., Benoit, I., Boyd, A., Carlson, A., Copeland, A., Coutinho, P. M., de Vries, R. P., Ferreira, P., Findley, K., ... Hibbett, D. S. (2012). *The Paleozoic Origin of Enzymatic Lignin Decomposition Reconstructed*

from 31 Fungal Genomes. *Science* (Vol. 336, Issue 6089, pp. 1715–1719). American Association for the Advancement of Science (AAAS).

Frank, B. (1894). *Die bedeutung der mykorrhiza pilze für die gemeine Kiefer*. Forstwissenschaftliches Centralblatt.

Gadd, G. M., & Raven, J. A. (2010). *Geomicrobiology of Eukaryotic Microorganisms*. *Geomicrobiology Journal* (Vol. 27, Issues 6–7, pp. 491–519). Informa UK Limited.

Gadgil, R. L., & Gadgil, P. D. (1971). *Mycorrhiza and Litter Decomposition*. *Nature* (Vol. 233, Issue 5315, pp. 133–133). Springer Science and Business Media LLC.

Glenn, J. K., Akileswaran, L., & Gold, M. H. (1986). *Mn(II) oxidation is the principal function of the extracellular Mn-peroxidase from Phanerochaete chrysosporium*. *Archives of Biochemistry and Biophysics* (Vol. 251, Issue 2, pp. 688–696). Elsevier BV.

Glenn, J. K., & Gold, M. H. (1985). *Purification and characterization of an extracellular Mn(II)-dependent peroxidase from the lignin-degrading basidiomycete, Phanerochaete chrysosporium*. *Archives of Biochemistry and Biophysics* (Vol. 242, Issue 2, pp. 329–341). Elsevier BV.

Henriksson, G., Nutt, A., Henriksson, H., Pettersson, B., Ståhlberg, J., Johansson, G., & Pettersson, G. (1999). *Endoglucanase 28 (Cel12A), a new Phanerochaete chrysosporium cellulase*. *European Journal of Biochemistry* (Vol. 259, Issues 1–2, pp. 88–95). Wiley.

Henrissat, B., Driguez, H., Viet, C., & Schülein, M. (1985). *Synergism of Cellulases from Trichoderma reesei in the Degradation of Cellulose*. *Bio/Technology* (Vol. 3, Issue 8, pp. 722–726). Springer Science and Business Media LLC.

Hodge, A., Campbell, C. D., & Fitter, A. H. (2001). *An arbuscular mycorrhizal fungus accelerates decomposition and acquires nitrogen directly from organic material*. *Nature* (Vol. 413, Issue 6853, pp. 297–299). Springer Science and Business Media LLC.

Horn, S. J., Vaaje-Kolstad, G., Westereng, B., & Eijsink, V. (2012). *Novel enzymes for the degradation of cellulose*. *Biotechnology for Biofuels* (Vol. 5, Issue 1). Springer Science and Business Media LLC.

Howell, J. A., & Stuck, J. D. (1975). *Kinetics of solka floc cellulose hydrolysis by trichoderma viride cellulase*. *Biotechnology and Bioengineering* (Vol. 17, Issue 6, pp. 873–893). Wiley.

\*Chen, H. (2014). *Chemical Composition and Structure of Natural Lignocellulose*. *Biotechnology of Lignocellulose* (pp. 25–71). Springer Netherlands.

Chen, H., Hayn, M., & Esterbauer, H. (1992). *Purification and characterization of two extracellular  $\beta$ -glucosidases from Trichoderma reesei*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure and Molecular Enzymology* (Vol. 1121, Issues 1–2, pp. 54–60). Elsevier BV.

\*Jeffries, T. W. (1994). *Biodegradation of lignin and hemicelluloses*. V: Ratledge, C. (Ed.). (1994). *Biochemistry of microbial degradation*. Springer Netherlands.

Karkehabadi, S., Hansson, H., Kim, S., Piens, K., Mitchinson, C., & Sandgren, M. (2008). *The First Structure of a Glycoside Hydrolase Family 61 Member, Cel61B from Hypocrea jecorina, at 1.6 Å Resolution*. *Journal of Molecular Biology* (Vol. 383, Issue 1, pp. 144–154). Elsevier BV.

Karlsson, J., Saloheimo, M., Siika-Aho, M., Tenkanen, M., Penttilä, M., & Tjerneld, F. (2001). *Homologous expression and characterization of Cel61A (EG IV) of Trichoderma reesei*. *European Journal of Biochemistry* (Vol. 268, Issue 24, pp. 6498–6507). Wiley.

Kerley, S. J., & Read, D. J. (1998). *The biology of mycorrhiza in the Ericaceae. XX. Plant and mycorrhizal necromass as nitrogenous substrates for the ericoid mycorrhizal fungus Hymenoscyphus ericae and its host*. *New Phytologist* (Vol. 139, Issue 2, pp. 353–360). Wiley.

Kersten, P. J., Tien, M., Kalyanaraman, B., & Kirk, T. K. (1985). *The ligninase of Phanerochaete chrysosporium generates cation radicals from methoxybenzenes*. *Journal of Biological Chemistry* (Vol. 260, Issue 5, pp. 2609–2612). Elsevier BV.

Kirk, T. K., Connors, W. J., & Zeikus, J. G. (1976). *Requirement for a Growth Substrate During Lignin Decomposition by Two Wood-Rotting Fungi*. *Applied and Environmental Microbiology* (Vol. 32, Issue 1, pp. 192–194). American Society for Microbiology.

Kohler, A., Kuo, A., Nagy, L. G., Morin, E., Barry, K. W., Buscot, F., Canbäck, B., Choi, C., Cichocki, N., Clum, A., Colpaert, J., Copeland, A., Costa, M. D., Doré, J., Floudas, D., Gay, G., Girlanda, M., Henrissat, B., ... Martin, F. (2015). *Convergent losses of decay mechanisms and rapid turnover of symbiosis genes in mycorrhizal mutualists*. *Nature Genetics* (Vol. 47, Issue 4, pp. 410–415). Springer Science and Business Media LLC.

Kohout, P. (2017). *Biogeography of Ericoid Mycorrhiza*. V: Tedersoo, L. (Ed.). 2017. *Biogeography of Mycorrhizal Symbiosis* (pp. 179–193). Springer International Publishing.

Koide, R. T., Sharda, J. N., Herr, J. R., & Malcolm, G. M. (2008). *Ectomycorrhizal fungi and the biotrophy–saprotrophy continuum*. *New Phytologist* (Vol. 178, Issue 2, pp. 230–233). Wiley.

Krah, F.-S., Bässler, C., Heibl, C., Soghigian, J., Schaefer, H., & Hibbett, D. S. (2018). *Evolutionary dynamics of host specialization in wood-decay fungi*. *BMC Evolutionary Biology* (Vol. 18, Issue 1). Springer Science and Business Media LLC.

\*Kuzyakov, Y., Friedel, J. K., & Stahr, K. (2000). *Review of mechanisms and quantification of priming effects*. *Soil Biology and Biochemistry* (Vol. 32, Issues 11–12, pp. 1485–1498). Elsevier BV.

Levasseur, A., Drula, E., Lombard, V., Coutinho, P. M., & Henrissat, B. (2013). *Expansion of the enzymatic repertoire of the CAZy database to integrate auxiliary redox enzymes*. *Biotechnology for Biofuels* (Vol. 6, Issue 1, p. 41). Springer Science and Business Media LLC.

Lindahl, B. D., Ihrmark, K., Boberg, J., Trumbore, S. E., Högberg, P., Stenlid, J., & Finlay, R. D. (2006). *Spatial separation of litter decomposition and mycorrhizal nitrogen uptake in a boreal forest*. *New Phytologist* (Vol. 173, Issue 3, pp. 611–620). Wiley.

Lindahl, B. D., & Tunlid, A. (2014). *Ectomycorrhizal fungi – potential organic matter decomposers, yet not saprotrophs*. *New Phytologist* (Vol. 205, Issue 4, pp. 1443–1447). Wiley.

\*Lynd, L. R., Weimer, P. J., van Zyl, W. H., & Pretorius, I. S. (2002). *Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* (Vol. 66, Issue 3, pp. 506–577). American Society for Microbiology.

Martin, F., Aerts, A., Ahrén, D., Brun, A., Danchin, E. G. J., Duchaussoy, F., Gibon, J., Kohler, A., Lindquist, E., Pereda, V., Salamov, A., Shapiro, H. J., Wuyts, J., Blaudez, D., Buée, M., Brokstein, P., Canbäck, B., Cohen, D., Courty, P. E., ... Grigoriev, I. V. (2008). *The genome of Laccaria bicolor provides insights into mycorrhizal symbiosis*. *Nature* (Vol. 452, Issue 7183, pp. 88–92). Springer Science and Business Media LLC.

Martino, E., Morin, E., Grelet, G., Kuo, A., Kohler, A., Daghino, S., Barry, K. W., Cichocki, N., Clum, A., Dockter, R. B., Hainaut, M., Kuo, R. C., LaButti, K., Lindahl, B. D., Lindquist, E. A., Lipzen, A., Khouja, H., Magnuson, J., Murat, C., ... Perotto, S. (2018). *Comparative genomics and transcriptomics depict ericoid mycorrhizal fungi as versatile saprotrophs and plant mutualists*. *New Phytologist* (Vol. 217, Issue 3, pp. 1213–1229). Wiley.

Mester, T., & Field, J. A. (1998). *Characterization of a Novel Manganese Peroxidase-Lignin Peroxidase Hybrid Isozyme Produced by Bjerkandera Species Strain BOS55 in the Absence of Manganese*. *Journal of Biological Chemistry* (Vol. 273, Issue 25, pp. 15412–15417). Elsevier BV.

Miyauchi, S., Kiss, E., Kuo, A., Drula, E., Kohler, A., Sánchez-García, M., Morin, E., Andreopoulos, B., Barry, K. W., Bonito, G., Buée, M., Carver, A., Chen, C., Cichocki, N., Clum, A., Culley, D., Crous, P. W., Fauchery, L., Girlanda, M., ... Martin, F. M. (2020). *Large-scale genome sequencing of mycorrhizal fungi provides insights into the early evolution of symbiotic traits*. *Nature Communications* (Vol. 11, Issue 1). Springer Science and Business Media LLC.

\*Nannipieri, P., & Eldor, P. (2009). *The chemical and functional characterization of soil N and its biotic components*. *Soil Biology and Biochemistry* (Vol. 41, Issue 12, pp. 2357–2369). Elsevier BV.

Orwin, K. H., Kirschbaum, M. U. F., St John, M. G., & Dickie, I. A. (2011). *Organic nutrient uptake by mycorrhizal fungi enhances ecosystem carbon storage: a model-based assessment*. *Ecology Letters* (Vol. 14, Issue 5, pp. 493–502). Wiley.

Paszczyński, A., Huynh, V.-B., & Crawford, R. (1985). *Enzymatic activities of an extracellular, manganese-dependent peroxidase from Phanerochaete chrysosporium*. FEMS Microbiology Letters (Vol. 29, Issues 1–2, pp. 37–41). Oxford University Press (OUP).

Pellitier, P. T., & Zak, D. R. (2017). *Ectomycorrhizal fungi and the enzymatic liberation of nitrogen from soil organic matter: why evolutionary history matters*. New Phytologist (Vol. 217, Issue 1, pp. 68–73). Wiley.

Phillips, C. M., Beeson, W. T., IV, Cate, J. H., & Marletta, M. A. (2011). *Cellobiose Dehydrogenase and a Copper-Dependent Polysaccharide Monooxygenase Potentiate Cellulose Degradation by Neurospora crassa*. ACS Chemical Biology (Vol. 6, Issue 12, pp. 1399–1406). American Chemical Society (ACS).

Quinlan, R. J., Sweeney, M. D., Lo Leggio, L., Otten, H., Poulsen, J.-C. N., Johansen, K. S., Krogh, K. B. R. M., Jørgensen, C. I., Tovborg, M., Anthonsen, A., Tryfona, T., Walter, C. P., Dupree, P., Xu, F., Davies, G. J., & Walton, P. H. (2011). *Insights into the oxidative degradation of cellulose by a copper metalloenzyme that exploits biomass components*. Proceedings of the National Academy of Sciences (Vol. 108, Issue 37, pp. 15079–15084). Proceedings of the National Academy of Sciences.

\*Read, D. J. (1991). *Mycorrhizas in ecosystems*. Experientia (Vol. 47, Issue 4, pp. 376–391). Springer Science and Business Media LLC.

Read, D. J., Leake, J. R., & Perez-Moreno, J. (2004). *Mycorrhizal fungi as drivers of ecosystem processes in heathland and boreal forest biomes*. Canadian Journal of Botany (Vol. 82, Issue 8, pp. 1243–1263). Canadian Science Publishing.

\*Read, D. J., & Perez-Moreno, J. (2003). *Mycorrhizas and nutrient cycling in ecosystems – a journey towards relevance?* New Phytologist (Vol. 157, Issue 3, pp. 475–492). Wiley.

Read, N. D. (2011). *Exocytosis and growth do not occur only at hyphal tips*. Molecular Microbiology (Vol. 81, Issue 1, pp. 4–7). Wiley.

Reddy, G. V. B., Sridhar, M., & Gold, M. H. (2003). *Cleavage of nonphenolic beta-1 diarylpropane lignin model dimers by manganese peroxidase from Phanerochaete chrysosporium. Evidence for a hydrogen abstraction mechanism*. European Journal of Biochemistry (Vol. 270, Issue 2, pp. 284–292). Wiley.

Rice, A. V., & Currah, R. S. (2006). *Oidiodendron maius: Saprobe in Sphagnum Peat, Mutualist in Ericaceous Roots? V: Schulz, B., Boyle, C., Sieber, T. (Ed.)*. Microbial root endophytes (pp. 227–246). Springer Berlin Heidelberg.

Rineau, F., Roth, D., Shah, F., Smits, M., Johansson, T., Canbäck, B., Olsen, P. B., Persson, P., Grell, M. N., Lindquist, E., Grigoriev, I. V., Lange, L., & Tunlid, A. (2012). *The ectomycorrhizal fungus Paxillus involutus converts organic matter in plant litter using a trimmed brown-rot mechanism involving Fenton chemistry*. Environmental Microbiology (Vol. 14, Issue 6, pp. 1477–1487). Wiley.

Rineau, F., Shah, F., Smits, M. M., Persson, P., Johansson, T., Carleer, R., Troein, C., & Tunlid, A. (2013). *Carbon availability triggers the decomposition of plant litter and assimilation of nitrogen by an ectomycorrhizal fungus*. *The ISME Journal* (Vol. 7, Issue 10, pp. 2010–2022). Springer Science and Business Media LLC.

\*Rodriguez, R. J., White Jr, J. F., Arnold, A. E., & Redman, R. S. (2009). *Fungal endophytes: diversity and functional roles*. *New Phytologist* (Vol. 182, Issue 2, pp. 314–330). Wiley.

\*Rytioja, J., Hildén, K., Yuzon, J., Hatakka, A., de Vries, R. P., & Mäkelä, M. R. (2014). *Plant-Polysaccharide-Degrading Enzymes from Basidiomycetes*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* (Vol. 78, Issue 4, pp. 614–649). American Society for Microbiology.

\*Sánchez, C. (2009). *Lignocellulosic residues: Biodegradation and bioconversion by fungi*. *Biotechnology Advances* (Vol. 27, Issue 2, pp. 185–194). Elsevier BV.

Shah, F., Nicolás, C., Bentzer, J., Ellström, M., Smits, M., Rineau, F., Canbäck, B., Floudas, D., Carleer, R., Lackner, G., Braesel, J., Hoffmeister, D., Henrissat, B., Ahrén, D., Johansson, T., Hibbett, D. S., Martin, F., Persson, P., & Tunlid, A. (2015). *Ectomycorrhizal fungi decompose soil organic matter using oxidative mechanisms adapted from saprotrophic ancestors*. *New Phytologist* (Vol. 209, Issue 4, pp. 1705–1719). Wiley.

Simon, L., Bousquet, J., Lévesque, R. C., & Lalonde, M. (1993). *Origin and diversification of endomycorrhizal fungi and coincidence with vascular land plants*. *Nature* (Vol. 363, Issue 6424, pp. 67–69). Springer Science and Business Media LLC.

Six, J., Conant, R., Paul, E., Paustian, K. (2002). *Stabilization mechanisms of soil organic matter: Implications for C-saturation of soils*. *Plant and Soil* (Vol. 241, Issue 2, pp. 155–176). Springer Science and Business Media LLC.

Smith, S. E., & Read, D. J. (2008). *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press.

\*Smith, S. E., & Smith, F. A. (2011). *Roles of Arbuscular Mycorrhizas in Plant Nutrition and Growth: New Paradigms from Cellular to Ecosystem Scales*. *Annual Review of Plant Biology* (Vol. 62, Issue 1, pp. 227–250). Annual Reviews.

Soudzilovskaia, N. A., van Bodegom, P. M., Terrer, C., van't Zelfde, M., McCallum, I., Luke McCormack, M., Fisher, J. B., Brundrett, M. C., de Sá, N. C., & Tedersoo, L. (2019). *Global mycorrhizal plant distribution linked to terrestrial carbon stocks*. *Nature Communications* (Vol. 10, Issue 1). Springer Science and Business Media LLC.

Talbot, J. M., Allison, S. D., & Treseder, K. K. (2008). *Decomposers in disguise: mycorrhizal fungi as regulators of soil C dynamics in ecosystems under global change*. *Functional Ecology* (Vol. 22, Issue 6, pp. 955–963). Wiley.

Talbot, J. M., Martin, F., Kohler, A., Henrissat, B., & Peay, K. G. (2015). *Functional guild classification predicts the enzymatic role of fungi in litter and soil biogeochemistry*. *Soil Biology and Biochemistry* (Vol. 88, pp. 441–456). Elsevier BV.

Tedersoo, L., & Smith, M. E. (2013). *Lineages of ectomycorrhizal fungi revisited: Foraging strategies and novel lineages revealed by sequences from belowground*. *Fungal Biology Reviews* (Vol. 27, Issues 3–4, pp. 83–99). Elsevier BV.

\*Terrer, C., Vicca, S., Hungate, B. A., Phillips, R. P., & Prentice, I. C. (2016). *Mycorrhizal association as a primary control of the CO<sub>2</sub> fertilization effect*. *Science* (Vol. 353, Issue 6294, pp. 72–74). American Association for the Advancement of Science (AAAS).

\* Thurston, C. F. (1994). *The structure and function of fungal laccases*. *Microbiology* (Vol. 140, Issue 1, pp. 19–26). Microbiology Society.

Tien, M., & Kirk, T. K. (1983). *Lignin-Degrading Enzyme from the Hymenomycete *Phanerochaete chrysosporium* Burds*. *Science* (Vol. 221, Issue 4611, pp. 661–663). American Association for the Advancement of Science (AAAS).

Tisserant, E., Kohler, A., Dozolme-Seddas, P., Balestrini, R., Benabdellah, K., Colard, A., Croll, D., Da Silva, C., Gomez, S. K., Koul, R., Ferrol, N., Fiorilli, V., Formey, D., Franken, Ph., Helber, N., Hijri, M., Lanfranco, L., Lindquist, E., Liu, Y., ... Martin, F. (2011). *The transcriptome of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* (DAOM 197198) reveals functional tradeoffs in an obligate symbiont*. *New Phytologist* (Vol. 193, Issue 3, pp. 755–769). Wiley.

Tisserant, E., Malbreil, M., Kuo, A., Kohler, A., Symeonidi, A., Balestrini, R., Charron, P., Duensing, N., Frei dit Frey, N., Gianinazzi-Pearson, V., Gilbert, L. B., Handa, Y., Herr, J. R., Hijri, M., Koul, R., Kawaguchi, M., Krajinski, F., Lammers, P. J., Masclaux, F. G., ... Martin, F. (2013). *Genome of an arbuscular mycorrhizal fungus provides insight into the oldest plant symbiosis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* (Vol. 110, Issue 50, pp. 20117–20122). *Proceedings of the National Academy of Sciences*.

\*Treseder, K. K. (2004). *A meta-analysis of mycorrhizal responses to nitrogen, phosphorus, and atmospheric CO<sub>2</sub> in field studies*. *New Phytologist* (Vol. 164, Issue 2, pp. 347–355). Wiley.

Uzcategui, E., Johansson, G., Ek, B., & Pettersson, G. (1991a). *The 1,4-β-d-glucan glucanohydrolases from *Phanerochaete chrysosporium*. Re-assessment of their significance in cellulose degradation mechanisms*. *Journal of Biotechnology* (Vol. 21, Issues 1–2, pp. 143–159). Elsevier BV.

Uzcategui, E., Ruiz, A., Montesino, R., Johansson, G., & Pettersson, G. (1991b). *The 1,4-β-d-glucan cellobiohydrolases from *Phanerochaete chrysosporium*. I. A system of synergistically acting enzymes homologous to *Trichoderma reesei**. *Journal of Biotechnology* (Vol. 19, Issues 2–3, pp. 271–285). Elsevier BV.

Vaaje-Kolstad, G., Westereng, B., Horn, S. J., Liu, Z., Zhai, H., Sørli, M., & Eijsink, V. G. H. (2010). *An Oxidative Enzyme Boosting the Enzymatic Conversion of Recalcitrant Polysaccharides*. *Science* (Vol. 330, Issue 6001, pp. 219–222). American Association for the Advancement of Science (AAAS).

Voet, D., & Voet, J. G. (2011). *Biochemistry*. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons.

Warner, A., & Mosse, B. (1980). *Independent spread of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in soil*. Transactions of the British Mycological Society, (Vol. 74, Issue 2, pp. 407-410).

\*Ward, E. B., Duguid, M. C., Kuebbing, S. E., Lendemer, J. C., & Bradford, M. A. (2022). *The functional role of ericoid mycorrhizal plants and fungi on carbon and nitrogen dynamics in forests*. New Phytologist. Wiley.

\*Wong, D. W. S. (2008). *Structure and Action Mechanism of Ligninolytic Enzymes*. Applied Biochemistry and Biotechnology (Vol. 157, Issue 2, pp. 174–209). Springer Science and Business Media LLC.

\*Worrall, J. J., Anagnost, S. E., & Zabel, R. A. (1997). *Comparison of wood decay among diverse lignicolous fungi*. Mycologia (Vol. 89, Issue 2, pp. 199–219). Informa UK Limited.

Yin, H., Wheeler, E., & Phillips, R. P. (2014). *Root-induced changes in nutrient cycling in forests depend on exudation rates*. Soil Biology and Biochemistry (Vol. 78, pp. 213–221). Elsevier BV.

Yoshida, H. (1883). *LXIII.—Chemistry of lacquer (Urushi). Part I. Communication from the Chemical Society of Tokio*. J. Chem. Soc., Trans. (Vol. 43, Issue 0, pp. 472–486). Royal Society of Chemistry (RSC).

Zhang, F., Anasontzis, G. E., Labourel, A., Champion, C., Haon, M., Kemppainen, M., Commun, C., Deveau, A., Pardo, A., Veneault-Fourrey, C., Kohler, A., Rosso, M., Henrissat, B., Berrin, J., & Martin, F. (2018). *The ectomycorrhizal basidiomycete Laccaria bicolor releases a secreted  $\beta$ -1,4 endoglucanase that plays a key role in symbiosis development*. New Phytologist (Vol. 220, Issue 4, pp. 1309–1321). Wiley.