

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Michal Balín

Regulace příjmu fosfátu strigolaktony

Regulation of phosphate uptake by strigolactones

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Radomíra Vaňková, CSc.

Praha 2015

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, 20. 03. 2015

Michal Balín

Poděkování

V následujících řádcích bych chtěl poděkovat své školitelce RNDr. Radomíře Vaňkové, CSc. za čas, který při čtení mé práce strávila, a za všechny podněty a rady, které mi průběhem práce dávala. Také bych jí chtěl poděkovat za příjemné přijetí do pracovního kolektivu v Laboratoři hormonálních regulací u rostlin AV ČR. V souvislosti s předchozími řádky bych chtěl také jmenovitě poděkovat Mgr. Sylvě Přerostové, za odborné konzultace v průběhu psaní práce a také za trpělivost a odbornou pomoc v průběhu mé práce v laboratoři. Bez jejich pomoci by tato práce nikdy nevznikla.

Dále bych chtěl poděkovat své rodině za velkou podporu v průběhu studií.

Abstrakt

Bakalářská práce se zabývá reakcemi rostlin na nízké množství dostupného fosfátu, který je pro rostlinu esenciální živinou. V regulaci odezvy hrají důležitou roli rostlinné hormony strigolaktony, které ovlivňují vývoj celé rostliny. Jejich biosyntéza při působení fosfátového stresu vzrůstá. Tato práce se skládá ze tří základních částí. První část je zaměřená na fosfor, jeho sloučeniny a dostupnost v prostředí. Druhá se věnuje především stresu způsobenému nedostatkem dostupného fosfátu – jeho vnímání rostlinami, adaptacím na stres a signalizaci jak lokální, tak na dlouhé vzdálenosti. Pozornost je zde věnována i dalším fytohormonům, zejména auxinům, cytokininům, giberelinům, etylénu, kyselině abscisové a dalším signálním molekulám jako je sacharóza, samotná molekula fosfátu nebo mikroRNA. Třetí část se zabývá výhradně strigolaktony, jejich strukturou, biosyntézou, signalizací a mechanismem účinku v průběhu stresu.

Klíčová slova: fosfát, nedostatek, strigolakton, fytohormony, stres

Abstract

This Bachelor thesis is focused on the reactions of plants to low levels of available phosphorus, which is essential element for plant nutrition. In the context of plant stress, plant hormones strigolactones play very important role. Strigolactones influence growth and development of the whole plant. Biosynthesis of strigolactones increases under phosphate deficiency. This thesis consists of three parts. The first part is concentrated on phosphorus, its compounds and its availability in the environment. The second part is mainly dedicated to phosphate stress – its sensing by plants, their adaptations to stress and local as well as long distance signalling. Attention is also paid to phytohormones, namely auxins, cytokinins, gibberellins, ethylene, abscisic acid and other signal molecules, like sucrose, the phosphate molecule itself and microRNAs. The third part is focused mainly on the structure, biosynthesis, signal transduction and the mode of action of strigolactones during phosphate stress.

Keywords: phosphate, deficiency, strigolactone, phytohormones, stress

Seznam použitých zkratek

ABA	kyselina abscisová	<i>abscisic acid</i>
ABI	fosfatáza – represor signálu ABA	<i>ABA-insensitive</i>
AHK	histidinová kináza u <i>Arabidopsis</i>	<i>Arabidopsis histidine kinase</i>
AM	arbuskulární mykorhiza	<i>arbuscular mycorrhiza</i>
ARF	transkripční faktor, regulátor odezvy auxinu	<i>auxin response factor</i>
ARR	regulátor odezvy cytokininů	<i>Arabidopsis response regulator</i>
AUX	auxin	<i>auxin</i>
AUX/IAA	represor signálu auxinu (ko-receptor)	<i>auxin/indole-3-acetic acid</i>
BR	brassinosteroid	<i>brassinosteroid</i>
CCD	oxygenáza štěpící karotenoidy	<i>carotenoid cleavage dioxygenase</i>
CTR	kináza – represor signálu etylénu	<i>constitutive triple response</i>
D14/D53	α/β hydroláza – ko-receptor strigolaktonů	<i>dwarf14/ dwarf53</i>
DELLA	represor giberelinové odpovědi	<i>protein containing DELLA aminoacid</i>
EIN	součást signální dráhy etylénu	<i>ethylene insensitive</i>
ERS	receptor etylénu	<i>ethylene response sensor</i>
ET	etylén	<i>ethylene</i>
ETR	receptor etylénu	<i>ethylene receptor</i>
GID	giberelinový receptor	<i>gibberelin-insensitive dwarf</i>
IAA	kyselina indol-3-octová	<i>indole-3-acetic acid</i>
JA	kyselina jasmonová	<i>jasmonic acid</i>
MAX2	F-box protein – receptor strigolaktonů	<i>more axillary branches 2</i>
MAX 1,3,4	oxygenázy – enzymy biosyntézy strigolaktonů	<i>more axillary branches</i>
miRNA	mikroribonukleová kyselina	<i>micro-ribonucleic acid</i>
NLA	ubiquitinová ligáza	<i>nitrogen limitation adaptation</i>
OST	SnRK2 kináza – regulátor odezvy ABA	<i>open stomata</i>

P	fosfor	<i>phosphorus</i>
Phi	fosfit	<i>phosphite</i>
PHO2	ubiquitinová ligáza	<i>phosphate 2</i>
PHT	transportér fosfátu s vysokou afinitou	<i>high-affinity P_i transporter</i>
PP2C	proteinová fosfatáza typu 2C	<i>protein phosphatases 2C</i>
P _i	fosfát (anorganický)	<i>phosphate (inorganic)</i>
PSR	gen odpovědi na nedostatek fosfátu	<i>phosphate starvation-responsive</i>
PT	fosfátový transportér	<i>phosphate transporter</i>
PYR	receptor kyseliny abscisové	<i>pyrabacin resistance</i>
PYL	receptor kyseliny abscisové	<i>pyrabacin resistance-like</i>
RSA	architektura kořenového systému	<i>root system architecture</i>
SA	kyselina salicylová	<i>salicylic acid</i>
SAP	exsudované kyselé fosfatázy	<i>secreted acid phosphatase</i>
SCF ^{MAX2}	komplex ubiquitinové ligázy	<i>skp1, cullin, F-box komplex</i>
SL	strigolakton	<i>strigolactone</i>
SMXL	D53 hydroláza – represor signálu strigolaktonů	<i>smxl1-like</i>
SnRK2	kináza typu SnRK2	<i>snfl-related kinase 2</i>
TIR1	ubiquitinová ligáza – receptor auxinu	<i>transport inhibitor response 1</i>
TPL/TPR	represory transkripce – regulátory odezvy	<i>topless/topless co-repressors</i>

Obsah

Úvod.....	10
1 Fosfor, jeho dostupnost v prostředí a význam pro rostliny	11
1.1 Interakce rostlin a prostředí.....	11
1.2 Fosfor	11
1.2.1 Formy fosforu a jeho dostupnost.....	11
2 Stres způsobený nedostatkem fosforu	13
2.1 Vnímání deficitu P_i	13
2.2 Adaptace na deficit P_i	13
2.3 Signalizace deficitu P_i	14
2.3.1 Fytohormony	14
2.3.2 Lokální signalizace nedostatku P_i	14
2.3.2.1 Auxiny (AUX)	15
2.3.2.2 Cytokininy (CK)	16
2.3.2.3 Gibereliny (GA).....	16
2.3.2.4 Etylén (ET).....	17
2.3.2.5 Kyselina abscisová (ABA).....	17
2.3.2.6 Strigolaktony (SL)	17
2.3.3 Systémová signalizace nedostatku P_i	18
2.3.3.1 Transport pomocí xylému	18
2.3.3.2 Transport pomocí floému.....	19
2.4 Rostliny a nadbytek P_i	20
3 Strigolaktony	22
3.1 Úvod do problematiky strigolaktonů.....	22
3.2 Struktura strigolaktonů	22
3.3 Biosyntéza strigolaktonů	23
3.4 Signální dráha strigolaktonů.....	24

3.5	Změny vyvolané vyšším množstvím strigolaktonů.....	25
4	Závěr.....	26
5	Seznam použité literatury	27

Úvod

Tmavé zbarvení listů, zmenšení listové plochy či počtu listů, snížená efektivita fotosyntézy a změna v morfologii kořenového systému - tyto ale i mnohé další jevy jsou projevem deficiencie esenciální živiny fosforu.

Fosfor hraje důležitou úlohu ve stavbě živých organismů. Pro rostliny je nezbytnou, často limitující minerální živinou, jejíž zásoby v přírodě mají neobnovitelný charakter. Při sklizení plodin z polí se velká část fosforu z přírody odebírá. Proto v zájmu udržitelnosti zemědělských systémů je nezbytné obohacovat půdu tímto prvkem.

Zvýšení efektivity využití P získaného z půdy může pozitivně ovlivnit tvorbu biomasy a výnos z hektaru i při současné nebo dokonce nižší spotřebě fosfátových hnojiv (Zhang *et al.*, 2014). Roční světová spotřeba fosforečných hnojiv přesahuje 47 miliónů tun a každým rokem roste, zatímco jejich zásoby klesají (FAO, 2012). Vhodnou strategií jak snížit spotřebu fosforečných hnojiv je vyšlechtit rostliny, které budou schopny efektivněji fosfor využít. Důležitým předpokladem je ovšem poznání, jak rostliny vnímají jeho nedostatek a jak na něj reagují. Případně zjištění, jak jsou schopné se vyrovnat s jeho nedostatkem. Jako perspektivní se v této problematice ukazuje být působení fytohormonů, zapojených do stresových reakcí během nedostatku fosfátu (P_i) v rostlinách.

Hlavním cílem této bakalářské práce je nastínit problematiku příjmu a využití fosforu rostlinami za použití současné vědecké literatury. Práce sestává ze tří základních částí. První část práce je zaměřena na fosfor, jeho formy a dostupnost pro rostliny. Druhá část zahrnuje mechanismy vnímání a reakce rostlin na jeho nízké množství a dostupnost. Následuje signalizace nedostatku P na krátkou vzdálenost, probíhající pomocí rostlinných hormonů a její působení na anatomii a fyziologii rostlin. Tuto kapitulu uzavírá signalizace na dlouhé vzdálenosti prostřednictvím floémového a xylémového toku a dále reakce rostlin na vysokou hladinu P_i . V poslední, třetí části práce je pozornost věnována strigolaktonům, hormonům, jejichž funkcí je především zvýšení příjmu fosfátu, podpora tvorby laterálních kořenů a kořenového vlášení a inhibice růstu nadzemních částí. Po přemístění rostlin z prostředí s dostatkem P_i do prostředí s jeho nedostatkem biosyntéza těchto fytohormonů vzrůstá. V práci je popsána struktura strigolaktonů, jejich biosyntéza, signalizace a jejich výsledný vliv na rostlinu.

1 Fosfor, jeho dostupnost v prostředí a význam pro rostliny

1.1 Interakce rostlin a prostředí

Rostliny jsou přisedlé organizmy. Příjem prvků potřebných pro biochemické, buněčné, fyziologické a vývojové procesy probíhá především pomocí kořenů, ale může probíhat i celým povrchem rostliny. Množství prvků přijatých rostlinou nemusí být limitováno jejich absolutním množstvím v půdě, ale i jejich dostupností pro rostliny. Z chemických a fyzikálních vlastností půdy je pro příjem prvků rostlinou důležitá její struktura, zrnitost, obsah vzduchu, obsah vody a pH. K uvolnění prvků z nerozpustných solí přispívá snížení pH půdy prostřednictvím kyselin, které rostlina vylučuje do rhizosféry. Neméně důležité jsou také morfologické přestavby kořenového systému, které umožňují zvýšit množství kořenů a kořenového vlášení v místech bohatých na živiny. Další alternativou jsou symbiotické vztahy s některými houbami (oddělení *Glomeromycota*), které napomáhají s příjmem živin.

1.2 Fosfor

Fosfor (P) je považován za esenciální prvek, nepostradatelný pro rostliny. V půdě se vyskytuje ve velmi nízkých koncentracích, nerovnoměrně rozptýlený a z větší části nerozpustný. Jeho sloučeniny se v půdě pomalu pohybují – rostlina přijme maximálně 5 % potřebného fosforu pomocí vztaku vytvořeného kořenem. Zbylý fosfor se ke kořenům musí dostat za pomoci difúze, která je v případě sloučenin fosforu také velmi pomalá a při snižující se vlhkosti se ještě více zpomaluje (Clarkson, 1981). Fosfor je ovšem nezbytný pro mnoho složek rostlinné buňky a pro jejich fungování. P obsahují například deoxyribonukleové kyseliny (DNA), ribonukleové kyseliny (RNA), fosfoproteiny, fosfolipidy, cukry, adenosintrifosfát (ATP), adenosindifosfát (ADP), nikotinamidadenindinukleotidfosfát (NADPH) (Bialeski, 1973; Linkohr *et al.*, 2002). Rostliny za běžných podmínek obsahují okolo 2000 mg P v 1 kg sušiny (Salisbury & Ross, 1992).

1.2.1 Formy fosforu a jeho dostupnost

Fosfor se v půdě vyskytuje jak ve formách organických fosfátů, tak v anorganických formách jako fosforečnan (PO_4^{3-}) a polyfosforečnany (s valenčním číslem P^{+5}) a v dalších formách s valencemi P^{-3} , P^{+3} i P^{+4} (Marschner, 1995). Anorganický fosfor se stává pro rostliny dostupným pouze jako fosforečnanový anion. Rostliny ovšem mohou získávat fosfor rovněž z organických sloučenin (Cheng *et al.*, 2011). Aby rostliny mohly využít organický fosfor, musí být hydrolyzovaný nebo mineralizovaný do podoby iontů H_2PO_4^- a HPO_4^{2-}

Regulace příjmu fosfátu strigolaktony

(Hagen & Hopkins, 1955). Právě za tímto účelem rostliny do svého bezprostředního okolí vylučují organické kyseliny a kyselé fosfatázy, které jim napomáhají fosfor přijímat (Cheng *et al.*, 2011). Mezi organické kyseliny patří především citrát a malát. Tyto kyseliny vytěsní fosfát z anorganických sloučenin P. Tím se stává P dostupným (Gerke *et al.*, 2000). Z organických sloučenin se P získává hydrolýzou pomocí fosfatáz, mezi které patří např. fytáza, která je schopná štěpit kyselinu fytovou. Tyto strategie jsou pro rostlinu velmi energeticky náročné (George *et al.*, 2002). Přijatý P_i je následně pomocí přenašeče PHT (*high-affinity P_i transporter*) rozveden po celé rostlině (Karthikeyan *et al.*, 2002). Většina přijatého P_i je transportována do vakuol, kde může být uloženo až 95 % přijatého P_i v buňce a které fungují jako zásobní rezervoár, ze kterého může rostlina čerpat při jeho nedostatku (Raghothama, 1999; Pratt *et al.*, 2009). Potřebný P_i mohou rostliny získávat také pomocí arbuskulární mykorhizy (AM), kterou tvoří s některými druhy hub z oddělení *Glomeromycota* (Ruyter-Spira *et al.*, 2013). Klíčovým krokem ke kolonizaci kořenů rostlin je vylučování rostlinného hormonu strigolaktonu, který napomáhá houbovým hyfám směřovat jejich růst (Parniske, 2008). Systém houbových hyf několikanásobně zvětšuje prostor, ze kterého může rostlina čerpat P_i . Houba ho poskytuje rostlině výměnou za uhlík fixovaný rostlinou (Richardson & Simpson, 2011). Nepostradatelná je také recyklace P_i , která probíhá na úkor stárnoucích listů ve prospěch vzrostného vrcholu. U *Hakea prostrata* se tímto způsobem může remobilizovat až 80 % P_i obsaženého v listech (Shane *et al.*, 2014).

2 Stres způsobený nedostatkem fosforu

2.1 Vnímání deficitu P_i

Růst a vývoj rostlin je regulován jak endogenními faktory (zejména rostlinnými hormony), tak interakcí s vnějším prostředím. Rostliny vnímají podněty a spouští signální dráhy, které přenášejí informace a stimulují odpovídající odezvy. Receptory pro P_i jsou v cytoplazmě i na plazmatické membráně. Pro vnímání P_i rostlinou jsou známy dvě dráhy - první závisí na vnější koncentraci P_i , která je vnímána především v oblasti kořenové čepičky, a vyvolává lokální signalizaci. Druhá je ovlivněna množstvím P_i v celé rostlině a spouští signalizaci na dlouhé vzdálenosti a systemickou signalizaci (Thibaud *et al.*, 2010; Chiou & Lin, 2011).

Pokus provedený na rostlinách *Arabidopsis thaliana* prokázal, že rostliny pěstované na dvou médiích s rozdílnou koncentrací fosfátu, 2500 $\mu\text{M } P_i$ a 125 $\mu\text{M } P_i$, mají po přenesení do média bez dostupného P_i rozdílnou dobu reakce na P_i deficit. Rostliny pěstované v médiu s 125 $\mu\text{M } P_i$ mnohem rychleji reagovaly na nedostatek dostupného P_i , což mělo za následek vyšší expresi *PSR* genů (*phosphate starvation-responsive gene*; Lai *et al.*, 2007).

2.2 Adaptace na deficit P_i

Vystavení rostlin nízkým koncentracím dostupného P_i vede k řadě adaptivních odpovědí. Odezvy zahrnují změny v morfologii a stavbě kořene, zvýšení množství vylučovaných organických kyselin a fosfatáz (Marschner, 1995) a také stimulaci exprese vysokoafinitních přenašečů P_i (Karthikeyan *et al.*, 2002). Některé druhy, jako např. lupina bílá (*Lupinus albus*), vytváří při nedostatku P_i větší množství kratších laterálních kořenů, přičemž některé rostliny jsou schopny tvořit tzv. proteoidní kořeny, které se skládají z velmi hustých kořenových vlásků. Tím se zvětšuje plocha rhizosféry (Lambers *et al.*, 2011). Všechny tyto změny jsou způsobeny expresí *PSR* genů.

Při nedostatku P_i probíhají změny i v nadzemní části. Jednou z reakcí je zvýšená akumulace glukózy a škrobu v listech. K mírnému snížení dochází v listech naopak v případě sacharózy (Ciereszko *et al.*, 2001). Rostliny transportují sacharózu z listů do kořenů, čímž se zvyšuje množství uhlíku a stimuluje růst kořenů. Dochází ke změně poměru mezi kořeny a prýtem ve prospěch kořene (Liu *et al.*, 2005). Další odpovědí na P_i stres je snížení fotosyntetické aktivity (Fredeen *et al.*, 1990). Zvyšuje se také recyklace P_i ze stárnoucích listů (Shane *et al.*, 2014).

2.3 Signalizace deficitu P_i

Signalizace P_i deficitu je velmi komplexní, je těžké rozlišit lokální a systémovou složku signalizace. Rostlina při signalizaci využívá fytohormony, mikroRNA (miRNA), proteiny, sacharózu, ale třeba i samotnou molekulu P_i . Všechny tyto látky rostlinám pomáhají vyrovnávat se se stresovým prostředím (Chiou & Lin, 2011; Zhang *et al.*, 2014).

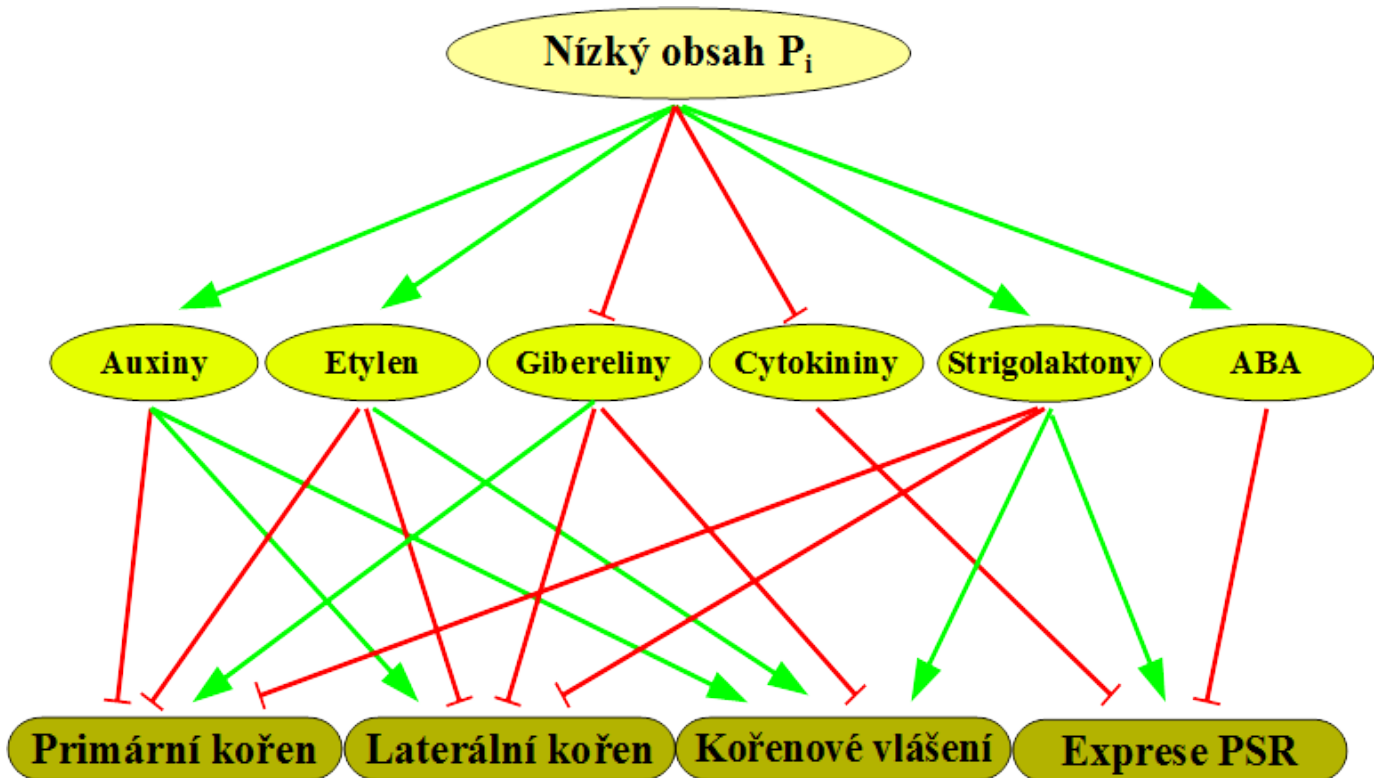
2.3.1 Fytohormony

Fytohormony, neboli rostlinné hormony, jsou aktivní látky, které regulují růst a vývoj celé rostliny. Tyto látky působí ve velmi nízkých koncentracích, řádově 10^{-12} až 10^{-5} M. Jejich účinky jsou pleiotropní, jednotlivé fytohormony ovlivňují řadu procesů. Současně jeden proces je ovlivňován několika fytohormony (Srivastava, 2002).

Rostlinné hormony lze rozdělit podle několika kritérií. Pro účel této práce je nejvhodnější rozdělení na „stresové hormony“, do kterých patří kyselina abscisová (ABA), etylén (ET), kyselina jasmonová (JA), kyselina salicylová (SA), a na skupinu „pozitivních růstových regulátorů“, které zahrnují auxiny (AUX), cytokininy (CK), gibbereliny (GA), brassinosteroidy (BR) a strigolaktony (SL). Hormony náležející do „pozitivních růstových regulátorů“ se vyznačují tím, že podporují buněčné dělení a růst, ovlivňují vitalitu a stimulují vývoj rostlin. Naopak „stresové hormony“ hrají velkou roli při obraně proti biotickým a abiotickým stresům, což je zpravidla spojeno s inhibicí buněčného dělení a potlačením růstu. Omezení růstu je nezbytné pro přesměrování zdrojů energie pro obranné reakce (Vaňková, 2010).

2.3.2 Lokální signalizace nedostatku P_i

Lokální signalizace nedostatku P_i se účastní AUX, CK, ET, SL, GA a ABA. Hormony mají vliv na expresi *PSR* (*phosphate starvation response*) genů (Vaňková, 2010; Chiou & Lin, 2011; Zhang *et al.*, 2014). Tyto geny následně způsobují přestavbu kořenové struktury (*RSA-root system architecture*), spočívající v potlačení růstu primárního kořene a zvýšení růstu laterálních kořenů a tvorby kořenových vlásků..



Obr. 1: Hormonální odpověď kořene v podmínkách P_i stresu. Rostliny při nedostatku P_i zvyšují biosyntézu auxinů, etylénu, strigolaktonů a kyseliny abscisové. Produkce giberelinů a cytokininů se naopak snižuje. Hormony ovlivňují růst primárního kořene, laterálních kořenů v blízkosti hypokotylu, kořenových vlásků a také expresi *PSR* genů. V tomto schématu je znázorněn vliv jednotlivých fytohormonů na růst kořene a expresi *PSR* genů (upraveno podle Zhang *et al.*, 2014)

2.3.2.1 Auxiny (AUX)

Auxiny jsou rostlinné hormony, které stimulují prodlužování buněk, regulují gravitropickou a fototropickou odpověď a inhibují vývoj axilárních meristémů. Přírodními auxiny jsou kyselina indol-3-octová, kyselina indol-3-máselná, kyselina 4-chlorindol-3-octová a kyselina fenylactová. Jejich struktura je odvozená převážně od tryptofanu (Davies, 1995).

Auxiny se váží na receptor TIR1 (*transport inhibitor response 1*) a vytváří komplex s auxinovými represory z rodiny AUX/IAA (*auxin/indole-3-acetic acid*). Tvorba komplexu stimuluje degradaci represoru proteasomem. Degradace represoru umožňuje nasednutí transkripčních faktorů ARF (*auxin response factors*) na promotory genů indukovaných auxiny. Jejich exprese umožní, mimo jiné, změny v architektuře RSA (Pérez Torres *et al.*, 2008).

Působení auxinů při P_i stresu způsobuje přestavbu RSA, která zahrnuje především inhibici růstu primárního kořene, podporu růstu laterálních kořenů a podporu tvorby kořenového vlášení (Obr. 1). Není ovšem jasné, do jaké míry jsou změny v RSA ovlivněny zvýšenou hladinou auxinů, nebo zvýšenou citlivostí vůči tomuto hormonu (López-Bucio *et al.*, 2002).

2.3.2.2 Cytokininy (CK)

Cytokininy stimulují především dělení buněk a potlačují apikální dominanci. Struktura cytokininů je odvozena od adeninu, který má navázanou postranní skupinu na N^6 . Příkladem může být *trans*-zeatin a isopentenyladenin (Davies, 1995).

Cytokininy se váží na receptory AHK2, AHK3, AHK4 (*Arabidopsis histidine kinase*), dvousložkové histidinové kinázy. Vazba cytokininů vyvolá konformační změny, které vedou k autofosforylaci a ke sledu fosforylačních reakcí. To má za následek aktivaci transkripčních faktorů ARR typu-B (*Arabidopsis response regulator*) a expresi genů indukovaných cytokininy (Aoyama & Oka, 2003; Yonekura-Sakakibara *et al.*, 2004).

Za nepříznivých podmínek způsobených nedostatkem dostupného P_i hladina endogenních cytokininů klesá. Exogenní aplikace cytokininu má za následek potlačení odpovědi *PSR* genů (Obr. 1; Martín *et al.*, 2000).

2.3.2.3 Gibereliny (GA)

Gibereliny způsobují prodlužování stonku, stimulují kvetení a klíčení semen. Jejich struktura je odvozena od diterpenoidních kyselin. Zástupcem giberelinů je např. kyselina giberelová (Davies, 1995).

Gibereliny se váží na jaderný protein GID1 (*gibberelin-insensitive dwarf 1*) a vytváří komplex s represory DELLA, které jsou poté degradovány proteasomem. Tím se umožní exprese genů giberelinové odpovědi (Ueguchi-Tanaka *et al.*, 2005).

Nízká hladina P_i vede k snížení hladiny giberelinu, což má za následek hromadění DELLA proteinů. To způsobuje charakteristické změny v RSA (jako je inhibice růstu primárního kořene, stimulace růstu laterálních kořenů a kořenového vlášení - Obr. 1) a také může být stimulována akumulace antokyanů. Vliv DELLA proteinů na expresi *PSR* nebyl pozorován. Exogenní aplikace giberelinů dokáže potlačit odezvu na P_i stres (Jiang *et al.*, 2007).

2.3.2.4 Etylén (ET)

Etylén je rostlinný hormon, který se přirozeně vyskytuje v plynné formě. Jeho účinky na rostlinu se projevují inhibicí prodlužování buněk, stimulací radiálního růstu, ztrátou gravitropismu a navození zrání u plodů. Etylén je syntetizován z methioninu (Davies, 1995).

Etylén se váže na receptor ETR1 (*ethylene receptor 1*), který je dvousložkovou histidinovou kinázou, případně na receptory ERS1, ETR2, ERS2 a EIN4. Navázáním dojde k deaktivaci kinázy CTR1 (*constitutive triple response*) a odštěpení cytoplazmatické části transmembránového proteinu EIN2. Tato část EIN2 je transportována do jádra, kde aktivuje transkripční faktor EIN3, který spustí expresi etylénem řízených genů (Guzmán & Ecker, 1990; López-Bucio *et al.*, 2002; Merchante *et al.*, 2013).

Kořeny fazolu (*Phaseolus vulgaris*) rostoucí při nedostatku P_i produkují dvakrát více etylénu než kořeny rostoucí v prostředí s dostupným P_i (Borch *et al.*, 1999). Etylémem vyvolané změny v RSA jsou charakteristické inhibicí růstu primárního kořene (Ma *et al.*, 2003), inhibicí prodlužování laterálních kořenů (López-Bucio *et al.*, 2002) a podporou růstu kořenového vlášení (Obr. 1; Zhang *et al.*, 2003).

2.3.2.5 Kyselina abscisová (ABA)

ABA reguluje vodní hospodaření rostlin a udržuje dormanci semen a pupenů. Strukturně se ABA řadí mezi seskviterpeny (Davies, 1995).

ABA se váže na receptory PYR/PYL (*pyrabacin resistance, pyrabacin resistance-like*) a následně vytváří komplex s fosfatázou PP2C (*protein phosphatases 2C*, např. ABI1, ABI2; *ABA-insensitive*). Tím je umožněna fosforylace kináz typu SnRK2 (*Snfl-related kinase 2*, např. OST1; *open stomata*), která aktivuje transkripční faktory a iontové kanály (Soon *et al.*, 2012).

Kyselina abscisová má úlohu při potlačování exprese některých *PSR* genů při P_i deficitu (Obr. 1; Ribot *et al.*, 2008), ale nemá zásadní vliv na reakci rostliny na P_i stres (Trull *et al.*, 1997).

2.3.2.6 Strigolaktony (SL)

Strigolaktony jsou rostlinné hormony, které hrají klíčovou roli při kolonizaci kořene symbiotickými houbami. Dále inhibují růst nadzemní části rostliny a podporují růst kořenů. Strukturně jsou strigolaktony odvozeny od karotenoidů. Mezi jejich zástupce patří např. orobanchol a strigol (Davies, 1995).

Dle současných poznatků strigolaktony zprostředkují interakci mezi F-box proteinem (MAX2) a α/β hydrolázou (D14), čímž je stimulována degradace transkripčních represorů (Ruyter-Spira *et al.*, 2013). Více v kapitole 3.

U mnoha rostlinných druhů jako je např. rýže (Umehara *et al.*, 2010), rajče (López-Ráez *et al.*, 2008) a bobovité rostliny (Yoneyama *et al.*, 2008), bylo potvrzeno, že biosyntéza strigolaktonů značně vzrůstá při P_i deficitu. Strigolaktony poté inhibují růst primárního kořene (Ruyter-Spira *et al.*, 2011) a laterálních kořenů (Mayzlish-Gati *et al.*, 2012). Na kořenové vlášení mají strigolaktony opačný efekt a podporují jeho tvorbu (Obr. 1; Mayzlish-Gati *et al.*, 2012). Strigolaktony také brání růstu pupenů a větvení nadzemní části (Czarnecki *et al.*, 2013).

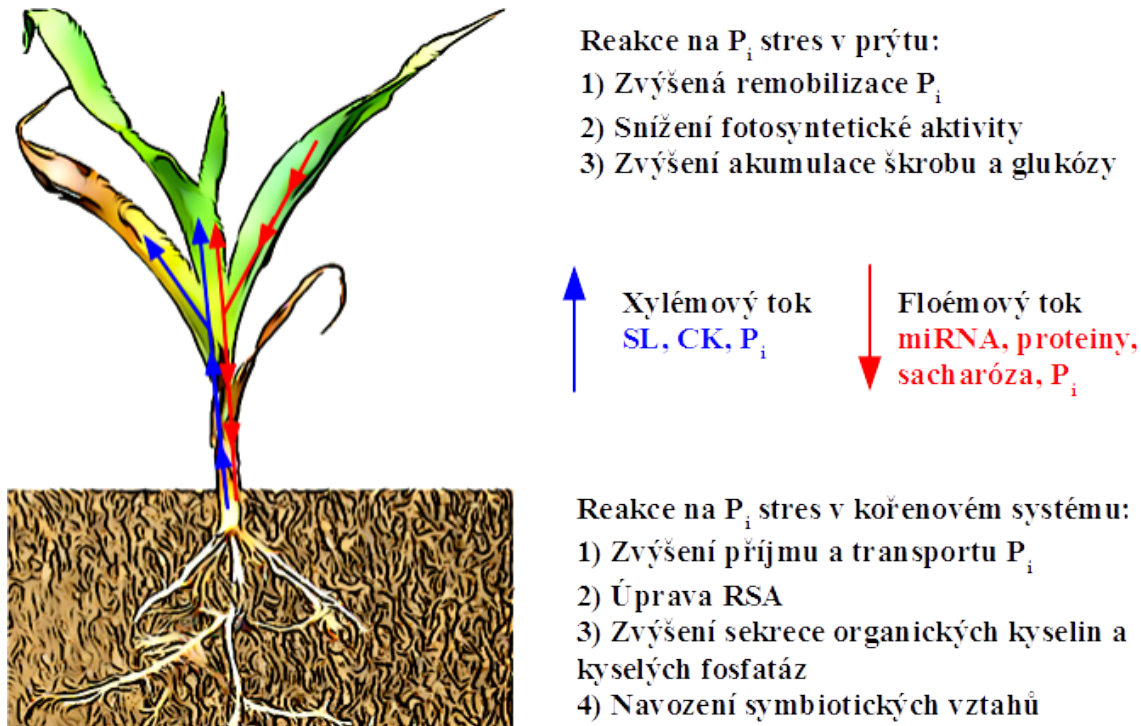
2.3.3 Systémová signalizace nedostatku P_i

Systémová signalizace funguje na dlouhé vzdálenosti. Je zprostředkována pomocí xylémového a floémového toku, které rozvádí signální molekuly po celé rostlině (Lucas *et al.*, 2013).

2.3.3.1 Transport pomocí xylému

Signalizace na dlouhé vzdálenosti za využití xylémového toku je pro rostlinu nezbytná z důvodu přenosu signálu z kořene do nadzemní části. Cytokininy, strigolaktony a molekuly P_i fungují jako hlavní signální molekuly transportované xylémem při nedostatku P_i (Obr. 2; Zhang *et al.*, 2014).

Kohlen *et al.* (2011) zjistili, že se snížením množství P_i v médiu dochází k transportu strigolaktonů xylémovým proudem do prýtu, kde následně potlačují větvení prostřednictvím stimulace *PSR* genů. Naopak cytokininy, které jsou také při P_i stresu transportovány pomocí xylému do nadzemní části, v prýtu na rozdíl od strigolaktonů potlačují odpověď *PSR* genů (Martín *et al.*, 2000). V případě fosfátu, jakožto další molekuly transportované na dlouhé vzdálenosti, vnímá rostlina v nadzemní části jeho hladinu. Ta sama o sobě funguje jako signál, jak bylo zjištěno při pokusech s fosfitem (Phi ; H_2PO_3^-). Fosfit se využívá jako analog P_i , který nemůže být metabolizován ani oxidován do rostlinami využitelné formy P_i . Může být pouze transportován pomocí P_i transportérů a prostřednictvím kompetice blokovat P_i receptory. Tím nastává situace, kdy zvýšená hladina Phi „zakrývá“ nedostatek P_i a specificky potlačuje expresi *PSR* genů (Carswell *et al.*, 1997; Varadarajan *et al.*, 2002; Danova-Alt *et al.*, 2008).



Obr. 2: Reakce rostlin na působení P_i stresu. Rostliny při působení P_i stresu navozují mnoho změn. Tyto změny jsou však rozdílné v prýtu a v kořenech rostlin. V prýtu se zvýší remobilizace P_i , který je následně transportován do kořene. Sníží se také fotosyntetická aktivita. Dojde i ke zvýšení akumulace glukózy a škrobu v listech, které fungují jako „zásobní rezervoár“. V kořenovém systému dochází ke zvýšení příjmu a transportu P_i . Nastává také úprava RSA (*root system architecture*) zahrnující především inhibici růstu primárního kořene a stimulaci růstu kořenového vlášení. Dále dochází k sekreci organických kyselin, které napomáhají příjmu P_i . Za účelem zvýšení příjmu P_i dochází také k navození symbiotických vztahů s houbovými hyfami. V obrázku je také znázorněn xylémový a floémový tok. V xylémovém toku jsou transportovány signální molekuly, jako jsou strigolaktony, cytokininy a molekuly P_i . Floémový tok transportuje především molekuly jako je mikroRNA, sacharóza, P_i a některé proteiny.

2.3.3.2 Transport pomocí floému

Signalizace na dlouhé vzdálenosti probíhá také pomocí floému (Lough & Lucas, 2006). Floém přenáší signální molekuly, jako jsou proteiny, sacharóza, miRNA a P_i , z oblastí zdroje do místa sinku (Obr. 2; Chiou & Lin, 2011; Lucas *et al.*, 2013).

Mnoho miRNA je rozváděno pomocí floému a fungují jako signál z nadzemní části. V souvislosti s P_i stresem byla popsána důležitá role miR399 (*microRNA399*), jejíž množství se při P_i deficitu zvyšuje (Hsieh *et al.*, 2009). miR399 usnadňuje štěpení mRNA ubiquitinové konjugázy *PHO2* (*phosphate 2*), která snižuje množství transportéru PHT1 (*high-affinity P_i transporter*). Pokud se tedy rostlina vyskytne v prostředí s nedostatkem P_i , zvýší se množství miR399 a tím se pozitivně ovlivňuje množství PHT1. Díky tomu se zvýší rychlost přijímání a transportu dostupného P_i z okolního prostředí (Liu *et al.*, 2012; Liu *et al.*, 2014). Při pokusech

s mutanty *pho2* bylo zjištěno, že při nadbytku dostupného P_i v prostředí, nastává v listech tak vysoká akumulace P_i , že vede až k toxicitě a předčasné senescenci (Delhaize and Randall, 1995).

Při P_i stresu se ve zvýšené míře tvoří a transportuje také miR827 (*microRNA827*). miR827 snižuje množství transkriptu ubiquitinové ligázy *NLA* (*nitrogen limitation adaptation*), čímž se zvyšuje množství PHT1. Následkem toho se podobně jako u miR399 zvýší rychlost transportu a akumulace P_i v rostlině (Hsieh *et al.*, 2009; Lin *et al.*, 2013).

Sacharóza ovlivňuje mnoho různých signálních drah a celkový vývoj rostliny (Wind *et al.*, 2010). Není proto překvapením, že i při P_i deficitních podmínkách sacharóza zprostředkovává odpověď rostliny dvojitým způsobem. Zaprvé funguje jako signální molekula, která spouští signální kaskády a tím ovlivňuje expresi genů. Nejdůležitější geny ovlivňované sacharózou u *Lupinus albus* jsou *LaPT1* (*phosphate transporter 1*) a *LaSAP1* (*secreted acid phosphatase 1*). Díky nim se zvýší transport fosfátu a sekrece kyselých fosfatáz, které napomáhají P_i přijímat. Zadruhé sacharóza slouží jako zdroj uhlíku. Je transportována pomocí floému do kořene, kde je využita pro tvorbu základních stavebních molekul během růstu kořene. Při exogenní aplikaci sacharózy dochází u rostlin ke stejné reakci kořenového systému jako při nedostatku P_i i přesto, že roste v prostředí s dostatečným množstvím P_i . Další zajímavé zjištění je, že pokud se sacharóza nevyskytuje ve floémovém toku, rostlina není schopná reagovat na nedostatek P_i (Liu *et al.*, 2005).

2.4 Rostliny a nadbytek P_i

Fosfát je pro růst a vývoj rostlin nezbytný. Pokud je ovšem koncentrace P_i v rostlinách příliš vysoká, působí na ně toxicky. V běžných podmínkách však k tomuto negativnímu jevu dochází pouze zřídka (rostliny se brání příjmu nadbytečného množství P_i umlčením PHT). Proto se ke studiu této problematiky používají rostliny rostoucí v chudých podmínkách na P. Ideální v tomto ohledu jsou rostliny vyskytující se v západní Austrálii jako například rostliny z čeledi proteovitých (*Proteaceae*; Jeschke & Pate, 1995). Studiu nadbytku fosfátu u rostlin se nevěnuje velká pozornost.

Při pokusech s *Hakea prostrata* v roce 2004, dospěl Michael W. Shane k zajímavým výsledkům. Rostlinám pěstovaným v médiích se stálou koncentrací P v rozmezí od 0 - 1000 $\mu\text{M/l}$ byly odebrány části z mladých a starých listů. Následně byla měřena schopnost fotosyntézy. Výsledkem bylo, že v mladých listech rostlin pěstovaných při vysoké koncentraci P byla čistá fotosyntéza stejně rychlá jako u kontrolních rostlin. U

Regulace příjmu fosfátu strigolaktony

starších listů rostlin pěstovaných při vysoké koncentraci P se však rychlost čisté fotosyntézy snížila (Shane *et al.*, 2004).

Dalším negativním efektem vysoké koncentrace P_i v rostlině *Hakea prostrata* byla rychlá změna barvy listů následovaná předčasnou senescencí. Na některých listech dokonce docházelo k tvorbě specifických bílých útvarů, které procházely skrz průduchy na horní stranu listů. Tyto útvary však obsahovaly pouze stopové množství P_i . Nadbytek P_i v rostlině se projevil i změnou v anatomii listu. Šlo především o drastické snížení mezibuněčného prostoru, které bylo způsobeno zvětšením mezofylových buněk (Shane *et al.*, 2004).

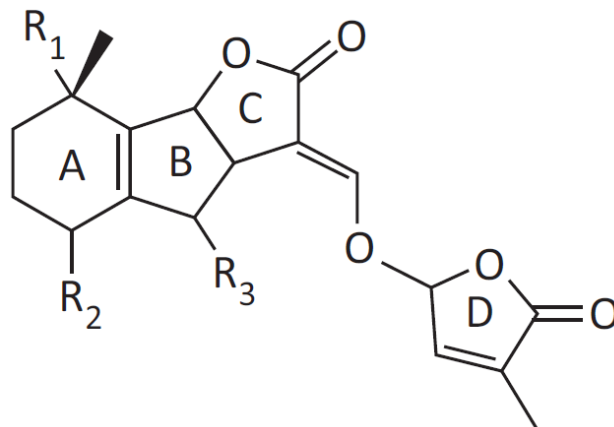
3 Strigolaktony

3.1 Úvod do problematiky strigolaktonů

Strigolaktony (SL) patří k rostlinným hormonům, které byly objeveny v 60. letech (Cook *et al.*, 1966), ale pozornost je jim věnována teprve krátkou dobu. Mají ovšem veliký vliv na růst a vývoj celé rostliny – potlačují větvení prýtu (Gomez-Roldan *et al.*, 2008), potlačují růst laterálních kořenů, podporují elongaci kořenových vlásků (Kapulnik *et al.*, 2011) a hrají klíčovou roli při arbuskulární mykorrhize (Akiyama *et al.*, 2005). Strigolaktony se v rostlinách vyskytují v nízkém množství – v kořenech rýže (*Oryza sativa*) je pouze 20 pg 5-deoxystrigolu, přímého strigolaktonového prekurzoru, na gram čerstvé hmotnosti (Umehara *et al.*, 2008). Do současné doby nebyla zjištěna endogenní hladina strigolaktonů například u *Arabidopsis*. První izolace proběhla z kořenového exsudátu bavlníku (*Gossypium hirsutum*), přičemž bylo zjištěno, že SL stimuluje klíčení semen parazitické rostliny *Striga lutea*. Od této rostliny byl pak odvozen název těchto rostlinných hormonů (Cook *et al.*, 1966).

3.2 Struktura strigolaktonů

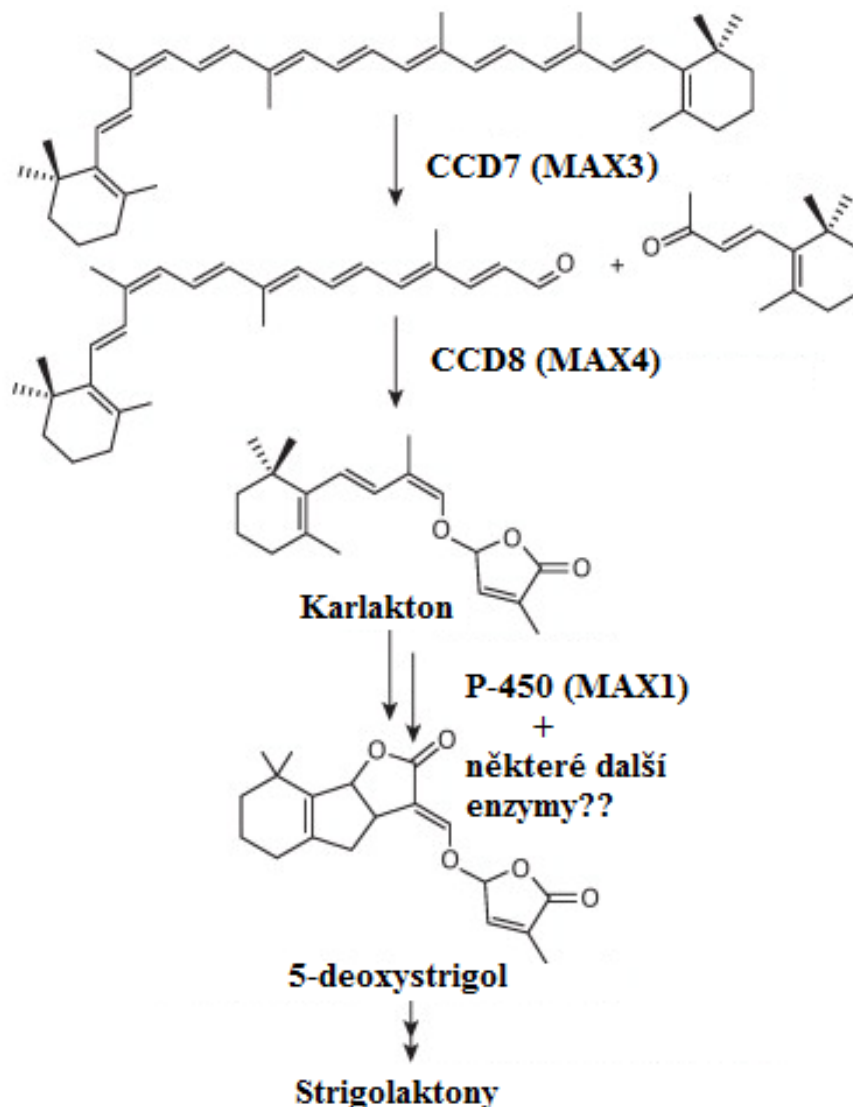
SL jsou deriváty karotenoidů. Jejich struktura se skládá ze 4 kruhů (A – D; Obr. 3). Kruh C a D je považován za biologicky aktivní a bývá velmi konzervovaný, naopak kruhy A a B mohou mít různou strukturu z důvodu různých postranních skupin (Mangnus, 1992). První strigolaktony, strigoly a strigylacetáty, byly izolovány z bavlníku (*Gossypium hirsutum*; Cook, 1972). U zemědělsky významných druhů se strigoly vyskytují u kukuřice (*Zea mays*) a prosa (*Pennisetum glaucum*; Siame, 1993). U čiroku byly izolovány sorgolaktony a alektroly, někdy také nazývané orobanchylacetáty (Hauck *et al.*, 1992).



Obr. 3: Obecná chemická struktura strigolaktonů. Strigolaktony se skládají ze 4 kruhů A-D a ze specifických postranních skupin R_{1-3} (Ruyter-Spira *et al.*, 2013)

3.3 Biosyntéza strigolaktonů

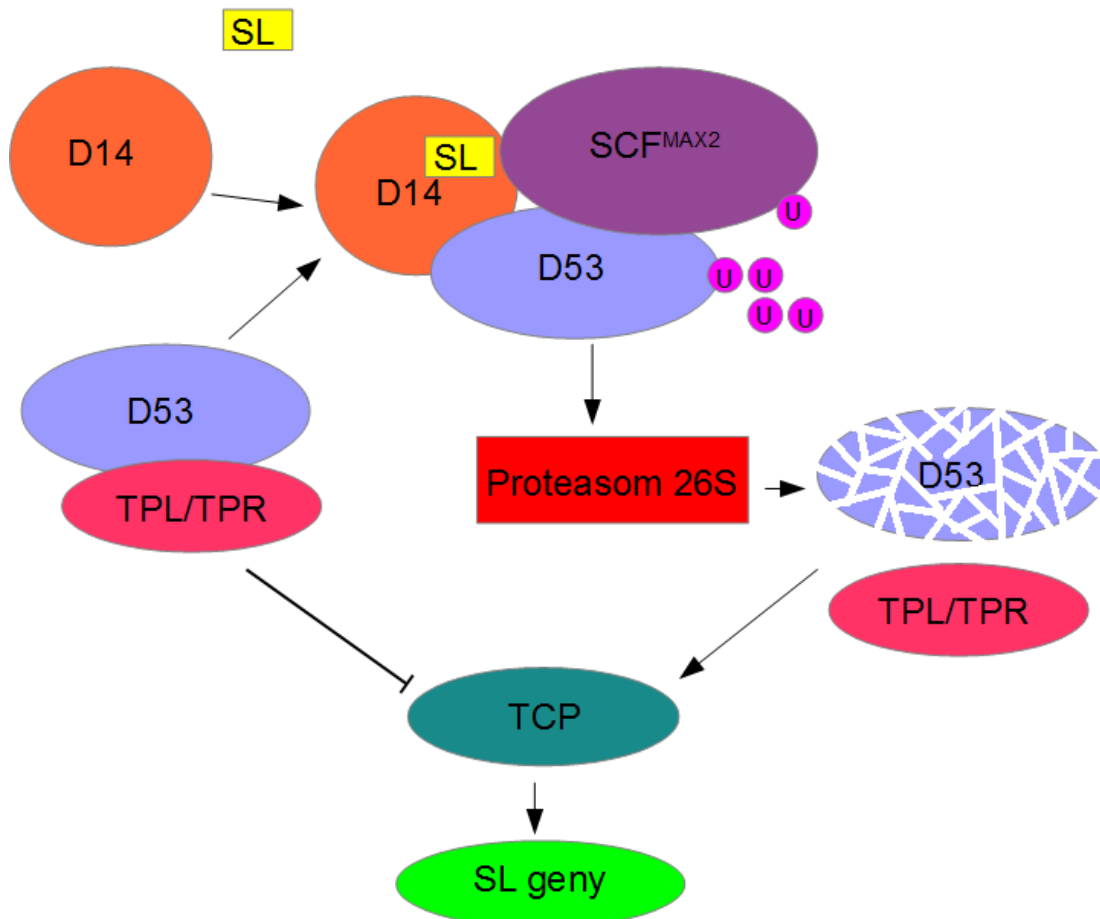
SL vznikají z karotenoidů štěpením dioxygenázami CCD7 (*CCD* – *carotenoid cleavage dioxygenases*), konkrétně MAX3 u *Arabidopsis thaliana* (Booker *et al.*, 2004), a následně CCD8 (MAX4 u *Arabidopsis*; Sorefan *et al.*, 2003). Tímto postupným štěpením β -karotenu vzniká karlakton. Karlakton je oxidován, čímž se uzavřou kruhy a vznikne základní strukturní molekula všech strigolaktonů 5-deoxystrigol. Tyto reakce probíhají v přítomnosti cytochromu P450 – u *Arabidopsis* je jím protein MAX1 (Booker *et al.*, 2005). Není ovšem známo, zda nejsou potřeba ještě některé další enzymy (Ruyter-Spira *et al.*, 2013). Úpravou postranních skupin 5-deoxystrigolu vznikají ostatní deriváty strigolaktonů (Obr. 4; Matusova *et al.*, 2005).



Obr. 4: Biosyntéza strigolaktonů. Karotenoidy po štěpení dioxygenázami CCD7 a CCD8 dají vznik karlaktonu. Ten následně s cytochromem P450 a některými dalšími enzymy umožní vznik 5-deoxystrigolu (upraveno podle Ruyter-Spira *et al.*, 2013)

3.4 Signální dráha strigolaktonů

Signální dráha strigolaktonů začíná v cytoplazmě navázáním strigolaktonu na ko-receptor D14 (DWARF14; Waters *et al.*, 2012). Takto je transportován do jádra, kde dojde k navázání na protein třídy D53 (DWARF53, u *Arabidopsis* to jsou konkrétně homology SMXL6, SMXL7, MXL8; Stanga *et al.*, 2013). Protein D53 za normálních okolností interaguje s korepresory z rodiny TPL/TPR (*topless/topless co-repressors*) a společně s nimi brání expresi transkripčního faktoru TCP, který spouští expresi genů indukovaných strigolaktony (Kong *et al.*, 2014). Protein D53 s navázaným proteinem D14 a SL tvoří komplex s ubiquitin ligázou SCF^{MAX2}. SCF^{MAX2} označí ubiquitinem D53, a ten je následně degradován proteasomem. Odbourání represoru D53 znemožní vytvoření správné konformace korepresorů TPL/TPR, čímž se uvolní transkripční faktor TCP, který spustí expresi genů odpovědi na SL (Obr. 5; Zhou *et al.*, 2013).



Obr. 5: Schéma signalizace strigolaktonů. Strigolakton se naváže na protein D14. SL a D14 se poté společně naváží na protein D53, který interaguje s korepresory TPL/TPR. Spojení D53 a D14 umožní tvorbu komplexu s ubiquitinázou SCF^{MAX2}, která označí ubiquitinem protein D53. Ten je následně degradován proteasomem 26S a korepresory TPL/TPR jsou uvolněny. Tím se uvolní transkripční faktor TCP a umožní se transkripce genů strigolaktonové odpovědi (upraveno podle Zhou *et al.*, 2013).

3.5 Změny vyvolané vyšším množstvím strigolaktonů

Hladiny strigolaktonů ovlivňují vývoj celé rostliny. V nadzemní části rostliny SL způsobují inhibici větvení prýtu. K tomuto závěru dospěl pokus s mutantními rostlinami, které měly porušenou biosyntetickou dráhu SL, ale byly exogenním způsobem ošetřeny strigolaktonovým analogem GR24, který větvení bránil. Tato vlastnost by mohla umožnit využití SL v lesnictví a zahradnictví pro specifické větvení prýtu s minimálními vedlejšími účinky a bez nutnosti transgenních úprav (Gomez-Roldan *et al.*, 2008).

Změny vyvolané přítomností SL postihují i strukturu RSA. Jedna z nejpodstatnějších změn je zvýšení hustoty kořenových vlásků, jak bylo zjištěno při pokusech na mutantních rostlinách s přerušenu biosyntetickou (*max4*) a signální (*max2*) dráhou SL pěstovaných v podmínkách s nedostatkem dostupného P_i . V tomto pokusu rovněž autoři odhalili, že SL pozitivně ovlivňuje genovou expresi *PSR* genů (Mayzlish-Gati *et al.*, 2012). SL dále inhibuje růst primárního kořene, jak ukázal pokus s mutantními rostlinami *Arabidopsis* pěstovanými v prostředích s přidaným SL analogem GR24 v koncentracích 1,25 – 10 μM (Ruyter-Spira *et al.*, 2011). V podobném pokusu, v koncentračním rozmezí 0 – 6 μM GR24, dospěli autoři článku Kapulnik *et al.* (2011) ke zjištění, že SL inhibuje i množství laterálních kořenů.

Strigolaktony hrají také klíčovou roli při kolonizaci kořene AM houbami. Tyto houby mohou dokončit svůj životní cyklus i bez symbiotického vztahu. Vytvořením symbiotického vztahu s rostlinou však dochází k výměně látek, která je prospěšná pro oba organizmy. Aby mohlo dojít ke kolonizaci kořene a morfogenezi hyf, je nezbytné zajistit kontakt mezi houbou a rostlinou. Přítomnost SL v kořenovém exsudátu velmi významně podporuje dělení hyf v blízkém okolí. Je ovšem nutné poznamenat, že na některé rostlinné exsudáty houbové hyfy nereagují, proto některé druhy rostlin nejsou schopné symbiózy, jako například rostliny z čeledi *Brassicaceae* (Buee *et al.*, 2000).

4 Závěr

Po aplikaci fosforečných hnojiv do půdy je většinová část fosforu vázaná prostřednictvím různých chemických a fyzikálních mechanismů do sloučenin, které jsou pro rostliny nevyužitelné. Právě to je hlavní důvodem, proč jsou fosforečná hnojiva používána v dávkách, které výrazně převyšují potřeby rostlin.

Každým rokem se ve světě spotřebuje více než 47 milionů tun fosforečného hnojiva. Tato spotřeba ročně vzrůstá o dalších 1 milion tun. Vysoká spotřeba fosforečných hnojiv je nejen finančně náročná pro zemědělce, ale také je tato nadměrná aplikace fosforečných sloučenin úzce spojená i s dalšími negativními důsledky, mezi které patří především eutrofizace povrchových vod a znečištění podzemních vod. Zatím je však tato aplikace k udržitelnosti zemědělských systémů nezbytná. Jedná se o celosvětový problém, proto se v posledních letech věnuje více pozornosti studiu působení fosfátového stresu na rostliny.

Rostliny reagují na nedostatek fosfátů řadou hormonálních změn, především zvýšením tvorby strigolaktonů (López-Ráez *et al.*, 2008). Ty, v interakci s auxiny a etylénem (Zhang *et al.*, 2014), inhibují růst primárního kořene (Ruyter-Spira *et al.*, 2011) a stimulují tvorbu kořenového vlášení (Mayzlish-Gati *et al.*, 2012). Současně se stimulací růstu kořenového systému dochází k potlačení růstu nadzemní části, zejména růstu pupenů (Czarnecki *et al.*, 2013).

Cílenou úpravou biosyntézy strigolaktonů, nebo jejich signální dráhy, ať už pomocí geneticky modifikovaných rostlin, nebo šlechtěním, by bylo možné v budoucnu dosáhnout zvýšení výnosu i při současném nebo nižším zásobením rostlin fosfátem.

5 Seznam použité literatury

- Akiyama, K., Matsuzaki, K., & Hayashi, H.** (2005). Plant sesquiterpenes induce hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature* **435**, 824-827.
- Aoyama, T., & Oka, A.** (2003). Cytokinin signal transduction in plant cells. *J Plant Res* **116**, 221-231.
- Bialeski, R.L.** (1973). Phosphate Pools, Phosphate Transport, and Phosphate Availability. *Annual Review of Plant Physiology* **24**, 225-252.
- Booker, J., Auldridge, M., Wills, S., McCarty, D., Klee, H., & Leyser, O.** (2004). MAX3/CCD7 is a carotenoid cleavage dioxygenase required for the synthesis of a novel plant signaling molecule. *Curr Biol* **14**, 1232-1238.
- Booker, J., Sieberer, T., Wright, W., Williamson, L., Willett, B., Stirnberg, P., Turnbull, C., Srinivasan, M., Goddard, P., & Leyser, O.** (2005). MAX1 encodes a cytochrome P450 family member that acts downstream of MAX3/4 to produce a carotenoid-derived branch-inhibiting hormone. *Dev Cell* **8**, 443-449.
- Borch, K., Bouma, T., Lynch, J., & Brown, K.** (1999). Ethylene: a regulator of root architectural responses to soil phosphorus availability. *Plant, Cell & Environment* **22**, 425-431.
- Buee, M., Rossignol, M., Jauneau, A., Ranjeva, R., & Bécard, G.** (2000). The pre-symbiotic growth of arbuscular mycorrhizal fungi is induced by a branching factor partially purified from plant root exudates. *Mol Plant Microbe Interact* **13**, 693-698.
- Carswell, M.C., Grant, B.R., & Plaxton, W.C.** (1997). Disruption of the phosphate-starvation response of oilseed rape suspension cells by the fungicide phosphonate. *Planta* **203**, 67-74.
- Cheng, L., Bucciarelli, B., Shen, J., Allan, D., & Vance, C.P.** (2011). Update on lupin cluster roots. Update on white lupin cluster root acclimation to phosphorus deficiency. *Plant Physiol* **156**, 1025-1032.
- Chiou, T.J., & Lin, S.I.** (2011). Signaling network in sensing phosphate availability in plants. *Annu Rev Plant Biol* **62**, 185-206.
- Ciereszko, I., Johansson, H., Hurry, V., & Kleczkowski, L.A.** (2001). Phosphate status affects the gene expression, protein content and enzymatic activity of UDP-glucose pyrophosphorylase in wild-type and pho mutants of *Arabidopsis*. *Planta* **212**, 598-605.
- Clarkson, D.T.** (1981). Nutrient interception and transport by root systems. *Physiological processes limiting plant productivity*, 307-330.
- Cook, C.E., Whichard, L.P., Turner, B., Wall, M.E., & Egley, G.H.** (1966). Germination of Witchweed (*Striga lutea* Lour.): Isolation and Properties of a Potent Stimulant. *Science* **154**, 1189-1190.

- Cook, C.E., Whichard, L.P., Wall, M., Egley, G.H., Coggon, P., Luhan, P.A., & McPhail, A.T.** (1972). Germination stimulants. II. Structure of strigol, a potent seed germination stimulant for witchweed (*Striga lutea*). *Journal of the American Chemical Society* **94**, 6198-6199.
- Czarnecki, O., Yang, J., Weston, D.J., Tuskan, G.A., & Chen, J.G.** (2013). A dual role of strigolactones in phosphate acquisition and utilization in plants. *Int J Mol Sci* **14**, 7681-7701.
- Danova-Alt, R., Dijkema, C., DE Waard, P., & Köck, M.** (2008). Transport and compartmentation of phosphite in higher plant cells--kinetic and P nuclear magnetic resonance studies. *Plant Cell Environ* **31**, 1510-1521.
- Davies, P.J.** (1995). The plant hormones: their nature, occurrence, and functions. In *Plant hormones* (Springer), pp. 1-12.
- Delhaize, E., & Randall, P.J.** (1995). Characterization of a Phosphate-Accumulator Mutant of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol* **107**, 207-213.
- FAO.** (2012). Current world fertilizer trends and outlook to 2016 <ftp://ftp.fao.org/ag/agp/docs/cwfto16.pdf> 20.03.2015 (Rome: FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS) .
- Fredeen, A.L., Raab, T.K., Rao, I.M., & Terry, N.** (1990). Effects of phosphorus nutrition on photosynthesis in *Glycine max* (L.) Merr. *Planta* **181**, 399-405.
- George, T., Gregory, P., Wood, M., Read, D., & Buresh, R.** (2002). Phosphatase activity and organic acids in the rhizosphere of potential agroforestry species and maize. *Soil Biology and Biochemistry* **34**, 1487-1494.
- Gerke, J., Beißner, L., & Römer, W.** (2000). The quantitative effect of chemical phosphate mobilization by carboxylate anions on P uptake by a single root. I. The basic concept and determination of soil parameters. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* **163**, 207-212.
- Gomez-Roldan, V., Fermas, S., Brewer, P.B., Puech-Pagès, V., Dun, E.A., Pillot, J.P., Letisse, F., Matusova, R., Danoun, S., Portais, J.C., Bouwmeester, H., Bécard, G., Beveridge, C.A., Rameau, C., & Rochange, S.F.** (2008). Strigolactone inhibition of shoot branching. *Nature* **455**, 189-194.
- Guzmán, P., & Ecker, J.R.** (1990). Exploiting the triple response of *Arabidopsis* to identify ethylene-related mutants. *Plant Cell* **2**, 513-523.
- Hagen, C.E., & Hopkins, H.T.** (1955). Ionic Species in Orthophosphate Absorption by Barley Roots. *Plant Physiol* **30**, 193-199.
- Hauck, C., Müller, S., & Schildknecht, H.** (1992). A Germination Stimulant for Parasitic Flowering Plants from *Sorghum bicolor*, a Genuine Host Plant. *Journal of Plant Physiology* **139**, 474-478.
- Hsieh, L.C., Lin, S.I., Shih, A.C., Chen, J.W., Lin, W.Y., Tseng, C.Y., Li, W.H., & Chiou, T.J.** (2009). Uncovering small RNA-mediated responses to phosphate deficiency in *Arabidopsis* by deep sequencing. *Plant Physiol* **151**, 2120-2132.

Regulace příjmu fosfátu strigolaktony

- Jeschke, W.D., & Pate, J.S.** (1995). Mineral nutrition and transport in xylem and phloem of *Banksia prionotes* (Proteaceae), a tree with dimorphic root morphology. *Journal of Experimental Botany* **46**, 895-905.
- Jiang, C., Gao, X., Liao, L., Harberd, N.P., & Fu, X.** (2007). Phosphate starvation root architecture and anthocyanin accumulation responses are modulated by the gibberellin-DELLA signaling pathway in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* **145**, 1460-1470.
- Kapulnik, Y., Delaux, P.M., Resnick, N., Mayzlish-Gati, E., Wininger, S., Bhattacharya, C., Séjalon-Delmas, N., Combier, J.P., Bécard, G., Belausov, E., Beekman, T., Dor, E., Hershenhorn, J., & Koltai, H.** (2011). Strigolactones affect lateral root formation and root-hair elongation in *Arabidopsis*. *Planta* **233**, 209-216.
- Karthikeyan, A.S., Varadarajan, D.K., Mukatira, U.T., D'Urzo, M.P., Damsz, B., & Raghothama, K.G.** (2002). Regulated expression of *Arabidopsis* phosphate transporters. *Plant Physiol* **130**, 221-233.
- Kong, X., Zhang, M., & Ding, Z.** (2014). D53: the missing link in strigolactone signaling. *Mol Plant* **7**, 761-763.
- Lai, F., Thacker, J., Li, Y., & Doerner, P.** (2007). Cell division activity determines the magnitude of phosphate starvation responses in *Arabidopsis*. *Plant J* **50**, 545-556.
- Lambers, H., Finnegan, P.M., Laliberté, E., Pearse, S.J., Ryan, M.H., Shane, M.W., & Veneklaas, E.J.** (2011). Update on phosphorus nutrition in Proteaceae. Phosphorus nutrition of proteaceae in severely phosphorus-impooverished soils: are there lessons to be learned for future crops? *Plant Physiol* **156**, 1058-1066.
- Lin, W.Y., Huang, T.K., & Chiou, T.J.** (2013). Nitrogen limitation adaptation, a target of microRNA827, mediates degradation of plasma membrane-localized phosphate transporters to maintain phosphate homeostasis in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **25**, 4061-4074.
- Linkohr, B.I., Williamson, L.C., Fitter, A.H., & Leyser, H.M.** (2002). Nitrate and phosphate availability and distribution have different effects on root system architecture of *Arabidopsis*. *Plant J* **29**, 751-760.
- Liu, J., Samac, D.A., Bucciarelli, B., Allan, D.L., & Vance, C.P.** (2005). Signaling of phosphorus deficiency-induced gene expression in white lupin requires sugar and phloem transport. *Plant J* **41**, 257-268.
- Liu, T.Y., Lin, W.Y., Huang, T.K., & Chiou, T.J.** (2014). MicroRNA-mediated surveillance of phosphate transporters on the move. *Trends Plant Sci* **19**, 647-655.
- Liu, T.Y., Huang, T.K., Tseng, C.Y., Lai, Y.S., Lin, S.I., Lin, W.Y., Chen, J.W., & Chiou, T.J.** (2012). PHO2-dependent degradation of PHO1 modulates phosphate homeostasis in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **24**, 2168-2183.
- Lough, T.J., & Lucas, W.J.** (2006). Integrative plant biology: role of phloem long-distance macromolecular trafficking. *Annu Rev Plant Biol* **57**, 203-232.

Lucas, W.J., Groover, A., Lichtenberger, R., Furuta, K., Yadav, S.R., Helariutta, Y., He, X.Q., Fukuda, H., Kang, J., Brady, S.M., Patrick, J.W., Sperry, J., Yoshida, A., López-Millán, A.F., Grusak, M.A., & Kachroo, P. (2013). The plant vascular system: evolution, development and functions. *J Integr Plant Biol* **55**, 294-388.

López-Bucio, J., Hernández-Abreu, E., Sánchez-Calderón, L., Nieto-Jacobo, M.F., Simpson, J., & Herrera-Estrella, L. (2002). Phosphate availability alters architecture and causes changes in hormone sensitivity in the Arabidopsis root system. *Plant Physiol* **129**, 244-256.

López-Ráez, J.A., Charnikhova, T., Gómez-Roldán, V., Matusova, R., Kohlen, W., De Vos, R., Verstappen, F., Puech-Pages, V., Bécard, G., Mulder, P., & Bouwmeester, H. (2008). Tomato strigolactones are derived from carotenoids and their biosynthesis is promoted by phosphate starvation. *New Phytol* **178**, 863-874.

Ma, Z., Baskin, T.I., Brown, K.M., & Lynch, J.P. (2003). Regulation of root elongation under phosphorus stress involves changes in ethylene responsiveness. *Plant Physiol* **131**, 1381-1390.

Magnus, E.M., & Zwanenburg, B. (1992). Tentative molecular mechanism for germination stimulation of *Striga* and *Orobanche* seeds by strigol and its synthetic analogs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **40**, 1066-1070.

Marschner, H. (1995). 2 - Ion Uptake Mechanisms of Individual Cells and Roots: Short-Distance Transport, 6 - 78.

Martín, A.C., del Pozo, J.C., Iglesias, J., Rubio, V., Solano, R., de La Peña, A., Leyva, A., & Paz-Ares, J. (2000). Influence of cytokinins on the expression of phosphate starvation responsive genes in Arabidopsis. *Plant J* **24**, 559-567.

Matusova, R., Rani, K., Verstappen, F.W., Franssen, M.C., Beale, M.H., & Bouwmeester, H.J. (2005). The strigolactone germination stimulants of the plant-parasitic *Striga* and *Orobanche* spp. are derived from the carotenoid pathway. *Plant Physiol* **139**, 920-934.

Mayzlish-Gati, E., De-Cuyper, C., Goormachtig, S., Beeckman, T., Vuylsteke, M., Brewer, P.B., Beveridge, C.A., Yermiyahu, U., Kaplan, Y., Enzer, Y., Wininger, S., Resnick, N., Cohen, M., Kapulnik, Y., & Koltai, H. (2012). Strigolactones are involved in root response to low phosphate conditions in Arabidopsis. *Plant Physiol* **160**, 1329-1341.

Merchant, C., Alonso, J.M., & Stepanova, A.N. (2013). Ethylene signaling: simple ligand, complex regulation. *Curr Opin Plant Biol* **16**, 554-560.

Parniske, M. (2008). Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. *Nature Reviews Microbiology* **6**, 763-775.

Pratt, J., Boisson, A.M., Gout, E., Bligny, R., Douce, R., & Aubert, S. (2009). Phosphate (Pi) starvation effect on the cytosolic Pi concentration and Pi exchanges across the tonoplast in plant cells: an in vivo ³¹P-nuclear magnetic resonance study using methylphosphonate as a Pi analog. *Plant Physiol* **151**, 1646-1657.

Pérez-Torres, C.A., López-Bucio, J., Cruz-Ramírez, A., Ibarra-Laclette, E., Dharmasiri, S., Estelle, M., & Herrera-Estrella, L. (2008). Phosphate availability alters lateral root development in

Regulace příjmu fosfátu strigolaktony

Arabidopsis by modulating auxin sensitivity via a mechanism involving the TIR1 auxin receptor. *Plant Cell* **20**, 3258-3272.

Raghothama, K.G. (1999). PHOSPHATE ACQUISITION. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* **50**, 665-693.

Ribot, C., Wang, Y., & Poirier, Y. (2008). Expression analyses of three members of the AtPHO1 family reveal differential interactions between signaling pathways involved in phosphate deficiency and the responses to auxin, cytokinin, and abscisic acid. *Planta* **227**, 1025-1036.

Richardson, A.E., & Simpson, R.J. (2011). Soil microorganisms mediating phosphorus availability update on microbial phosphorus. *Plant Physiol* **156**, 989-996.

Ruyter-Spira, C., Al-Babili, S., van der Krol, S., & Bouwmeester, H. (2013). The biology of strigolactones. *Trends Plant Sci* **18**, 72-83.

Ruyter-Spira, C., Kohlen, W., Charnikhova, T., van Zeijl, A., van Bezouwen, L., de Ruijter, N., Cardoso, C., Lopez-Raez, J.A., Matusova, R., Bours, R., Verstappen, F., & Bouwmeester, H. (2011). Physiological effects of the synthetic strigolactone analog GR24 on root system architecture in Arabidopsis: another belowground role for strigolactones? *Plant Physiol* **155**, 721-734.

Salisbury, F.B., & Ross, C.W. (1992). *Plant physiology*. 4th. Edn. Belmont, CA. Wadsworth.

Shane, M.W., McCully, M.E., & Lambers, H. (2004). Tissue and cellular phosphorus storage during development of phosphorus toxicity in *Hakea prostrata* (Proteaceae). *J Exp Bot* **55**, 1033-1044.

Shane, M.W., Stigter, K., Fedosejevs, E.T., & Plaxton, W.C. (2014). Senescence-inducible cell wall and intracellular purple acid phosphatases: implications for phosphorus remobilization in *Hakea prostrata* (Proteaceae) and *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae). *J Exp Bot*.

Siame, B.A., Weerasuriya, Y., Wood, K., Ejeta, G., & Butler, L.G. (1993). Isolation of strigol, a germination stimulant for *Striga asiatica*, from host plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **41**, 1486-1491.

Soon, F.F., Ng, L.M., Zhou, X.E., West, G.M., Kovach, A., Tan, M.H., Suino-Powell, K.M., He, Y., Xu, Y., Chalmers, M.J., Brunzelle, J.S., Zhang, H., Yang, H., Jiang, H., Li, J., Yong, E.L., Cutler, S., Zhu, J.K., Griffin, P.R., Melcher, K., & Xu, H.E. (2012). Molecular mimicry regulates ABA signaling by SnRK2 kinases and PP2C phosphatases. *Science* **335**, 85-88.

Sorefan, K., Booker, J., Haurogné, K., Goussot, M., Bainbridge, K., Foo, E., Chatfield, S., Ward, S., Beveridge, C., Rameau, C., & Leyser, O. (2003). MAX4 and RMS1 are orthologous dioxygenase-like genes that regulate shoot branching in Arabidopsis and pea. *Genes Dev* **17**, 1469-1474.

Srivastava, L.M. (2002). *Plant growth and development: hormones and environment*. (Academic press).

- Stanga, J.P., Smith, S.M., Briggs, W.R., & Nelson, D.C.** (2013). SUPPRESSOR OF MORE AXILLARY GROWTH2 1 controls seed germination and seedling development in Arabidopsis. *Plant Physiol* **163**, 318-330.
- Thibaud, M.C., Arrighi, J.F., Bayle, V., Chiarenza, S., Creff, A., Bustos, R., Paz-Ares, J., Poirier, Y., & Nussaume, L.** (2010). Dissection of local and systemic transcriptional responses to phosphate starvation in Arabidopsis. *Plant J* **64**, 775-789.
- Trull, M., Guiltinan, M., Lynch, J., & Deikman, J.** (1997). The responses of wild-type and ABA mutant Arabidopsis thaliana plants to phosphorus starvation. *Plant, Cell & Environment* **20**, 85-92.
- Ueguchi-Tanaka, M., Ashikari, M., Nakajima, M., Itoh, H., Katoh, E., Kobayashi, M., Chow, T.Y., Hsing, Y.I., Kitano, H., Yamaguchi, I., & Matsuoka, M.** (2005). GIBBERELLIN INSENSITIVE DWARF1 encodes a soluble receptor for gibberellin. *Nature* **437**, 693-698.
- Umehara, M., Hanada, A., Magome, H., Takeda-Kamiya, N., & Yamaguchi, S.** (2010). Contribution of strigolactones to the inhibition of tiller bud outgrowth under phosphate deficiency in rice. *Plant Cell Physiol* **51**, 1118-1126.
- Umehara, M., Hanada, A., Yoshida, S., Akiyama, K., Arite, T., Takeda-Kamiya, N., Magome, H., Kamiya, Y., Shirasu, K., Yoneyama, K., Kyojuka, J., & Yamaguchi, S.** (2008). Inhibition of shoot branching by new terpenoid plant hormones. *Nature* **455**, 195-200.
- Vaňková, R.** (2010). Plant Hormone Functions in Abiotic and Biotic Stress Responses. In *Handbook of Plant and Crop Stress, Third Edition* (CRC Press), pp. 191-211.
- Varadarajan, D.K., Karthikeyan, A.S., Matilda, P.D., & Raghothama, K.G.** (2002). Phosphite, an analog of phosphate, suppresses the coordinated expression of genes under phosphate starvation. *Plant Physiol* **129**, 1232-1240.
- Waters, M.T., Nelson, D.C., Scaffidi, A., Flematti, G.R., Sun, Y.K., Dixon, K.W., & Smith, S.M.** (2012). Specialisation within the DWARF14 protein family confers distinct responses to karrikins and strigolactones in Arabidopsis. *Development* **139**, 1285-1295.
- Wind, J., Smeekens, S., & Hanson, J.** (2010). Sucrose: metabolite and signaling molecule. *Phytochemistry* **71**, 1610-1614.
- Yonekura-Sakakibara, K., Kojima, M., Yamaya, T., & Sakakibara, H.** (2004). Molecular characterization of cytokinin-responsive histidine kinases in maize. Differential ligand preferences and response to cis-zeatin. *Plant Physiol* **134**, 1654-1661.
- Yoneyama, K., Xie, X., Sekimoto, H., Takeuchi, Y., Ogasawara, S., Akiyama, K., & Hayashi, H.** (2008). Strigolactones, host recognition signals for root parasitic plants and arbuscular mycorrhizal fungi, from Fabaceae plants. *New Phytol* **179**, 484-494.
- Zhang, Y.J., Lynch, J.P., & Brown, K.M.** (2003). Ethylene and phosphorus availability have interacting yet distinct effects on root hair development. *J Exp Bot* **54**, 2351-2361.

Regulace příjmu fosfátu strigolaktony

Zhang, Z., Liao, H., & Lucas, W.J. (2014). Molecular mechanisms underlying phosphate sensing, signaling, and adaptation in plants. *J Integr Plant Biol* **56**, 192-220.

Zhou, F., Lin, Q., Zhu, L., Ren, Y., Zhou, K., Shabek, N., Wu, F., Mao, H., Dong, W., Gan, L., Ma, W., Gao, H., Chen, J., Yang, C., Wang, D., Tan, J., Zhang, X., Guo, X., Wang, J., Jiang, L., Liu, X., Chen, W., Chu, J., Yan, C., Ueno, K., Ito, S., Asami, T., Cheng, Z., Lei, C., Zhai, H., Wu, C., Wang, H., Zheng, N., & Wan, J. (2013). D14-SCF(D3)-dependent degradation of D53 regulates strigolactone signalling. *Nature* **504**, 406-410.