

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory
Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



Jan Konečný

Jak funguje mykorhizní cesta příjmu fosforu?

How works mycorrhizal pathway in phosphorus acquisition?

Bakalářská práce

Školitel: Mgr. Jan Jansa, PhD

Praha, 2014

Prohlášení:

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

V Praze,

Podpis

Abstrakt:

Rostlina přijímá minerální živiny svými kořeny z půdy. Minerály jsou dostupné v půdním roztoku ve formě iontů a ty může rostlina přenášet přes cytoplazmatickou membránu do buňky. Pokud se příjmu účastní sama, hovoříme o tzv. přímé cestě. U některých minerálů, které nejsou tak snadno dostupné, si rostlina vypomohla oboustranně prospěšným vztahem - mykorhizní symbiózou. Tzv. mykorhizní cestou putují minerály z většího půdního objemu, než který by propátrala sama rostlina, a málo pohyblivé minerály, jako fosfor, jsou snadněji přijímané rostlinou. Jak rostlina přijímá fosfor touto mykorhizní cestou, jak je regulována a další poznatky jsou tématem této bakalářské práce.

Klíčová slova:

arbuskulární mykorhiza ; Glomeromycota ; mykorhizní cesta ; fosfát ; fosfátový transportér ; Pht1 ; změna genové exprese

Abstract:

The plant takes up mineral nutrients by its roots from the soil. Minerals are available in the soil solution in the form of ions and can be translocated across the cytoplasmic membrane into the cell of the plant. If the plant is alone, we talk about direct pathway. In case of some minerals, which are not available so easily, the plant finds solution in mutualistic relationship - the mycorrhizal symbiosis. By mycorrhizal pathway the nutrients come from much larger volume of soil, than the plant could reach, and intake of low-mobile elements, like phosphorus, becomes facilitated. How is the phosphorus taken up through mycorrhizal pathway, how is it regulated and accessory knowledge are the topic of this bachelors thesis.

Key words:

arbuscular mycorrhiza ; Glomeromycota ; mycorrhizal pathway ; phosphate ; phosphate transporter ; Pht1 ; change in gene expression

Obsah

1.) Úvod	1
2.) Co je to mykorhizní symbióza?.....	3
2.a) arbuskulárně mykorhizní symbióza.....	4
2.b) mykorhizní versus nemykorhizní rostlina	5
3.) Fosfor jako limitující prvek živých soustav	7
3.a) biogenní úloha fosforu v rostlině i houbě	7
3.b) obsah a dostupnost fosforu	8
4.) Příjem fosforu z prostředí do organismu	10
4.a) zpřístupnění fosforu z neživého systému.....	10
4.b) transport fosforu přes buněčnou membránu	11
5.) Mykorhizní cesta příjmu fosforu	12
5.a) pohyb fosforu v myceliu	12
5.b) transport fosforu z houby do rostliny	13
6) Membránové transportéry fosforu	14
6a) geny a proteiny v rostlině i houbě.....	14
6b) exprese rostlinných genů	15
7) Závěr.....	17
8) Použitá literatura.....	19
9) Přílohy	26

1.) Úvod

Jedna z nejstarších symbiotických interakcí mezi živými organismy je mykorhizní symbióza. Tento mutualistický vztah mezi houbami a rostlinami, respektive kořeny rostlin, je široce rozšířen. Pojmenování vztahu pochází z řečtiny - μυκός, *mykós*, "houba" a ρίζα, *riza*, "kořen" - a bylo poprvé použito německým biologem Albertem Bernhardem Frankem v roce 1885.

Na projevy mykorhizního svazku můžeme pohlédnout několikrát do roka, když plodnice ektomykorhizních hub vylézají z lesní půdy. Běžně ale zůstávají ve skrytu. Nejstarším a nejrozšířenějším typem mykorhizy je arbuskulární mykorhiza (AM), kterou navazují houby z oddělení *Glomeromycota* (dnes známe jedinou třídu *Glomeromycetes* o cca 200 druzích) s 60-80 % suchozemských cévnatých rostlin a řadou rostlin bezcévných. Vztah je to v pravdě starobylý, první fosílie (*Aglaophyton major*) s identifikovanou arbuskulí je datována do časného devonu, tedy AM je minimálně 400 milionů let stará (Remy, Taylor et al. 1994). Toto období je také časem, kdy rostliny počaly dobývat souš.

Důvod vzniku této symbiózy již v počátku zrodu suchozemských rostlin je nasnadě - suchozemské, půdní prostředí se liší od vodního v mnoha aspektech a rostlinní kolonizátoři pravděpodobně postrádali potřebnou výbavu pro život v novém, nehostinném prostředí. Houby schopné přijímat živiny z půdního prostředí si za svou pomoc vybraly to, co na málo obývané pevnině bylo nejvzácnější. Rostliny fixují vzdušný oxid uhličitý za spotřeby sluneční světelné energie, čímž do planetárního ekosystému přinášejí energii chemickou v podobě jednoduchých cukrů. Ty vyměňují s houbou za půdní živiny, vodu a jiné ekologické výhody. Můžeme se pouze dohadovat, co z toho bylo v tu dobu nejpřínosnější, ale není pochyb, že dnes je jednou z nejhůře dostupných živin v půdě fosfor. Pro mnoho druhů organismů je fosfor limitující živinou a mykorhizní symbióza významně zlepšuje příjem tohoto prvku z půdy do rostliny. Z tohoto důvodu je předmětem bádání mnoha pracovišť, a to nejen těch zemědělsky zaměřených.

Fosfáty přijímané houbou mohou být transportovány myceliem na velké vzdálenosti a posléze předány rostlině. Rostlina má mechanismy, jak přijímat živiny bez přispění mykorhizního symbionta – za pomoci kořenových vlásků a pokožky – a zde mluvíme o tzv. přímé cestě (direct pathway). Ve funkční mykorhize však fosfor vstupuje do rostliny především tzv. mykorhizní cestou (mycorrhizal / indirect pathway). **Popis ekologicky významné, mykorhizní cesty příjmu fosforu je předmětem této bakalářské práce.** Pochopení mykorhizní cesty příjmu fosforu je dnes možné zejména díky recentním vědeckým publikacím a moderním analytickým metodám. Pohyb fosforu lze sledovat na buněčné úrovni včetně biologických součástí k transportu potřebných. Z těchto pozorování a experimentů vzešla řada bohatých informačních zdrojů a samozřejmě i další otázky. Jedna z nich se týká změny genové exprese fosfátových transportérů rostlinné buňky a **osvětlení**

35 **rozdílné exprese genů pro transport fosforu u mykorhizních a nemykorhizních rostlin je druhým**
36 **cílem této rešerše.** Po navázání styku s mykorhizním partnerem totiž rostlina snižuje genovou expresi
37 fosfátových transportérů přímé cesty a zapíná specifické geny mykorhizní cesty. Pojdme se tedy
38 podívat jak funguje mykorhizní cesta příjmu fosforu!

2.) Co je to mykorhizní symbióza?

39
40 Soužití rostliny a houby v půdním prostředí, které zahrnuje výměnu uhlíku a minerálních živin a je
41 často oboustranně prospěšné, označujeme jako mykorhizní symbiózu. Mykorhizní houby nacházíme
42 ve skupinách hub stopkovýtrusých (*Basidiomycota*), vřeckovýtrusých (*Ascomycota*) a dnes již
43 samostatné skupiny *Glomeromycota* (Schüßler, Schwarzott et al. 2001). Vlákna (hyfy) těchto hub
44 propojují půdní prostředí s vnitřním prostorem kořene symbionta. Tato kolonizace probíhá
45 regulovaně a houba je "vpuštěna" pouze do vrchních kořenových vrstev - kořenové pokožky
46 (rhizodermis) a primární kůry kořene. Absence houby v dalších pletivech kořene (střední válec s
47 cévními svazky) i jiných rostlinných orgánů je důležitým aspektem mutualisticky fungující symbiózy
48 odlišující ji od jednostranně prospěšných symbiotických vztahů. Výjimku tvoří exotické čeledi
49 zázvořníkovité (*Zingiberaceae*) a *Burmanniaceae*, u nichž houba proniká i do dalších pletiv (šupinovitě
50 listy, oddenky, xylém) (Taber 1982, Imhof 2001). Nutno zmínit, že symbioticky funkční vztahy vznikají
51 i u nižších, bezcévných rostlin, kde i přes absenci pravých kořenů nazýváme soužití mykorhizou, v
52 některé literatuře se přesto objevuje termín "mycothallus".

53 Podle anatomicko-morfologických útvarů a taxonomické příslušnosti partnerů rozlišujeme
54 několik typů mykorhizní symbiózy. Endomykorhizní druhy nachází své pole působnosti ve vnitřním
55 prostředí rostlinných buněk, kdežto ektomykorhizní druhy rostou jen v mezibuněčných prostorech
56 kořene. O arbuskulární mykorhize bude pojednáno v samostatné podkapitole, k endomykorhizním
57 typům však řadíme i modernější typy orchideoidní a erikoidní. První z nich se formuje exkluzivně s
58 řádem orchidejovitých (*Orchidales*). Kolonizace probíhá již při klíčení protokormu, přičemž řada
59 orchideí je v této fázi růstu zcela závislá na uhlíku od houbového symbionta (mykoheterotrofie), a
60 následně houba kolonizuje (podruhé) kořenovou kůru kořenů: morfologickým útvarem jsou hyfové
61 smotky (pelotony) v buňkách. Erikoidní mykorhiza (ERM) se také nazývá podle kolonizovaných rostlin,
62 zde je to řád vřesovcotvarých (*Ericales*). Hyfové smotky se zde také tvoří, symbiózu ale zajišťují jiné
63 druhy hub, které kolonizují buňky rhizodermis a směrem do hloubky kořene struktur rychle ubývá.
64 Ektomykorhizní symbióza (ECM) je specifickou symbiózou výlučně dřevin a v evoluci vznikla vícekrát
65 nezávisle. V mezibuněčných prostorech tvoří tzv. Hartigovu síť, která na povrchu kořene vytváří
66 hyfový plášť, jenž tak odděluje dřevinu od půdního prostředí. U všech typů potom rozlišujeme vnitro-
67 a mimokořenové mycelium.

68 Mykorhizní symbióza se v přírodě nevyskytuje takto vzorně rozškatlukovaná. Je popsáno
69 několik druhů rostlin, které jsou schopné symbiotizovat s různými druhy hub najednou a dokonce i
70 vytvářet různé mykorhizní typy (např. ekto- i arbuskulární mykorhiza u dubu *Quercus agrifolia*
71 (Egerton-Warburton and Allen 2001)). Tato diverzita v rámci kořenového systému jednoho
72 rostlinného jedince bývá řízena ekologickými podmínkami. Arbuskulární mykorhizy bývají častější v

73 hlubších zónách, kdežto ektomykorhizy převládají u povrchu půdy (Neville, Tessier et al. 2002),
74 patrně díky saprotrofním vlastnostem ektomykorhizních druhů hub. U eukalyptů (*Eucalyptus*) se zase
75 traduje, že arbuskulární mykorhiza převládá u mladých rostlin, zatímco ECM dominuje u starších
76 (Chen, Brundrett et al. 2000).

77 **2.a) arbuskulárně mykorhizní symbióza**

78 Houby tvořící arbuskulární mykorhizu (AMF, arbuscular mycorrhizal fungi) jsou prastaré organismy.
79 Dnes tvoří samostatnou skupinu opisthokontních hub - *Glomeromycota* - o 10 řádech s cca 200
80 popsány druhy (Redecker and Raab 2006), přičemž v téměř všech studiích biodiversity AMF
81 dominují druhy *Glomus intraradices*, *Glomus mosseae* a *Gigaspora margarita* napříč rozdílnými
82 životními prostředími (Smith and Read 1997), a těmto druhům se věnuje i většina laboratorních
83 studií. V průběhu evoluce se specializovaly na soužití s rostlinami téměř všech skupin (*Bryophyta*,
84 *Pteridophyta*, *Spermatophyta*), snad s výjimkou nahosemenných (*Gymnospermae*), a dnes jsou tyto
85 tvorové obligátně biotrofní. Oboustranné rozpoznání se partnerů symbiózy vede k celé řadě
86 vývojových změn.

87 Živé hyfy jsou nepřehrádkované, coenocytické, ale houba umí přehrádky tvořit v případě
88 stahování cytoplazmy z hyfového úseku a zejména při sporulaci. Mycelium je mnohojaderné
89 (Mikkelsen, Rosendahl et al. 2008), jádra vykazují velkou genetickou variabilitu a zatím nebylo
90 pozorováno sexuální rozmnožování, přestože ve své genetické výbavě mají množství meiotických
91 genů (Halary, Malik et al. 2011, Corradi and Lildhar 2012) a homologů houbových párovacích genů
92 (MAT) (Tisserant, Kohler et al. 2012). Při kolonizaci kořene netvoří Hartigovu síť ani ho neobalují
93 hyfovým pláštěm jako modernější taxony mykorhizních hub. Naopak v rostlině formují vnitrobuněčné
94 struktury keříčkovité morfologie (arbuskule - odtud pojmenování mykorhizního typu), čímž
95 maximalizují povrch membrány a tedy povrch aktivní ve výměně látek. Mohou tvořit i vesikuly, kde
96 skladují tukové zásoby. Arbuskule bývá silně větvená (typ *Arum*) či mnohokrát stočená (typ *Paris*).
97 Arbuskule podstupují vývoj v čase a v symbioticky funkčním kořeni neustále vznikají a zanikají,
98 dochází k jejich reorganizaci. Jejich životnost je v řádu dnů a poté dochází k jejich rozkladu.

99 Houba a rostlina musí být vzájemně kompatibilní. Rozpoznání a spuštění symbiotických
100 procesů je geneticky předurčeno. Hostitelská rostlina uvolňuje do půdy látky synomonální povahy -
101 strigolaktony - které stimulují metabolismus houby a formaci jemného, větveného podhoubí
102 (Akiyama, Matsuzaki et al. 2005). Houba reaguje vypouštěním signálu ve formě
103 lipochitooligosacharidů (Maillet, Poinso et al. 2011), který rozpozná rostlina a spustí expresi
104 symbiózních genů (symbiosis-related genes) (Chabaud, Venard et al. 2002, Kosuta, Chabaud et al.
105 2003). Při kontaktu houba vytváří klasické apresorium, kterým vniká do kořene. Rostlina vstup
106 reguluje tvorbou prepenetračního aparátu (Siciliano, Genre et al. 2007), kterým houbu navede přes

107 pokožku kořene a hlavně jí vstup přes buněčnou stěnu umožní (Genre, Ortu et al. 2009). Vpuštěná
108 houba kolonizuje vnitřní kortex a tvoří charakteristické hyfální struktury uvnitř kořenových buněk.
109 Houba i rostlina zde potlačuje syntézu buněčné stěny a houba neproniká plasmatickou membránou
110 rostliny. Apoplastické rozhraní rostlinné a houbové membrány nazýváme periarbuskulárním
111 prostorem a dochází zde k látkové výměně mezi symbionty. Cukr v podobě hexózy je štěpen ze
112 sacharózy, hlavního rostlinného cukru, v periarbuskulárním prostoru rostlinnými, kyselými
113 invertázami. Po úspěšné kolonizaci houba prorůstá okolní půdu, pátrá po minerálních živinách a často
114 plodí chlamydozory (sporuluje). Také pátrá po dalších rostlinných symbiontech, jelikož jeden druh
115 houby může navázat vztah s více jedinci i druhy rostlin zároveň.

116 Hyfy těchto prastarých hub se často propojují (anastomózují) a vytvářejí tak vnitrodruhovou,
117 spleť buněčnou síť, která umožňuje jadernou výměnu těchto nepohlavně se rozmnožujících hub
118 (Croll, Giovannetti et al. 2009) a propojuje různé jedince rostlin mezi sebou (CMN, common mycelial
119 network). Vzácně mohou anastomózovat blízké příbuzné druhy. Studium ekologických dopadů
120 tohoto propojení je silně limitováno pokusnou metodikou – experimenty se provádí nejčastěji
121 v umělých systémech za plně kontrolovaných podmínek, typicky v květináči ve skleníku. Přiblížení se
122 přirozeným podmínkám je možné za pomoci sítí s malými oky, kterými neproleze rostlinný kořínek a
123 je tedy možné kompartmentalizovat jednotlivé jedince v pokusu. Tímto způsobem bylo zjištěno, že
124 ekosystém je stabilizován, pokud je do sítě zapojeno vícero druhů (příloha 1), a že v závislosti na
125 partnerech v síti se liší uhlíkový příspěvek rostlinného jedince i poměr vydaného uhlíku vůči přijatým
126 minerálům (příloha 2) (Walder, Niemann et al. 2012).

127 **2.b) mykorhizní versus nemykorhizní rostlina**

128 Předem nutno říct, že existují velké rozdíly v přínosech mykorhizní symbiomy rostlin v závislosti na
129 kombinaci hostitelské rostliny, (arbuskulárně) mykorhizní houby a prostředí (Burleigh, Cavagnaro et
130 al. 2002, Lerat, Lapointe et al. 2003, Munkvold, Kjoller et al. 2004, Smith, Smith et al. 2004, Avio,
131 Pellegrino et al. 2006, Jansa, Smith et al. 2008). Nesmíme tedy výsledky experimentů a pozorování
132 jednoduše zobecňovat. Přesto je vhodné pro porovnání rostlin v symbióze a bez ní kalkulovat s
133 mutualistickou funkcí.

134 Musíme si dát pozor na termín "nemykorhizní rostlina". Nemykorhizní rostliny se značně
135 omezenou tvorbou mykorhiz, nalézají se v čeledích brukvovitých (*Brassicaceae*), sítinovitých
136 (*Juncaceae*), šáchorovitých (*Cyperaceae*), okřehkovitých (*Lemnaceae*), hvozdíkovitých
137 (*Caryophyllaceae*) a merlíkovitých (*Chenopodiaceae*) (Harley and Harley 1987) v evoluci ztratily
138 schopnost navázat mykorhizní vztah, jelikož mykorhizní geny měl již společný předek suchozemských
139 rostlin (Wang, Yeun et al. 2010). Mají také vliv na růst mykorhizních hub - nepodporují nebo inhibují
140 jejich růst v půdě (Requena, Serrano et al. 2007). Hlavní absorpční plochu kořenů (až 80 %; Jungk

141 2001)) nemykorhizních rostlin zajišťují kořenové vlásky. Jejich délka a počet je ovlivněn mimo jiné
142 hladověním na fosfát a rostliny s delšími kořenovými vlásky jsou úspěšnější v pátrání po fosforu
143 v půdě (Gahoonia, Nielsen et al. 2001). Některé rostliny vyvinuly speciální typy kořenů se
144 shloučenými postranními kořeny (proteoid / cluster roots) zlepšující příjem živin i v chudých půdách,
145 jelikož vylučují velké množství organických kyselin - až 23 % čisté fotosyntézy u lupiny bílé (*Lupinus*
146 *albus*) (Azaizeh, Marschner et al. 1995).

147 V literatuře se setkáváme se stejným označením i pro rostliny, které jsou schopné mykorhizy
148 tvořit, ale takové rostliny (např. rajče (*Lycopersicon esculentum*), ječmen (*Hordeum vulgare*) či
149 pšenice (*Triticum aestivum*)) mykorhizní symbiózu formují, pouze nevykazují růstovou odpověď (non-
150 responsive). Jak si ale ukážeme později, na fyziologické úrovni je vztah viditelný, a proto je vhodnější
151 v těchto případech mluvit o rostlinách s nízkou mykorhizní odpovědí.

152 Mykorhizní symbióza přináší rostlině řadu kompetičních výhod. Může vylepšit toleranci
153 k suchu (Auge 2001, Fester and Hause 2007), patogenům (St-Arnaud, Hamel et al. 1995), soli (Cantrell
154 and Linderman 2000) a zajišťuje příjem živin, jako je fosfor, dusík, zinek a měď. Na druhou stranu
155 přináší i kompetiční nevýhodu: rostlina platí energii ve formě hexóz, a to 1-30 % asimilátů (Paul and
156 Kucey 1981, Jakobsen and Rosendahl 1990, Drigo, Pijl et al. 2010). Houbový symbiont zvyšuje svou
157 fitness prostřednictvím podpory růstu rostlinného symbionta. Obligátní biotrofie AMF byla potvrzena
158 tím, že mimokořenové mycelium není schopné přijímat hexózy z prostředí (Solaiman and Saito 1997,
159 Bago, Pfeffer et al. 1999, Bago, Zipfel et al. 2002). Rozdíl uhlíku získaného ze zvýšené růstové
160 odpovědi rostliny a uhlíku odevzdaného houbě nazýváme symbiotickou efektivitou. Požadavek na
161 větší tok produktů fotosyntézy zvyšuje nároky na nadzemní část, fotosynteticky aktivní orgány se
162 zvětšují (Snellgrove, Splittstoesser et al. 1982, Wright, Scholes et al. 1998) a dle požadavků
163 houbového partnera se zvětšuje i tok uhlíku v kořeni (Burleigh and Bechmann 2002, Smith, Smith et
164 al. 2003). V závislosti na podmínkách pak rostlina reguluje mykorhizu - při nedostatku minerálů
165 dovoluje houbě vyšší míru kolonizace, naopak při nedostatečném slunečním svitu nebo vysoké
166 dostupnosti živin v půdě rozsah kolonizace omezuje (Johnson, Graham et al. 1997).

3.) Fosfor jako limitující prvek živých soustav

167
168 Růst organismů v ekosystému je limitovaný ekologickými podmínkami, ať už prostorovými,
169 behaviorálními, výživovými aj. Z hlediska výživy se zaměřujeme na konkrétní chemické prvky a z nich
170 nejčastěji na fosfor (P), dusík (N) a železo (Fe). Pro každý druh a prostředí je limitující jiná živina, ale
171 obecně lze říct, že míra limitace je u P a N shodná ve všech hlavních typech ekosystémů -
172 sladkovodním, mořském i suchozemském (Elser, Bracken et al. 2007). Eutrofizace vod po dodání
173 těchto živin je živoucím důkazem existujících výživových limitů.

174 Fosfátová hnojiva v podobě hnoje aj. jsou používána od nepaměti. Až později v novověku
175 počala těžba guána a posléze i fosforitů (viz níže, 3.b). Fosfátová hnojiva jsou těžena čím dál tím více
176 (příloha 3) a celých 90 % slouží k produkci potravin. Bylo vypočteno, že během 50-100 let budou
177 zásoby fosfátů vyčerpány, s vrcholem produkce kolem roku 2033 (příloha 4) (Cordell, Drangert et al.
178 2009), ale podle světové iniciativy výzkumu fosforu (GPRI) vystačí zásoby až na 200 let. Důležité je
179 podotknout, že kamenný fosfát je neobnovitelným zdrojem, respektive obnovitelným v horizontu 10-
180 15 milionů let (Cordell, Drangert et al. 2009).

3.a) biogenní úloha fosforu v rostlině i houbě

181 Fosfor v podobě fosforečného aniontu PO_4^{3-} je nezbytný pro veškerý známý život. V roztoku je typicky
182 ve formě H_2PO_4^- nebo HPO_4^{2-} v závislosti na pH, v malé míře také vázán na rozpustné organické
183 molekuly. Plní úlohu strukturní (esterovými vazbami spojuje mery informačních molekul DNA a RNA a
184 v membránových fosfolipidech, kde je nejvíce zastoupen v poměru k ostatním molekulám, jsou přes
185 fosfát navázané hydrofilní zbytky), energetickou (uchování energie v makroergních vazbách a
186 transport této energie molekulami ATP a jiných molekul) a regulační (de/fosforylace proteinů spouští
187 či vypíná jejich aktivitu; další organické molekuly s různým počtem fosfátů nesou rozdílné informační
188 signály). Mineralizovaný fosfát (fluoroapatit, hydroxyapatit) je také důležitou složkou zubní skloviny a
189 kostí obratlovců.

191 Rostlina obsahuje fosforu zhruba 0,1-0,5 % své suché váhy, což tento makroprvek řadí na
192 páté místo po dusíku, draslíku, vápníku a hořčíku. Za normálních podmínek je nedostatek fosforu
193 málo příznačný. Fosfát v živém organismu je mobilním prvkem a proto se jeho nedostatek projevuje
194 nejdříve ve starších listech, odkud byl přesunut do mladších, intenzivní tmavozelenou barvou brzy
195 přecházející do fialové až černé díky akumulaci antokyanů. Zásadnější projevy ale spatřujeme ve
196 špatném růstu kořenů, stonků a listů, opožděném vývoji pupenů a pohlavních orgánů, které
197 předčasně opadávají, plody jsou malé a kyselé. Naopak přebytek fosforu se projevuje především
198 bržděním příjmu jiných prvků, což má za následek předčasné zrání a nižší výnosy.

199 Fosfor se koncentruje zejména v meristematických zónách rostliny díky jeho úloze při syntéze
200 nukleových kyselin a zde pravděpodobně dochází i ke vnímání fosfátové koncentrace rostlinného těla

201 (Abel, Ticconi et al. 2002, Ticconi and Abel 2004, Sanchez-Calderon, Lopez-Bucio et al. 2006,
202 Svistoonoff, Creff et al. 2007). Jeho nedostatek se na buněčné úrovni projevuje zastavením buněčného
203 dělení. Bohužel se téměř nediskutuje zástava buněčného dělení v důsledku nedostatku fosforu pro
204 tvorbu membrán - které je potřeba, stejně jako genetickou informaci, zdvojit. Mimo syntetickou
205 úlohu je fosfor posílán do mitochondrií a plastidů, aby se zapojil do metabolických procesů, do
206 vakuol, kde dochází k jeho skladování, či je odeslán do dalších buněk (Rausch and Bucher 2002).

207 Ortofosfát přijatý houbou z půdního roztoku je využit na syntézu základních molekul
208 buněčného fungování a přebytek je transportován do kyselé vakuoly o pH ~5,6, kde dochází k jeho
209 hromadění a polymerizaci. Přestože již byly polymerní ortofosfáty - polyfosfáty - objeveny napříč
210 říšemi včetně člověka, příznačné jsou především pro bakterie a houby. V houbových buňkách
211 nalezneme celou škálu velikostí polyfosfátů, ale stále není jasné, jakým způsobem jsou syntetizovány
212 a regulovány u vyšších eukaryot, přestože byly objeveny v cytoplazmě, jádře, vakuolách,
213 mitochondriích i endoplazmatickém retikulu (Beauvoit, Rigoulet et al. 1989, Pestov, Kulakovskaya et
214 al. 2004, Smith, Mutch et al. 2006). Kromě zásobně-transportní úlohy plní polyfosfáty celou řadu
215 dalších funkcí: aktivace a regulace enzymů, regulace kondenzace chromatinu, genové exprese i
216 translace (Kornberg, Rao et al. 1999). U bakterií hraje roli při patogenitě, kvasinky a bakterie využívají
217 polyfosfáty k přežívání během stacionární fáze či adaptaci k alkalickému a osmotickému stresu
218 (Rashid, Rumbaugh et al. 2000, Kim, Cho et al. 2002). Náznaky biologické role polyfosforylace
219 sloučenin se objevují během sporulace hub (Lejohn 1983, Jakubowski 1986). Přes široké spektrum
220 funkcí polyfosfátu (příloha 5) je (alespoň u kvasinek v růstové fázi) 80-90 % polyfosfátu skladováno ve
221 vakuole (Urech, Durr et al. 1978).

222 **3.b) obsah a dostupnost fosforu**

223 Obsah fosforu v atmosféře je téměř zanedbatelný, jelikož plyných sloučenin fosforu je minimum,
224 čímž se odlišuje od biogeochemických cyklů uhlíku, dusíku či síry. Fosfin (PH_3) a difosfin (P_2H_4) jsou
225 toxické plyny, které ale v přírodě běžně nevznikají. Hlavním zdrojem atmosférického fosforu v půdě je
226 spad prachových částic s organofosfáty. Drtivá většina fosforu v půdě však pochází ze zvětrávaných
227 hornin a recyklací biomasy. V organických sloučeninách je uchováno 20-80 % půdního fosfátu,
228 přičemž ty vyšší hodnoty nalezneme v rašeliništích a nekultivovaných lesních půdách. Vrchní,
229 humózní horizont půdy je domovem většiny půdních organismů a fosfáty v buněčném obsahu živých
230 tvorů jsou další podstatnou zásobárnou fosforu v ekosystému.

231 Mateční hornina obsahuje typicky 0,2 % fosfátů ve vazbě s půdními složkami (Ca, Mg, Fe, Al,
232 jílové minerály), spíše méně, ale některé usazené horniny - fosfority - mohou obsahovat až 35 %
233 fosfátů. Nejčastější fosfátový minerál v zemské kůře se zoví apatit. Skládá se z fosforečnanu
234 vápenatého s větším obsahem fluoru, chlóru a hydroxidu a malými příměsmi dalších kovů (Mn, Cd,

235 U, Sr, Y, Ce, La, Na, Mg aj.) zabarvujícími minerál do široké palety barev. Vzniká jak usazováním látek
236 biologického původu, tak krystalizací z magmatu (hlavně v žule a gabru). Apatit je zvětráván jednak
237 fyzicky, nebiologickými faktory, a také biologickou aktivitou. Krom koncentrace fosforu v minerálech
238 je podstatnou veličinou koncentrace minerálů, které mohou fosfáty vázat na svůj povrch a tím je
239 znerozpustnit (fosfátové stárnutí). Nerozpustného, adsorbovaného fosfátu v půdě je o dva až tři řády
240 více než fosfátu rozpuštěného v půdním roztoku, jehož koncentrace je typicky 0,5-10 μM s nejlepší
241 dostupností kolem pH 6,5.

242 Organické sloučeniny obsahující fosfátovou skupinu jsou v půdě v základu v opačném poměru
243 než v živé buňce. Nejrychleji jsou v půdě odbourávány fosfoproteiny a nukleové kyseliny, které je už
244 možné nalézt ve významnějším množství (0,2-0,5 %), fosfolipidů je více (1-5 %) a nejvíce je fosforu ve
245 formě různých inositol fosfátů (fytátů) (2-50 %, ale využití nukleární magnetické rezonance ukazuje,
246 že v australských pastevních půdách, bohatých na organickou hmotu, je fytátu jen asi do 5 %
247 (Smernik and Dougherty 2007)).

248

4.) Příjem fosforu z prostředí do organismu

249 Arbuskulárně mykorhizní houby získávají fosfát hlavně absorpcí z půdního roztoku. Také jsou schopné
250 hydrolyzovat organické sloučeniny, jako je lecitin, RNA, fytát (Feng, Song et al. 2003), 5-bromo-4-
251 chloro-3-indolyl fosfát nebo fenolftalein difosfát (Koide and Kabir 2000), ale tato role v přirozených
252 podmínkách je zpochybňována. Zdá se, že absorpce volného fosfátu je dostačující, jelikož AM houby
253 mohou stimulovat či potlačovat fosfatázovou aktivitu sousedních mikroorganismů i kořenů rostlin
254 vylučováním organických sloučenin či úpravou rostlinných exudátů. Tím se liší od ECM a ERM, které
255 získávají fosfor a dusík hlavně rozkladem (mineralizací) organické hmoty.

256 Primární mechanismus zvýšení fosfátové dostupnosti rostlině je zvětšení povrchu schopného
257 přijímat fosfát z půdního roztoku (Bolan 1991). Rostlina, schopná přijímat fosfor přímou cestou, je
258 limitována vznikem tzv. depleční zóny – okolí kořene trpí vyčerpáním fosfátů z okolí, jelikož absorpce
259 fosfátů do buňky je značně rychlejší než jejich difúze v půdním roztoku. Řád difúze ortofosfátu v půdě
260 je 10^{-12} - 10^{-15} m²/s (Schachtman 1998), pomaleji než ve vodě, přičemž bylo prokázáno, že mykorhizní
261 kořeny pobírají fosfátu 3 až 5x více než kořeny nemykorhizní (cca 10^{-11} mol/m/s; (Smith and Read
262 1997). Navázání mykorhizního svazku tak několikanásobně zvětšuje pole působnosti z kořenové
263 rhizosféry na symbiotickou mykorhizosféru.

264 Zvýšené zásobování rostliny fosforem bylo pozorováno u přidavku fytátu, přestože schopnost
265 přijímat anorganický fosfát byla téměř osmkrát větší (Koide and Kabir 2000). Samostatné vlastnosti
266 hub lze však těžko hodnotit v kontextu prostředí, kde je více dostupného fosfátu vázaného v
267 organické formě, a tedy tato "sací" kapacita může být ekologicky irelevantní. Zatím zbývá probádat,
268 zda houba živěná rostlinným uhlíkem zvyšuje svou hydrolytickou kapacitu a tedy zda je v
269 symbiotickém stavu kompetičně zdatnější než půdní mikroorganismy.

270 4.a) zpřístupnění fosforu z neživého systému

271 Uvolnit fosfát do půdního roztoku lze z odolných minerálů exudací organických kyselin (aniontů) a
272 z fosfoorganických sloučenin produkcí mimobuněčných fosfatáz, enzymů hydrolyzujících
273 monoesterovou vazbu fosforečné kyseliny. Mimobuněčné fosfatázy bývají povrchově vázané, ale
274 také existují fosfatázy vypouštěné volně do rhizosféry.

275 Za efektivní "rozpouštěče" jsou považovány bakterie a ektomykorhizní houby (ECM). Jelikož
276 mikroorganismy schopné rozpouštět fosfát z apatitu jsou v systému obvykle přítomné, dokonce i přes
277 komplexní sterilizaci (Tarafdar and Marschner 1994), byla tato schopnost u ECM v literatuře
278 zpochybňována. Z pokusů vyplývá, že ECM mají potenciál uvolňovat fosfát z minerálů za
279 laboratorních podmínek, ale kvantitativní vliv této aktivity v přirozených podmínkách je stále
280 předmětem dohadů (Baldrian 2009). Experiment za sterilních podmínek nicméně prokázal
281 trojnásobnou zvětrávací aktivitu oproti nebiologickému zvětrávání u čechratky podvinuté (*Paxillus*

282 *involutus*), která kolonizovala borovici lesní (*Pinus sylvestris*) (van Scholl, Kuyper et al. 2008).
283 Fosfát rozpouštějící bakterie jsou skupinou bakterií hydrolyzující fosfát z nerozpustných
284 sloučenin. Uznávaný mechanismus jejich působení je již zmíněná chelatace kationtů
285 nízkomolekulárními organickými kyselinami. Některé druhy syntetizují mimobuněčné fosfatázy.
286 Inokulace zemědělské půdy těmito kmeny bakterií společně s fosfátovým hnojivem může snížit
287 hnojní nároky o významná procenta při zachování výnosnosti. Klasická fosfátová hnojiva se totiž z 80
288 % a více imobilizují (Holford 1997, Schachtman 1998).

289 **4.b) transport fosforu přes buněčnou membránu**

290 Rostliny mají ve své genové výbavě vysokoafinitní fosfátové transportéry lokalizované v rhizodermis
291 (Javot, Penmetsa et al. 2007). Pomocí nich mohou přijímat fosfát z půdního roztoku i proti velkému
292 koncentračnímu gradientu přímo do rostliny. Tento způsob označujeme jako přímou cestu příjmu
293 fosforu. V závislosti na koncentraci fosfátu v okolí je kinetika jeho příjmu hyperbolická a jednofázová
294 za nízké, μM koncentrace, a dvoufázová za vysoké, mM koncentrace.

295 K vytvoření elektrochemického potenciálu na membráně používají rostliny i houby H^+ -ATPázy
296 P typu. Vytvořený protonový gradient je hlavní hnací silou pro příjem fosforu - symport s H^+ je
297 obecným mechanismem translokace látek proti koncentračnímu gradientu přes membránu u s
298 protonem spřažených translokátorů nadčeledi hlavních transportérů (Major Facilitator Superfamily).
299 Pedersen, Kumar et al. (2013) pořídili krystalickou strukturu o rozlišení 2,9 Å fosfátového
300 transportéru orchideoidně mykorhizní houby *Piriformospora indica* v uzavřeném stavu se substrátem
301 a předpověděli mimobuněčně i vnitrobuněčně otevřenou strukturu. Navržený mechanismus
302 translokace (příloha 6) začíná navázáním H^+ iontu na Asp324 v centru proteinu, což umožní vstup
303 fosfátu k Lys459 a zmenšení dutiny aktivního místa přitáhnutím Gln177. Ten odkloní Tyr150, který
304 blokuje H^+ únikový tunel, a H^+ uniká do cytoplazmy. Gln177 také odkloní Lys459, takže kolem fosfátu
305 převládají záporně nabitě zbytky, dutina se rozevívá a fosfát uniká do cytoplazmy. Schéma je
306 zjednodušené.

307

5.) Mykorhizní cesta příjmu fosforu

308 Prvotní předpoklady o významu cest příjmu fosforu favorizovaly přímou cestu. Dokonce se myslelo,
309 že přímá cesta zajišťuje veškeré potřeby rostlinné výživy (Smith, Smith et al. 2003), především v
310 příjmu prvků málo difusibilních, jako je fosfor, zinek či draslík. Dnes ale víme, že mykorhizní cestou
311 putuje většina až veškerý fosfor – nehledě na míru kolonizace či růstovou odpověď. Jak bylo zmíněno,
312 důležitým faktorem je konkrétní kombinace rostliny, houby a prostředí, ale u rajčete (*L. esculentum*)
313 či vojtěšky (*Medicago truncatula*) byl pozorován příjem fosforu z až 100 % mykorhizní cestou (Smith,
314 Smith et al. 2003, Smith, Smith et al. 2004) v závislosti na druhu mykosymbionta.

315 Jelikož jsou tyto výsledky důsledkem nových metodických postupů – velkou zásluhu sklízí
316 experimenty s radioaktivními izotopy fosforu ³²P a ³³P – byla role mykorhizní cesty u typických
317 zemědělských plodin, které bývají zároveň rostlinami s nízkou odpovědí, přehlížena. Jedním z důvodů
318 využívání mykorhizní cesty by mohl být fakt, že růst hyfy spotřebovává méně uhlíku nežli růst kořene
319 o stejné délce či absorpční ploše (Tinker 1975). Hyfa má také menší průměr než kořen, proniká do
320 těsných pórů kořeni nedostupných a svou hustotou v půdě eliminuje vznik deplečních zón.
321 Přenesením soupeření na bedra houbového symbionta se rostlina brání přímé kompetici s půdními
322 mikroorganismy.

323 5.a) pohyb fosforu v myceliu

324 Houba transportuje fosfor myceliem aktivně do kořenů hostitelské rostliny. Bylo prokázáno, že se
325 fosfát nepohybuje hyfou za pomoci kondenzačního pohybu ani pasivní difúze (Pearson and Tinker
326 1975, Cooper and Tinker 1981, Koide and Kabir 2000). Změřená hustota toku se pohybuje v
327 jednotkách $\times 10^{-13}$ mol P/m²/s. Fosfát je na velké vzdálenosti transportován ve vakuolách v podobě
328 polyfosfátů – a to krátkých do 20 merů a dlouhých s 20 a více mery. Ve vnitrokořenovém myceliu
329 bývají fosfátové granule s kratšími řetězci (Kiers, Duhamel et al. 2011), přičemž jsou
330 pravděpodobným zdrojem fosfátu pro rostlinu (Takanishi, Ohtomo et al. 2009). Koncentrace
331 polyfosfátů v myceliu byla změřena jako 5,4-17,3 % celkového fosforu u houby *Gigaspora margarita*
332 a tento rozsah byl prokázán i u jiných mykorhizních druhů hub (Solaiman, Ezawa et al. 1999). Polymer
333 pravděpodobně rozkládají dvě skupiny enzymů: polyfosfát kinázy (PPK) a polyfosfát glukokinázy
334 (PPGK), přičemž PPGK jsou lokalizovány pouze v mimokořenovém myceliu (Capaccio and Callow
335 1982). Výzkum je komplikován tím, že houby mají nejspíše dva typy vakuol – kromě klasických,
336 sférických vakuol lze pozorovat různé tvarované tubulární vakuoly (Shepherd, Orlovich et al. 1993,
337 Shepherd, Orlovich et al. 1993, Rees, Shepherd et al. 1994, Uetake, Kojima et al. 2002).

338 Bylo navrženo (Fitter 2006) a experimentálně dokázáno (Bever, Richardson et al. 2009, Kiers,
339 Duhamel et al. 2011), že výměna uhlíku a fosforu je závislá na předávání fosforu přes arbuskulární

340 rozhraní, čímž podněcuje rostlinu k lokálnímu toku uhlíku do míst zvýšené minerální výživy. Tento
341 trend je patrný zejména u vícedruhových pokusů.

342 **5.b) transport fosforu z houby do rostliny**

343 V mykorhizní cestě příjmu fosforu jsou také účastníky fosfátové transportéry. Jsou však kódovány
344 odlišnými geny než v případě přímé cesty. Jsou lokalizovány pouze v periarbuskulární membráně –
345 membráně rostlinné buňky, ve které je zformovaná arbuskule (Rausch, Daram et al. 2001). Přijímají
346 ortofosfát, který je do periarbuskulárního (apoplastického) prostoru poskytován houbou pomocí
347 výtokových transportérů, které zatím nejsou známy, popřípadě jiným mechanismem. Objevily se
348 důkazy, že houba transportuje i jiné molekuly s fosfátovou skupinou, která se v rozhraní uvolňuje.
349 Prozatím jediným kandidátem je fosfocholin (Schachtman 1998). Dnes již víme, že k toku živin
350 dochází v živém rozhraní, a původní hypotéza, že rostliny získávají živiny rozkladem arbuskulí, byla
351 opuštěna.

352 Měření na póru zahradním (*Allium porrum*) a cibuli kuchyňské (*A. cepa*) kolonizovanými *G.*
353 *mosseae* a *G. coronatum* ukázaly tok fosforu mezi houbou a rostlinou v rozmězi $2\text{--}29 \times 10^{-9}$ mol
354 $\text{P}/\text{m}^2/\text{s}$ (Smith, Gianinazzi-Pearson et al. 1994), což je cca o 4 řády více než při pohybu myceliem a
355 odpovídá vtoku samostatné rostliny či houby. Výtok fosfátu je značně pomalejší, ale v symbiotickém
356 rozhraní musí být výtok fosfátu z houby mnohem vyšší než standardně a výdej houbou a příjem
357 rostlinou jsou tak v rovnováze. Tyto mechanismy zvyšující výtok fosfátu nejsou dosud osvětleny.

358 Ke zpětnému vstřebávání fosfátu houbou nedochází, protože vysokoafinitní transportéry
359 (*GvPT*) mají v arbuskuli sníženou genovou expresi (Harrison and VanBuuren 1995). Nízká úroveň
360 exprese přesto dovoluje potenciální kontrolu výtoku fosfátu houbou.

6) Membránové transportéry fosforu

361
362 Fosfátové transportéry fungují ve dvou systémech: vysoko- a nízkoafinitním. To reflektuje
363 koncentraci fosforu v okolním prostředí a odpovídá tak dvěma typům Michaelis-Mentenovské
364 kinetiky, přestože byla navržena i přítomnost až sedmi typů transportní kinetiky. Nízkoafinitní
365 transportéry se účastní především distribuce již získaného fosforu uvnitř pletiv (Smith, Dickson et al.
366 2001). Výzkum fosfátových transportérů probíhá paralelně s výzkumem mykorhizní cesty příjmu
367 fosforu a dnes ukazuje na vysokou důležitost. Jejich genová exprese může být specificky upravena,
368 zvýšena či jinak pozměněna, a to právě v mykorhizních kořenech například rýže *Oryza sativa*
369 (Paszkowski, Kroken et al. 2002), lilkovitých (bramboru *Solanum tuberosum*, (Rausch, Daram et al.
370 2001); rajčete *L. esculentum*, (Rosewarne, Barker et al. 1999); petúnie *Petunia hybrida*, (Karandashov,
371 Nagy et al. 2004)) či bobovitých (vojtěšky *M. truncatula*, (Harrison, Dewbre et al. 2002); štirovníku
372 *Lotus japonicus*, (Karandashov, Nagy et al. 2004)). S narůstajícími sekvencemi rostlinných fosfátových
373 transportérů bylo zapotřebí zavést nové názvosloví a rozdělit je do čtyř fylogeneticky podložených
374 rodin: Pht1, Pht2, Pht3 a Pht4 (Bucher, Rausch et al. 2001, Mudge, Rae et al. 2002, Rausch and
375 Bucher 2002).

376 Kromě exprimačního vzoru se zkoumá i lokalizace této exprese. Fosfátové transportéry
377 mykorhizní cesty nejsou vždy bezvýhradně mykorhizně specifické (Karandashov, Nagy et al. 2004),
378 přesto lze tvrdit, že k jejich expresi dochází především v buňkách s vnitrobuněčnými houbovými
379 strukturami (Rausch, Daram et al. 2001).

6a) geny a proteiny v rostlině i houbě

381 Geny fosfátových transportérů zodpovědných za příjem fosforu do organismu přes cytoplazmatickou
382 membránu nalzáme v genové rodině **Pht1**. Ta skrývá $H_2PO_4^-:H^+$ symportéry, nízko- i vysokoafinitní
383 transportéry s 12 transmembránovými doménami rozdělenými do dvou bloků po 6 spojených
384 dlouhým hydrofilním můstkem (Liu, Muchhal et al. 1998) a vnitrobuněčnými, hydrofilními C i N konci
385 (Pao, Paulsen et al. 1998). Jsou homologické s některými transportéry a zachovávají si konzervovaná
386 regulační místa post-transkripční modifikace i jiné vysoce konzervované regiony na čtvrté
387 transmembránové doméně. Ostatní rodiny nejsou pro tuto práci příliš zajímavé, jelikož jsou
388 lokalizovány na vnitřních membránách buněk - Pht2 v plastidech (Daram, Brunner et al. 1999, Versaw
389 and Harrison 2002), Pht3 v mitochondriích a Pht4, nejpodobnější s fosfátovými transportéry
390 živočichů, v plastidech a Golgiho aparátu (Guo, Jin et al. 2008).

391 Pht1 geny byly naklonovány jak z hub *Glomus intraradices* (*GiPT*), *G. mosseae* (*GmosPT*) a *G.*
392 *versiforme* (*GvPT*), tak z rostlin jako topol chlupatoplodý (*Populus trichocarpa* (*PtPT*)) nebo vojtěška
393 (*M. truncatula* (*MtPT*)). Rostlina má ve svém haploidním genomu typicky několik fosfátových
394 transportérů z rodiny Pht1, počínaje třemi u vojtěšky (*M. truncatula*) a konče třinácti u rýže (*O.*

395 *sativa*) (Paszkowski, Kroken et al. 2002). Podle homologie, fylogenetických dat a aktivity jsou dále
396 tříděny do podrodin (příloha 7). Fylogenetické srovnání proteinových sekvencí fosfátových
397 transportérů ukázalo na společného proteinového předka mykorhizně-indukovatelných transportérů
398 (OsPT11/13, MtPT4, StPT4/5, LePT4/5, HvPT8), jelikož jsou si více příbuzné mezi sebou, než s
399 ostatními členy rodiny Pht1. Transportéry podrodiny I mají nízkou afinitu k fosfátu, ale zahrnují geny
400 jednoděložných i dvouděložných druhů. Podrodina III je evolučně mladší, jelikož tyto transportéry
401 nacházíme pouze u dvojděložných rostlin včetně nemykorhizních druhů, jako je huseníček rolní (*A.*
402 *thaliana*).

403 Při studiu mutantního rajčete s redukovanou mykorhizní kolonizací (*rmc*), které je rezistentní
404 ke kolonizaci většiny AM hub (kromě jednoho izolátu *G. intraradices*) (Barker, Stummer et al. 1998),
405 byly objeveny mykorhizně indukovatelné transportéry LePT3 a LePT4, které mají vyšší transkripční
406 aktivitu v buňkách s vyvíjejícími se arbuskulami a vesikuly, nikoliv čistě v kolonizované buňce, a jsou
407 spolehlivým markerem funkční mykorhizní cesty příjmu fosforu. AM specifických transportérů bylo
408 objeveno vícero, včetně MtPT4 či StPT3, kde MtPT4 je jediným vojtěškovým fosfátovým
409 transportérem mykorhizní cesty a jeho knock-out má za následek nulový příjem fosfátu od symbionta
410 (Javot, Penmetsa et al. 2007).

411 **6b) exprese rostlinných genů**

412 K expresi genů fosfátových transportérů dochází v různé míře dle podmínek. Ty můžeme rozdělit do
413 dvou skupin - exprese je regulována jednak koncentrací fosfátu v rhizosféře a druhá přítomností či
414 absencí mykorhizní houby. Míra exprese, tedy počet transportérů na membráně, mění rychlost
415 transportní kinetiky.

416 Glassop, Smith et al. (2005) ukázali, že fosfátové transportéry se zvýšenou genovou expresí v
417 důsledku nízké koncentrace fosfátu nejsou lokalizovány v buňkách s arbuskulí. Transportéry přímé
418 cesty snižují svou expresi na velmi nízkou úroveň, jakmile je kořen kolonizován mykorhizní houbou, a
419 zvedá se expresní profil transportérů aktivních v symbiotickém rozhraní, což je, zdá se, obecný jev
420 (Liu, Trieu et al. 1998).

421 Míra exprese je i druhově specifická. Regulační mechanismy StPT3 či LjPT3 jsou funkční pouze
422 pokud jsou kortikální buňky kořene kolonizovány kmenem Glomeromycota (Paszkowski, Kroken et al.
423 2002, Karandashov, Nagy et al. 2004) a zajišťují zvýšenou genovou expresi jak u arbuskulí typu *Arum*
424 tak u smotků typu *Paris*. Na rozdíl od některých genů jiných druhů rostlin jsou spuštěny v malé míře i
425 u nekolonizovaných buněk.

426 Jedním z regulačních elementů těchto genů je cis-element P1BS a poprvé byl identifikován u
427 huseníčku (*Arabidopsis thaliana*) (Rubio, Linhares et al. 2001). V promotorovém regionu se objevuje i
428 CTC motif (Karandashov, Nagy et al. 2004). Za pomoci těchto elementů buňka jemně koriguje

429 expresi transportérů v závislosti na vnitrobuněčné a mimobuněčné koncentraci fosfátu. Do P1BS se
430 váže například PHR1 (phosphate starvation response 1), transkripční faktor ohlašující hladovění na
431 fosfor (Rubio, Linhares et al. 2001), přestože u huseníčku je to pouze jeden ze 111 transkripčních
432 faktorů ovlivňujících expresi při fosfátovém hladovění (Wu 2003). Zajímavé je, že tyto transkripční
433 faktory jsou funkční pouze v kořenech, jelikož v prýtu jsou během stresu z nedostatku fosforu aktivní
434 jiné sady transkripčních faktorů, včetně jiných rodin fosfátových transportérů. Promotor z
435 bramborového genu *StPT3* byl úspěšně vnesen do jiných druhů rostlin a ukázal na vysoký stupeň
436 konzervovanosti rozpoznávání a přenosu signálu mykorhizní cesty příjmu fosforu, přestože u
437 rýžového (jednoděložného) promotoru tohoto úspěchu dosaženo nebylo (Karandashov, Nagy et al.
438 2004).

439 Zajímavým faktem mykorhizní cesty je snížená genová exprese transportérů přímé cesty
440 (*MtPT1*, *HvPT1/2*, *StPT1/2*). K utlumení dochází s kolonizací kořene AM houbou. Exprese genů obou
441 cest je velmi citlivá ke koncentraci fosforu v rostlině. Vyloučené není ani přímé signalizování ze strany
442 houbového symbionta.

7) Závěr

443
444 Evolučně konzervované mechanismy, včetně vnímání signálních molekul, jsou základem mykorhizní
445 cesty příjmu fosforu, minimálně u dvouděložných rostlin (dřevin i bylin). Z prastarého vztahu
446 arbuskulárně mykorhizních hub a rostlin dnes pozorujeme oboustranně kontrolované soužití. Houba
447 pátrá a získává z půdy těžko dostupné minerály, z nichž je pro rostlinu nejhůře dostupný fosfor (kvůli
448 rychlému vzniku depleční zóny), za úplatu je distribuuje rostlině a ta více či méně ochotně platí svými
449 nafotosyntetizovanými cukry. Tento svazek je tak pradávny a přinejmenším pro houbu výhodný, že se
450 Glomeromycota stala obligátně biotrofně závislá na rostlinách.

451 Jelikož je v přírodě v mykorhizním svazku vícero druhů a jedinců hub v jednom kořenovém
452 systému, vznikly zatím neznámé mechanismy kontroly a výplaty efektivním minerálním
453 zásobovačům. Přesto se v přírodě udržují a fungují i méně funkční vztahy - pravděpodobně nabízejí
454 další ekologické výhody, jelikož v ekosystému vzniká rozsáhlá, propojená mykorhizní síť (common
455 mycorrhizal network) a ta může sdílet důležité informace a zprostředkovávat fyziologickou odpověď
456 (indukce imunitní odpovědi u nenapadených rostlin (Babikova, Gilbert et al. 2013) či syntéza a difúze
457 rostlinných obranných látek proti mykovorním chvostokokům (Duhamel, Pel et al. 2013)).

458 Propojení těchto symbiontů je patrné již před vznikem mykorhizy exudací synomonálních
459 látek z rostliny i z houby. Po kontaktu se v rostlině (a pravděpodobně i v houbě) spouští změna
460 genové exprese, z nichž nejdůležitější je skupina symbiotických genů (symbiosis-related genes), a
461 dochází k morfologickým a fyziologickým změnám. Houba kontrolovaně infiltruje kořenové buňky a v
462 aktivním rozhraní dochází k výměně metabolitů a živin. Ze strany rostliny je dnes známé snížení
463 exprese fosfátových transportérů tzv. přímé cesty a zvýšením exprese fosfátových transportérů tzv.
464 mykorhizní cesty. Je prokázáno, že tyto mykorhizní transportéry jsou lokalizovány pouze v
465 symbiotickém rozhraní a že tvoří samostatnou, ve fylogenetickém srovnání dobře oddělitelnou
466 skupinu mykorhizních transportérů s konzervovanými proteinovými doménami i regulačními
467 sekvencemi genů. Nutno dodat, že nehledě na míru růstové odpovědi zprostředkovává mykorhizní
468 cesta většinu rostlinou přijatého fosforu a tudíž hraje v životě rostliny nesporný význam.

469 S rostoucí lidskou populací, rostoucí poptávkou po potravinách, nešetrnému hospodaření s
470 půdou a klesající zásobou fosfátových hnojiv je tento výzkumný směr jedním z pilířů zachování
471 moderní civilizace. Výzkum je komplikován zejména tím, že houbového symbionta lze jen těžko
472 pěstovat v mikrobiologické laboratoři a tudíž je velmi málo známo o houbovém mikrosvětě
473 účastnícím se tohoto vztahu - včetně mechanismu výdeje fosfátu z houby do rostliny. Detailnější
474 výzkum houbových transportérů, biochemie polyfosfátů a regulačních genů houby i rostliny je určitě
475 jedním z budoucích kroků vedoucích k dalšímu osvětlení mykorhizní cesty příjmu fosforu rostlinami.

- 476 Lepší poznání těchto procesů může tudíž přispět k šetrnějšímu a udržitelnějšímu hospodaření se
477 zdroji, případně otevřít zcela nové možnosti produkce potravin a energie pro budoucí generace.

8) Použitá literatura

1. Abel, S., C. A. Ticconi and C. A. Delatorre (2002). "Phosphate sensing in higher plants." Physiologia Plantarum **115**(1): 1-8.
2. Akiyama, K., K. Matsuzaki and H. Hayashi (2005). "Plant sesquiterpenes induce hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi." Nature **435**(7043): 824-827.
3. Auge, R. M. (2001). "Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis." Mycorrhiza **11**(1): 3-42.
4. Avio, L., E. Pellegrino, E. Bonari and M. Giovannetti (2006). "Functional diversity of arbuscular mycorrhizal fungal isolates in relation to extraradical mycelial networks." New Phytologist **172**(2): 347-357.
5. Azaizeh, H. A., H. Marschner, V. Romheld and L. Wittenmayer (1995). "Effects of a Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungus and Other Soil-Microorganisms on Growth, Mineral Nutrient Acquisition and Root Exudation of Soil-Grown Maize Plants." Mycorrhiza **5**(5): 321-327.
6. Babikova, Z., L. Gilbert, T. J. Bruce, M. Birkett, J. C. Caulfield, C. Woodcock, J. A. Pickett and D. Johnson (2013). "Underground signals carried through common mycelial networks warn neighbouring plants of aphid attack." Ecol Lett **16**(7): 835-843.
7. Bago, B., P. E. Pfeffer, D. D. Douds, J. Brouillette, G. Becard and Y. Shachar Hill (1999). "Carbon metabolism in spores of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* as revealed by nuclear magnetic resonance spectroscopy." Plant Physiology. Sep **121**(1): 263-271.
8. Bago, B., W. Zipfel, R. M. Williams, J. Jun, R. Arreola, P. J. Lammers, P. E. Pfeffer and Y. Shachar-Hill (2002). "Translocation and utilization of fungal storage lipid in the arbuscular mycorrhizal symbiosis." Plant Physiology **128**(1): 108-124.
9. Baldrian, P. (2009). "Ectomycorrhizal fungi and their enzymes in soils: is there enough evidence for their role as facultative soil saprotrophs?" Oecologia **161**(4): 657-660.
10. Barker, S. J., B. Stummer, L. Gao, I. Dispain, O. C. P. J. and S. E. Smith (1998). "A mutant in *Lycopersicon esculentum* Mill. with highly reduced VA mycorrhizal colonization: isolation and preliminary characterisation." Plant Journal. Sep **15**(6): 791-797.
11. Beauvoit, B., M. Rigoulet, B. Guerin and P. Canioni (1989). "Polyphosphates as a source of high energy phosphates in yeast mitochondria: a ³¹P NMR study." FEBS Letters **252**(2): 255-258.
12. Bever, J. D., S. C. Richardson, B. M. Lawrence, J. Holmes and M. Watson (2009). "Preferential allocation to beneficial symbiont with spatial structure maintains mycorrhizal mutualism." Ecology Letters **12**(1): 13-21.
13. Bolan, N. S. (1991). "A Critical-Review on the Role of Mycorrhizal Fungi in the Uptake of Phosphorus by Plants." Plant and Soil **134**(2): 189-207.
14. Bucher, M., C. Rausch and P. Daram (2001). "Molecular and biochemical mechanisms of phosphorus uptake into plants." Journal of Plant Nutrition and Soil Science-Zeitschrift Fur Pflanzenernahrung Und Bodenkunde **164**(2): 209-217.
15. Burleigh, S. H. and I. E. Bechmann (2002). "Plant nutrient transporter regulation in arbuscular mycorrhizas." Plant and Soil **244**(1-2): 247-251.
16. Burleigh, S. H., T. Cavagnaro and I. Jakobsen (2002). "Functional diversity of arbuscular mycorrhizas extends to the expression of plant genes involved in P nutrition." Journal of Experimental Botany **53**(374): 1593-1601.
17. Cantrell, I. C. and R. G. Linderman (2000). "Preinoculation with VA mycorrhizal fungi increases plant tolerance to soil salinity." Challenges Facing Irrigation and Drainage in the New Millennium, Vols I and II: A27-A30.
18. Capaccio, L. C. M. and J. A. Callow (1982). "The enzymes of polyphosphate metabolism in vesicular-arbuscular mycorrhizas." New Phytol **91**(1): 81-91.

19. Cooper, K. M. and P. B. Tinker (1981). "Translocation and Transfer of Nutrients in Vesicular-Arbuscular Mycorrhizas .4. Effect of Environmental Variables on Movement of Phosphorus." New Phytologist **88**(2): 327-339.
20. Cordell, D., J.-O. Drangert and S. White (2009). "The story of phosphorus: Global food security and food for thought." Global Environmental Change **19**(2): 292-305.
21. Corradi, N. and L. Lildhar (2012). "Meiotic genes in the arbuscular mycorrhizal fungi." Communicative & Integrative Biology **5**(2): 187-189.
22. Croll, D., M. Giovannetti, A. M. Koch, C. Sbrana, M. Ehinger, P. J. Lammers and I. R. Sanders (2009). "Nonself vegetative fusion and genetic exchange in the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*." New Phytol **181**(4): 924-937.
23. Daram, P., S. Brunner, C. Rausch, C. Steiner, N. Amrhein and M. Bucher (1999). "Pht2;1 encodes a low-affinity phosphate transporter from *Arabidopsis*." Plant Cell **11**(11): 2153-2166.
24. Drigo, B., A. S. Pijl, H. Duyts, A. Kielak, H. A. Gamper, M. J. Houtekamer, H. T. S. Boschker, P. L. E. Bodelier, A. S. Whiteley, J. A. van Veen and G. A. Kowalchuk (2010). "Shifting carbon flow from roots into associated microbial communities in response to elevated atmospheric CO₂." Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **107**(24): 10938-10942.
25. Duhamel, M., R. Pel, A. Ooms, H. Bucking, J. Jansa, J. Ellers, N. M. van Straalen, T. Wouda, P. Vandenkoornhuysse and E. T. Kiers (2013). "Do fungivores trigger the transfer of protective metabolites from
26. host plants to arbuscular mycorrhizal hyphae?" Ecology **94**(9): 2019-2029.
27. Egerton-Warburton, L. and M. F. Allen (2001). "Endo- and ectomycorrhizas in *Quercus agrifolia* Nee. (*Fagaceae*): patterns of root colonization and effects on seedling growth." Mycorrhiza **11**(6): 283-290.
28. Elser, J. J., M. E. S. Bracken, E. E. Cleland, D. S. Gruner, W. S. Harpole, H. Hillebrand, J. T. Ngai, E. W. Seabloom, J. B. Shurin and J. E. Smith (2007). "Global analysis of nitrogen and phosphorus limitation of primary producers in freshwater, marine and terrestrial ecosystems." Ecology Letters **10**(12): 1135-1142.
29. Feng, G., Y. C. Song, X. L. Li and P. Christie (2003). "Contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to utilization of organic sources of phosphorus by red clover in a calcareous soil." Applied Soil Ecology **22**(2): 139-148.
30. Fester, T. and B. Hause (2007). "Drought and symbiosis – why is abscisic acid necessary for arbuscular mycorrhiza?" New Phytol **175**(3): 383-386.
31. Fitter, A. H. (2006). "What is the link between carbon and phosphorus fluxes in arbuscular mycorrhizas? A null hypothesis for symbiotic function." New Phytologist **172**(1): 3-6.
32. Freimoser, F. M., H. C. Hurlimann, C. A. Jakob, T. P. Werner and N. Amrhein (2006). "Systematic screening of polyphosphate (poly P) levels in yeast mutant cells reveals strong interdependence with primary metabolism." Genome Biology **7**(11).
33. Gahoonia, T. S., N. E. Nielsen, P. A. Joshi and A. Jahoor (2001). "A root hairless barley mutant for elucidating genetic of root hairs and phosphorus uptake." Plant and Soil **235**(2): 211-219.
34. Genre, A., G. Ortu, C. Bertoldo, E. Martino and P. Bonfante (2009). "Biotic and Abiotic Stimulation of Root Epidermal Cells Reveals Common and Specific Responses to Arbuscular Mycorrhizal Fungi." Plant Physiology **149**(3): 1424-1434.
35. Glassop, D., S. E. Smith and F. W. Smith (2005). "Cereal phosphate transporters associated with the mycorrhizal pathway of phosphate uptake into roots." Planta **222**(4): 688-698.
36. Guo, B., Y. Jin, C. Wussler, E. B. Blancaflor, C. M. Motes and W. K. Versaw (2008). "Functional analysis of the *Arabidopsis* PHT4 family of intracellular phosphate transporters." New Phytol **177**(4): 889-898.
37. Halary, S., S. B. Malik, L. Lildhar, C. H. Slamovits, M. Hijri and N. Corradi (2011). "Conserved meiotic machinery in *Glomus* spp., a putatively ancient asexual fungal lineage." Genome Biol Evol **3**: 950-958.

38. Harley, J. L. and E. L. Harley (1987). "A Checklist of Mycorrhiza in the British Flora - Addenda, Errata and Index." *New Phytologist* **107**(4): 741-749.
39. Harrison, M. J., G. R. Dewbre and J. Y. Liu (2002). "A phosphate transporter from *Medicago truncatula* involved in the acquisition of phosphate released by arbuscular mycorrhizal fungi." *Plant Cell* **14**(10): 2413-2429.
40. Harrison, M. J. and M. L. VanBuuren (1995). "A phosphate transporter from the mycorrhizal fungus *Glomus versiforme*." *Nature* **378**(6557): 626-629.
41. Holford, I. C. R. (1997). "Soil phosphorus: Its measurement, and its uptake by plants." *Australian Journal of Soil Research* **35**(2): 227-239.
42. Chabaud, M., C. Venard, A. Defaux-Petras, G. Becard and D. G. Barker (2002). "Targeted inoculation of *Medicago truncatula* in vitro root cultures reveals MtENOD11 expression during early stages of infection by arbuscular mycorrhizal fungi." *New Phytologist* **156**(2): 265-273.
43. Chen, A., X. Chen, H. Wang, D. Liao, M. Gu, H. Qu, S. Sun and G. Xu (2014). "Genome-wide investigation and expression analysis suggest diverse roles and genetic redundancy of Pht1 family genes in response to Pi deficiency in tomato." *BMC Plant Biology* **14**(61).
44. Chen, Y. L., M. C. Brundrett and B. Dell (2000). "Effects of ectomycorrhizas and vesicular-arbuscular mycorrhizas, alone or in competition, on root colonization and growth of *Eucalyptus globulus* and *E. urophylla*." *New Phytologist*. Jun **146**(3): 545-556.
45. Imhof, S. (2001). "Subterranean structures and mycotrophy of the achlorophyllous *Dictyostega orobanchoides* (Burmanniaceae)." *Revista De Biologia Tropical* **49**(1): 239-247.
46. Jakobsen, I. and L. Rosendahl (1990). "Carbon Flow into Soil and External Hyphae from Roots of Mycorrhizal Cucumber Plants." *New Phytologist* **115**(1): 77-83.
47. Jakubowski, H. (1986). "Sporulation of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* is accompanied by synthesis of adenosine 5'-tetrphosphate and adenosine 5'-pentaphosphate." *Proc Natl Acad Sci U S A* **83**(8): 2378-2382.
48. Jansa, J., F. A. Smith and S. E. Smith (2008). "Are there benefits of simultaneous root colonization by different arbuscular mycorrhizal fungi?" *New Phytologist* **177**(3): 779-789.
49. Javot, H., R. V. Penmetsa, N. Terzaghi, D. R. Cook and M. J. Harrison (2007). "A *Medicago truncatula* phosphate transporter indispensable for the arbuscular mycorrhizal symbiosis." *Proc Natl Acad Sci U S A* **104**(5): 1720-1725.
50. Johnson, N. C., J. H. Graham and F. A. Smith (1997). "Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism-parasitism continuum." *New Phytologist* **135**(4): 575-586.
51. Jungk, A. (2001). "Root hairs and the acquisition of plant nutrients from soil." *Journal of Plant Nutrition and Soil Science-Zeitschrift Fur Pflanzenernahrung Und Bodenkunde* **164**(2): 121-129.
52. Karandashov, V., R. Nagy, S. Wegmuller, N. Amrhein and M. Bucher (2004). "Evolutionary conservation of a phosphate transporter in the arbuscular mycorrhizal symbiosis." *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America* **101**(16): 6285-6290.
53. Kiers, E. T., M. Duhamel, Y. Beesetty, J. A. Mensah, O. Franken, E. Verbruggen, C. R. Fellbaum, G. A. Kowalchuk, M. M. Hart, A. Bago, T. M. Palmer, S. A. West, P. Vandenkoornhuyse, J. Jansa and H. Bucking (2011). "Reciprocal Rewards Stabilize Cooperation in the Mycorrhizal Symbiosis." *Science* **333**(6044): 880-882.
54. Kim, K. Y., Y. S. Cho, B. K. Sohn, R. D. Park, J. H. Shim, S. J. Jung, Y. W. Kim and K. Y. Seong (2002). "Cold-storage of mixed inoculum of *Glomus intraradices* enhances root colonization, phosphorus status and growth of hot pepper." *Plant and Soil* **238**(2): 267-272.
55. Koide, R. T. and Z. Kabir (2000). "Extraradical hyphae of the mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* can hydrolyse organic phosphate." *New Phytologist* **148**(3): 511-517.
56. Kornberg, A., N. Rao and D. Ault-Riche (1999). "Inorganic polyphosphate: a molecule of many functions." *Annu. Rev. Biochem.* **68**: 89-125.

57. Kosuta, S., M. Chabaud, G. Lounnon, C. Gough, J. Denarie, D. G. Barker and G. Becard (2003). "A diffusible factor from arbuscular mycorrhizal fungi induces symbiosis-specific MtENOD11 expression in roots of *Medicago truncatula*." Plant Physiol **131**(3): 952-962.
58. Lejohn, H. B. (1983). "L-Glutamine Alteration of Gene-Expression, Not of Polyphosphate and Calcium-Metabolism, Is a Key Event in Arresting Fungal Sporulation." Canadian Journal of Biochemistry and Cell Biology **61**(5): 262-273.
59. Lerat, S., L. Lapointe, S. Gutjahr, Y. Piche and H. Vierheilig (2003). "Carbon partitioning in a split-root system of arbuscular mycorrhizal plants is fungal and plant species dependent." New Phytologist **157**(3): 589-595.
60. Liu, C., U. S. Muchhal, M. Uthappa, A. K. Kononowitz and K. G. Raghothama (1998). "Tomato Phosphate Transporter Genes Are Differentially Regulated in Plant Tissues by Phosphorus." Plant Physiol **116**: 91-99.
61. Liu, H., A. T. Trieu, L. A. Blaylock and M. J. Harrison (1998). "Cloning and characterization of two phosphate transporters from *Medicago truncatula* roots: Regulation in response to phosphate and to colonization by arbuscular mycorrhizal (AM) fungi." Molecular Plant-Microbe Interactions **11**(1): 14-22.
62. Maillet, F., V. Poinot, O. Andre, V. Puech-Pages, A. Haouy, M. Gueunier, L. Cromer, D. Giraudet, D. Formey, A. Niebel, E. A. Martinez, H. Driguez, G. Becard and J. Denarie (2011). "Fungal lipochitooligosaccharide symbiotic signals in arbuscular mycorrhiza." Nature **469**(7328): 58-U1501.
63. Mikkelsen, B. L., S. Rosendahl and I. Jakobsen (2008). "Underground resource allocation between individual networks of mycorrhizal fungi." New Phytologist **180**(4): 890-898.
64. Mudge, S. R., A. L. Rae, E. Diatloff and F. W. Smith (2002). "Expression analysis suggests novel roles for members of the Pht1 family of phosphate transporters in *Arabidopsis*." Plant Journal **31**(3): 341-353.
65. Munkvold, L., R. Kjoller, M. Vestberg, S. Rosendahl and I. Jakobsen (2004). "High functional diversity within species of arbuscular mycorrhizal fungi." New Phytologist **164**(2): 357-364.
66. Neville, J., J. L. Tessier, I. Morrison, J. Scarratt, B. Canning and J. N. Klironomos (2002). "Soil depth distribution of ecto- and arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Populus tremuloides* within a 3-year-old boreal forest clear-cut." Applied Soil Ecology **19**(3): 209-216.
67. Pao, S. S., I. T. Paulsen and J. Saier, M. H. (1998). "Major Facilitator Superfamily." Microbiol. Mol. Biol. Rev. **62**(1): 1-34.
68. Paszkowski, U., S. Kroken, C. Roux and S. P. Briggs (2002). "Rice phosphate transporters include an evolutionarily divergent gene specifically activated in arbuscular mycorrhizal symbiosis." Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **99**(20): 13324-13329.
69. Paul, E. A. and R. M. N. Kucey (1981). "Carbon Flow in Plant Microbial Associations." Science **213**(4506): 473-474.
70. Pearson, V. and P. B. Tinker (1975). Measurement of phosphorus fluxes in the external hyphae of endomycorrhizas. Endomycorrhizas. F. E. Sanders, B. Mosse and P. B. Tinker. London, Academic Press: 277-287.
71. Pedersen, B. P., H. Kumar, A. B. Waight, A. J. Risenmay, Z. Roe-Zurz, B. H. Chau, A. Schlessinger, M. Bonomi, W. Harries, A. Sali, A. K. Johri and R. M. Stroud (2013). "Crystal structure of a eukaryotic phosphate transporter." Nature **496**(7446): 533-536.
72. Pestov, N. A., T. V. Kulakovskaya and I. S. Kulaev (2004). "Inorganic polyphosphate in mitochondria of *Saccharomyces cerevisiae* at phosphate limitation and phosphate excess." Fems Yeast Research **4**(6): 643-648.
73. Rashid, M. H., K. Rumbaugh, L. Passador, D. G. Davies, A. N. Hamood, B. H. Iglewski and A. Kornberg (2000). "Polyphosphate kinase is essential for biofilm development, quorum sensing, and virulence of *Pseudomonas aeruginosa*." Proc Natl Acad Sci U S A **97**(17): 9636-9641.

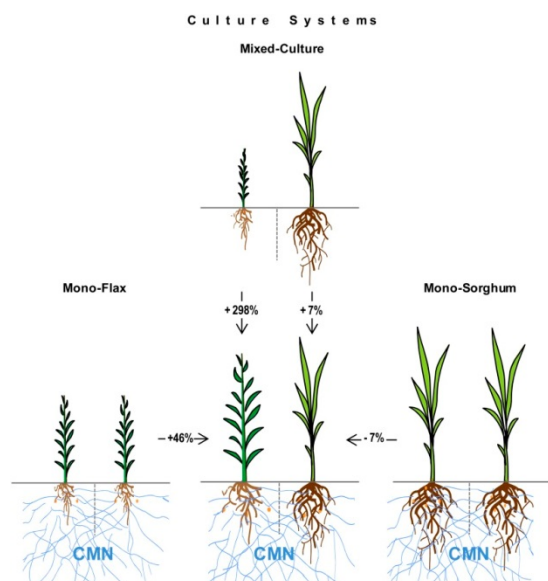
74. Rausch, C. and M. Bucher (2002). "Molecular mechanisms of phosphate transport in plants." Planta **216**(1): 23-37.
75. Rausch, C., P. Daram, S. Brunner, J. Jansa, M. Laloi, G. Leggewie, N. Amrhein and M. Bucher (2001). "A phosphate transporter expressed in arbuscule-containing cells in potato." Nature **414**(6862): 462-466.
76. Redecker, D. and P. Raab (2006). "Phylogeny of the *Glomeromycota* (arbuscular mycorrhizal fungi): recent developments and new gene markers." Mycologia **98**(6): 885-895.
77. Rees, B., V. A. Shepherd and A. E. Ashford (1994). "Presence of a Motile Tubular Vacuole System in Different Phyla of Fungi." Mycological Research **98**: 985-992.
78. Remy, W., T. N. Taylor, H. Hass and H. Kerp (1994). "4-Hundred-Million-Year-Old Vesicular-Arbuscular Mycorrhizae." Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **91**(25): 11841-11843.
79. Requena, N., E. Serrano, A. Ocon and M. Breuninger (2007). "Plant signals and fungal perception during arbuscular mycorrhiza establishment." Phytochemistry **68**(1): 33-40.
80. Rosewarne, G., S. Barker, S. Smith, F. Smith and D. Schachtman (1999). "A *Lycopersicon esculentum* phosphate transporter (LePT1) involved in phosphorus uptake from a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus." New Phytologist **144**: 507-516.
81. Rubio, V., F. Linhares, R. Solano, A. C. Martin, J. Iglesias, A. Leyva and J. Paz-Ares (2001). "A conserved MYB transcription factor involved in phosphate starvation signaling both in vascular plants and in unicellular algae." Genes Dev **15**(16): 2122-2133.
82. Sanchez-Calderon, L., J. Lopez-Bucio, A. Chacon-Lopez, A. Gutierrez-Ortega, E. Hernandez-Abreu and L. Herrera-Estrella (2006). "Characterization of low phosphorus insensitive mutants reveals a crosstalk between low phosphorus-induced determinate root development and the activation of genes involved in the adaptation of *Arabidopsis* to phosphorus deficiency." Plant Physiol **140**(3): 879-889.
83. Shepherd, V. A., D. A. Orlovich and A. E. Ashford (1993). "Cell-to-cell transport via motile tubules in growing hyphae of a fungus." Journal of Cell Science **105**: 1173-1178.
84. Shepherd, V. A., D. A. Orlovich and A. E. Ashford (1993). "A dynamic continuum of pleiomorphic tubules and vacuoles in growing hyphae of a fungus." Journal of Cell Science **104**: 495-507.
85. Schachtman, D., Reid, RJ, Ayling, SM (1998). "Phosphorus uptake by Plants: From Soil to Cell." Plant Physiology **116**: 447-453.
86. Schüßler, A., D. Schwarzott and C. Walker (2001). "A new fungal phylum, the *Glomeromycota*: phylogeny and evolution." Mycological Research **105**(12): 1413-1421.
87. Siciliano, V., A. Genre, R. Balestrini, G. Cappellazzo, P. J. deWit and P. Bonfante (2007). "Transcriptome analysis of arbuscular mycorrhizal roots during development of the prepenetration apparatus." Plant Physiol **144**(3): 1455-1466.
88. Smernik, R. J. and W. J. Dougherty (2007). "Identification of phytate in phosphorus-31 nuclear magnetic resonance spectra: The need for spiking." Soil Science Society of America Journal **71**(3): 1045-1050.
89. Smith, F. A., S. E. Smith and S. Timonen (2003). Mycorrhizas. Root Ecology. H. de Kroon and E. J. W. Visser. Berlin-Heidelberg, Springer-Verlag. **Ecological Studies**, **168**: 257-295.
90. Smith, S. and D. Read (1997). Mycorrhizal symbiosis: Chapter 12: Ericoid mycorrhiza. Mycorrhizal Symbiosis. San Diego,, Academic Press: 323-346.
91. Smith, S. A., N. J. Mutch, D. Baskar, P. Rohloff, R. Docampo and J. H. Morrissey (2006). "Polyphosphate modulates blood coagulation and fibrinolysis." Proc Natl Acad Sci U S A **103**(4): 903-908.
92. Smith, S. E., S. Dickson and F. A. Smith (2001). "Nutrient transfer in arbuscular mycorrhizas: how are fungal and plant processes integrated?" Australian Journal of Plant Physiology **28**(7): 683-694.

93. Smith, S. E., V. Gianinazzi-Pearson, R. Koide and J. W. G. Cairney (1994). "Nutrient transport in mycorrhizas: structure, physiology and consequences for efficiency of the symbiosis." Plant and Soil **159**: 103-113.
94. Smith, S. E., F. A. Smith and I. Jakobsen (2003). "Mycorrhizal fungi can dominate phosphate supply to plants irrespective of growth responses." Plant Physiology **133**(1): 16-20.
95. Smith, S. E., F. A. Smith and I. Jakobsen (2004). "Functional diversity in arbuscular mycorrhizal (AM) symbioses: the contribution of the mycorrhizal P uptake pathway is not correlated with mycorrhizal responses in growth or total P uptake." New Phytologist **162**(2): 511-524.
96. Snellgrove, R. C., W. E. Splittstoesser, D. P. Stribley and P. B. Tinker (1982). "The Distribution of Carbon and the Demand of the Fungal Symbiont in Leek Plants with Vesicular Arbuscular Mycorrhizas." New Phytologist **92**(1): 75-87.
97. Solaiman, M. D. Z. and M. Saito (1997). "Use of sugars by intraradical hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi revealed by radiorespirometry." New Phytologist **136**(3): 533-538.
98. Solaiman, M. Z., T. Ezawa, T. Kojima and M. Saito (1999). "Polyphosphates in intraradical and extraradical hyphae of an arbuscular mycorrhizal fungus, *Gigaspora margarita*." Applied and Environmental Microbiology **65**(12): 5604-5606.
99. St-Arnaud, M., C. Hamel, B. Vimard, M. Caron and J. A. Fortin (1995). "Altered Growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *chrysanthemi* in an in vitro Dual Culture System with the Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Fungus *Glomus intraradices* Growing on *Daucus carota* Transformed Roots." Mycorrhiza **5**(6): 431-438.
100. Svistoonoff, S., A. Creff, M. Reymond, C. Sigoillot-Claude, L. Ricaud, A. Blanchet, L. Nussaume and T. Desnos (2007). "Root tip contact with low-phosphate media reprograms plant root architecture." Nature Genetics **39**(6): 792-796.
101. Taber, R. (1982). "Occurrence of *Glomus* spores in weed seeds in soil." Mycologia **74**(3): 515-520.
102. Takanishi, I., R. Ohtomo, M. Hayatsu and M. Saito (2009). "Short-chain polyphosphate in arbuscular mycorrhizal roots colonized by *Glomus* spp.: A possible phosphate pool for host plants." Soil Biology and Biochemistry **41**(7): 1571-1573.
103. Tarafdar, J. C. and H. Marschner (1994). "Phosphatase Activity in the Rhizosphere and Hyphosphere of VA Mycorrhizal Wheat Supplied with Inorganic and Organic Phosphorus." Soil Biology & Biochemistry **26**(3): 387-395.
104. Ticconi, C. A. and S. Abel (2004). "Short on phosphate: plant surveillance and countermeasures." Trends Plant Sci **9**(11): 548-555.
105. Tinker, P. B. (1975). Soil chemistry of phosphorus and mycorrhizal effects on plant growth. Endomycorrhizas. F. E. Sanders, B. Mosse and P. B. Tinker. London, UK, Academic Press: 353-371.
106. Tisserant, E., A. Kohler, P. Dozolme-Seddas, R. Balestrini, K. Benabdellah, A. Colard, D. Croll, C. Da Silva, S. K. Gomez, R. Koul, N. Ferrol, V. Fiorilli, D. Formey, P. Franken, N. Helber, M. Hijri, L. Lanfranco, E. Lindquist, Y. Liu, M. Malbreil, E. Morin, J. Poulain, H. Shapiro, D. van Tuinen, A. Waschke, C. Azcon-Aguilar, G. Becard, P. Bonfante, M. J. Harrison, H. Kuster, P. Lammers, U. Paszkowski, N. Requena, S. A. Rensing, C. Roux, I. R. Sanders, Y. Shachar-Hill, G. Tuskan, J. P. Young, V. Gianinazzi-Pearson and F. Martin (2012). "The transcriptome of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* (DAOM 197198) reveals functional tradeoffs in an obligate symbiont." New Phytol **193**(3): 755-769.
107. Uetake, Y., T. Kojima, T. Ezawa and M. Saito (2002). "Extensive tubular vacuole system in an arbuscular mycorrhizal fungus, *Gigaspora margarita*." New Phytologist **154**(3): 761-768.
108. Urech, K., M. Durr, T. Boller, A. Wiemken and J. Schwencke (1978). "Localization of Polyphosphate in Vacuoles of *Saccharomyces cerevisiae*." Archives of Microbiology **116**(3): 275-278.

109. van Scholl, L., T. W. Kuyper, M. M. Smits, R. Landeweert, E. Hoffland and N. van Breemen (2008). "Rock-eating mycorrhizas: their role in plant nutrition and biogeochemical cycles." Plant and Soil **303**(1-2): 35-47.
110. Versaw, W. K. and M. J. Harrison (2002). "A chloroplast phosphate transporter, PHT2;1, influences allocation of phosphate within the plant and phosphate- starvation responses." Plant Cell **14**(8): 1751-1766.
111. Walder, F., H. Niemann, M. Natarajan, M. F. Lehmann, T. Boller and A. Wiemken (2012). "Mycorrhizal Networks: Common Goods of Plants Shared under Unequal Terms of Trade." Plant Physiology **159**(2): 789-+.
112. Wang, B., L. H. Yeun, J. Y. Xue, Y. Liu, J. M. Ane and Y. L. Qiu (2010). "Presence of three mycorrhizal genes in the common ancestor of land plants suggests a key role of mycorrhizas in the colonization of land by plants." New Phytol **186**(2): 514-525.
113. Wright, D. P., J. D. Scholes and D. J. Read (1998). "Effects of VA mycorrhizal colonization on photosynthesis and biomass production of *Trifolium repens* L." Plant Cell and Environment **21**(2): 209-216.
114. Wu, P. (2003). "Phosphate Starvation Triggers Distinct Alterations of Genome Expression in *Arabidopsis* Roots and Leaves." Plant Physiology **132**(3): 1260-1271.
115. GRYNDLER, Milan, Milan BALÁŽ, Hana HRŠELOVÁ, Jan JANSKA a Miroslav VOSÁTKA. Mykorhizní symbióza: o soužití hub s kořeny rostlin. Vyd. 1. Praha: Academia, 2004, 366 p., [16] p. of col. plates. ISBN 80-200-1240-0.
116. SMITH, S a D READ. Mycorrhizal symbiosis. 3rd ed. Amsterdam: Academic Press, 2008, ix, 787 s., [16] s. příl. ISBN 978-012-3705-266.

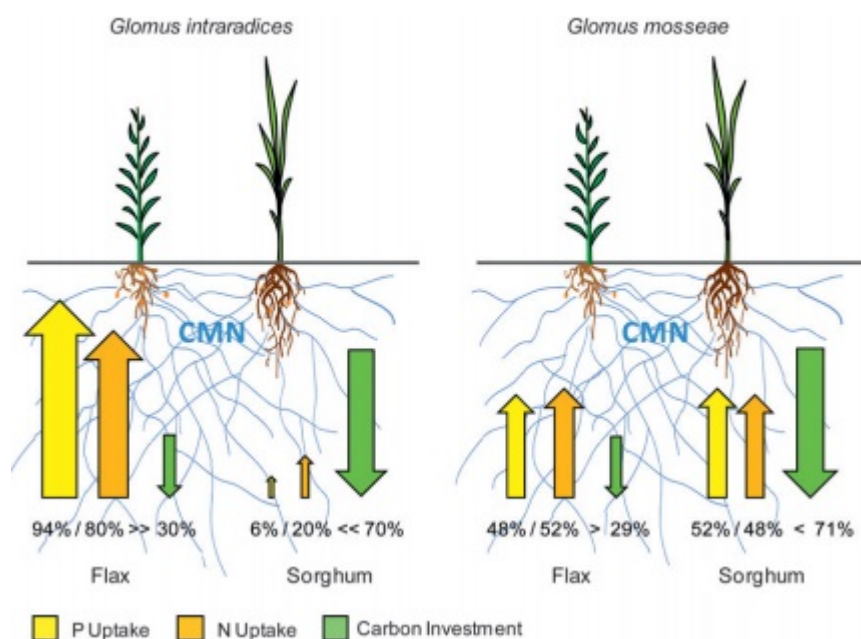
9) Přílohy

Příloha 1



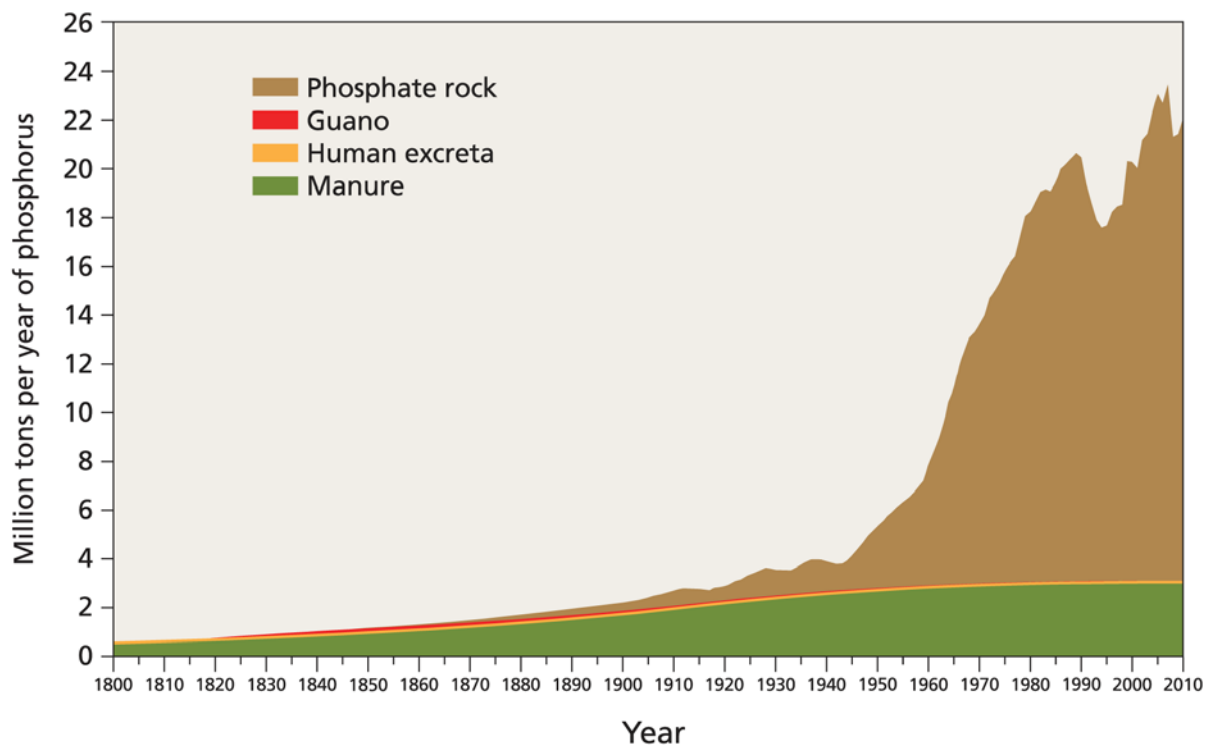
Příloha 1 – Vliv CMN na rozdílnou skladbu rostlin. Výrazná růstová odpověď u lnu (C3), pokud je propojen s prosem (C4). (Walder, Niemann et al. 2012)

Příloha 2



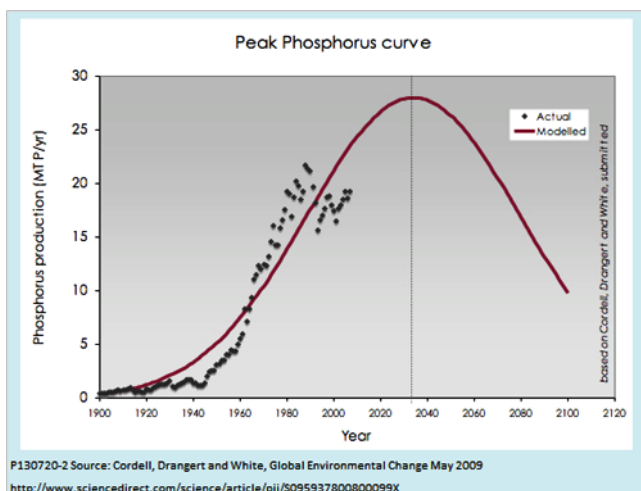
Příloha 2 – Rozdílná růstová odpověď v závislosti na houbovém symbiontovi. *Glomus intraradices* výrazně zásobuje len (flax) fosforem (žlutá) i dusíkem (oranžová), přičemž uhlík bere hlavně od prosa (sorghum), které fosforem a dusíkem zásobuje minimálně. *G. mosseae* naopak zásobuje minerály obě rostliny srovnatelně, přesto proso dává více uhlíku. (Walder, Niemann et al. 2012)

Příloha 3

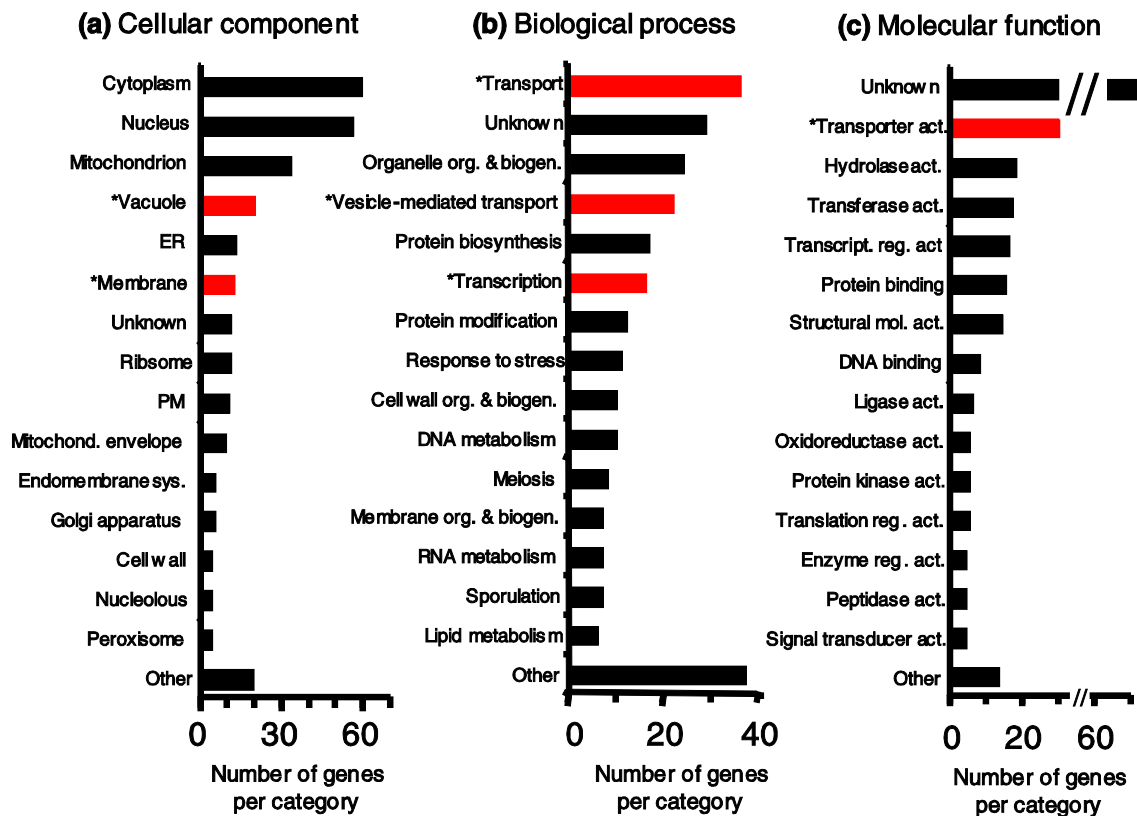


Příloha 3 – Spotřeba fosfátových hnojiv v miliónech tun za rok na časové škále 1800-2010. Patrný je enormní vzestup využívání fosforitů (rock phosphate) po druhé světové válce.(Cordell, Drangert et al. 2009)

Příloha 4

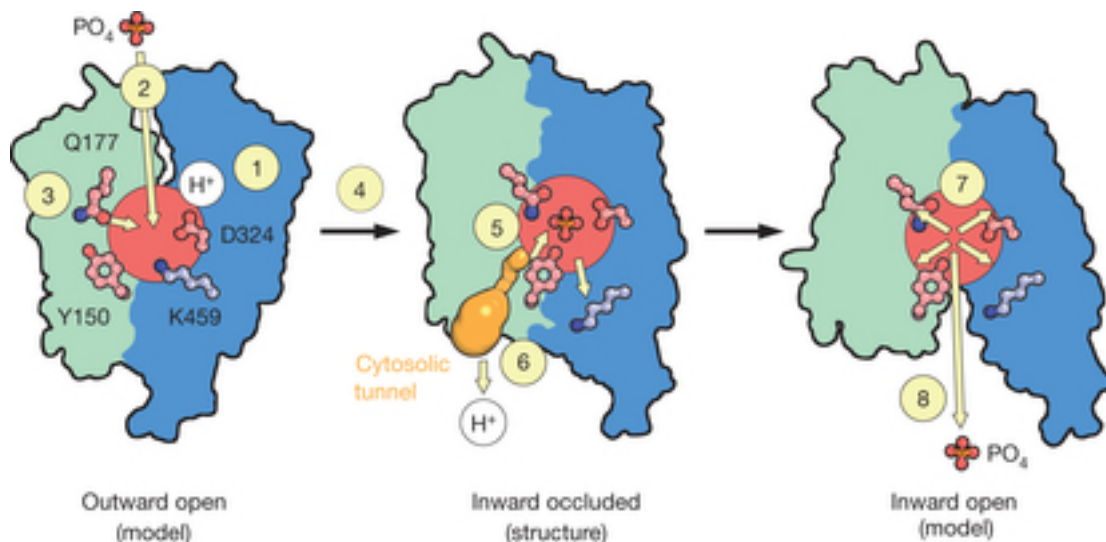


Příloha 4 – Reálná produkce fosforitů (rock phosphate) v miliónech tun za rok (černé tečky) s vynesenu předpovědi dostupnosti (červená křivka). Kolmice vyznačuje vrchol křivky v roce 2033. (Croll, Giovannetti et al. 2009)



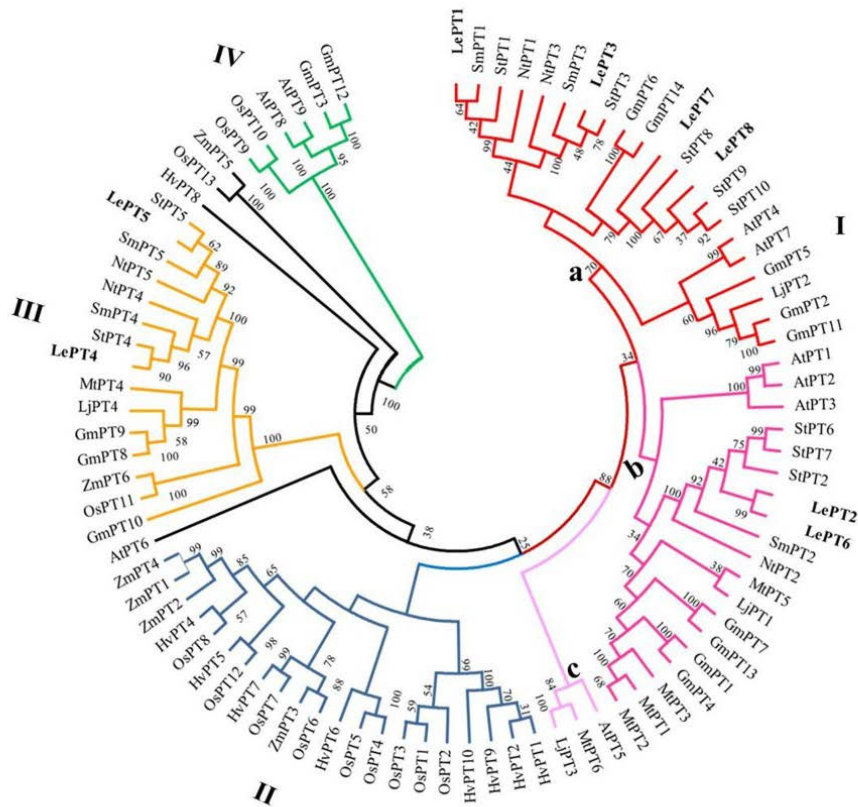
Příloha 5 – Kategorizace 255 genů důležitých pro správu polyfosfátové hladiny za použití terminologie GO slim. Červeně a s hvězdičkou vyznačeny vysoce zastoupené ($P \leq 0.05$) geny. (Freimoser, Hurlimann et al. 2006)

Příloha 6



Příloha 6 – Schéma fosfátového transportéru. Model mimobuněčně otevřeného (vlevo), získaná struktura uzavřeného (uprostřed) a model vnitrobuněčně otevřeného (vpravo) proteinu. Popis mechanismu přenosu přes membránu v textu. (Pedersen, Kumar et al. 2013)

Příloha 7



Příloha 7 – Fylogenetická analýza rostlinných genů rodiny Pht1 pro fosfátové transportéry, zvláště rajčatové geny (LePTx) a podrodiny (římské číslice: I – dvojděložně specifická; II – jednoděložně specifická; III a IV - smíšené). (Chen, Chen et al. 2014)

Poděkování:

Na prvním místě bych chtěl poděkovat mému školiteli, Mgr. Honzovi Jansovi, PhD za čas, odbornou pomoc s technikou, tématem i zdroji a za lektorství, což přispělo ke kvalitě a dodržení termínu. Také chci poděkovat všem členům laboratoře biologie hub na MBÚ AV ČR, v.v.i. za přátelské a vědotvorné prostředí, a z nich zejména Doc. RNDr. Milanovi Gryndlerovi, CSc. za občasnou, přesto významnou konzultaci a za informačně bohatou literaturu. A mámě, Osaro Konečné, trpělivé a obětavé pečovatelce o mladého studenta, děkuji za vše neodborné, protože bez toho by to nešlo!