

PODZIEMNA KOMUNIKACJA – NOWE ELEMENTY SZLAKÓW SYGNAŁOWYCH ARBUSKULARNEJ SYMBIOZY MYKORYZOWEJ

Katarzyna Jas^{1*}, Urszula Małolepsza¹

¹Katedra Fizjologii i Biochemii Roślin, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

Wpłynęło w grudniu 2016 r.
Zaakceptowano w kwietniu 2017 r.

1. Wstęp. 2. Symbiotyczna natura grzybów arbuskularnych. 3. Wczesne etapy nawiązywania mykoryzy arbuskularnej. 4. Wymiana cząsteczek sygnałowych podczas formowania się mykoryzy arbuskularnej. 5. Kwas mewalonowy – wtórny przekaźnik cząsteczek sygnałowych w mykoryzie arbuskularnej. 6. Kinaza białkowa CCaMK jako kluczowy element w ustanowieniu mykoryzy arbuskularnej. 7. Podsumowanie

Underground communication – the new elements of signalling pathways of arbuscular mycorrhizal symbiosis

Abstract: Mycorrhiza is a symbiotic relationship between living cells of the roots of higher plants and non-pathogenic fungi which inhabit soil and belong to *Glomeromycota* (endomycorrhizae) and *Basidiomycota*, *Ascomycota* (ectomycorrhizae). Although the phenomenon of mycorrhiza was discovered by a Polish botanist F.D. Kamiński already in 1881, various stages of establishing the symbiotic relationship between the partners are still not fully understood and explained. According to the current knowledge, the roots of host plants release strigolactones, which stimulate germination and branching of spores of arbuscular fungi. As a result, the fungi synthesize molecular signals, i.e. chitooligosaccharides (COs) and lipochitooligosaccharides (LCOS), called MycF factors. Thanks to the development of molecular biology techniques the probable cascade of events during the recognition of fungal MycF factor by the host-plant has been outlined. The enzyme 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase 1 (HMGR1) and also its product, mevalonic acid (MVA), play an essential role in the biosynthesis of sterols and isoprenoids in a plant cell. The recent studies indicate that these compounds may also play a very important role during establishing of the symbiotic mycorrhizal relationship. It is believed that MVA detects and transmits MycF factor to a cell nucleus of a host-plant triggering numerous necessary mechanisms in the plant cell to activate next steps of the mycorrhizal symbiosis. The discovery of HMGR1 and MVA sheds new light on symbiotic nature of mycorrhiza. This paper is a review of the current knowledge on the signal exchange during symbiotic interactions between mycorrhizal fungi and host plants.

1. Introduction. 2. Symbiotic nature of arbuscular fungi. 3. Arbuscular mycorrhiza in early stages. 4. Exchange of signaling molecules during arbuscular mycorrhiza formation. 5. Mevalonic acid – secondary signaling molecule messengers in the arbuscular mycorrhiza. 6. Protein kinase CCaMK as a key element in the establishment of arbuscular mycorrhiza. 7. Summary

Słowa kluczowe: kwas mewalonowy, mikoryza, reduktaza 1 3 hydroksy-3-metyloglutarylo koenzymu A, strigolaktony, szlak sygnałowy
Key words: mevalonic acid, mycorrhiza, reductase 1 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A, strigolactones, signaling pathway

1. Wstęp

Zjawisko mykoryzy jest jednym z najczęściej spotykanych w świecie roślin symbiotycznym związkiem z grzybami. Nazwa mykoryza pochodzi od greckich słów *mycos* i *rhiza*, które oznaczają odpowiednio grzyb i korzeń [23]. Mykoryza jest relacją symbiotyczną, która tworzy się pomiędzy żywymi komórkami roślin wyższych, a niepatogenicznymi grzybami zasiedlającymi glebę. Mykoryza została odkryta w 1881 roku przez polskiego botanika F.D. Kamińskiego, który zbadał i wyjaśnił zasady symbiozy roślin wyższych z grzybami glebowymi na podstawie życia korzeniówki (*Monotropa hypopitys*) [2, 34]. Dzisiaj wiemy, że relacja mykoryzowa może być nawiązana pomiędzy symbiotycznymi grzybami i rośliną-gospodarzem praktycznie w każdym ekosystemie na Ziemi, począwszy od pustyni, tj. obszarów pozbawionych zwartej roślinności, lasów tropikalnych bogatych w najróżniejsze gatunki roślin, a skończywszy na gruntach uprawnych, często znisz-

czonych intensywną gospodarką rolną i nadmiernym nawożeniem środkami chemicznymi [5, 35]. W zależności od stopnia kontaktu strzępek grzyba z komórkami korzenia rośliny gospodarza, wyróżnia się dwa główne typy związków mykoryzowych, tj. ektomykoryzę i endomykoryzę. Ektomykoryzę nawiązuje około 2% gatunków roślin naczyniowych. Jest to dominująca forma mykoryzy wśród gatunków leśnych roślin drzewiastych strefy umiarkowanej. Symbiontami grzybowymi tworzącymi związek ektomykoryzowy są grzyby należące do gromady podstawczaków (*Basidiomycota*) i workowców (*Ascomycota*) [11]. Wszeghobecną w przyrodzie symbiozą mykoryzową jest mykoryza arbuskularna, która należy do endomykoryz, to jest do związków mykoryzowych, w których grzyb nie tworzy mufki grzybnicowej wokół korzeni i wnika nie tylko do przestrzeni międzykomórkowych, ale także do wnętrza komórek kory pierwotnej korzenia. Prawdopodobnie mykoryza arbuskularna trwa od ponad 400 milionów lat, o czym świadczą znalezione skamieliny roślin kopalnych pochodzące

* Autor korespondencyjny: Katedra Fizjologii i Biochemii Roślin, Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź; tel. 42 635 44 19; e-mail: katarzyna.jas@biol.uni.lodz.pl

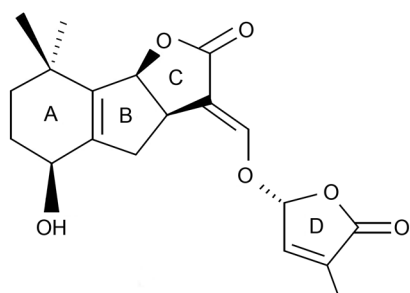
z tamtego okresu, a więc należy do najstarszych związków symbiotycznych na Ziemi. Przypuszcza się, że dzięki tej symbiozie rośliny zasiedliły ląd [20]. Szacuje się, że ok. 80% wszystkich gatunków roślin należących do okrytonasiennych i nagonasiennych wchodzi w relacje mykoryzowe z grzybami zaliczanymi do gromady *Glomeromycota* [31]. Początkowo grzyby arbuskularne były zaliczane do gromady sprzężniowców (*Zygomycota*) [21]. Jednak później na podstawie dokładniejszej obserwacji biologii tych grzybów, a także molekularnej analizy rDNA skamieniałości korzeni mykoryzowych wczesnych dewońskich roślin naczyniowych, udowodniono monofiletyczne pochodzenie grzybów arbuskularnych i podniesiono je do gromady *Glomeromycota*. Na podstawie filogenetycznego drzewa rDNA grzyby należące do *Glomeromycota* prawdopodobnie stanowią odgałęzienie pradawnego przodka, stanowiąc grupę siostrzaną z workowcami i podstawczakami [8, 24, 28]. Strzępki grzybów arbuskularnych wnikają do wnętrza komórek kory pierwotnej korzenia rośliny-gospodarza, tworząc silnie rozgałęziające się struktury (arbuskule), których rolą jest wymiana substancji odżywczych pomiędzy symbiontami. Natomiast od strony gleby strzępki grzybni przerastają podłoże na dalekie odległości uruchamiając niedostępne dla roślin składniki pokarmowe, biorąc udział w krążeniu węgla, azotu i fosforu w środowisku [30, 35]. Związek mykoryzowy jest korzystny dla obu partnerów. Dzięki tej symbiotycznej relacji roślina otrzymuje niezbędne do życia związki mineralne oraz jest lepiej zaopatrywana w wodę, a przez to może być mniej podatna na suszę oraz choroby. Tak więc grzybnia stanowi pomost łączący roślinę z środowiskiem glebowym. Natomiast w zamian, partner grzybowy korzysta z produktów fotosyntezy rośliny-gospodarza [9, 11, 14]. Dla wielu gatunków roślin symbioza mykoryzowa jest relacją fakultatywną, tworzoną w zależności od stężenia substancji odżywczych w glebie, podczas gdy grzyby, aby przejść pełen cykl rozwojowy, potrzebują cukrów od rośliny-gospodarza. Dlatego też związek mykoryzowy jest dla nich niezbędny do życia [3, 23]. Wynikiem symbiotycznej kolonizacji korzeni roślin-gospodarzy przez partnerów grzybowych, jest utworzenie podziemnej sieci wzajemnych połączeń, umożliwiających wymianę substancji odżywczych pomiędzy symbiontami, budując jeden ekosystem [19].

W ostatnich latach rozwój technik biologii molekularnej umożliwił identyfikację nowych elementów symbiotycznej ścieżki sygnałowej niezbędnych dla ustanowienia relacji mykoryzowej pomiędzy grzybami arbuskularnymi i roślinami. W niniejszej pracy przedstawiono najnowsze informacje na temat roli cząsteczek sygnałowych, w tym głównie kwasu miewalonowego (MVA), we wczesnych reakcjach roślin na sygnały wytwarzane przez symbiotyczne grzyby arbuskularne i formowanie się związku mykoryzowego. Proces

nawiązywania symbiotycznej relacji arbuskularnej został przedstawiony na przykładzie *Glomus* (według najnowszej nomenklatury od 2010 roku *Rhizophagus* [27]). Jednak pomimo wprowadzenia nowego nazewnictwa, w literaturze wciąż funkcjonuje podwójna nomenklatura dla pełnej jasności przekazywanych treści.

2. Symbiotyczna natura grzybów arbuskularnych

Komórki kiełkujących zarodników *Glomus* zawierają organelle zwane glioksysomami, w których przebiega cykl glioksyłanowy, umożliwiający enzymatyczne przekształcenie lipidów zmagazynowanych w zarodnikach do cukrów [6]. Stanowią one materiał zapasowy do budowy kiełkujących strzępek. Ilość lipidów jest ograniczona i po kilku dniach ulega wyczerpaniu, co działa hamująco na wzrost młodych grzybów. W tym czasie kiełkujące strzępki aktywnie penetrują glebę w celu poszukiwania zielonego partnera, z którym nawiążą symbiotyczną relację mykoryzową. Heterotroficzna natura grzybów arbuskularnych uzależnia je od związków węgla rośliny-gospodarza. Grzyb w przypadku nienawiązania relacji mykoryzowej z rośliną-gospodarzem hamuje swoją aktywność, wstrzymuje wzrost strzępek i wycofuje z nich cytoplazmę z powrotem do zarodników. Pozostaje on w stanie uśpienia aż do momentu, kiedy ponownie spróbuje nawiązać symbiotyczny kontakt z rośliną [3, 22]. Rośliny zapoczątkowują związek mykoryzowy z grzybami wydzielając do gleby specyficzne cząsteczki. Grzyby rozpoznają je jako sygnały informujące o gotowości rośliny do podjęcia kontaktu z nimi i rozwoju symbiozy. Również grzyby komunikują się ze swoimi roślinami-gospodarzami za pomocą chemicznych przekazywaczy sygnałowych. Wysyłają one informację zwrotną do rośliny-gospodarza, która rozpoznaje grzyby jako potencjalnych partnerów relacji mykoryzowej [30]. Niedobór substancji mineralnych w glebie (głównie fosforanów), może być jednym z czynników stymulujących w roślinie uruchamianie wewnętrznych mechanizmów obronnych prowadzących do syntezy cząsteczek sygnałowych, które odgrywają znaczącą rolę w inicjowaniu relacji symbiotycznych [12, 13]. Podczas pierwszych etapów rozpoznawania rośliny przez *Glomus* obserwuje się intensywny rozwój i rozgałęzianie strzępek grzybowych wokół korzenia gospodarza. W 2005 roku zbadano wydzieliny korzeniowe roślin, które współdziałały z grzybami mykoryzowymi. Wyniki badań ujawniły, że korzenie tych roślin wydzielają do gleby bioaktywne cząsteczki sygnałowe zidentyfikowane jako strigolaktyny, odpowiedzialne za stymulowanie rozgałęziania się strzępek grzybowych [1]. Przez ostatnie 60 lat strigolaktyny były znane jedynie jako stymulatory kiełkowania nasion roślin pasożytniczych z rodzaju *Striga*. Obecnie strigolaktyny to nowa grupa

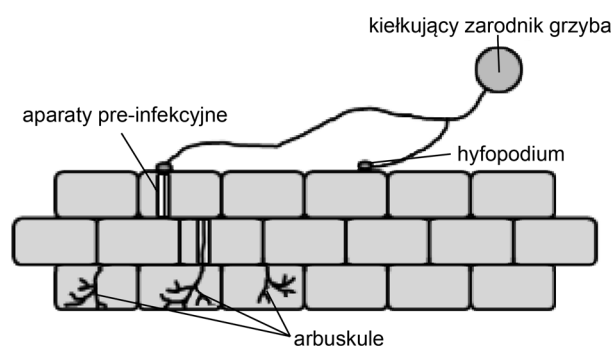


Rys. 1. Wzór strukturalny strigolu
Na podstawie Tahad i Sijam [34].

hormonów roślinnych pełniąc wiele ważnych funkcji w roślinie. Strigolaktyny oprócz promowania symbiotycznych interakcji pomiędzy roślinami i mikroorganizmami glebowymi kontrolują również rozwój rośliny, jej pokrój i strukturę, wpływając na długość i zagęszczenie włóśników korzeniowych oraz hamowanie rozgałęziania się pędów. Tym samym strigolaktyny mogą uczestniczyć w procesie adaptacji roślin do środowiska, w szczególności kiedy obniża się dostępność substancji odżywczych w glebie, poprzez sterowanie procesem wzrostu części nadziemnej i podziemnej rośliny [29, 38]. Cząsteczka strigolaktynu zbudowana jest z trzech stykających się ze sobą pierścieni laktonowych (A, B, C) połączonych przez ester enolu z grupą butenolidową (pierścień D) [32] (Rys. 1). Synteza strigolaktynów najprawdopodobniej przebiega w plastydach systemu korzeniowego rośliny. Następnie strigolaktyny mogą być wydzielane do ryzosfery, jak również transportowane przez ksylem do wierzchołka pędu. Ścieżka biosyntezy strigolaktynów nie została jeszcze do końca poznana. Wiadomo, że strigolaktyny są produkowane z karotenoidów. Znane są również trzy enzymy plastydowe katalizujące pierwszy etap transformacji karotenu do karlaktonu. Jednak kolejne etapy przekształcenia karlaktonu do strigolaktynów są słabo poznane i wymagają dalszych badań [13]. Skuteczność ustanowienia relacji mykoryzowej jest również uzależniona od rozpoznania przez roślinę-gospodarza specyficznych cząsteczek sygnałowych pochodzących od symbiotycznych grzybów, którymi są lipochitooligosacharydy (LCOs) oraz krótko łańcuchowe chitooligosacharydy (COs) nazywane czynnikami mykoryzacji (MycF). Wymiana i odbiór cząsteczek sygnałowych stanowi specyficzny rodzaj komunikacji pomiędzy symbiontami, przygotowując obu partnerów do późniejszej kolonizacji korzenia [33].

3. Wczesne etapy nawiązywania mykoryzy arbuskularnej

Niska dostępność fosforu w glebie jest czynnikiem inicjującym pierwsze etapy formowania się symbiozy mykoryzowej. Roślina-gospodarz pozbawiona zwią-



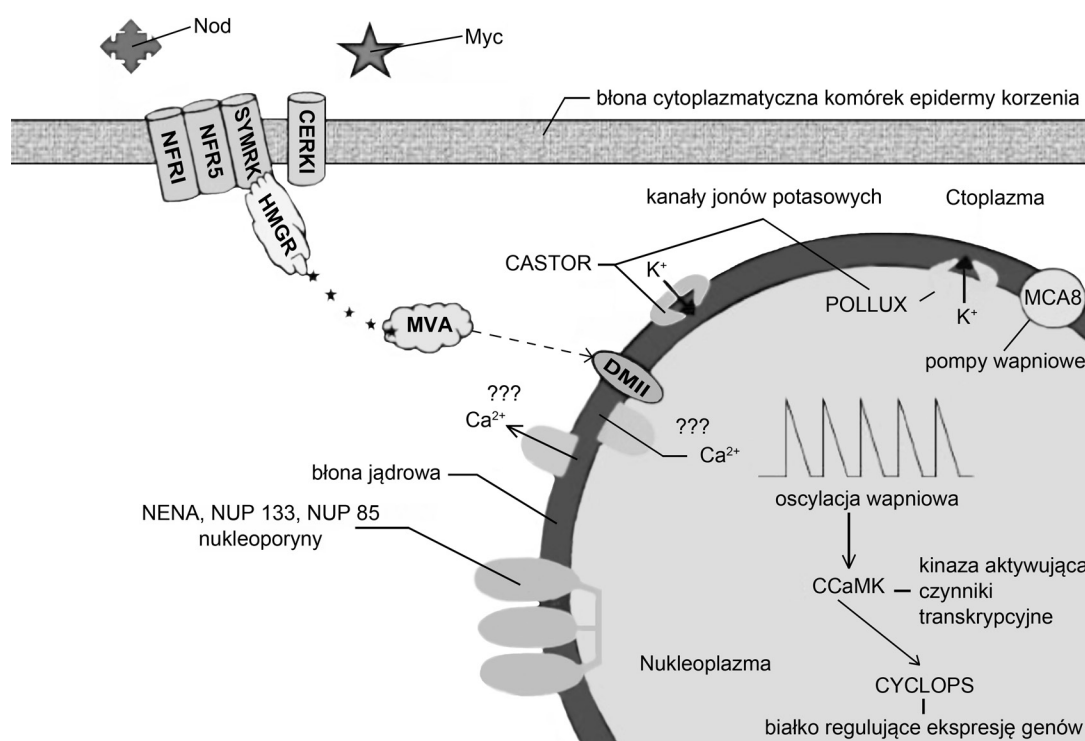
Rys. 2. Droga wnikania kielkujących strzępek grzybowych do wnętrza korzenia rośliny gospodarza

Kielkujący zarodnik grzyba wytwarza hyfopodium za pomocą którego przyczepia się do powierzchni epidermy korzenia rośliny-gospodarza. Kontakt hyfopodium z powierzchnią korzenia stymuluje w roślinie tworzenie się aparatów pre-infekcyjnych (AP), które wytyczają drogę wnikania strzępkom grzybowym do wnętrza kory pierwotnej korzenia gospodarza [25].

ków fosforu uwalnia do ryzosfery strigolaktyny, które stymulują kiełkowanie zarodników i wzrost strzępek grzybów mykoryzowych. W początkowej fazie formowania się mykoryzy wierzchołki strzępek grzyba przemieszczają się wzdłuż powierzchni młodych korzeni bocznych rośliny-gospodarza poszukując odpowiedniego miejsca na infekcję. Po około trzech dniach strzępki grzyba powiększają swoją objętość i spłaszczają się tworząc na powierzchni komórek epidermy korzenia struktury zwane hyfopodiami [25] (Rys. 2). Kontakt hyfopodium z zewnętrzną warstwą komórek skórki korzenia gospodarza oraz rozpoznanie grzybowych cząsteczek sygnałowych uruchamia w roślinie ekspresję genów ENOD11. Prawdopodobnie kodują one białka bogate w prolinę biorące udział w procesie gromadzenia cytoplazmy podczas tworzenia aparatów pre-infekcyjnych (AP). Wyznaczają one drogę wnikania strzępkom grzybowym z powierzchni do wnętrza komórek kory pierwotnej korzenia gospodarza, bez przerywania ciągłości błony plazmatycznej rośliny [3, 20]. Hyfopodia najprawdopodobniej stanowią formę przejściową dojrzałych appressoriów, z których po pewnym czasie wyrasta strzępka infekcyjna wnikająca do tkanek rośliny-gospodarza. Wewnątrz komórek kory pierwotnej korzenia strzępki grzyba tworzą silnie rozgałęzione arbuskule umożliwiające wymianę substancji odżywczych pomiędzy symbiontami [26].

4. Wymiana cząsteczek sygnałowych podczas formowania się mykoryzy arbuskularnej

Grzybowy czynnik MycF zostaje rozpoznany przez białkowe receptory NFR1 i NFR5 zlokalizowane w błonie plazmatycznej komórek włóśników korzeniowych (Rys. 3). Należą one do grupy zewnątrz błonowych kinaz receptorowych z motywem lizyny (LysM).



Rys. 3. Wspólny szlak sygnałowy w oddziaływaniach mikoryzowych i symbiotycznych relacjach bakterii *Rhizobium* z roślinami bobowatymi

Białka receptorowe NFR1, NFR2, SYMRK oraz CERK1 rozpoznają grzybowe (Myc) oraz bakteryjne (Nod) lipochitoooligosacharydy. SYMRK dodatkowo może oddziaływać z reduktazą 1 3-hydroksy-3-metyloglutarylo koenzymu A (HMGR1), co ma prawdopodobnie decydujące znaczenie dla procesu formowania się mikoryzy arbuskularnej oraz symbiozy *Rhizobium* i roślin bobowatych. Kwas mewalonowy (MVA) wytwarzany przy udziale reduktazy HMGR1 wydaje się, że może pełnić rolę wtórnego przekaźnika informacji pomiędzy błoną plazmatyczną i kanałem DMI1 zlokalizowanym w otoczce jądrowej rośliny-gospodarza [23, 39].

Wzajemne rozszyfrowanie sygnałów wysyłanych przez partnerów symbiozy aktywuje w roślinie-gospodarzu szlak sygnałowy nazywany powszechną ścieżką symbiotyczną (CSP), która przeprogramuje procesy zachodzące w roślinie i ma zasadnicze znaczenie dla ustanowienia mykoryzy oraz symbiozy bakterii *Rhizobium* z roślinami bobowatymi [4, 9]. NFR1 i NFR5 współdziałają z receptorową kinazą białkową SYMRK bogatą w powtórzenia leucynowe (LRR) zlokalizowaną w błonie komórki roślinnej. SYMRK jest również znana jako DMI2 znaleziona w *Medicago truncatula* oraz jako NORK odkryta w *Medicago sativa* [3, 7]. Badania genetyczne przeprowadzone na mutantach roślin pozbawionych kinazy SYMRK wykazały, że jest ona zdolna do rozpoznania grzybowych cząsteczek sygnałowych i przekazywania ich do wnętrza komórki. W cytoplazmie komórek włosników korzeniowych mutantów symrk traktowanych czynnikiem MycF nie odnotowano wzrostu stężenia jonów wapnia (Ca^{2+}), jak to miało miejsce w roślinach typu dzikiego. Sygnatura wapniowa pełni kluczową rolę w szlaku transdukcji sygnału prowadzącego do ustanowienia symbiozy mykoryzowej. Jednak, jak dotąd, nie udało się zidentyfikować liganda kinazy SYMRK odpowiedzialnego za rozpoznanie, wiązanie i przenoszenie czynnika MycF

przez błonę komórki roślinnej do cytoplazmy. Prawdopodobnie SYMRK jest również kluczowym elementem wspierającym formowanie się symbiozy mykoryzowej poprzez ułatwienie grzybowi adaptacji do nowych warunków siedliskowych wewnątrz korzenia rośliny-gospodarza [16, 23]. Kolejnym elementem ścieżki sygnalizacyjnej niezbędnym w procesie kształtowania się symbiozy mykoryzowej jest receptorowa kinaza 1 elicytora chityny z motywem LysM (CERK1). Kinaza CERK1 zlokalizowana w błonie komórkowej atrichoblastów skórki korzenia rośliny-gospodarza rozpoznaje cząsteczki oligomerów chityny, tj. tetra-acetyl chito-tetraozę (CO4) uwalnianą przez grzyby mykoryzowe. CERK1 pełni rolę molekularnego przełącznika, który w zależności od rozszyfrowania rozpoznanych cząsteczek sygnałowych pochodzących od mikroorganizmów niepatogenicznych (MAMPs – Microbial Associated Molecular Patterns), jak również patogenów (PAMPs – Pathogen Associated Molecular Patterns), aktywuje w roślinie odpowiednio szlak reakcji symbiotycznych lub obronnych [18, 20, 33]. Błonowe kinazy receptorowe NFR1, NFR5, SYMRK oraz CERK1 działają wspólnie stanowiąc system monitorujący chemiczne i fizyczne cząsteczki sygnałowe docierające do powierzchni komórki. Wykrycie i ich właściwa identy-

fikacja umożliwia włączenie w roślinie odpowiednich mechanizmów prowadzących do aktywacji ekspresji genów zaangażowanych w przebieg odpowiedzi symbiotycznych lub obronnych [10, 37].

5. Kwas mewalonowy – wtórny przekaźnik częsteczek sygnałowych w mykoryzie arbuskularnej

Cytoplazmatyczna domena SYMRK dodatkowo oddziałuje z reduktazą 1 3-hydrokso-3-metyloglutarylo koenzymu A (HMGR1), kluczowym enzymem regulującym ścieżkę biosyntezy kwasu mewalonowego (MVA). Interakcja SYMRK z HMGR1, jak się obecnie wydaje, jest niezbędna do ustanowienia mykoryzowej relacji symbiotycznej oraz symbiozy bakterii brodawkowych i roślin bobowatych. Badania przeprowadzone na roślinach lucerny *M. truncatula* traktowanych odpowiednio czynnikiem MycF oraz Nod ujawniły, że MVA indukuje w ich jądrach komórkowych oscylacje jonów Ca^{2+} oraz ekspresję genów symbiotycznych. Wykonane analizy potwierdzają znaczącą rolę szlaku MVA w molekularnych mechanizmach kontrolujących ustanowienie wczesnych symbiotycznych odpowiedzi w komórkach korzeniowych roślin-gospodarzy. Choć wyniki badań nie są do dziś w pełni jednoznaczne, to jednak przypuszcza się, iż MVA może stanowić brakujący element CSP łączący początkowe etapy rozpoznania grzybowych cząsteczek sygnałowych przez kompleks błonowych białek receptorowych z późniejszą indukcją wzrostu cytoplazmatycznego stężenia jonów Ca^{2+} i ekspresją odpowiednich genów symbiotycznych w jądrze [10, 37] (Rys. 3). Rozpoznane czynniki MycF są przenoszone do kanału jonowego DMI1 zlokalizowanego w błonie jądrowej komórki rośliny-gospodarza. Pomimo przeprowadzenia licznych badań wciąż nie jest jasne, w jaki sposób następuje transport tych cząsteczek sygnałowych do DMI1. Prawdopodobna wydaje się więc być hipoteza, że w symbiotycznych szlakach transdukcji sygnału to właśnie MVA pełni rolę wtórnego przekaźnika informacji pomiędzy błoną komórki rośliny i kanałem DMI1. W ten sposób MVA byłby bezpośrednio odpowiedzialny za kontrolowanie komórkowego mechanizmu generującego cytoplazmatyczny sygnał wapniowy w odpowiedzi na grzybowe cząsteczki sygnałowe. Ponadto odbierane przez receptory sygnały mogą być wzmacniane, a następnie przekazywane do jądra za pomocą wewnątrzkomórkowych białek regulatorowych i efektorowych. Ich aktywność jest regulowana przez potranslacyjne modyfikacje, które mogą być przeprowadzane m.in. dzięki kinazom MAPKK (plant mitogen-activated protein kinase) [15, 36]. Detekcja przeniesionego przez MVA sygnału MycF do DMI1 prowadzi do aktywacji kanałów potasowych CASTOR i POLLUX zlo-

kalizowanych w błonie jądrowej (Rys. 3). W następstwie ich wzbudzenia jony potasowe (K^+) wypływają z nukleoplazmy do cytoplazmy komórki powodując depolaryzację błony jądrowej. Nierównomierne rozmieszczenie jonów K^+ pomiędzy zewnętrzną i wewnętrzną powierzchnią błony jądrowej reguluje aktywność, jak dotąd, nie zidentyfikowanych kanałów wapniowych bramkowanych napięciem powodując ich otwarcie i napływ jonów Ca^{2+} do nukleoplazmy. Białka CASTOR i POLLUX, jako przeciwne kanały jonowe, regulują zaburzenia równowagi elektrycznej ładunków jonów, dzięki czemu podtrzymują mechanizm uwalniania jonów Ca^{2+} z magazynów wapniowych, tj. przestrzeni otoczki jądrowej i retikulum endoplazmatycznego do wnętrza jądra komórkowego podczas sygnatury wapniowej [15, 23, 37]. Z kanałami jonowymi CASTOR i POLLUX, w procesie generowania cytoplazmatycznego sygnału wapniowego, współdziałają pompy wapniowe MCA8 zasilane ATP, umiejscowione w otoczce jądrowej. Sugeruje się, że MCA8 odpowiadają za wychwyt zwrotny jonów Ca^{2+} na końcu każdej fazy wzrostu w sygnaturze wapniowej i przywrócenie ich podstawowego stężenia w komórce jakie jest obserwowane przed jej stymulacją [10].

6. Kinaza białkowa CCaMK jako kluczowy element w ustanowieniu mykoryzy arbuskularnej

Następnym poznanym elementem szlaku CSP są trzy białka nazywane nukleoporynami: NUP133, NUP85 i NENA, należące do kompleksu porów jądrowych (Rys. 3). Obecnie nie jest precyzyjnie określona ich funkcja w symbiotycznej ścieżce transdukcji sygnału, jednak przypuszcza się, że odgrywają one znaczącą rolę w procesie generowania sygnatury wapniowej. Prawdopodobnie nukleoporyny mogą być zaangażowane w transport nieznanych jak do tej pory białek oraz przenikanie jeszcze niezidentyfikowanych wtórnych przekaźników niezbędnych do wzrostu stężenia jonów Ca^{2+} w nukleoplazmie. Wewnątrz jądra komórkowego jony Ca^{2+} wiążą się z kinazą białkową CCaMK (calcium-calmodulin-dependent protein kinase), która jest kluczowym elementem symbiotycznej ścieżki sygnałowej niezbędnym dla ustanowienia mykoryzy. Badania przeprowadzone na mutantach *M. truncatula* pozbawionych genu CCaMK wykazały, że rośliny te były niezdolne do formowania relacji mykoryzowej. Aktywność kinazowa CCaMK jest stymulowana stężeniem jonów Ca^{2+} występującym w nukleoplazmie. Białko to ma unikatową strukturę pozwalającą mu na wiązanie jonów Ca^{2+} poprzez dwa różne mechanizmy, tj. w sposób bezpośredni za pomocą motywu trzech dłoni EF wiążących wolne jony Ca^{2+} oraz pośredni dzięki domenie wiążącej kalmodulinę (CaM). CCaMK rozszyfrowuje

symbiotyczną sygnaturę wapniową i przekazuje od czytą informację do jądrowego białka CYCLOPS. CCaMK w interakcji z CYCLOPS powoduje jego fosforylację. W jądrze komórkowym fosforylowane białko CYCLOPS jest odpowiedzialne za bezpośrednie regulowanie ekspresji genów, lub pośrednie poprzez oddziaływanie na czynniki transkrypcyjne NSP1, NSP2 oraz RAM1, promując kolonizację korzenia rośliny-gospodarza i proces mykoryzacji [10, 15, 17].

7. Podsumowanie

Ostatnie 20 lat badań prowadzonych nad symbiotycznymi związkami mutualistycznymi przyniosło częściowe wyjaśnienie mechanizmu nawiązywania kontaktu przez grzyby mykoryzowe z rośliną-gospodarzem. Jednak dopiero niedawno zidentyfikowano wspólne elementy szlaków sygnałowych regulujących mykoryzę oraz symbiozę roślin bobowatych z bakteriami *Rhizobium*. Analiza molekularnych podstaw symbiotycznego dialogu między partnerami pozwala na coraz lepsze poznanie różnych genów, białek i hormonów roślinnych odpowiedzialnych za ustanawianie relacji mykoryzowej. Strigolaktyny uwalniane przez korzenie roślin oraz chitoligosacharydy (COs) i lipochitoligosacharydy (LCOS), nazywane grzybowymi czynnikami MycF, wskazywane są jako najważniejsze cząsteczki zaangażowane w proces nawiązywania mykoryzy. Wymiana i odbiór tych cząsteczek sygnałowych stanowi specyficzny rodzaj komunikacji między partnerami i reguluje początkowy etap formowania się symbiozy mykoryzowej. Nowo odkryty enzym reduktaza 1, 3-hydroksy-3-metyloglutarylo koenzymu A (HMGR1) współdziała z receptorową kinazą białkową SYMRK i reguluje szlak biosyntezy kwasu mewalowego (MVA). Prawdopodobnie MVA jest brakującym wtórnym przekaźnikiem w symbiotycznej ścieżce sygnałowej oddziałującym z kanałem jonowym DMI1. Odkrycie nowych elementów ścieżki sygnałowej poszerza dotychczasową wiedzę i umożliwia lepsze zrozumienie molekularnych podstaw procesu mykoryzy. Obecne badania koncentrują się nad poszukiwaniem kolejnych elementów symbiotycznej ścieżki sygnałowej, którymi są kompleksy czynników transkrypcyjnych regulujące ekspresję genów w jądrze komórkowym rośliny-gospodarza podczas różnych etapów mykoryzy.

Piśmiennictwo

- Akiyama K., Matsuzaki K., Hayashi H.: Plant sesquiterpenes induce hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature*, **435**, 824–827 (2005)
- Berch S.M., Massicotte H.B., Tackaberry L.E.: Re-publication of a translation of 'The vegetative organs of *Monotropa hypopitys* L.' published by F. Kamiński in 1882, with an update on *Monotropa mycorrhizas*. *Mycorrhiza*, **15**, 323–332 (2005)
- Bonfante P., Genre A.: Mechanisms underlying beneficial plant – fungus interactions in mycorrhizal symbiosis. *Nat. Commun.* **1**, doi 10.1038/ncomms1046 (2010)
- Buendia L., Wang T., Girardin A., Lefebvre B.: The LysM receptor-like kinase SLYK10 regulates the arbuscular mycorrhizal symbiosis in tomato. *New Phytol.* **210**, 184–195 (2016)
- Ch.W. Dunk., Lebel T., Keane P.J.: Characterisation of ectomycorrhizal formation by the exotic fungus *Amanita muscaria* with *Nothofagus cunninghamii* in Victoria, Australia. *Mycorrhiza*, **22**, 135–147 (2012)
- Douds Jr.D.D., Pfeffer P.E., Shachar-Hill Y.: Carbon partitioning, cost, and metabolism of arbuscular mycorrhizas (w) Arbuscular mycorrhizas physiology and function, red. Y. Kapulnik, Jr.D.D. Douds, Springer Netherlands, Dordrecht, 2000, s. 107–129
- Endre G., Kereszt A., Kevei Z., Mihacea S., Kaló P., Kiss G.B.: A receptor kinase gene regulating symbiotic nodule development. *Nature*, **417**, 962–966 (2002)
- Field K.J., Rimington W.R., Bidartondo M.I., Allinson K.E., Beerling D.J., Cameron D.D., Duckett J.G., Leake J.R., Pressel S.: First evidence of mutualism between ancient plant lineages (Haplomitriopsida liverworts) and Mucoromycotina fungi and its response to simulated Palaeozoic changes in atmospheric CO₂. *New Phytol.* **205**, 743–756 (2015)
- File A.L., Klironomos J., Maherali H., Dudley S.A.: Plant kin recognition enhances abundance of symbiotic microbial partner. *PLoS ONE*, **7**, e45648 (2012)
- Genre A., Russo G.: Does a common pathway transduce symbiotic signals in plant-microbe interactions? *Front. Plant Sci.* **7**, doi 10.3389/fpls.2016.00096 (2016)
- Hawkins B.J., Jones M.D., Kranabetter J.M.: Ectomycorrhizae and tree seedling nitrogen nutrition in forest restoration. *New Forests*, **46**, 747–771 (2015)
- Helber N., Wippel K., Sauer N., Schaarschmidt S., Hause B., Requena N.: A versatile monosaccharide transporter that operates in the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus* sp is crucial for the symbiotic relationship with plants. *Plant Cell*, **23**, 3812–3823 (2011)
- Kapulnik Y., Koltai H.: Strigolactone involvement in root development, response to abiotic stress, and interactions with the biotic soil environment. *Plant Physiol.* **166**, 560–569 (2014)
- Kheyrodin H.: Plant and Soil Relationship between Fungi. *IJRBS*, **2**, 42–49 (2014)
- Luginbuehl L., Oldroyd G.E.D.: Calcium signaling and transcriptional regulation in arbuscular mycorrhizal symbiosis (w) Molecular mycorrhizal symbiosis, red. F. Martin, John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey, 2016, s. 125–140
- Madsen E.B., Stougaard J.: Receptor Kinases Mediating Early Symbiotic Signalling (w) Receptor-like kinases in plants, red. F. Tax., B. Kemmerling, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 2012, s. 93–107
- Miller J.B., Pratap A., Miyahara A., Zhou L., Bornemann S., Morris R.J., Oldroyd G.E.D.: Calcium/calmodulin-dependent protein kinase is negatively and positively regulated by calcium, providing a mechanism for decoding calcium responses during symbiosis signaling. *The Plant Cell*, **25**, 5053–5066 (2013)
- Miyata K., Nakagawa T. i wsp.: The bifunctional plant receptor, OsCERK1, regulates both chitin-triggered immunity and arbuscular mycorrhizal symbiosis in rice. *Plant Cell Physiol.* **55**, 1864–1872 (2014)
- Mohanta T.K., Bae H.: Functional genomics and signaling events in mycorrhizal symbiosis. *J. Plant Interact.* **10**, 21–40 (2015)

20. Nakagawa T., Imaizumi-Anraku H.: Rice arbuscular mycorrhiza as a tool to study the molecular mechanisms of fungal symbiosis and a potential target to increase productivity. *Rice (NY)*, **8**, doi 10.1186/s12284-015-0067-0 (2015)
21. Oehl F., Da Silva G.A., Goto B.T., Maia L.C., Sieverding E.: *Glomeromycota*: two new classes and a new order. *Mycotaxon*, **116**, 365–379 (2011)
22. Olsson P.A., van Aarle I.M., Gavito M.E., Bengtson P., Bengtson G.: ¹³C Incorporation into signature fatty acids as an assay for carbon allocation in arbuscular mycorrhiza. *Appl. Environ. Microbiol.* **71**, 2592–2599 (2005)
23. Parniske M.: Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbiosis. *Microbiology*, **6**, 763–775 (2008)
24. Patreze C.M., Moreira M., Tsai S.M.: Advances in molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi (phylum *Glomeromycota*) in forest ecosystems (w) Forest ecosystem – more than just trees, red. J.A. Blanco, Y.H. Lo, InTech, Rijeka, 2012, s. 53–80
25. Pawlowski M.L., Hartman G.L.: Infection mechanisms and colonization patterns of fungi associated with soybean (w) Fungal pathogenicity, red. S. Sultan, InTech, Rijeka, 2016, s. 25–43
26. Ramos A.C., Okorokova-Façanha A.L. i wsp.: An outlook on ion signaling and ionome of mycorrhizal symbiosis. *Braz. J. Plant Physiol.* **23**, 79–89 (2011)
27. Schüßler A., Walker C.: The Glomeromycota: a species list with new families and new genera. Gloucester, UK, 2010
28. Schüßler A., Walker Ch.: Evolution of the ‘Plant-Symbiotic’ fungal phylum (w) Evolution of fungi and fungal-like organisms, red. S. Pöggeler, J. Wöstemeyer, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 2011, s. 163–185
29. Seto Y., Kameoka H., Yamaguchi S., Kyojuka J.: Recent advances in strigolactone research: chemical and biological aspects. *Plant Cell Physiol.* **53**, 1843–1853 (2012)
30. Smith A.M., Coupland G., Dolan L., Harberd N., Jones J., Martin C., Sablowski R., Amey A.: Plant biology. Garland Science, New York, 2009
31. Smith S.E., Read D.J.: Mycorrhizal symbiosis. Academic Press, New York, 2008
32. Smith S.M.: What are strigolactones and why are they important to plants and soil microbes? *BMC Biol.* **12**, doi 10.1186/1741-7007-12-19 (2014)
33. Sun J., Oldroyd G.E.D. i wsp.: Activation of symbiosis signaling by arbuscular mycorrhizal fungi in legumes and rice. *Plant Cell*, **27**, 823–838 (2015)
34. Tahad M.M., Sijam K.: Mycorrhizal fungi and abiotic environmental conditions relationship. *Res. J. Environ. Sci.* **6**, 125–133 (2012)
35. Van der Heijden M.G.A., Martin F.M., Selosse M.A., Sanders I.R.: Mycorrhizal ecology and evolution: the past, the present, and the future. *New Phytol.* **205**, 1406–1423 (2015)
36. Van Ness L.K., Jayaraman D., Maeda J., Barrett-Wilt G.A., Sussman M.R., Ané J.M.: Mass spectrometric-based selected reaction monitoring of protein phosphorylation during symbiotic signaling in the model legume, *Medicago truncatula*. *PLoS ONE*, **11**, e0155460 (2016)
37. Venkateshwaran M., Ané J.M. i wsp.: A role for the mevalonate pathway in early plant symbiotic signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **112**, 9781–9786 (2015)
38. Zwanenburg B., Pospíšil T., Čavar Zeljkovic S.: Strigolactones: new plant hormones in action. *Planta*, **243**, 1311–1326 (2016)