

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Ekologická a evoluční biologie



Kateřina Znojová

Úloha sacharidů v mykorhizních asociacích

The role of saccharides in mycorrhizal associations

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Jan Ponert

Konzultant: Doc. RNDr. Helena Lipavská, Ph.D.

Praha 2016

Děkuji mému školiteli RNDr. Janu Ponertovi za cenné rady a připomínky, kterých se mi dostávalo během konzultací, za trpělivost a úžasnou podporu, bez které by tato práce nevznikla. Také bych moc ráda poděkovala mé konzultantce Doc. RNDr. Heleně Lipavské, Ph.D. za spoustu skvělých nápadů. Největší díky pak patří celé mé rodině a mému příteli Tomášovi, za láskyplnou podporu a každodenní motivaci.

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

V Praze dne 13. 5. 2016

Podpis:

Kateřina Znojová

Abstrakt

Mykorhizní symbiotická asociace je celosvětově rozšířený fenomén. Ve většině případů se jedná o oboustranně prospěšné soužití houby a rostliny, během kterého rostlina získává z mykorhizní houby minerální živiny (zejména dusík, fosfor a vodu) a naopak houba získává rostlinné sacharidy. V některých případech ale může docházet i k opačnému směru přenosu látek či dokonce jednostrannému využívání mykorhizní houby rostlinou. O významu a principu přenosu sacharidů v mykorhize toho však stále není moc známo. Dosavadní poznatky shrnuté v této práci ukazují, že mezi sacharidy figurující v mykorhizní asociaci, patří zejména sacharóza, glukóza, fruktóza a trehalóza. Jejich přenos pak probíhá buď pasivně na základě koncentračního spádu anebo aktivně pomocí různých rostlinných a houbových přenašečů. Zároveň se přenos a využití sacharidů liší u různých typů mykorhizních asociací.

Klíčová slova: ektomykorhiza, arbuskulární mykorhiza, erikoidní mykorhiza, orchideoidní mykorhiza, sacharidy, přenos, přenašeče

Abstract

The mycorrhizal symbiotic association is a worldwide phenomenon. In most cases, it is a mutually beneficial coexistence of a fungus and a plant in which the plant receives mineral nutrients from the mycorrhizal fungus (mainly nitrogen, phosphorus, and water), while the fungus takes carbohydrates from the plant. In some cases, the transfer of nutrients may occur in the opposite direction, and the plant can even use the mycorrhizal fungus one-directionally. However, there are still gaps in the understanding of the importance and principles of carbohydrate transfer in mycorrhiza. Recent findings summarized in this thesis show that the carbohydrates that occur in mycorrhizal association include mainly sucrose, glucose, fructose, and trehalose. Their transfer takes place either passively, based on concentration gradient, or actively, using different plant and fungal carriers. At the same time, the transfer and the use of carbohydrates vary in different types of mycorrhizal associations.

Key words: ectomycorrhiza, arbuscular mycorrhiza, ericoid mycorrhiza, orchid mycorrhiza, saccharides, transfer, transporters

Obsah

1. Úvod	1
2. Ektomykorhizní symbióza.....	3
2.1. Mechanismus přenosu sacharidů v ECM.....	3
2.2. Regulace přenosu sacharidů v ECM	6
3. Arbuskulární mykorhizní symbióza.....	9
3.1. Mechanismus přenosu sacharidů v AM	10
3.2. Regulace přenosu sacharidů v AM	12
4. Erikoidní mykorhizní symbióza	14
4.1. Mechanismus přenosu sacharidů v ERM.....	15
5. Orchideoidní mykorhizní symbióza	17
5.1. Mechanismus přenosu sacharidů v OM	17
6. Závěr	21
7. Seznam použité literatury	22

Použité zkratky

ECM	ektomykorhizní symbióza
AM	arbuskulární mykorhizní symbióza
ERM	erikoidní mykorhizní symbióza
OM	orchideoidní mykorhizní symbióza
MST	monosacharidový přenašeč

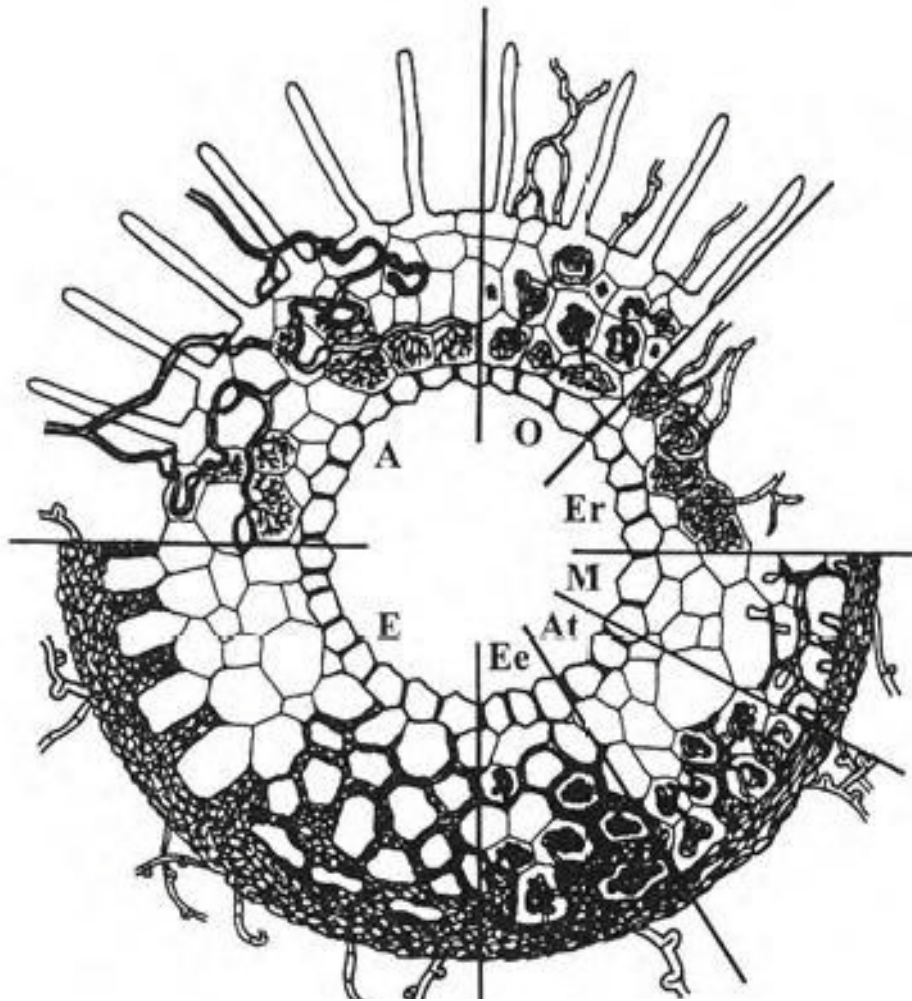
Poznámka:

V textu je použit následující typ značení genů a proteinů. Zkratky genů jsou psány kurzívou (např. *AmMST*). Zkratky proteinů jsou psány rovným písmem (např. AmMST).

1. Úvod

Mykorhizní symbióza je vztah, při kterém dochází k přenosu živin mezi mykorhizní houbou a hostitelskou rostlinou (Gryndler et al., 2004). Rozlišujeme několik typů mykorhizních asociací (Obr. 1). U většiny se z houby do rostliny přenáší především dusík, fosfor a voda, zatímco v opačném směru jsou přenášeny zejména sacharidy. Existují však i případy, kdy sacharidy dodává houba rostlině. Různé jsou také způsoby a regulace přenosu živin mezi oběma symbionty. Cílem této práce je shrnout poznatky o významu a způsobu přenosu jednotlivých sacharidů v různých typech mykorhizních asociací. Pro úvod tedy ještě uvedu stručnou charakteristiku základních typů mykorhizních asociací. V samotné literární rešerši se pak budu blíže zabývat pouze čtyřmi z nich. O zbylých typech mykorhiz je z hlediska přenosu sacharidů známo zatím jen naprosté minimum.

Podle způsobu, jakým jsou hyfy mykorhizních hub asociovány s buňkami kořenů hostitelských rostlin, rozlišujeme ektomykorhizní a endomykorhizní symbiózu. V ektomykorhizní symbióze (ECM) houba neproniká buněčnou stěnou buněk hostitelské rostliny a vyskytuje se pouze v mezibuněčném prostoru, mykorhizní kořeny se také tvarem výrazně odlišují od těch nemykorhizních. Endomykorhizní asociace jsou charakteristické tím, že houbové hyfy pronikají buněčnou stěnou až do vnitřního prostoru rostlinných buněk. Přesto však nedochází k přímému kontaktu houbových hyf s cytoplazmou, ta je stále oddělena rostlinnou membránou. Mezi endomykorhizní symbiózy patří: arbuskulární mykorhiza (AM), orchideoidní mykorhiza (OM) a erikoidní mykorhiza (ERM). ECM se podle struktury dále nedělí. Také existují typy mykorhizních asociací na rozhraní mezi ekto- a endomykorhizou: ektendomykorhizní symbióza, arbutoidní a monotropoidní mykorhiza. Tyto typy mykorhiz mají morfologické znaky podobné ektomykorhize, ale zároveň byl u nich zaznamenán průnik hyf do buněk hostitelské rostliny. Nejméně popsáným typem mykorhizní asociace jsou pak DSE asociace (z angl. Dark Septate Endophyte), které se projevují tmavými sterilními mycelii prorůstajícími buňky kořene hostitelské rostliny.



Obr. 1

Schéma znázorňující průřez kořene hostitelské rostliny se sedmi základními typy mykorhizních symbióz (schématicizováno).

A – arbuskulární mykorhiza, E – ektomykorhiza, Ee – ektendomykorhiza, At – arbutoidní mykorhiza, M – monotropoidní mykorhiza, Er – erikoidní mykorhiza, O – orchideoidní mykorhiza

Převzato z Gryndler et al., (2004).

2. Ektomykorhizní symbióza

Jednou z nejvíce prostudovaných mykorhizních asociací je ektomykorhizní symbióza (ECM). Jak již bylo zmíněno v úvodu, hyfy ECM hub v tomto případě nevrůstají do buněk kořene hostitelské rostliny, ale pouze do apoplastu (mezibuněčných prostor). ECM tvoří většina temperátních a boreálních dřevin čeledi břízovitých (*Betulaceae*), cistovitých (*Cistaceae*), dvojkřídláčovitých (*Dipterocarpaceae*), bukovitých (*Fagaceae*), myrtovitých (*Myrtaceae*), borovicovitých (*Pinaceae*), růžovitých (*Rosaceae*) a vrbovitých (*Salicaceae*), v interakci s houbami z třídy stopkovýtrusých (*Basidiomycetes*), vřeckovýtrusých (*Ascomycetes*) a hub spájkivých (*Zygomycetes*). Odhadem se jedná o 5 000 až 6 000 druhů hub a jen asi 2 000 druhů rostlin (Molina, R. et al., 1992; Smith and Read, 2008). Samotné ECM houby tvoří 30 % mikrobiální biomasy lesa a až 80 % z celkového množství houbových mycelií v půdě, čímž představují významnou složku celého ekosystému (Högberg and Högberg, 2002; Wallander et al., 2001).

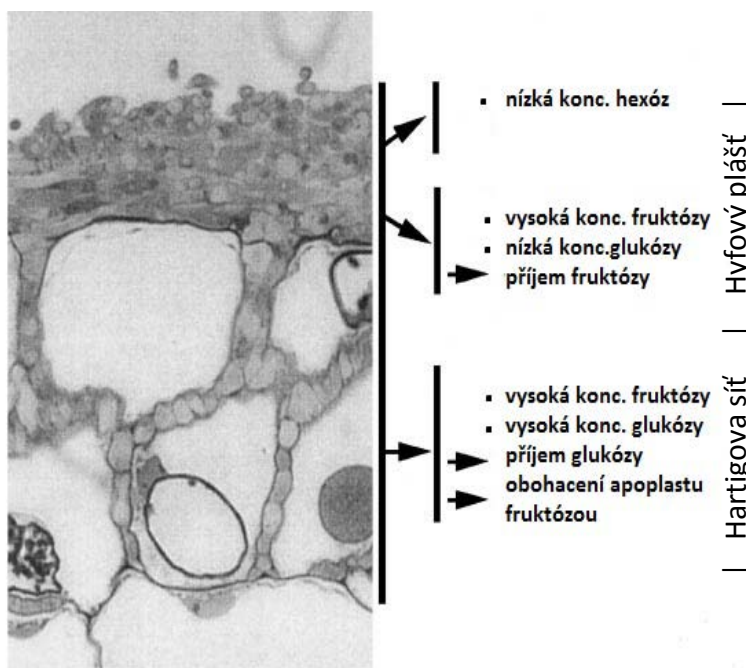
Kolonie ektomykorhizních hub tvoří pět základních struktur: plodnice, půdní mycelium, rhizomorfy, hyfový plášť a Hartigovu síť (Gryndler et al., 2004; Smith and Read, 2008). ECM vzniká, pokud houbová hyfa nalezne kořenový systém vhodného rostlinného hostitele a pronikne do něj. Následně se diferencuje na hyfový plášť, který kořeny obalí a izoluje od okolního prostředí a Hartigovu síť, která prorůstá apoplastem kortikálních buněk postranních kořenů rostliny (Gryndler et al., 2004; Smith and Read, 2008). Prostor, který tak vzniká mezi Hartigovou sítí a buňkami rostliny, slouží k přenosu látek mezi symbionty. Hyfový plášť pak houba využívá spíše jako přechodnou zásobárnu látek transportovaných z rostoucího mycelia do rostliny a naopak (Jordy et al., 1998).

2.1. Mechanismus přenosu sacharidů v ECM

ECM houby získávají od hostitelské rostliny 20-30 % čisté fotosyntetické produkce (Finlay and Söderström, 1992), která je v rostlině přenášena ze zdroje do sinku v podobě sacharózy. Než však může ECM houba sacharózu využít, musí dojít k jejímu rozštěpení na glukózu a fruktózu (Nehls et al., 2001a). Štěpení sacharózy zajišťují enzymy invertázy, které mohou být rostlinného či houbového původu. V ektomykorhizní asociaci se uplatňují zejména invertázy rostlinného původu. Značnou aktivitu takových rostlinných sacharolytických enzymů pozorovali Larsen et al. (2011) během ektomykorhizní asociace

mezi topolem (*Populus tremuloides*) a lakovkou dvoubarevnou (*Laccaria bicolor*). Co se týče invertáz houbového původu, tak jimi disponuje pouze pár druhů ECM hub a jejich výskyt byl zaznamenán spíše u druhů parazitujících na hostitelské rostlině (Parrent et al., 2009). ECM houby jsou tedy ve většině případů závislé na rostlinných invertázách, což rostlině dává možnost regulovat množství sacharidů přenesených do houby (Lewis and Harley, 1965; Nehls, 2004).

Sacharidy jsou do houby přenášeny z rostlinného zdroje do sinku na základě koncentračního spádu, který houba vytváří rychlou přeměnou rostlinných sacharidů na ty houbové (Smith and Read, 2008). Již bylo zmíněno, že mezi sacharidy, které ECM houba primárně čerpá z hostitelské rostliny, tedy patří hexózy glukóza a fruktóza. Jejich import do houbových hyf zajišťují monosacharidové přenašeče (MST; Grunze et al., 2004; Nehls et al., 2000). Doposud však byly identifikovány pouze dva geny pro MST z muchomůrky červené (*Amanita muscaria*; *AmMST2*, Nehls, 2004; *AmMST1*, Nehls et al., 1998) a jeden z lanýže (*Tuber borchii*; *TbHXT1*, Polidori et al., 2007). Ukázalo se, že jejich expresi ovlivňuje koncentrace dostupných hexóz. Míra exprese *AmMST1* vzrůstá společně s koncentrací hexóz v apoplastu (Nehls et al., 1998). V houbových hyfách rostoucích při koncentraci hexóz vyšší 5mM bylo množství transkriptu *AmMST1* až čtyřnásobné, oproti růstu při nižších koncentracích hexóz (Nehls et al., 1998). Zároveň je míra exprese silně zvýšena v mykorhizních strukturách oproti volně



Obr. 2

Model postupného příjmu hexóz z apoplastu. Po hydrolýze sacharózy je apoplast v oblasti Hartigovy sítě obohacený o glukózu a fruktózu. Přenos glukózy je však upřednostněn před příjmem fruktózy. Díky tomu dochází nejprve k vyčerpání glukózy a až následně je čerpána fruktóza.

Upraveno podle Nehls, (2001b).

rostoucím hyfám. Autoři se proto domnívají, že exprese *AmMST1* je v mykorhizách indukována rostlinnými hexózy a vzniklý přenašeč se uplatňuje v příjmu sacharidů z rostliny do houby (Nehls et al., 1998). *TbHXT1* je v ektomykorhizním myceliu exprimován relativně slabě, ale při nedostatku uhlíku se jeho exprese zvyšuje (Polidori et al., 2007). Tento přenašeč byl identifikován jako vysokoafinitní D-glukózový přenašeč, který dosahuje nejvyšší míry exprese při 3mM koncentraci glukózy, ale při vyšších koncentracích je už jeho exprese potlačena (Polidori et al., 2007). Je tedy možné, že zvýšením jeho exprese se mykorhizní houba snaží maximalizovat příjem sacharidů z hostitelské rostliny (Polidori et al., 2007).

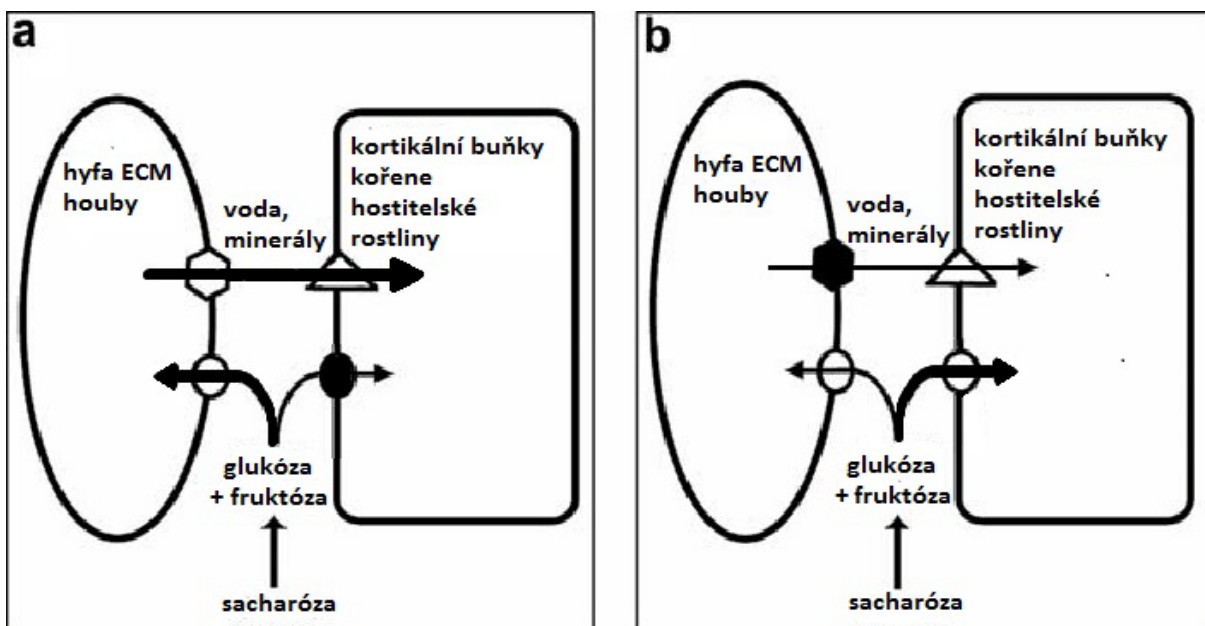
Jedním z možných společných znaků ECM hub je upřednostněný příjem glukózy před fruktózou (Wiese et al., 2000). Tato preference glukózy má za následek různou koncentraci hexóz v Hartigově síti a hyfovém plášti ECM hub (Cairney and Burke, 1996; Timonen and Sen, 1998), čímž je způsobené i prostorové rozmístění metabolismu cukrů v houbových hyfách (Nehls, 2004; Nehls et al., 2001b). Přednostní vstřebávání glukózy myceliem v Hartigově síti má za následek zvýšenou koncentraci fruktózy v apoplastu. Teprve při vyčerpání většiny glukózy dochází k vstřebávání fruktózy houbovým myceliem a to zejména v oblasti hyfového pláště. V půdním myceliu je pak nízká koncentrace glukózy i fruktózy (Nehls et al., 2001a, 2001b; Wiese et al., 2000; Obr. 2).

Z monosacharidů získaných z hostitelské rostliny ECM houba dále syntetizuje sacharidy potřebné k vlastnímu růstu, zejména trehalózu, mannitol a glykogen (Martin et al., 1998). Mezi ty nejvýznamnější patří trehalóza. Její následná degradace je energeticky velmi výhodný proces, a tak pro houbu představuje kvalitní zdroj energie (Wiemken, 2007). Zajímavé bylo pozorování sezónní fluktuace koncentrace trehalózy a mannitolu v myceliu různých druhů ECM hub, asociovaných s borovicí smolnou (*Pinus resinosa*), v závislosti na teplotě půdy (Koide et al., 2000). Se snižující se teplotou koncentrace trehalózy rostla, naopak koncentrace mannitolu klesala. Možné vysvětlení tohoto jevu je v různém využití těchto dvou houbových sacharidů. Trehalóza má pravděpodobně funkci zásobní a houbou je nejvíce syntetizována během zimy, kdy je v hostitelské rostlině největší množství sacharidů lokalizováno v podzemních pletivech a růst houbového mycelia je redukován. Zatímco mannitol doplňuje trehalózu jako transportní sacharid, který houba syntetizuje a využívá v teplejším období, během kterého dochází k rychlému růstu mycelia a zrání sporokarpů (Koide et al., 2000). Samotná trehalóza pak nemusí sloužit jen jako zdroj energie, ale může

fungovat i jako ochrana membránových proteinů před nízkými teplotami a mrazem (Crowe et al., 1984; Tibbet et al., 2002). Co se týče glykogenu, tak asi nejvýznamnější role tohoto polysacharidu je tvorba dlouhodobých zásob uhlíku, jež jsou čerpány až při nedostatku krátkodobých zásob, trehalózy a mannitolu. I v koncentraci glykogenu v ECM houbách byly pozorovány sezónní změny. Nejvyšší je v zimě; v létě se snižuje při růstu a zrání plodnic a na podzim jsou zásoby glykogenu opět obnoveny (Genet et al., 2000).

2.2. Regulace přenosu sacharidů v ECM

Regulace jak ze strany hostitelské rostliny, tak i ze strany ECM houby je důležitá pro správné fungování mykorhizní asociace. Jedním ze způsobů regulace množství houbě dostupných sacharidů může být zajištěno již zmíněným snížením či zvýšením aktivity rostlinných sacharolytických enzymů. Další z možností regulace je ovlivnění míry exprese



Obr. 3

Model kontroly přenosu cukrů a živin mezi houbou a rostlinou. Hexózy vzniklé hydrolýzou sacharózy jsou z apoplastu čerpány monosacharidovými importéry (znázorněno kruhy). Houbové minerální exportéry jsou pak znázorněny šestiúhelníky a rostlinné minerální importéry trojúhelníky. Neaktivní proteiny jsou černě vybarvené, aktivní jsou nevybarvené. Pokud houba poskytuje rostlině dostatek minerálních živin a vody, je podporována od rostliny zásobováním sacharidy. Pokud však klesne dodávka minerálů z houby, tak rostlina zvýší čerpání hexóz z mezibuněčného prostoru a tím omezí příjem hexóz houbou.

Upraveno podle Nehls, (2008).

sacharidových přenašečů. V práci Grunze et al., (2004) je popsána izolace pěti genů pro monosacharidové přenašeče topolu (*Populus tremula tremuloides*) a podrobněji rozebrána míra exprese tří z nich – *PttMST1.2*, *PttMST2.2* a *PttMST3.1*. Při inokulaci muchomůrkou červenou (*Amanita muscaria*) byla pozorována různá míra exprese v závislosti na koncentraci hexóz v apoplastu mezi Hartigovou sítí a buňkami rostliny. Geny kódující přenašeče *PttMST1.2* a *PttMST2.2* vykazovaly sníženou míru exprese u mykorrhizních než u nemykorrhizních rostlin. Naopak míra exprese *PttMST3.1* byla až 10 krát vyšší u rostlin s ECM. Jednou z možných příčin rozdílné regulace míry exprese těchto monosacharidových přenašečů je jejich rozdílná afinita k přenášeným sacharidům (Grunze et al., 2004). Bylo zjištěno, že *PttMST1.2* a *PttMST2.2* patří mezi vysokoafinitní přenašeče, takže monosacharidy přenáší, pokud jsou málo koncentrované, zatímco *PttMST3.1* je nízkoafinitní přenašeč, který přenáší monosacharidy při jejich vyšších koncentracích. *PttMST3.1* tedy může sloužit jako ochrana rostliny před přílišným čerpáním hexóz ECM houbou na úkor hostitelské rostliny. Míra exprese *PttMST3.1* totiž stoupá společně s koncentrací hexóz v apoplastu a má možnost tak v jisté míře regulovat množství hexóz čerpaných ECM houbou (Grunze et al., 2004).

Hostitelská rostlina může obdobným mechanismem reagovat i na množství živin, které získá z houby (Obr. 3). Při nedostatečném zásobování rostliny minerálními živinami (zejména dusíkem) by rostlina mohla posílit transport monosacharidů zpět do svých buněk a omezit tak zásobování mykorrhizní houby (Nehls, 2008). Obdobná regulace byla pozorována i u jiných zkoumaných rostlin a hub (*Picea abies* s *Amanita muscaria*, Nehls et al., 2000; *Betula pendula* s *Paxillus involutus*, Wright et al., 2000). Práce dalších autorů se zabývají závislostí mezi obsahem živin dostupných pro rostlinu v půdě (zejména dusíku) a velikostí mycelia ECM hub. Bylo zjištěno, že se zvýšením obsahu dusíku v substrátu se snižoval růst houbového mycelia a naopak (Nilsson and Wallander, 2003; Wallenda and Kottke, 1998). Velmi podrobné zkoumání tohoto jevu publikovali Corrêa et al. (2011). Ve své práci sledovali po dobu 29 dnů postupný vývoj ECM asociace mykorrhizních a nemykorrhizních semenáčků borovice přímořské (*Pinus pinaster*) v závislosti na dostupnosti amonných iontů v substrátu. Rozvoj kolonie ECM hub byl měřen na základě koncentrace ergosterolů v mykorrhizních kořenech. Zároveň byla v pravidelných intervalech měřena koncentrace enzymů sacharózového a trehalózového metabolismu a různých metabolitů: trehalózy, fruktózy-2,6-

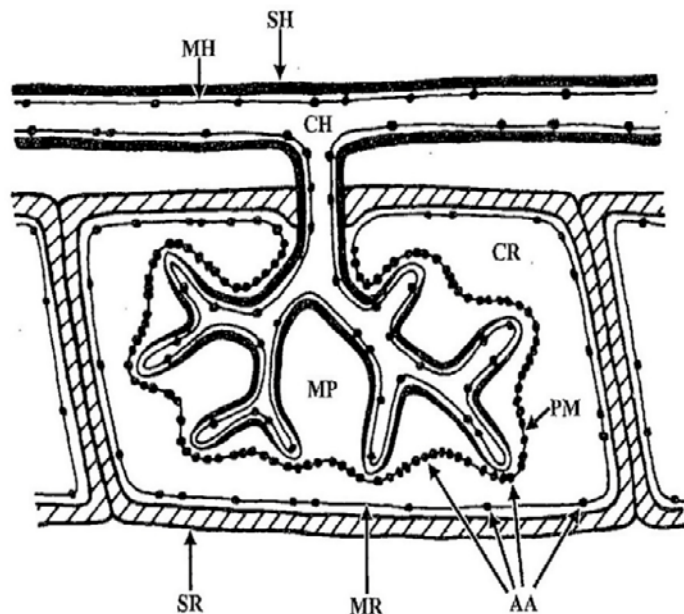
bisfosfátu a volných aminokyselin. Výsledky pozorování byly následující. Během prvních 10 dnů byla pozorována zvýšená alokace uhlíku do mykorhizních kořenů hostitelských rostlin a to nezávisle na množství dusíku v substrátu. V této fázi ustanovení mykorhizní asociace tedy nejspíš nezávisí na množství dusíku, které ECM houba dodá hostitelské rostlině. Již po 10 dnech byl však zaznamenán rozdíl v množství uhlíku dodaného do mykorhizních kořenů. U rostlin s nedostatkem dusíku v substrátu bylo množství uhlíku mnohem vyšší než u těch, které měly dusíku dostatek. Zajímavé bylo zjištění, že mykorhizní rostliny s nedostatkem dusíku v substrátu sice investovaly více uhlíku do kořenů asociovaných s ECM houbou, nemělo to však za efekt zvýšení příjmu dusíku z mykobionta. Vývoj mykorhizní asociace mezi ECM houbou a hostitelskou rostlinou tedy může záviset na dostupnosti dusíku v substrátu, ale už ne na množství dusíku, který rostlina pomocí mykobionta získá (Corrêa et al., 2011). Jedná se ale o jediné pozorování a otázka tak vyžaduje další studium.

Na závěr kapitoly bych pak ještě ráda zmínila, že ECM asociace výrazně ovlivňuje i samotnou fotosyntézu hostitelské rostliny. Takové ovlivnění fotosyntézy bylo pozorováno například jako zvýšení fixace CO₂ v mykorhizních rostlinách smrku (*Picea abies*; Loewe et al., 2000) a břízy (*Betula pendula*; Wright et al., 2000), či jako snížení rychlosti fotorespirace a zvýšení množství enzymu Rubisco (ribulóza bisfosfát karboxyláza), pozorováno u kaštanovníku (*Castanea sativa*; Martins et al., 1997). V neposlední řadě se spekuluje o tom, že ECM asociaci ovlivňují i samotné sacharidy syntetizované ECM houbami, zejména trehalóza, která může mít mimo jiné signální funkci a ovlivňuje hostitelskou rostlinu tak, aby zvýšila fotosyntetickou aktivitu (Wiemken, 2007). Přesný mechanismus takové regulace však stále není znám a je potřeba dalších výzkumů.

3. Arbuskulární mykorhizní symbióza

Arbuskulární mykorhizní symbióza (AM) je pravděpodobně nejčastěji se vyskytujícím a vývojově nejstarším typem mutualistické symbiózy hub s kořeny rostlin (Remy et al., 1994). Charakteristickým znakem je průnik houbových hyf do buňky hostitelské rostliny. Tento typ mykorhizy vytváří většina druhů suchozemských cévnatých rostlin, ale pouze s malou skupinou hub oddělení *Glomeromycota* (Schüßler et al., 2001). AM patří k obligátně symbiotickým mykorhizním vztahům a AM houby nejsou schopné bez hostitelské rostliny dokončit svůj životní cyklus. To také znesnadňuje jejich kultivaci v laboratorních podmínkách a následný výzkum. Přesto se AM těší velkému zájmu, protože se vyskytuje u mnoha hospodářsky významných rostlin.

Kolonie AM hub je tvořena půdním a kořenovým myceliem. Půdní mycelium se vyskytuje vně kořenů hostitelské rostliny. Naopak kořenové mycelium nalezneme uvnitř kořenů, kde tvoří dichotomicky větvené útvary zvané arbuskuly (Obr. 4), kulovité vezikuly nebo tlustostěnné spory. Právě arbuskuly prorůstají skrz buněčnou stěnu kortikálních buněk hostitelské rostliny a vytvářejí prostor pro přenos látek mezi houbou a rostlinou. Vezikuly pak pravděpodobně mají funkci zásobní a spory slouží k šíření hub (Gryndler et al., 2004).



Obr. 4

Schéma arbuskuly AM hub

SH – buněčná stěna houby

MH – cytoplasmatická membrána houby

CH – cytoplasma houby

SR – buněčná stěna rostlinné buňky

MR – cytoplasmatická membrána rostlinné buňky

CR – cytoplasma rostlinné buňky

PM – periarbuskulární membrána (vchlípená cytoplasmatická membrána rostlinné buňky)

MP – mezilehlý prostor

AA – lokalizace ATPázové aktivity

Převzato z Gryndler et al., (2004).

3.1. Mechanismus přenosu sacharidů v AM

Z hostitelské rostliny může být do AM houby přenášeno až 20 % fotosyntetických asimilátů (Wright et al., 1998). Jak je již zmíněno v kapitole o ECM, tak jedním z nejčastěji v rostlinách transportovaným sacharidem je sacharóza. Ta je z fotosynteticky aktivních pletiv přenášena floémem až do kořene rostliny, kde je následně z floému vyložena a to buď symplasticky přes plasmodesmy, nebo apoplasticky pomocí rostlinných sacharózových přenašečů (Doidy et al., 2012). Po tomto přenosu následuje transport sacharidů z buněk kořene hostitelské rostliny do houbového mycelia. Podobně jako u ECM, tak i u AM hub je přímý přenos sacharózy do mycelia minimální až nulový (Solaiman and Saito, 1997). AM houbou jsou primárně využívány monosacharidy vznikající štěpením sacharózy (Shachar-Hill et al., 1995). Samotné štěpení sacharózy zajišťují invertázy rostlinného původu (Schaarschmidt et al., 2006), jelikož AM houby patrně nemají geny kódující invertázy (Parrent et al., 2009; Tisserant et al., 2013).

Transport monosacharidů do AM houby zajišťují přenašeče houbového původu. První takový monosacharidový přenašeč houbového původu - GpMST1 - byl izolován z *Geosiphon pyriformis* (v symbióze se sinicí *Nostoc punctiforme*) a charakterizován jako H⁺ - glukózový přenašeč s vysokou afinitou ke glukóze a manóze (Schüßler, 2002; Schüßler et al., 2006). *G. pyriformis* však pravděpodobně netvoří AM symbiózu s vyššími rostlinami, a proto není vhodným modelovým organismem ke zkoumání přenosu látek mezi hostitelskou rostlinou a AM houbou (Helber et al., 2011). Helber et al., (2011) se proto zaměřili na jinou mykorhizní houbu, která vytváří AM symbiózu s vyššími rostlinami, a to *Rhizophagus irregularis* (syn. *Glomus irregulare*; dříve chybně označována jako *Glomus intraradices*; Krüger et al., 2012; Stockinger et al., 2009). Autorům se tak podařilo identifikovat další tři monosacharidové přenašeče (GiMST2, GiMST3 a GiMST4). Pravděpodobně nejvýznamnějším pro AM je GiMST2. Jedná se o přenašeč se širokou substrátovou specifitou, který je schopen přenášet nejen glukózu, ale i xylózu, manózu a fruktózu. Nejvyšší afinitu však vykazuje ke glukóze a xylóze (Helber et al., 2011). Umělé snížení míry exprese *GiMST2* v mykorhizní asociaci vedlo k narušení vývoje AM a k deformaci arbuskul, což podporuje teorii o klíčovém významu tohoto přenašeče v AM.

Jak již bylo řečeno výše, tak GiMST2 je schopen přenášet kromě glukózy i stěnový monosacharid xylózu, jenž je s největší pravděpodobností dalším významným zdrojem uhlíku

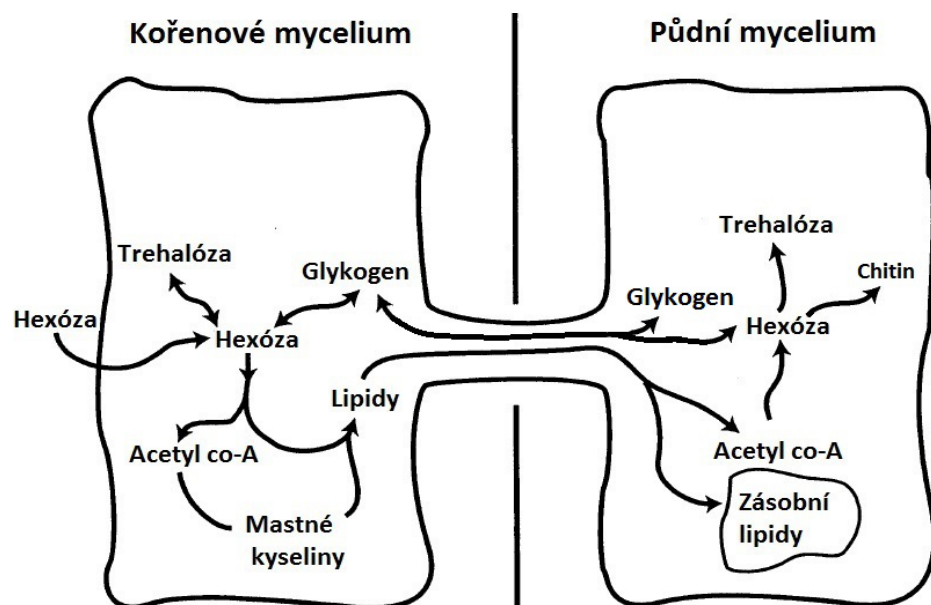
pro AM houby (Helber et al., 2011). Tato schopnost AM hub získávat potřebný uhlík z komponent buněčné stěny hostitelské rostliny byla zvažována již v několika předchozích pracích (Bonfante and Perotto, 1995; Gianinazzi-Pearson, 1996; Smith and Smith, 1990) a to na základě přítomnosti těchto látek (zejména xyloglukanů) v mezilehlém prostoru arbuskul. Také se ukázalo, že AM houby disponují enzymy potřebnými k jejich zpracování (Helber et al., 2011). Kromě toho volně dostupná xylóza jako jediná z řady testovaných sacharidů spouští expresi *GiMST2* v půdním myceliu a umožňuje tak (na rozdíl od ECM hub) příjem monosacharidů půdním myceliem AM hub (Helber et al., 2011). Xylóza tedy může mít i regulační funkci při transportu ostatních sacharidů (Helber et al., 2011).

Podstatou pasivního transportu je koncentrační spád. Ten AM houba, podobně jako ECM houby, s největší pravděpodobností vytváří intenzivní přeměnou přijatých monosacharidů do složitějších a pro hostitelskou rostlinu již nedostupných sloučenin - trehalózy, glykogenu a v menší míře i manitolu (Shachar-Hill et al., 1995). Tyto, pro mykorrhizní houby charakteristické, sloučeniny slouží zejména jako snadno využitelná zásoba energie (Pfeffer et al., 1999; Schubert et al., 1992). Shachar-Hill et al. (1995), při experimentech s rostlinami póru (*Allium porum*) a AM houbou *Glomus etunicatum* pozorovali zvýšenou spotřebu glukózy v mykorrhizních kořenech póru a její zabudování do houbových sacharidů (převážně trehalózy a glykogenu), na rozdíl od nemykorrhizních rostlin, u kterých se z glukózy syntetizovala sacharóza. Co se týče syntézy manitolu, tak ta byla pozorována hlavně u axiálně klíčících spor AM hub (Shachar-Hill et al., 1995). Trehalóza a glykogen také mohou být transportovány přímo z kořenového do půdního mycelia, popřípadě

Obr. 6

Schéma transportu trehalózy a glykogenu z kořenového do půdního mycelia AM houby.

Upraveno podle Pfeffer et al., (1999).



syntetizovány z lipidů vytvořených z hexóz přijatých z hostitelské rostliny a přenesených z kořenového do půdního mycelia (Obr. 6; Bago, 2003; Pfeffer et al., 1999). O podrobném mechanismu transportu sacharidů v rámci AM hub toho však stále není mnoho známo.

3.2. Regulace přenosu sacharidů v AM

Přenos sacharidů v AM je regulován hostitelskou rostlinou i mykorhizní houbou a přesto, že je toho již hodně známo o regulaci ze strany rostliny, tak o houbových regulačních mechanismech stále víme velmi málo. Regulace jako taková udržuje funkční symbiotický vztah a předchází možnému parazitismu (Helber et al., 2011).

Mezi hlavní regulační mechanismy hostitelské rostliny patří zejména regulace míry exprese sacharidových přenašečů, sacharózasyntáz a invertáz. V několika pracích byla porovnávána míra exprese sacharózových přenašečů u mykorhizních a nemykorhizních rostlin rajčete (*Solanum lycopersicum*), u těch s AM asociací byla znatelně zvýšená (Boldt et al., 2011; García-Rodríguez et al., 2005; Ge et al., 2008). Dále García-Rodríguez et al., (2005) v rajčeti (*Solanum lycopersicum*) identifikovali potenciální monosacharidový přenašeč LeST3 a pozorovali jeho zvýšenou míru exprese v kořenech a listech během AM s *Glomus irregulare* a zvýšenou míru exprese v listech během AM s *Glomus mosseae*. Také se ukázalo, že LeST3 je homologní s přenašečem z tonoplastu cukrové třtiny (*Saccharum officinarum*), z čehož autoři usuzují, že LeST3 může mít význam při mobilizaci sacharidů uložených ve vakuolách (García-Rodríguez et al., 2005). Ge et al., (2008) také analyzovali efekt AM na míru exprese sacharidových přenašečů v rajčeti (*Solanum lycopersicum*) konkrétně hexózového přenašeče LeHT2 a již zmíněného LeST3. Zjistili, že *LeHT2* měl sníženou míru exprese v kořenech a listech v rostlinách s AM asociací s *G. caledonium* a *G. irregulare*; *LeST3* měl však sníženou expresi v kořenech a listech v rostlinách asociovaných s *G. caledonium*, ale zvýšenou expresi v kořenech a listech asociovaných s *G. irregulare*. Způsob regulace tedy pravděpodobně závisí i na druhu mykorhizní houby a lokalizaci přenašečů v rostlině. Co se týče enzymů štěpících sacharózu, tak v kořenech jetele (*Trifolium repens*; Wright et al., 1998) a *Medicago truncatula* (Corbière, 2002) s AM asociací byla pozorována jejich zvýšená míra exprese oproti nemykorhizním rostlinám a pravděpodobně tím způsobené hromadění hexóz v kořenech mykorhizních rostlin.

Podobně jako u ECM, tak i AM může být regulována různou dostupností minerálních živin, zejména fosforu (Schwab et al., 1991). Bylo pozorováno, že zvýšený obsah fosforu v substrátu pravděpodobně zpomaluje růst mycelia AM hub (Breuillin et al., 2010). Předpokládá se, že v případě AM hub závislých na přísunu energie z rostlin, bude zpomalení růstu mycelia způsobené rostlinou. Jedním z možných mechanismů způsobujících inhibici AM asociace je snížení propustnosti buněčných membrán v kořeni hostitelské rostliny. Ratnayake et al., (1978) tento jev zaznamenali u rostlin čiroku (*Sorghum vulgare*) a pomerančovníku (*Citrus aurantium*), kdy při nízkých koncentracích (0,6 až 28 ppm) fosforu v půdě byla propustnost membrán znatelně vyšší než po fertilizaci půdy přidaným fosforem (56,228 až 556 ppm). Další z možností je snížení míry exprese sacharidových přenašečů v hostitelské rostlině v závislosti na zvýšeném obsahu fosforu v půdě a tím i omezené množství uhlíku přeneseného do houbového mycelia (Olsson et al., 2010). Fitter, (2006) pozoroval reakci rajčete rostoucího v substrátu se zvýšeným obsahem fosforu. V porovnání s nemykorhizními rostlinami došlo ke snížení míry exprese *LeHT2* a *LeST3* v kořenech, ale naopak se zvýšila míra exprese *LeHT2* v listech. To poukazuje na schopnost rostliny omezit množství sacharidů importovaných do houby, právě když může potřebné živiny získat sama, bez pomoci mykorhizní houby (Fitter, 2006). V neposlední řadě může být také regulována samotná fotosyntéza. U rostlin s AM asociací byla zaznamenána zvýšená efektivita a výkonost fotosyntézy oproti nemykorhizním rostlinám, což je patrně způsobeno větší spotřebou asimilátů mykorhizním sinkem (Kaschuk et al., 2009). Zajímavým jevem je také vzájemné propojení půdních mycelií a přenos sloučenin uhlíku mezi nimi (Graves et al., 1997; Watkins et al., 1996). Takto přenesený uhlík však pravděpodobně není přenášen i do hostitelské rostliny, ale je využíván pouze AM houbou (Fitter et al., 1998; Robinson and Fitter, 1999).

4. Erikoidní mykorhizní symbióza

Erikoidní mykorhizní symbióza (ERM) je tvořena rostlinami z řádu *Ericales* (vřesovcotvaré). U tohoto řádu rostlin však nebyla zaznamenána pouze ERM. Podčeleď *Arbutoideae* tvoří arbutoidní typ mykorhizní asociace a *Monotropeoideae* monotropoidní mykorhizní asociaci (Smith and Read, 2009; viz úvod). Zástupci erikoidních rostlin obývají na živiny, zejména fosfor a dusík, chudá stanoviště (rašeliniště, vřesoviště apod.) a právě ERM jim umožňuje přežít v tak nehostinných podmínkách (Read and Stribley, 1973; Smith and Read, 2008). ERM má tedy celosvětový význam a mnoho rostlin tvořící tento typ mykorhizy má důležitou roli v primární sukcesi, žije v extrémních teplotách či patří mezi invazní druhy, ohrožující původní ekosystémy (Gryndler et al., 2004; Smith and Read, 2008). Určení houbového partnera v ERM ze začátku provázely obtíže spojené s izolací a kultivací mycelia z kořenů erikoidních rostlin. Houby rostoucí z hyf, které byly izolovány z rostlin s ERM, tvořily pouze neurčitelná tmavě zbarvená sterilní mycelia (Pearson and Read, 1973). Až při použití molekulárních taxonomických metod vědci dokázali určit houbové taxony tvořící ERM. Ukázalo se, že houby tvořící ERM jsou zejména askomycety (Smith and Read, 2008). Mezi nejvýznamnější a nejvíce zkoumané patří *Rhizoscyphus ericae* (voskovička vřesovcová), dříve známá jako *Hymenoscyphus ericae* (Zhang and Zhuang, 2004). Také zástupci řádu *Helotiales* mohou tvořit ERM (Cairney and Ashford, 2002). Byla však pozorována i přítomnost bazidiomycetů v asociaci podobné ERM (např. Bonfante-Fasolo, 1980). Charakteristickou strukturou, tvořenou ERM rostlinami, jsou tzv. vlasové kořeny (hair roots). Jsou to jemné struktury, charakteristické jednoduchou stavbou a absencí kořenového vlášení s velmi malým průměrem od 100 μm do 50 μm (Smith and Read, 2008). Jejich epidermální buňky jsou často suberizované a právě do nich pronikají hyfy mykorhizních hub. Hyfy pak v buňkách tvoří smotky a smyčky a jsou oddělené membránou a interfaciální matrix (Bonfante-Fasolo and Gianinazzi-Pearson, 1979; Peterson et al., 2004). U rostlin *Rhododendron ponticum* s vyvinutou ERM, byla pozorována a podrobně popsána degradace mykorhizních kořenových buněk a ukázalo se, životnost kolonizovaných kořenových buněk nebyla delší než pět nebo šest týdnů (Duddridge and Read, 1982). Jak už však bylo řečeno erikoidní rostliny netvoří pouze charakteristickou ERM.

4.1. Mechanismus přenosu sacharidů v ERM

O mechanismu přenosu sacharidů v ERM toho dosud není mnoho známo. Pravděpodobně proto, že erikoidní rostliny nepatří mezi významné zemědělské plodiny, nebyly dosud tolik zkoumány. První pokusy, týkající se přenosu sacharidů v ERM popisují ve své práci Stribley and Read (1974). Kvůli obtížnému oddělení mykobionta od hostitelské rostliny použili nepřímou metodu značení fotosyntetických sacharidů hostitelské rostliny pomocí $^{14}\text{CO}_2$ a pozorovali jejich transport do kořenů. Z mykorhizních a nemykorhizních kořenů rostlin klikvy (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) pak identifikovali a kvantifikovali nejvíce zastoupené rozpustné sacharidy – glukózu, fruktózu, sacharózu, mannitol a trehalózu. Pozorovali, že v mykorhizních kořenech bylo oproti nemykorhizním více jak dvojnásobné množství sacharózy. Rozdíly v obsahu glukózy a fruktózy byly jen nepatrné. Trehalóza a mannitol se vyskytovaly pouze v mykorhizních kořenech, což potvrzuje hypotézu, že tyto dva sacharidy jsou syntetizovány mykorhizní houbou (Stribley and Read, 1974). I v ERM tedy nejspíš funguje princip přenosu sacharidů na základě koncentračního spádu, který je udržován silným houbovým sinkem. Mykorhizní houba tak vstřebává rostlinné sacharidy a jejich rychlá přeměna na mannitol a trehalózu zajišťuje trvalý tok živin z hostitelské rostliny do mykorhizní houby (Stribley and Read, 1974). Trehalóza a mannitol byly taktéž identifikovány v myceliu mykorhizní houby, rostoucího axiálně v tekutém médiu, což je další doklad toho, že ERM, tak jako mnoho jiných hub, mají schopnost tyto sacharidy tvořit (Lewis and Smith, 1967; Stribley and Read, 1974).

Překvapivé zjištění bylo, že ERM houby dokázaly růst i na sacharóze a využít tento sacharid jako jediný zdroj uhlíku, například u AM hub tato schopnost zřejmě chybí (Shachar-Hill et al., 1995; Stribley and Read, 1974). Také byla pozorována akumulace manózových polymerů v mykorhizních kořenech, ale již nebylo možné určit, zda k akumulaci dochází v mykorhizní houbě či hostitelské rostlině (Stribley and Read, 1974). Důležitou vlastností ERM hub je schopnost saprofytické výživy (Perotto et al., 1997; Smith and Read, 2008; Stribley and Read, 1974). Ukázalo se, že oproti jiným mykorhizním houbám, jsou ERM houby schopné produkovat širokou škálu různých enzymů k degradaci organických zbytků, a tak získávat dusík a fosfor přímou dekompozicí (Burke and Cairney, 1997; Smith and Read, 2008). Jak už bylo zmíněno, tak ERM houby dokáží využívat různé druhy sacharidů a to nejen hexózy, jak je obvyklé u AM či ECM, ale i disacharid sacharózu. První detailní přezkoumání toho, jak

ERM houba *Rhizoscyphus ericae* využívá sacharózu, publikovali Hughes and Mitchell (1995). Ve své práci porovnávají růst mycelia na substrátech s obsahem sacharózy, ale i fruktózy či glukózy. Při růstu *R. ericae* na substrátu se sacharózou zjistili nárůst koncentrace fruktózy a glukózy v médiu, což byl s velkou pravděpodobností produkt houbových invertáz. Tato glukóza a fruktóza byla následně spotřebována při stacionární fázi růstu. Nejrychlejší růst mycelia *R. ericae* byl pak pozorován na substrátu s obsahem glukózy a fruktózy v poměru 1:1 (Hughes and Mitchell, 1995). V další práci se pak už zabývají přesným mechanismem fungování různých druhů invertáz v myceliu *R. ericae* (Hughes and Mitchell, 1996). O způsobech regulace přenosu sacharidů v ERM zatím není nic známo.

5. Orchideoidní mykorhizní symbióza

Orchideoidní mykorhizní symbióza (OM) je charakteristická pro rozsáhlou čeleď vstavačovitých (*Orchidaceae*) a není známo, že by tento druh mykorhizní asociace byl tvořen i zástupci jiných rostlinných čeledí (Gryndler et al., 2004). Předpokládá se, že všechny druhy orchidejí jsou, alespoň v raných fázích vývoje, mykoheterotrofní (Smith and Read, 2008). Jedním z charakteristických znaků čeledi vstavačovitých je totiž tvorba mikroskopických semen o hmotnosti od 0,3 do 24 μg , která mají jen minimální množství zásobních látek (Arditti and Ghani, 2000). Mladé orchideje k růstu a vývoji tedy potřebují pomoc se získáváním energie a živin, kterou jim zajišťuje právě OM (Smith and Read, 2008). Mezi houby tvořící OM patří především bazidiomycety čeledí Ceratobasidiaceae, Sebacinaceae a Tullasnellaceae, ale byly zjištěny i další čeledi a dokonce i rod *Tuber* patřící mezi askomycety (Smith and Read, 2008; Yukawa et al., 2009). OM houby se vyvíjejí v buňkách primární kůry kořene hostitelské rostliny, kde se větví a tvoří hustě propletené struktury tzv. smotky hyf (pelotony). Povrchovými vrstvami buněk houbové hyfy zpravidla pouze prorůstají. Hluběji v primární kůře vytvářejí uvnitř buněk pelotony. Ty se nejprve zvětšují a houbové hyfy rostou, poté setrvávají různý čas v narostlém stavu a následně jsou degradovány - někdy označováno jako stravování pelotonů orchidejí (Gryndler et al., 2004; Peterson et al., 1998). Ve středním válci kořene se již mykorhizní houby nevyskytují (Gryndler et al., 2004).

U některých orchidejí byl, kromě klasické mykoheterotrofie, kdy jsou využívány saprotrofní houby, pozorován i další zvláštní způsob výživy tzv. epiparazitismus. V takovém případě tvoří houba více mykorhizních asociací najednou a její mycelium propojuje autotrofní a heterotrofní hostitelské rostliny (např. Bougoure et al., 2010; McKendrick et al., 2000). Většinou se jedná o ektomykorhizní houby, které vytvářejí mutualistickou ECM s dřevinami a zároveň OM s orchidejí. Část látek (především uhlíku), které orchidej od houby přijímá, pochází od mykorhizní dřeviny (Leake et al., 2004 a citace uvnitř; Taylor and Bruns, 1997).

5.1. Mechanismus přenosu sacharidů v OM

Oproti většině jiných typů mykorhiz, dochází v OM primárně k přenosu uhlíku a energie z houby do hostitelské rostliny. V AM, ECM i ERM dochází primárně k přenosu uhlíku z rostliny do houby, zatímco u mykoheterotrofních orchidejí je v OM nejvíce uhlíku

přeneseno z houby do hostitelské rostliny (Smith and Read, 2008). První výzkumy přenosu sacharidů v OM se zaměřovaly zejména na druh a množství sacharidů přenesených z mykorhizní houby do protokormů orchidejí. Bylo zjištěno, že OM houby *Rhizoctonia repens* a *Rhizoctonia solani* izolované z *Dactylorhiza purpurella* (dnes *Dactylorhiza purpurella*) jsou schopné využívat celulózu jako zdroj uhlíku (Smith, 1966). Pomocí izotopového značení, kdy byl ^{14}C dodán do mycelia asociovaného s orchidejí přes difuzní bariéru, byl pozorován přenos uhlíku do semenáčků orchidejí (Smith, 1966). V navazující práci pak byly identifikovány jednotlivé sacharidy (Smith, 1967). V nemykorhizních částech orchideje *D. purpurella* se vyskytovala zejména glukóza, fruktóza a sacharóza. Mycelia mykorhizních hub, izolovaná z dané orchideje, pak obsahovala zejména glukózu, trehalózu a v menší míře i polyol mannitol. Po dodání ^{14}C do houbového mycelia byla z počátku nejvíce značeným sacharidem trehalóza. Podíl značené trehalózy následně klesal a ^{14}C byl postupně zabudován do jiných sacharidů, zejména rostlinné sacharózy, což je dobrý doklad přenosu sacharidů z houby do rostliny (Smith, 1967).

Jak již bylo řečeno, tak OM houby jsou důležité pro růst a vývoj protokormů orchidejí, ale ukázalo se, že velký význam má zdroj sloučenin uhlíku dostupný OM houbě. Bylo zjištěno, že symbioticky kultivované protokormy tropických (*Spathoglottis plicata*) i temperátních (*Goodyera repens* a *D. purpurella*) druhů orchidejí rostou mnohem lépe za přítomnosti celulózy, jako zdroje uhlíku pro mykobionta (Hadley, 1969). Při dodání celulózy mykorhizní houbě se protokormy orchidejí vyvíjely rychleji a lépe a růst houbového mycelia byl mnohem kontrolovanější. Zatímco při dodání glukózy rostly OM houby rychleji a měly tendence k parazitismu a docházelo k úhynu protokormů (Hadley, 1969; Smith, 1966).

Samotný přenos sacharidů z mykorhizní houby do orchideje však stále zůstává neobjasněn. Je otevřenou otázkou, které sacharidy jsou přenášeny z hub do orchidejí. Pokud by se v tomto procesu uplatňovala trehalóza, je otázkou, zda by byla přenášena přímo či přenosu předcházela hydrolýza na glukózu. U asymbioticky kultivovaných semenáčků orchideje *Phalaenopsis*, které byly kultivovány na médiu s trehalózou, bylo v médiu detekováno malé množství glukózy (Ernst et al., 1971). Autoři této práce se domnívají, že trehalóza byla orchidejí absorbována bez předchozí hydrolýzy, jelikož množství detekované glukózy bylo velmi malé. Nicméně obdobné výsledky by mohly být získány i v případě, kdy by hydrolýza trehalózy byla následována velmi rychlým vstřebáním a využitím glukózy

rostoucími semenáčky orchidejí. Byla také zkoumána schopnost semenáčků orchidejí růst na houbovém polyolu mannitolu. Semenáčky *Phalaenopsis* rostly na mannitolu velmi dobře (Ernst et al., 1971), ale protokormy *D. purpurella* na mannitolu rostla pomaleji v porovnání s růstem na trehalóze, glukóze a sacharóze, semena druhu *Bletilla hyacinthina* pak na mannitolu ani nevyklíčila (Smith, 1973). Listy *B. hyacinthina* mannitol dokážou efektivně přijímat, ale metabolizují ho jen velice pomalu, což vede k jeho akumulaci v pletivech (Smith and Smith, 1973) a je možné, že u protokormů či semen dochází k tomu samému (Smith and Smith, 1973). Utilizace manitolu houbového původu orchidejemi je tedy méně pravděpodobné, než využití houbové trehalózy či glukózy.

Doposud jsme se však zabývali jen výživou nefotosyntetizujících protokormů orchidejí. Přenos živin z OM houby do dospělých, již fotosyntetizujících rostlin orchidejí byl experimentálně ověřen až v práci Alexander and Hadley (1985), ve které sledovali přenos izotopu ^{14}C z mycelia mykorhizní houby do protokormů, menších rostlinek (do hmotnosti 50 mg) a větších rostlin (nad 50 mg) orchideje *Goodyera repens*. Pouze protokormy a menší rostlinky byly schopné získat ^{14}C z mycelia mykorhizní houby, fotosyntetizující rostliny toho již schopné nebyly, ani při nedostatku uhlíku během 14 dnů růstu ve tmě (Alexander and Hadley, 1985). Autoři se zároveň pokusili detekovat přenos živin z fotosyntetizujících rostlin *G. repens* do mykorhizní houby při dodání $^{14}\text{CO}_2$. To se jim však také nepodařilo a došli k závěru, že dospělé zelené rostliny *G. repens*, již rostlou nezávisle na OM a uhlík se přenáší pouze z houby do rostliny, dokud rostlina nedosáhne určité fáze vývoje a nezačne fotosyntetizovat (Alexander and Hadley, 1985). Tyto studie však byly omezeny přesností dostupných metod a novější studie dospěly k odlišným výsledkům. S příchodem nových vysoce citlivých metod se podařilo zjistit i přenos živin z orchideje do mykorhizní houby. V práci Cameron et al. (2006) autoři poprvé demonstrovali oboustranný přenos značeného uhlíku mezi fotosyntetizující orchidejí a jejím houbovým symbiontem. Přibližně 3% z množství ^{14}C , dodaného jako $^{14}\text{CO}_2$, bylo po 72 hodinách přeneseno z orchideje do asociované houby (Cameron et al., 2006). V navazující práci je pak přesně změřeno množství přeneseného uhlíku z fotosyntetizujících rostlin *G. repens* do mykorhizní houby a to i v opačném směru. Po osmi dnech od dodání ^{14}C bylo přeneseno $0,335 \mu\text{g } ^{14}\text{C}$ z orchideje do houby a $0,06 \mu\text{g } ^{14}\text{C}$ v opačném směru, z houby do orchideje (Cameron et al., 2008). Ne všechny druhy orchidejí však v dospělosti fotosyntetizují. Existují i trvale heterotrofní druhy,

kteřé jsou během celého životního cyklu závislé na přísunu energie a uhlíku od mykorhizních hub.

Mechanismus jakým orchideje získávají sacharidy z OM houby, však také není znám. Již bylo pozorováno, že hostitelská rostlina může různé látky získávat lyzí houbového pelotonu (Bougoure et al., 2014; Hadley, 1984), ale byl pozorován také biotrofní přenos přes interfaciální matrix oddělující rostlinou cytoplazmu od rostoucích houbových hyf (Kuga et al., 2014; Smith, 1967). Je možné, že různé druhy orchidejí uplatňují různé způsoby získávání živin z mykorhizních hub a jsou tak potřeba ještě další zkoumání. Lyze pelotonů také může být jistý druh obrany hostitelské rostliny před nadměrným růstem houbového symbionta (Smith and Read, 2008). O samotném přenosu sacharidů v OM je toho známo velmi málo a o možnostech regulace takového přenosu informace chybí zcela.

6. Závěr

Z dostupných poznatků vyplývá, že přenos sacharidů je nedílnou součástí funkční mykorrhizní symbiózy. Hostitelské rostlině i s ní asociované houbě slouží jako zdroj energie a uhlíku. Řada prací ukazuje, že pomocí přeměny sacharidů společných oběma symbiontům na sacharidy specifické pro daného symbionta může být vytvářen koncentrační spád, který umožňuje přenos sacharidů mezi symbionty. K těm v mykorrhizní symbióze nejdůležitějším sacharidům rostlinného původu patří sacharóza, glukóza a fruktóza. K významným houbovým sacharidům pak patří zejména trehalóza a mannitol. Zmíněné sacharidy najdeme ve všech typech mykorrhizních asociací, ale svým významem se mohou lišit. V orchideoidní mykorrhize pak ještě figuruje rostlinný sacharid celulóza, jako potenciální vhodný zdroj energie pro mykobionta. K přenosu sacharidů dochází v ECM, AM a ERM převážně ve směru z hostitelské rostliny do mykorrhizní houby. AM houby jsou na svém rostlinném hostiteli dokonce zcela závislé. V OM patrně dochází alespoň v heterotrofních fázích hostitelských rostlin k přenosu sacharidů převážně opačným směrem, tedy z houby do rostliny. Společným znakem dosud zkoumaných mykorrhizních asociací je klíčová role sacharidových přenašečů v regulaci symbiotické interakce. V současné době je nejvíce popsána situace u ECM a AM. Zdá se, že aktivita jednotlivých rostlinných přenašečů může přenos sacharidů z hostitelské rostliny do mykorrhizní houby výrazně regulovat a to zejména v závislosti na množství dostupných živin (dusíku a fosforu). V ostatních typech mykorrhizních asociací role přenašečů zatím zůstává neprozkoumána, spolu se způsoby regulace přenosu sacharidů mezi oběma symbionty. Celkově jsou však poznatky kusé a je třeba dalšího výzkumu problematiky přenosu sacharidů v jednotlivých typech mykorrhizních asociací, jak z hlediska mechanismu přenosu, tak i z hlediska regulace a ovlivnění metabolismu sacharidů ze strany hostitelské rostliny a mykorrhizní houby.

7. Seznam použité literatury

Alexander, C., and Hadley, G. (1985). Carbon movement between host and mycorrhizal endophyte during the development of the orchid *Goodyera repens* Br. *New Phytol.* **101**, 657–665.

Arditti, J., and Ghani, A.K.A. (2000). Tansley Review No. 110.: Numerical and physical properties of orchid seeds and their biological implications. *New Phytol.* **145**, 367–421.

Bago, B. (2003). Carbon Export from Arbuscular Mycorrhizal Roots Involves the Translocation of Carbohydrate as well as Lipid. *PLANT Physiol.* **131**, 1496–1507.

Boldt, K., Pörs, Y., Haupt, B., Bitterlich, M., Kühn, C., Grimm, B., and Franken, P. (2011). Photochemical processes, carbon assimilation and RNA accumulation of sucrose transporter genes in tomato arbuscular mycorrhiza. *J. Plant Physiol.* **168**, 1256–1263.

Bonfante, P., and Perotto, S. (1995). Tansley Review No. 82. Strategies of arbuscular mycorrhizal fungi when infecting host plants. *New Phytol.* **130**, 3–21.

Bonfante-Fasolo, P. (1980). Occurrence of a basidiomycete in living cells of mycorrhizal hair roots of *Calluna vulgaris*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* **75**, 320–325.

Bonfante-Fasolo, P., and Gianinazzi-Pearson, V. (1979). Ultrastructural aspects of endomycorrhiza in the Ericaceae. I. Naturally Infected hair roots of *Calluna vulgaris* L. *Hull. New Phytol.* **83**, 739–744.

Bougoure, J., Ludwig, M., Brundrett, M., Cliff, J., Clode, P., Kilburn, M., and Grierson, P. (2014). High-resolution secondary ion mass spectrometry analysis of carbon dynamics in mycorrhizas formed by an obligately myco-heterotrophic orchid: *Rhizanthella* nanoSIMS analysis. *Plant Cell Environ.* **37**, 1223–1230.

Bougoure, J.J., Brundrett, M.C., and Grierson, P.F. (2010). Carbon and nitrogen supply to the underground orchid, *Rhizanthella gardneri*. *New Phytol.* **186**, 947–956.

Breullin, F., Schramm, J., Hajirezaei, M., Ahkami, A., Favre, P., Druege, U., Hause, B., Bucher, M., Kretzschmar, T., Bossolini, E., et al. (2010). Phosphate systemically inhibits development of arbuscular mycorrhiza in *Petunia hybrida* and represses genes involved in mycorrhizal functioning: Phosphate and *Petunia* mycorrhiza development and functioning. *Plant J.* **64**, 1002–1017.

Burke, R.M., and Cairney, J.W.G. (1997). Carbohydrase production by the ericoid mycorrhizal fungus *Hymenoscyphus ericae* under solid-state fermentation conditions. *Mycol. Res.* **101**, 1135–1139.

Cairney, J.W., and Ashford, A.E. (2002). Biology of mycorrhizal associations of epacrids (Ericaceae). *New Phytol.* **154**, 305–326.

- Cairney, J.W.G., and Burke, R.M. (1996).** Physiological heterogeneity within fungal mycelia: an important concept for a functional understanding of the ectomycorrhizal symbiosis. *New Phytol.* **134**, 685–695.
- Cameron, D.D., Leake, J.R., and Read, D.J. (2006).** Mutualistic mycorrhiza in orchids: evidence from plant-fungus carbon and nitrogen transfers in the green-leaved terrestrial orchid *Goodyera repens*. *New Phytol.* **171**, 405–416.
- Cameron, D.D., Johnson, I., Read, D.J., and Leake, J.R. (2008).** Giving and receiving: measuring the carbon cost of mycorrhizas in the green orchid, *Goodyera repens*. *New Phytol.* **180**, 176–184.
- Corbière, H.L.F. (2002).** The importance of sucrose synthase for AM symbiosis in maize, in pea and in *Medicago*. University of Basel.
- Corrêa, A., Hampp, R., Magel, E., and Martins-Loução, M.-A. (2011).** Carbon allocation in ectomycorrhizal plants at limited and optimal N supply: an attempt at unraveling conflicting theories. *Mycorrhiza* **21**, 35–51.
- Crowe, J.H., Crowe, L.M., and Chapman, D. (1984).** Preservation of Membranes in Anhydrobiotic Organisms: The Role of Trehalose. *Science* **223**, 701–703.
- Doidy, J., Grace, E., Kühn, C., Simon-Plas, F., Casieri, L., and Wipf, D. (2012).** Sugar transporters in plants and in their interactions with fungi. *Trends Plant Sci.* **17**, 413–422.
- Duddridge, J., and Read, D.J. (1982).** An ultrastructural analysis of the development of mycorrhizas in *Rhododendron ponticum*. *Can. J. Bot.* **60**, 2345–2356.
- Ernst, R., Arditti, J., and Healey, P.L. (1971).** Carbohydrate Physiology of Orchid Seedlings. II. Hydrolysis and Effects of Oligosaccharides. *Am. J. Bot.* **58**, 827–835.
- Finlay, R., and Söderström, B. (1992).** Mycorrhiza and carbon flow to the soil. In *Mycorrhizal Functioning an Integrative Plant-Fungal Proces*, Allen, M.F., ed. (New York: Chapman and Hall), pp. 134–160.
- Fitter, A.H. (2006).** What is the link between carbon and phosphorus fluxes in arbuscular mycorrhizas? A null hypothesis for symbiotic function. *New Phytol.* **172**, 3–6.
- Fitter, A.H., Graves, J.D., Watkins, N.K., Robinson, D., and Scrimgeour, C. (1998).** Carbon transfer between plants and its control in networks of arbuscular mycorrhizas. *Funct. Ecol.* **12**, 406–412.
- García-Rodríguez, S., Pozo, M.J., Azcón-Aguilar, C., and Ferrol, N. (2005).** Expression of a tomato sugar transporter is increased in leaves of mycorrhizal or *Phytophthora parasitica*-infected plants. *Mycorrhiza* **15**, 489–496.
- Ge, L., Sun, S., Chen, A., Kapulnik, Y., and Xu, G. (2008).** Tomato sugar transporter genes associated with mycorrhiza and phosphate. *Plant Growth Regul.* **55**, 115–123.

- Genet, P., Prevost, A., and Pargney, J.C. (2000).** Seasonal variations of symbiotic ultrastructure and relationships of two natural ectomycorrhizae of beech (*Fagus sylvatica*/*Lactarius blennius* var. *viridis* and *Fagus sylvatica*/*Lactarius subdulcis*). *Trees* **14**, 465–474.
- Gianinazzi-Pearson, V. (1996).** Plant cell responses to arbuscular mycorrhizal fungi: getting to the roots of the symbiosis. *Plant Cell* **8**, 1871–1883.
- Graves, J.D., Watkins, N.K., Fitter, A.H., Robinson, D., and Scrimgeour, C. (1997).** Intraspecific transfer of carbon between plants linked by a common mycorrhizal network. *Plant Soil* **192**, 153–159.
- Grunze, N., Willmann, M., and Nehls, U. (2004).** The impact of ectomycorrhiza formation on monosaccharide transporter gene expression in poplar roots. *New Phytol.* **164**, 147–155.
- Gryndler, M., Baláž, M., Hršelová, H., Jansa, J., and Vosátka, M. (2004).** Mykorhizní symbióza: o soužití hub s kořeny rostlin (Praha: Academia).
- Hadley, G. (1969).** Cellulose as a carbon source for orchid mycorrhiza. *New Phytol.* **68**, 933–939.
- Hadley, G. (1984).** Uptake of [¹⁴C]glucose by asymbiotic and mycorrhizal orchid protocorms. *New Phytol.* **96**, 263–273.
- Helber, N., Wippel, K., Sauer, N., Schaarschmidt, S., Hause, B., and Requena, N. (2011).** 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.
- Högberg, M.N., and Högberg, P. (2002).** Extramatrical ectomycorrhizal mycelium contributes one-third of microbial biomass and produces, together with associated roots, half the dissolved organic carbon in a forest soil. *New Phytol.* **154**, 791–795.
- Hughes, E., and Mitchell, D.T. (1995).** Utilization of sucrose by *Hymenoscyphus ericae* (an ericoid endomycorrhizal fungus) and ectomycorrhizal fungi. *Mycol. Res.* **99**, 1233–1238.
- Hughes, E., and Mitchell, D.T. (1996).** Properties of invertases in mycelium of *Hymenoscyphus ericae* and in endomycorrhizal association with cranberry seedlings. *Mycol. Res.* **100**, 1197–1203.
- Jordy, M.N., Azemar-Lorentz, S., Brun, A., Botton, B., and Pargney, J.C. (1998).** Cytolocalization of glycogen, starch, and other insoluble polysaccharides during ontogeny of *Paxillus involutus*-*Betula pendula* ectomycorrhizas. *New Phytol.* **140**, 331–341.
- Kaschuk, G., Kuyper, T.W., Leffelaar, P.A., Hungria, M., and Giller, K.E. (2009).** Are the rates of photosynthesis stimulated by the carbon sink strength of rhizobial and arbuscular mycorrhizal symbioses? *Soil Biol. Biochem.* **41**, 1233–1244.
- Koide, R.T., Shumway, D.L., and Stevens, C.M. (2000).** Soluble carbohydrates of red pine (*Pinus resinosa*) mycorrhizas and mycorrhizal fungi. *Mycol. Res.* **104**, 834–840.

- Krüger, M., Krüger, C., Walker, C., Stockinger, H., and Schüßler, A. (2012).** Phylogenetic reference data for systematics and phylotaxonomy of arbuscular mycorrhizal fungi from phylum to species level. *New Phytol.* **193**, 970–984.
- Kuga, Y., Sakamoto, N., and Yurimoto, H. (2014).** Stable isotope cellular imaging reveals that both live and degenerating fungal pelotons transfer carbon and nitrogen to orchid protocorms. *New Phytol.* **202**, 594–605.
- Larsen, P.E., Sreedasyam, A., Trivedi, G., Podila, G.K., Cseke, L.J., and Collart, F.R. (2011).** Using next generation transcriptome sequencing to predict an ectomycorrhizal metabolome. *BMC Syst. Biol.* **5**, 70.
- Leake, J.R., McKendrick, S.L., Bidartondo, M., and Read, D.J. (2004).** Symbiotic germination and development of the myco-heterotroph *Monotropa hypopitys* in nature and its requirement for locally distributed *Tricholoma* spp. *New Phytol.* **163**, 405–423.
- Lewis, D.H., and Harley, J.L. (1965).** Carbohydrate physiology of mycorrhizal roots of beech. *New Phytol.* **64**, 224–237.
- Lewis, D.H., and Smith, D.C. (1967).** Sugar Alcohols (Polyols) in Fungi and Green Plants. I. Distribution, Physiology and Metabolism. *New Phytol.* **66**, 143–184.
- Loewe, A., Einig, W., Shi, L., Dizengremel, P., and Hampp, R. (2000).** Mycorrhiza formation and elevated CO₂ both increase the capacity for sucrose synthesis in source leaves of spruce and aspen: Increased sucrose synthesis by mycorrhiza formation and elevated CO₂. *New Phytol.* **145**, 565–574.
- Martin, F., Boiffin, V., and Pfeffer, P.E. (1998).** Carbohydrate and amino acid metabolism in the *Eucalyptus globulus*-*Pisolithus tinctorius* ectomycorrhiza during glucose utilization. *Plant Physiol.* **118**, 627–635.
- Martins, A., Casimiro, A., and Pais, M.S. (1997).** Influence of mycorrhization on physiological parameters of micropropagated *Castanea sativa* Mill. plants. *Mycorrhiza* **7**, 161–165.
- McKendrick, S.L., Leake, J.R., and Read, D.J. (2000).** Symbiotic germination and development of myco-heterotrophic plants in nature: transfer of carbon from ectomycorrhizal *Salix repens* and *Betula pendula* to the orchid *Corallorhiza trifida* through shared hyphal connections. *New Phytol.* **145**, 539–548.
- Molina, R., Massicotte H., and Trappe, J.M. (1992).** Mycorrhizal functioning an integrative plant-fungal proces. In *Mycorrhizal Functioning an Integrative Plant-Fungal Proces*, Allen, M.F., ed. (New York: Chapman and Hall), pp. 357–423.
- Nehls, U. (2004).** Carbohydrates and nitrogen: nutrients and signals in ectomycorrhizas. In *Plant Surface Microbiology*, A. Varma, L. Abbott, D. Werner, and R. Hampp, eds. (Berlin, Heidelberg: Springer Verlag), p. 373–392.

- Nehls, U., Wiese, J., Guttenberger, M., and Hampp, R. (1998).** Carbon allocation in ectomycorrhizas: identification and expression analysis of an *Amanita muscaria* monosaccharide transporter. *Mol. Plant. Microbe Interact.* **11**, 167–176.
- Nehls, U., Wiese, J., and Hampp, R. (2000).** Cloning of a *Picea abies* monosaccharide transporter gene and expression–analysis in plant tissues and ectomycorrhizas. *Trees* **14**, 334–338.
- Nehls, U., Mikolajewski, S., Magel, E., and Hampp, R. (2001a).** Carbohydrate metabolism in ectomycorrhizas: gene expression, monosaccharide transport and metabolic control. *New Phytol.* **150**, 533–541.
- Nehls, U., Bock, A., Ecke, M., and Hampp, R. (2001b).** Differential expression of the hexose-regulated fungal genes AmPAL and AmMst1 within *Amanita/Populus* ectomycorrhizas. *New Phytol.* **150**, 583–589.
- Nilsson, L.O., and Wallander, H. (2003).** Production of external mycelium by ectomycorrhizal fungi in a norway spruce forest was reduced in response to nitrogen fertilization. *New Phytol.* **158**, 409–416.
- Olsson, P.A., Rahm, J., and Aliasgharad, N. (2010).** Carbon dynamics in mycorrhizal symbioses is linked to carbon costs and phosphorus benefits. *FEMS Microbiol. Ecol.* **72**, 125–131.
- Parrent, J., James, T.Y., Vasaitis, R., and Taylor, A.F. (2009).** Friend or foe? Evolutionary history of glycoside hydrolase family 32 genes encoding for sucrolytic activity in fungi and its implications for plant-fungal symbioses. *BMC Evol. Biol.* **9**, 148.
- Pearson, V., and Read, D.J. (1973).** The biology of mycorrhiza in the Ericaceae: I. The isolation of the endophyte and synthesis of mycorrhizas in aseptical culture. *New Phytol.* **72**, 371–379.
- Perotto, S., Coisson, J.D., Perugini, I., Cometti, V., and Bonfante, P. (1997).** Production of pectin-degrading enzymes by ericoid mycorrhizal fungi. *New Phytol.* **135**, 151–162.
- Peterson, R.L., Uetake, Y., and Zelmer, C. (1998).** Fungal symbioses with orchid protocorms. *Symbiosis* **25**, 29–55.
- Peterson, R.L., Massicotte, H.B., and Melville, L.H. (2004).** Mycorrhizas: anatomy and cell biology (Ottawa : Wallingford, Oxon: NRC Research Press ; CABI Pub).
- Pfeffer, P.E., Douds, D.D., Bécard, G., and Shachar-Hill, Y. (1999).** Carbon uptake and the metabolism and transport of lipids in an arbuscular mycorrhiza. *Plant Physiol.* **120**, 587–598.
- Polidori, E., Ceccaroli, P., Saltarelli, R., Guescini, M., Menotta, M., Agostini, D., Palma, F., and Stocchi, V. (2007).** Hexose uptake in the plant symbiotic ascomycete *Tuber borchii* Vittadini: biochemical features and expression pattern of the transporter TBHXT1. *Fungal Genet. Biol.* **44**, 187–198.

- Ratnayake, M., Leonard, R.T., and Menge, J.A. (1978).** Root exudation in relation to supply of phosphorus and its possible relevance to mycorrhizal formation. *New Phytol.* **81**, 543–552.
- Read, D.J., and Stribley, D.P. (1973).** Effect of Mycorrhizal Infection on Nitrogen and Phosphorus Nutrition of Ericaceous Plants. *Nature. New Biol.* **244**, 81–82.
- Remy, W., Taylor, T.N., Hass, H., and Kerp, H. (1994).** Four hundred-million-year-old vesicular arbuscular mycorrhizae. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **91**, 11841–11843.
- Robinson, D., and Fitter, A. (1999).** The magnitude and control of carbon transfer between plants linked by a common mycorrhizal network. *J. Exp. Bot.* **50**, 9–13.
- Schaarschmidt, S., Roitsch, T., and Hause, B. (2006).** Arbuscular mycorrhiza induces gene expression of the apoplastic invertase LIN6 in tomato (*Lycopersicon esculentum*) roots. *J. Exp. Bot.* **57**, 4015–4023.
- Schubert, A., Wyss, P., and Wiemken, A. (1992).** Occurrence of trehalose in vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and in mycorrhizal roots. *J. Plant Physiol.* **140**, 41–45.
- Schüßler, A. (2002).** Molecular phylogeny, taxonomy, and evolution of Geosiphon pyriformis and arbuscular mycorrhizal fungi. In *Diversity and Integration in Mycorrhizas*, (Springer), pp. 75–83.
- Schüßler, A., Schwarzott, D., and Walker, C. (2001).** A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycol. Res.* **105**, 1413–1421.
- Schüßler, A., Martin, H., Cohen, D., Fitz, M., and Wipf, D. (2006).** Characterization of a carbohydrate transporter from symbiotic glomeromycotan fungi. *Nature* **444**, 933–936.
- Schwab, S.M., Menge, J.A., and Tinker, P.B. (1991).** Regulation of nutrient transfer between host and fungus in vesicular-arbuscular mycorrhizas. *New Phytol.* **117**, 387–398.
- Shachar-Hill, Y., Pfeffer, P.E., Douds, D., Osman, S.F., Doner, L.W., and Ratcliffe, R.G. (1995).** Partitioning of intermediary carbon metabolism in vesicular-arbuscular mycorrhizal leek. *Plant Physiol.* **108**, 7–15.
- Smith, S.E. (1966).** Physiology and ecology of orchid mycorrhizal fungi with reference to seedling nutrition. *New Phytol.* **65**, 488–499.
- Smith, S.E. (1967).** Carbohydrate translocation in orchid mycorrhiza. *New Phytol.* **66**, 371–378.
- Smith, S.E. (1973).** Asymbiotic germination of orchid seeds on carbohydrates of fungal origin. *New Phytol.* **72**, 497–499.
- Smith, S.E., and Read, D.J. (2008).** *Mycorrhizal symbiosis* (Amsterdam: Academic Press).
- Smith, S.E., and Smith, F.A. (1973).** Uptake of glucose, trehalose and mannitol by leaf slices of the orchid *Bletilla hyacinthia*. *New Phytol.* **72**, 957–964.

- Smith, S.E., and Smith, F.A. (1990).** Structure and function of the interfaces in biotrophic symbioses as they relate to nutrient transport. *New Phytol.* **114**, 1–38.
- Solaiman, M.Z., and Saito, M. (1997).** Use of sugars by intraradical hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi revealed by radiorespirometry. *New Phytol.* **136**, 533–538.
- Stockinger, H., Walker, C., and Schüßler, A. (2009).** “*Glomus intraradices* DAOM197198”, a model fungus in arbuscular mycorrhiza research, is not *Glomus intraradices*. *New Phytol.* **183**, 1176–1187.
- Stribley, D.P., and Read, D.J. (1974).** The biology of mycorrhiza in the Ericaceae: III. Movement of carbon-14 from host to fungus. *New Phytol.* **73**, 731–741.
- Taylor, D.L., and Bruns, T.D. (1997).** Independent, specialized invasions of ectomycorrhizal mutualism by two nonphotosynthetic orchids. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **94**, 4510–4515.
- Tibbet, M., Sanders, F.E., and Cairney, J.W.G. (2002).** Low-temperature-induced changes in trehalose, mannitol and arabitol associated with enhanced tolerance to freezing in ectomycorrhizal basidiomycetes (*Hebeloma* spp.). *Mycorrhiza* **12**, 249–255.
- Timonen, S., and Sen, R. (1998).** Heterogeneity of fungal and plant enzyme expression in intact Scots pine-*Suillus bovinus* and -*Paxillus involutus* mycorrhizospheres developed in natural forest humus. *New Phytol.* **138**, 355–366.
- Tisserant, E., Malbreil, M., Kuo, A., Kohler, A., Symeonidi, A., Balestrini, R., Charron, P., Duensing, N., Frei dit Frey, N., Gianinazzi-Pearson, V., et al. (2013).** Genome of an arbuscular mycorrhizal fungus provides insight into the oldest plant symbiosis. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **110**, 20117–20122.
- Wallander, H. akan, Nilsson, L.O., Hagerberg, D., and Bååth, E. (2001).** Estimation of the biomass and seasonal growth of external mycelium of ectomycorrhizal fungi in the field. *New Phytol.* **151**, 753–760.
- Wallenda, T., and Kottke, I. (1998).** Nitrogen deposition and ectomycorrhizas. *New Phytol.* **139**, 169–187.
- Watkins, N.K., Fitter, A.H., Graves, J.D., and Robinson, D. (1996).** Carbon transfer between C3 and C4 plants linked by a common mycorrhizal network, quantified using stable carbon isotopes. *Soil Biol. Biochem.* **28**, 471–477.
- Wiemken, V. (2007).** Trehalose synthesis in ectomycorrhizas—a driving force of carbon gain for fungi? *New Phytol.* **174**, 228–230.
- Wiese, J., Kleber, R., Hampp, R., and Nehls, U. (2000).** Functional Characterization of the *Amanita muscaria* Monosaccharide Transporter, AmMst1. *Plant Biol.* **2**, 278–282.
- Wright, D.P., Read, D.J., and Scholes, J.D. (1998).** Mycorrhizal sink strength influences whole plant carbon balance of *Trifolium repens* L. *Plant Cell Environ.* **21**, 881–891.

Wright, D.P., Scholes, J.D., Read, D.J., and Rolfe, S.A. (2000). Changes in carbon allocation and expression of carbon transporter genes in *Betula pendula* Roth. colonized by the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus* (Batsch) Fr. *Plant Cell Environ.* **23**, 39–49.

Yukawa, T., Ogura-Tsujita, Y., Shefferson, R.P., and Yokoyama, J. (2009). Mycorrhizal diversity in *Apostasia* (Orchidaceae) indicates the origin and evolution of orchid mycorrhiza. *Am. J. Bot.* **96**, 1997–2009.

Zhang, Y.-H., and Zhuang, W.-Y. (2004). Phylogenetic relationships of some members in the genus *Hymenoscyphus* (Ascomycetes, Helotiales). *Nova Hedwig.* **78**, 475–484.