Uspostavljanje i uloga mikorize u biljaka

Požgaj, Lidija

Undergraduate thesis / Završni rad

2009

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:890413

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-22**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

PRIRODOSLOVNO – MATEMATIČKI FAKULTET

BIOLOŠKI ODSJEK

USPOSTAVLJANJE I ULOGA MIKORIZE U BILJAKA

ESTABLISHMENT AND ROLE OF MYCORRHIZA IN PLANTS

SEMINARSKI RAD

Lidija Požgaj
Preddiplomski studij molekularne biologije
(Undergraduate Study of Molecular Biology)
Mentor: doc. dr. sc. Mirta Tkalec

Zagreb, 2009.

Sadržaj

1. Uvod 2
2. Ektotrofna mikoriza ili ektomikoriza 3
3. Endotrofna mikoriza ili endomikoriza 4
3.1. Arbuskularna mikoriza 5
3.1.1. Signaliziranje između biljke i gljive 6
3.1.2. Formiranje apresorija 7
3.1.3. Ulazak hife u korijen 8
3.1.4. SYM put 9
3.1.5. Razvoj i funkcija arbuskula 11
3.2. Mikoriza orhideja 12
3.3. Erikoidna mikoriza 13
4. Ektoendomikoriza 14
5. Uloga mikorize 15
5.1. Prednosti mikorize 15
5.2. Izmjena hranjivih tvari 16
5.3. Komercijalna upotreba mikorize 17
6. Literatura 18
7. Sažetak 19
8. Summary 20

1. Uvod

Mikoriza je simbioza korijenja biljaka i gljiva koja poboljšava prehranu biljaka. Sama riječ mikoriza znači ″gljivino korijenje″, odnoseći se na strukture koje formiraju stanice korijena i hife gljiva. Infekcija gljivom mijenja rast bočnog korijenja koje postaje kratko i debelo, a zatim micelij gljiva okružuje bočno korijenje te na taj način funkcionalno zamjenjuje korijenove dlačice. Gljive su tako smještene u pogodnu okolinu i dobivaju stalnu zalihu šećera od biljke, dok za uzvrat gljive snabdijevaju biljku fosfatima i ostalim mineralnim tvarima koje selektivno primaju iz tla, te povećavaju površinu za uzimanje vode. Mikoriza je u prirodi česta. Uočeno je da je kod biljaka koje su u mikorizi poboljšana obrana od patogena (preuzeto i prilagođeno iz http://www.world-of-fungi.org). Formiraju je gotovo sve biljne vrste pa se smatra da je ova simbioza možda jedna od evolucijskih prilagodbi koja je omogućila prijelaz biljaka na kopno. Kada su kopneni ekosistemi bili u nastajanju tlo je bilo vrlo siromašno hranjivim tvarima. Gljive koje sudjeluju u formiranju mikorize mnogo su učinkovitije u upijanju minerala od samog korijenja te su mogle pomoći u prehrani prvih kopnenih biljaka. U prilog toj tvrdnji ide pronađeno fosilizirano korijenje nekih od najranijih biljaka koje također formira mikorizu, te najstariji fosili gljiva koji datiraju unazad 450 milijuna godina, što je otprilike isto vrijeme kada su biljke počele nastanjivati kopno (Parniske 2004). Čak i danas, biljke koje se prve nastane na tlu siromašnom hranom, (npr. na napuštenim farmama ili erodiranim brdovitim obalama), obilno tvore mikorizu. Gljive uključene u mikorizu su trajni partneri sa svojim domaćinima i periodički tvore plodna tijela (strukture za spolnu reprodukciju).

Postoje biljke koje nemaju afiniteta udruživati se u mikorizu (amikotrofne) i one koje je uspješno uspostavljaju (mikotrofne). Pretpostavlja se da je mali broj biljaka amikotrofan. Novija istraživanja pokazuju da i takve biljke mogu biti inficirane mikoriznim gljivama, ali fizioloških promjena nema tako da se čini da mikoriza nije ni uspostavljena (preuzeto i prilagođeno iz http://www.agr.hr/smotra/pdf/acs63_40.pdf).

Razlikuju se dvije glavne vrste mikorize: ektotrofna i endotrofna mikoriza. Postoji i prijelazni oblik između te dvije vrste mikorize- ektoendomikoriza.

2. Ektotrofna mikoriza ili ektomikoriza

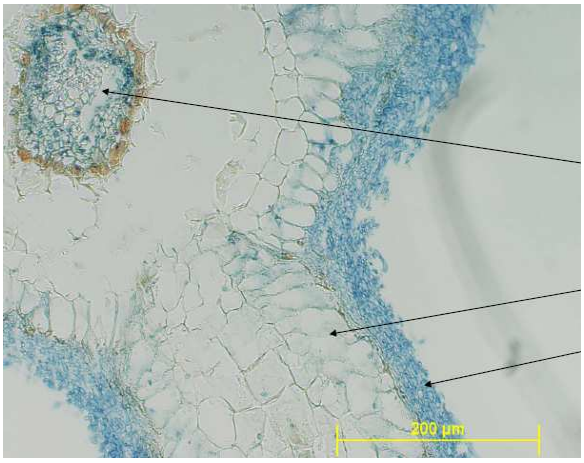
Ektomikorizi je svojstveno da hife micelija izvana obavijaju korijenje stvarajući tako ″omotač″ oko korijenja. Hife se šire iz tog omotača u tlo povećavajući površinu za upijanje vode i minerala. Hife također urastu u koru korijena, ali ne prodiru u stanice već tvore tzv. Hartigovu mrežu u međustaničnim prostorima (slika 1) koja omogućava izmjenu hranjivih tvari između gljive i biljke. U usporedbi s "običnim" korijenjem, korijenje ektomikorize je u pravilu gušće, kraće i razgranatije.Takvo korijenje ne razvija dlačice, koje bi bile suvišne uz veliku površinu micelija. Ektotrofna mikoriza olakšava apsorpciju fosfata, kalija, kalcija i vode.

Udio biljaka koje stvaraju ektomikorizu (ECM) je veoma malen (3%) usporedivši sa biljkama koje stvaraju AM (80%). Ektomikoriza je vrlo česta kod drvenastih vrsta, uključujući golosjemenjače (*Gymnospermae)* i kritosjemenjače (*Angiospermae)*. ECM je češća u umjerenim klimatskim područjima nego u tropskim. U sjevernim umjerenim područjima biljke tipične za ECM su : bor (*Pinus*), smreka (*Picea*), jela (*Abies*), topola (*Populus*), vrba (*Salix*), bukva (*Fagus*), breza (*Betula*) i hrast (*Querqus*), dok su u južnim umjerenim područjima to rodovi ekualiptusa (*Eucalyptus*). Gljive koje sudjeluju u ovome tipu mikorize pripadaju jednom od ova tri razreda: *Basidiomycetae*, *Ascomycetae*, *Zygomycetae*. Te gljive ne pokazuju veliki stupanj specifičnosti za domaćine. Često se može naći mikoriza nekoliko različitih gljiva na jednom domaćinu, npr. norveška smreka (*Picea albies*) može formirati ECM sa 100 različitih vrsta gljiva, dok gljiva *Amanita muscaria* (pupavka) može inficirati korijenje različitih vrsta drveća.

Uzorak i uspješnost ektomikorize varira ovisno o životnom ciklusu biljke domaćina. Postoje gljive koje inficiraju domaćina samo u ranim stadijima životnog ciklusa (važne kod biljaka koje su pioniri u tome području), one koje inficiraju u kasnim stadijima životnog ciklusa, te one kojima nije bitan stadij u kojem se biljka domaćin nalazi. Najvažnije karakteristike ECM su mreža hifa između stanica- Hartigova mreža te čvrsti omotač gljive oko kratkih korijena.

ECM se počinje razvijati kad hifa inficira sekundarno i tercijarno korijenje. Hifa raste odmah iza kape i meristema te formira sloj koji kasnije može izrasti u široku Hartigovu mrežu (slika 1).Takva mreža nastaje kad hifa raste između stanica epiderme i kore, a pri tome ″gura″ stanične stjenke mehanički ili izlučivanjem pektinaza. Hife nikad ne ulaze u stanice ni u provodni sustav. Hartigova mreža može potpuno okružiti svaku stanicu tako da nemaju

kontakta sa drugim stanicama. Infekcija gljivom mijenja rast korijena na način da se smanji broj dioba stanica na vrhu korijena, uspori se elongacija i reducira se rast korijena u dužinu. Stanice kore se radijalno izdužuju čime inficirani korijen postane kratak i tanak u usporedbi sa neinficiranim pa se takvi inficirani korijeni često nazivaju kratkim korijenjem. Čvrsti ″omotač″ gljiva (izvana) inhibira razvoj korijenovih dlačica i tako osigurava da sve hranjive tvari prolaze kroz mrežu gljive. Kako raste korijen tako se i gljiva širi i ne dopušta kolonizaciju drugih gljiva.



centralni cilindar

Hartigova mreža između stanica primarne kore

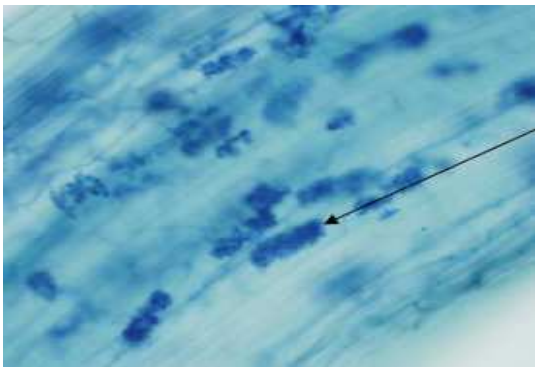
plašt hife

Slika 1. Prikaz ektomikorize u *Picea abies* (obična smreka). (Preuzeto i prilagođeno iz http://web.bf.uni-lj.si/ag/botanika/gradiva/Preparati%20-%20botanika%20II-eBook-v1_1.pdf)

3. Endotrofna mikoriza ili endomikoriza

Endomikorizi je svojstveno da hife micelija rastu oko korijena i unutar njega. Za razliku od ektomikorize, endomikoriza nema gust omotač oko korijena. Takvo korijenje izgleda kao "normalno" korijenje s dlačicama i potreban je mikroskop da bi se vidjele sitne hife koje se šire iz korijena u tlo. Hife ulaze u pojedine stanice gdje mogu tvoriti jajaste strukture, mjehuriće i razgranate strukture tzv. arbuskule. Da bi se hife mogle širiti unutar korijena mora doći do kidanja staničnih stijenki (od tuda i naziv *endo*mikoriza). Hifa ne probija plazmatsku membranu i ne ulazi u citoplazmu stanice domaćina, već izrasta u cjevčicu koju tvori invaginacija stijenke korijenove stanice. Sam proces je analogan polaganom guranju prsta u balon. Nakon što prodru u stanicu na taj način neke hife postanu jako razgranate, te grade guste strukture slične čvoru. Arbuskuli su mjesta prijenosa hranjivih tvari između gljive i biljke. Različite vrste gljiva sudjeluju u stvaranju različitih tipova

endomikrize, tako npr. *Basidiomycetae* tvore endomikorizu kod orhideja (orchidoid mycorrhiza), *Ascomycetae* kod Ericales (ericoid mycorrhiza), a *Zygomycetae* u većine drugih kopnenih biljnih vrsta (arbuscular mycorrhiza, slika 2). Endomikoriza je češća od ektomikorize. Nalazimo je u preko 90% biljnih vrsta, uključujući za prehranu važne biljke kao što su kukuruz, pšenicu i mahunarke. Ovaj tip mikorize sudjeluje u izmjeni iona između biljke i gljiva jer olakšava primanje fosfata i metala u tragovima kao što su cink i bakar.



Slika 2. Prikaz arbuskularne mikorize kod *Phleum pratense* (livadna mačica). (Preuzeto i prilagođeno iz http://web.bf.uni-lj.si/ag/botanika/gradiva/Preparati%20-%20botanika%20II-eBook-v1_1.pdf.)

3.1. Arbuskularna mikoriza

Tražeći materijale za ovaj rad primijetila sam da je najveća pažnja posvećena arbuskularnoj mikorizi (AM). Zašto je zanimljiva AM? Ova vrsta endomikorize je vjerojatno najvažnija interakcija između biljaka i mikroba. Formira je više od 80% biljaka koje na taj način olakšavaju uzimanje hranjivih tvari (posebno fosfata), a proizvode ugljikohidrate i lipide za gljive. AM je važan dio mnogih ekosistema, npr. AM je velika prednost za biljke koje žive u tropskim područjima jer u tim područjima hranjive tvari osim što brzo kruže, prisutne su u malim koncentracijama. Sve AM gljive pripadaju staroj grupi gljiva, *Glomeromycotae* koje su bile prisutne i prije 450 milijuna godina. Pretpostavlja se da su *Glomeromycotae* bile važne za prelazak biljaka na kopno. Gljive koje uspostavljaju arbuskularnu mikorizu (AM gljive) ne mogu dovršiti životni ciklus bez korijena domaćina (Preuzeto i prilagođeno iz http://www.world-of-fungi.org).

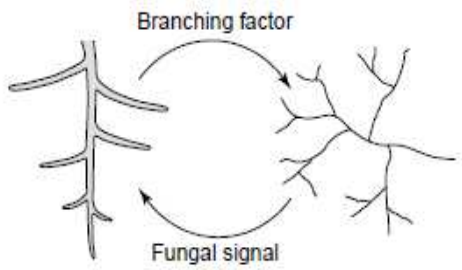
Zbog svega spomenutog AM je najviše proučavana vrsta mikorize i ima najviše poznatih podataka o njezinoj uspostavi, ali je još uvijek veliki dio neistražen i nepoznat. U

sljedećim poglavljima je detaljnije opisana uspostava AM, a kod ostalih vrsta mikorize navedene su tek najvažnije činjenice.

3.1.1. Signaliziranje između biljke i gljive

Kod uspostave bilo koje vrste simbioze najkritičniji koraci su upravo oni koji uključuju međusobno prepoznavanje i povezivanje. Za prepoznavanje je potrebna prilagodba stanica koja se regulira visokokoordiniranim procesima između gljive i biljke. Na koji način gljive i biljke ″nađu″ jedna drugu u zemlji? Početni signal koji otpušta biljka su strigolaktoni (hormoni biljke) koji usmjeravaju rast hife prema biljci i djeluju na metaboličku aktivnost AM gljiva. Takvi signali mogu osim simbionta privući i potencijalne patogene od kojih se biljka mora brzo zaštititi. Simbiontski signali su od velike važnosti u uspostavljanju kontakta između dva simbionta. Kad hifa gljive primi taj prvi signal počinje se granati što stvara drugi signal koji potiče aktivaciju promotora *ENOD11* (early nodulation11) gena u korijenu biljke (Parniske 2004).

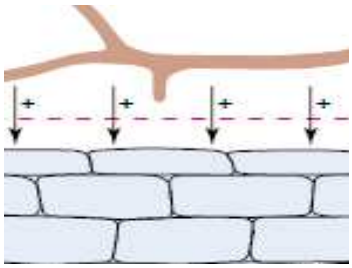
Taj korak ne zahtjeva direktan fizički kontakt između hife i korijena (slika 3). Aktivacija biljnog gena grananjem hife je dokaz da postoje difuzne signalne molekule. Takav efekt ne postoji kod biljaka koji nisu domaćini.



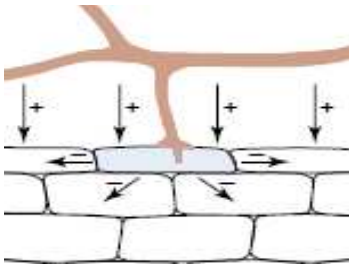
Slika 3. Izmjena signala između korijena i hife prije infekcije. Korijen otpušta faktore grananja koji uzrokuju promjenu rasta gljive. Gljiva otpušta difuzibilne signale koje prepoznaje biljka i dolazi do aktivacije gena uključenih u simbiozu (Preuzeto i prilagođeno iz Parniske 2004).

Za vrijeme signaliziranja, hifa i korijen rastu u blizini i između njih nema fizičkog kontakta. U proučavanju ovog stadija korištena je fuzija promotora gena *ENOD11* i *β-glukuronidaze (GUS)*. Uočeno je da ekspresija ovog gena ovisi o tome ima li kontakta gljive s korijenom ili ne. Ako nema kontakta vidljivo je bojenje *GUS* u većini epiderme i slojevima kore (dokazano *Kosuta eksperimentom*, slika 4). Suprotno, kad je uspostavljen kontakt gljive i

korijena, ekspresija *ENOD11* je ograničena na inficirane stanice jer uspostavljanje kontakta s gljivom suprimira *ENOD11* u stanicama koje nisu inficirane (dokazano *Chabaud eksperimentom*, slika 5). Ekspresija *ENOD11* gena potiče grananje korijenovih dlačica Razgranate korijenove dlačice lakše uspostave kontakt sa hifom gljive (Preuzeto i prilagođeno iz Parniske 2004).



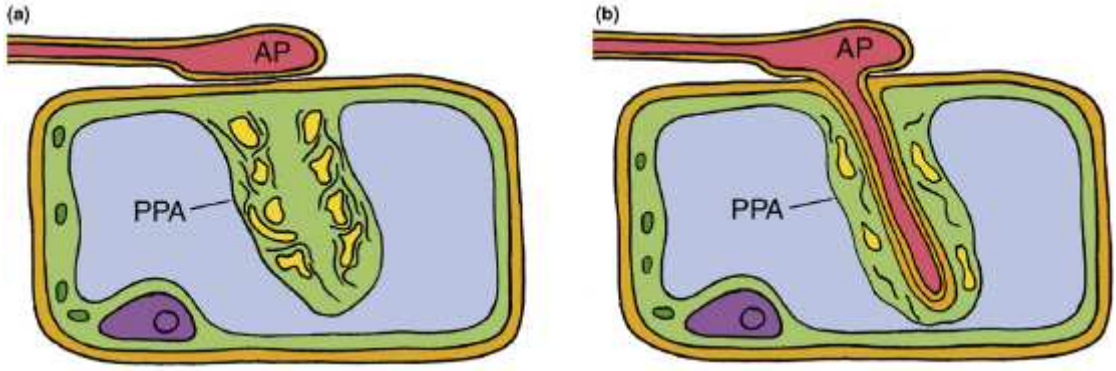
Slika 4. *Kosuta eksperiment*. Hifa (smeđe) raste oko korijena, ali je odvojena membranom (celofan) koja propušta difuzibilne signale koji induciraju ekspresiju *ENOD11* u korijenu. (Preuzeto iz Parniske 2004)



Slika 5. *Chabaud eksperiment*. Ekspresija *ENOD11* je ograničena na stanicu koja je u kontaktu sa gljivom (negativna regulacija). (Preuzeto iz Parniske 2004)

3.1.2. Formiranje apresorija

Apresorij je struktura potrebna za fizički kontakt između gljive i biljke, a formira se na vrhu hife nakon što hifa dođe do površine korijena.Takve strukture mogu se primijetiti već za 36 sati nakon izmjene signala između gljive i biljke. Epidermalne stanice biljke prve dolaze u kontakt sa apresorijem. Postoje točno određeni mehanizmi i slijed kojima stanice epiderme prepoznaju formiranje apresorija. Prvo, jezgra brzo migrira prema mjestu nastajanja apresorija i ostavlja za sobom agregirane mikrotubule, mikrofilamente aktina i cisterne endoplazmatskog retikuluma (ER). Drugo, sve te agregirane strukture organiziraju se u zajedničku strukturu tzv. prepenetracijski aparat (pre-penetration aparat, PPA) koja u obliku prsta strši u lumen stanice. PPA usmjerava hifu kroz stanicu (slika 6). Treće, apresorij u nastajanju dobiva drugi signal (promjena koncentracije kalcijevih iona), koji dopušta da epitelne stanice prepoznaju njegov točan položaj (Reinhardt 2007).

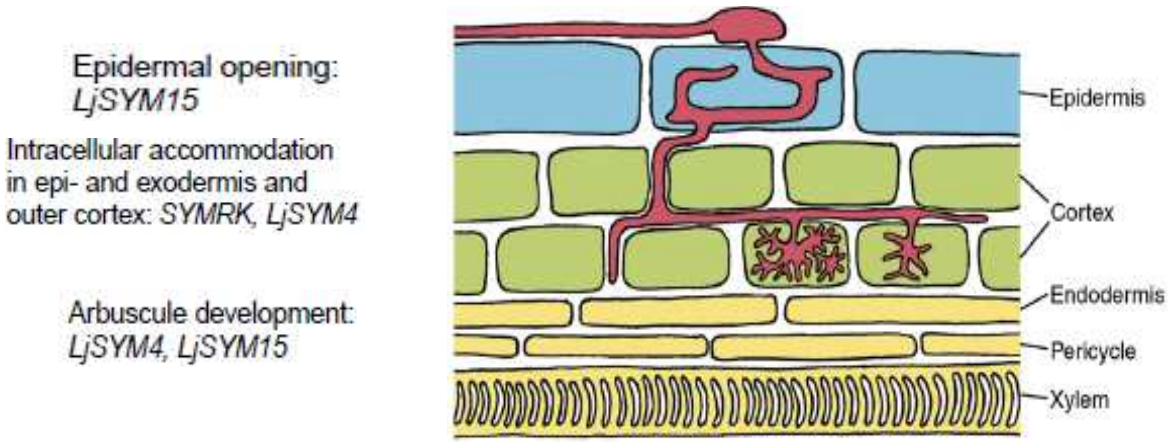


Slika 6. (a) Za vrijeme stvaranja apresorija stanica točno ispod tog mjesta stvara PPA (sadrži velike količine ER-žuto, mikrotubula i mikrofilamenata aktina- crno); (b) hifa ulazi duž puta koji prethodno "pripremi" PPA. Biljna plazmalema invaginira. Gljiva se razvija u apoplasnom džepu koji sadrži ostatke stanične stijenke (crveno- citoplazma gljive, smeđe-stanične stijenke biljke i gljive, zeleno- biljna citoplazma, tamno zeleno-plastidi, ljubičasto- jezgra biljke, plavo-centralna vakuola). (Preuzeto iz Reinhardt 2007).

3.1.3. Ulazak hife u korijen

Hifa pomoću apresorija ulazi u korijen kroz pukotinu koja se otvara između antiklinalnih stijenki dviju susjednih epidermalnih stanica. Za otvaranje pukotine zaslužna je biljka domaćin, tj. *LjSYM15* gen (slika 8). U biljci gdje je ovaj gen mutiran, pukotine nisu potpuno formirane i hife rastu točno duž granica epidermalnih stanica "kao da žele naći pukotinu". Pukotine epiderme vide se duž središnje lamele i vjerojatno ovise o količini i mjestu proizvodnje pektinolitičkih enzima (Preuzeto iz Parniske 2004). Mehanizam djelovanja LjSYM15 gena još je uvijek nepoznat.

Prije je opisano da hifa pomoću apresorija ulazi kroz prvu inficiranu stanicu prema unutarnjim stanicama. Ulazak i širenje kroz epidermu i egzodermu ovisi o *LjSYM4* i *SYMRK* genima (slika 7). Ako su ti geni oštećeni gljiva ulazi u prvu stanicu, ali se zaustavi njeno daljnje širenje. Početno probijanje kroz vanjske slojeve stanica je najbitnije za uspostavljanje AM. Nakon uspješnog probijanja gljiva ulazi u apoplast između stanica kore. Širenje apoplastom omogućava brzu proliferaciju hife duž longitudinalne osi korijena. Samo jednim uspješnim inficiranjem mogu biti inficirani veliki dijelovi korijena.



Slika 7. Pregled razvoja AM. Hifa gljive (rozo) raste kroz epidermu i koru korijena i na kraju u unutarnjoj kori formira arbuskule. Gljiva nikad ne ulazi u endoderm korijena. (Preuzeto iz Reinhardt 2007)

3.1.4. SYM put

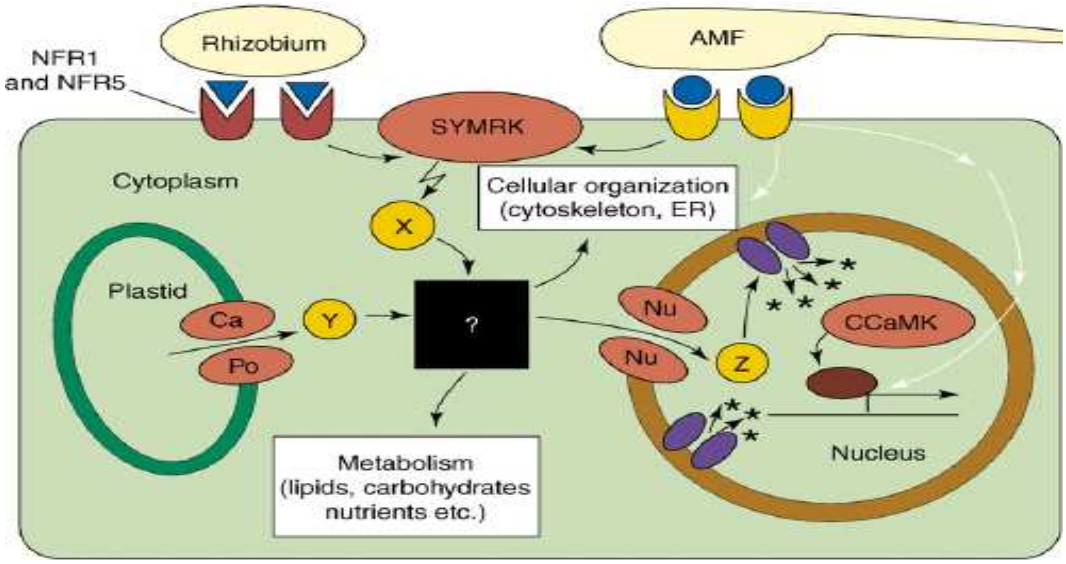
Svi geni i molekule koje sudjeluju u stvaranju simbioze istraživani su pomoću mutanata koji ne stvaraju simbiozu ni sa bakterijama ni sa gljivama. Naime, simbioza dušik fiksirajućih bakterija i biljaka kod koje se formira novi simbiontski organ- nodul usko je povezana sa arbuskularnom mikorizom gdje nastaje simbiontska funkcionalna jedinica – arbuskul, ali ne i novi simbiontski organ jer se njihovi signalni putevi isprepliću.

Prva zajednička komponenta u tim signalnim putevima je receptor kinaza SYMRK u biljci koja prima sekundarne signale od Nod i Myc faktora (slika 8). Pretpostavlja se da su Nod i Myc faktori produkti jednog gena jer se mutanti Myc^{-1} ne razlikuju od mutanata Nod^{-1}. Funkcije Nod i Myc faktora proučavane su na prije spomenutim mutantima. Iako se njihova točna uloga još uvijek mora odrediti, pretpostavlja se da Myc faktori utječu na interakcije između AM gljiva i biljaka, na signaliziranje između biljke i gljive te na razvoj arbuskula, dok Nod faktori utječu na formiranje simbioze između bakterija i biljaka (Gianinazzi-Pearson 1996).

Nod faktore prepoznaju Nod faktor receptori (NFR1 i NFR5). Ti receptori su kinaze koje sadržavaju lizin potreban za vezanje faktora. Myc faktore prepoznaju Myc faktor receptori (MFR). Vezanje tih faktora stvara dva signala (svaki na svom receptoru) koji se ujedine na SYMRK receptor kinazi. Nakon primanja sekundarnih signala dolazi do fosforilacije SYMRK i stvaranja nepoznatog supstrata X (slika 8).

Druga zajednička komponenta je ionski kanal na plastidu koji je uključen u pretvorbu signala. Naime, za pretvorbu signala potreban je plastidni faktor Y koji se otpušta iz plastida ionskim kanalom.

Daljnja signalizacija zahtjeva nukleoporin (NUP-133, homologan kompleksu pora na jezgri). Sekundarni glasnik Z prelazi u jezgru pomoću tog nukleoporina i potiče otpuštanje kalcijevih iona iz membrane jezgre. Ti ioni aktiviraju kalcij-kalmodulin protein kinazu (CCaMK- sadrži tri vezna mjesta za kalcij i kalmodulin) koja aktivira transkripciju gena za uspostavljanje simbioze (slika 8). Pretpostavlja se da su ritmičke promjene koncentracije Ca^{2+} u citoplazmi jedan od markera simbioze. Signalni putevi za uspostavljanje simbioze vode do promjena u staničnoj organizaciji i metabolizmu, ali još uvijek je nepoznato kako su događaji na plazmalemi, plastidu i jezgri povezani (slika 8). Kod nekih biljaka postoje putevi koji su neovisni o SYM putu (slika 8). strelice (Preuzeto iz Parniske 2004).



Slika 8. Model signalnih puteva u uspostavljanju simbioze. Nod faktori- plavi trokutići, Myc faktori- plavi kružići, put neovisan o SYM putu- bijele strelice (Preuzeto iz Parniske 2004)

Osim aktivacije transkripcije određenih gena za simbiozu, signali vode i do specifičnih promjena u organizaciji stanice npr. formiranje PPA i metabolizmu. Formiranje PPA i uspješno nastanjivanje korijena ovise o zajedničkom SYM putu, ali i o ranim događajima poput indukcije *ENOD11*, otvaranju epiderme i migraciji jezgre koji ne ovise o SYM putu. Takvi paralelni putevi doprinose još većoj specifičnosti u razvoju simbioze.

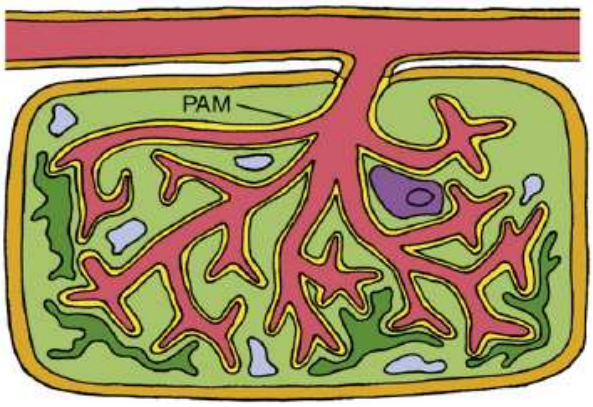
Do promjene u ekspresiji gena dolazi i kod gljiva i kod biljaka. Kod biljaka do promjene u ekspresiji dolazi zbog faktora grananja iz hifa i formiranja apresorija. U biljci su

promjene velike, a uključuju gene za transport hranjivih tvari, promjene citoskeleta, stanične stijenke, transport fosfata u stanicama koje sadrže arbuskule. U ranim stadijima AM povećana je sinteza PR (pathogenesis-related) proteina zbog obrane od mikroorganizama. (Preuzeto i prilagođeno iz Gianinazzi-Pearson 1996).

AM je najvećim dijelom pod kontrolom biljke koja može ograničiti razvoj simbioze ograničavanjem širenja i formiranja arbuskula u parenhimu kore. Opskrba hranjivim tvarima također može utjecati na razinu inficiranja biljke. U slučaju kad hranjivih tvari ima dovoljno inficiranje gljivom je reducirano zato jer biljka ima dovoljnu količinu za optimalan rast. Biljka na taj način zaustavlja primanje i nakupljanje fosfata, a gljiva se u tome slučaju ponaša kao parazit jer se i dalje koristi ugljikohidratima biljke.

3.1.5. Razvoj i funkcija arbuskula

Kako gljiva raste kroz apoplast, hifa se počinje obilno granati i ulaziti u stanice unutarnje kore gdje se formiraju arbuskuli. Biljka ima aktivnu ulogu u tome procesu, točnije geni *LjSYM4* i *LjSMY15* (slika 7). Arbuskuli su strukture u obliku drveta, kratkoga su vijeka i njihovo ″gašenje″ je također pod regulacijom određenih gena npr. kod graška su to geni sym33 i sym 40 (Preuzeto iz Gianinazzi-Pearson 1996). Vrhunac njihova razvoja je individualan i većinom se postiže unutar nekoliko dana (4-15) nakon čega stanice probave arbuskule. Te strukture povećavaju površinu za izmjenu hranjivih tvari sa biljkom. Razvoj arbuskula popraćen je velikim promjenama u stanici domaćina kao što su: fragmentacija vakuole, migracija jezgre s periferije do centra, preraspodjela citoskeleta, plastidi počinju stvarati cjevaste strukture koje su asocirane sa grananjima arbuskula (Reinhardt 2007). Arbuskuli ostaju okruženi biljnom membranom- periarbuskularna membrana (PAM), koja se nastavlja na plazmalemu. Prostor između PAM i membrane gljive tvori simbiotsku granicu (površinu) veličine 100 nm koja sadrži ostatke stanične stjenke gljive i dijelove apoplasta biljke (slika 9).



Slika 9. Razvoj arbuskule u stanici domaćina. Fragmentirana centralna vakuola (plavo), jezgra se pomiče u centar (ljubičasto), modificirani plastidi (tamno zeleno).(Preuzeto iz Reinhardt 2007)

Arbuskuli zauzimaju veliki dio staničnog volumena. Stanice koje sadrže arbuskule sposobne su za aktivni prijenos hranjivih tvari. Za prijenos hranjivih tvari u oba smjera koristi se energija elektrokemijskog gradijenta koju stvaraju H^+ATPaze. U stanicama koje sadrže arbuskule specifična je aktivnost *CEL1* gena i gena za transport fosfata dok te aktivnosti ili nema ili je slabija u stanicama koje ne sadrže arbuskule. Produkt *CEL1* gena je β– glukanaza, celulaza koja sudjeluje u obrani od patogena (Reinhardt 2007). Već je i prije spomenuto da je kod biljaka koje sudjeluju u mikorizi stupanj obrane od patogena veći.

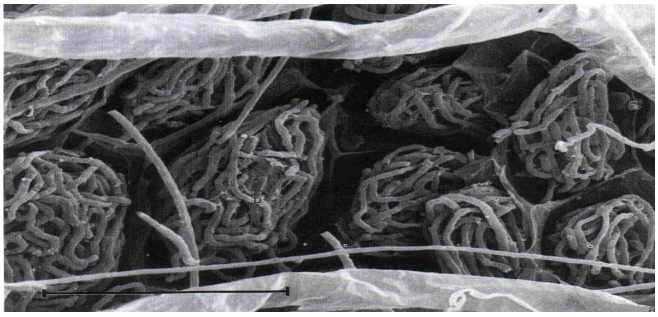
3.2. Mikoriza orhideja

Orchidaceae je jedna od najvećih porodica u biljnom carstvu i ujedinjuje više od 20000 poznatih vrsta orhideja. Takva raznolikost je iznenađujuća obzirom da sve orhideje u nekom stadiju svojega života ovise o pomoći mikorizne gljive. Naime, sve orhideje imaju nefotosintetski stadij u kojem trebaju vanjske izvore hranjivih tvari.

Najčešće je to stadij sjemenke jer sjemenka ima male rezerve hranjivih tvari. Većina sjemenki neće proklijati ako se ne inficira odgovarajućom mikoriznom gljivom (*Basidiomycete,* dio vrsta *Rhizoctonia*). Infekcija je moguća kad embrio počinje upijati vodu , bubriti i kidati ovojnicu nakon čega može proizvesti nekoliko korijenovih dlačica. Hife brzo naseljavaju te dlačice, a kako ulaze u stanicu embrija tako plazma membrana invaginira i hifa se okruži tankim slojem citoplazme. Embrio orhideje se sastoji od samo nekoliko stotina satanica pa se gljiva može veoma brzo širiti od stanice do stanice. U stanicama, hifa formira omče, tzv.pelotone koji povećavaju površinu između orhideje i gljive (slika 10). Pelotoni su kratkoživući, a onda ih stanice orhideje probave. Stanice su i dalje funkcionalne i mogu ih

inficirati druge hife (http:www.world-of-fungi.org/Mostly_Mycology/Diane_Howarth/frames.htm).

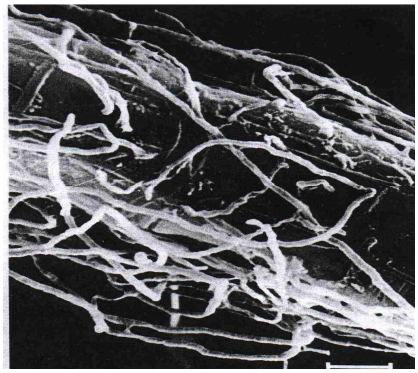
Ako sjemenka proklije tada infekciju gljivom možemo smatrati uspješnom. Gljive mogu biti jedini izvor hranjivih tvari za orhideje kroz prve godine rasta, dok u kasnijim stadijima orhideje razviju klorofil i tek tada postanu manje ovisne o mikorizi.



Slika 10. Pelotoni unutar stanica orhideje. (Preuzeto iz www.world-of-fungi.org/Mostly_Mycology/Diane_Howarth/frames.htm)

3.3. Erikoidna mikoriza

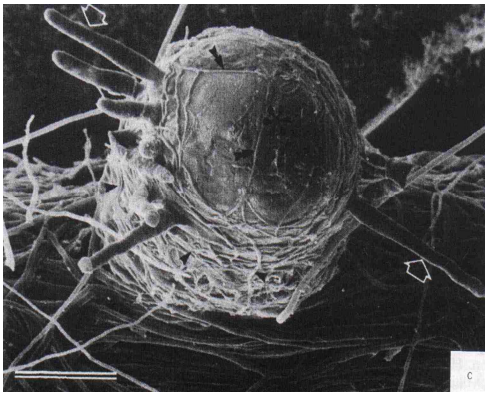
Ovu vrstu endomikorize čine biljke koje pripadaju redu *Ericales* koji objedinjuje mnoge obitelji (uključujući *Calluna, Vaccinium, Erica*) i gljive koje čine *Ascomycete* i *Deuteromycete*. Te biljke žive u veoma siromašnim područjima i preživljavaju upravo zbog endomikorize. Glavno korijenje raste vertikalno u zemlju, a sekundarno završava korijenovim dlačicama. Erikoidne gljive primarno naseljavaju upravo korijenove dlačice. Hife formiraju labavu mrežu oko površine korijenovih dlačica (slika 11), a mogu ući i u epidermalne stanice gdje se uzastopno dijele i formiraju "klupka" hife. Naseljavanje je ograničeno na epidermalne stanice koje rastu, zato su regije koje imaju diferencirane i zrele stanice (regija iza meristema) nenastanjene (www.world-of-fungi.org/Mostly_Mycology/Diane_Howarth/frames.htm).



Slika 11. Labava mreža hife oko površine korijenovih dlačica. (Preuzeto iz www.world-o fungi.org/Mostly_Mycology/Diane_Howarth/frames.htm)

4. Ektoendomikoriza

Ovaj prijelazni oblik mikorize pokazuje neke karakteristike i endomikorize i ektomikorize. Formiranje počinje nastankom Hartigove mreže (karakteristično za ektomikorizu) koja raste iza apikalnog meristema. Kako mreža napreduje prema starijim dijelovima korijena tako i gljiva počinje ulaziti u stanice što je karakteristično za endomikorizu. Kad hifa jednom uđe u stanice korijena počinje se uzastopno granati. Opaženo je da su najstarije stanice ispunjene hifama. Kod mikorize orhideja i arbuskularne mikorize stanice ″probavljaju″ hife, dok kod ektoendomikorize nije opaženo ″probavljanje″ hifa. Formiranje ektoendomikorize inducira rast kraćih korijena (slika 12). Nakon nekog vremena gljiva razvija takav omotač da je na kraju prekriven cijeli korijen osim ako lateralno korijenje ne raste veoma brzo.



Slika 12. Kratko korijenje okruženo hifom. (Preuzeto i prilagođeno iz http://www.world-of-fungi.org/Mostly_Mycology/Diane_Howarth/frames.htm)

5. Uloga mikorize

Zbog mogućnosti lakšeg primanja hranjivih tvari iz tla mikoriza je vrlo važna u kruženju hrane u prirodi. Mosse je (1975.) sugerirao da se mikoriza ne smije gledati kao odnos biljka-gljiva, nego kao biljka-gljiva-tlo.

5.1. Prednosti mikorize

Najveća prednost mikorize kod biljaka i gljiva je povećana i bolja izmjena hranjivih tvari koje nisu dostupne u normalnim uvjetima. Najvećim dijelom se prenose ugljik, fosfor i dušik (vidi pogl. 5.2.).

Mikoriza je najvećim dijelom korisna za biljke. U mikotrofnim biljkama se elementi poput kalija, kalcija, cinka i željeza asimiliraju brže i bolje. Mikorizne gljive štite biljke koje rastu u visokim koncentracijama teških metala (cink, arsen, kadmij). Te gljive svojim omotačima imobiliziraju i izoliraju teške metale koji tada ne mogu dospjeti u biljna tkiva i oštetiti ih.

Kod AM poboljšana je obrana od patogena i *Nematoda.* Naime, opaženo je da je kod zaraženog pamuka smanjen prihod za čak 45%, a ako je prisutna AM to smanjenje iznosi 25% (preuzeto i prilagođeno iz http://www.world-of-fungi.org). Još uvijek nije poznat točan mehanizam obrane od patogena, predlaže se da je za to zaslužna lignifikacija stanične stijenke ili izlučivanje fitoaleksina za vrijeme uspostave AM. Obrana od patogena je još više izražena kod ECM. Postoji nekoliko mogućih načina obrane: sekrecija nekih tvari, proizvodnja sekundarnih metabolita biljke, te mehanička zaštita korijena čvrstim oklopom hife.

Mikorizne gljive povećavaju otpornost biljaka na različite klimatske uvjete (promjena pH vrijednosti, temperature). Mikoriznom infekcijom ublažuje se vodni stres koji je jedan od najvažnijih okolišnih čimbenika koji štetno utječu na poljoprivrednu proizvodnju rezultirajući znatnim smanjenjem uroda. Produženi micelij može doprijeti do dubljih izvora vode i na taj način ublažiti nedostatak vode za biljku. Sve gljive mogu bolje od biljaka tolerirati nedostatak vode. Gljive su cijelo vrijeme metabolički aktivne pa mogu snabdijevati biljku hranjivim tvarima u nepovoljnim uvjetima. U takvim uvjetima amikotrofne biljke bi uvenule i uginule.

Mikoriza ima utjecaj na cijele biljne zajednice kao i na pojedine biljke. Već je i prije spomenuto da mikorizne gljive nemaju veliku specifičnost prema domaćinima što im omogućuje da naprave velike mikorizne mreže unutar različitih biljaka jednog staništa.

5.2. Izmjena hranjivih tvari

Najvažnije svojstvo mikorize je dvosmjerno kretanje hranjivih tvari, ugljika iz biljke u gljivu te mineralnih tvari tla iz gljive u biljku. Mineralne tvari potrebne su biljci za normalan razvoj. Odrasle biljke ne mogu pohranjivati mineralne tvari pa su upravo iz tog razloga mnoge biljne vrste razvile mikorizu koja im omogućava bolje snabdijevanje mineralnim tvarima. Postoje tri načina kojima se povećava izmjena hranjivih tvari:

1. povećava se površina za prijenos hranjivih tvari (arbuskuli, Hartigova mreža)
2. mobilizacija teško dostupnih izvora hranjivih tvari
3. izlučivanje enzima

Biljka može uzastopnim uzimanjem mineralnih tvari osiromašiti područje oko svojeg korijena. Gljive svojim hifama ulaze duboko u tlo gdje apsorbiraju mineralne tvari iz tla koji se prenose dalje kroz gljivin omotač u korijen biljke npr. Hartigovom mrežom ili arbuskulima. Gljivin omotač može poslužiti kao skladište za pohranu mineralnih tvari. Mikotrofne biljke izgube 10-20% fotosintetskih produkata za formiranje, održavanje i funkcioniranje gljive. Ugljikohidrati koji ulaze u gljivu većinom su u obliku trehaloze i manitola. Mikoriza olakšava biljkama primanje fosfora iz tla u obliku fosfata (PO_4^-). Kod ECM i erikoidne mikorize biljke mogu iskoristiti organske izvore dušika (kisele proteinaze). Ektomikoriza olakšava apsorpciju fosfata, kalija, kalcija i vode, dok endomikoriza primanje fosfata i metala u tragovima kao što su cink i bakar.

Slika 13. Utjecaj mikorize na urod, lijevo- biljke bez mikorize, desno- biljke koje imaju AM. (Preuzeto iz www.world-of-fungi.org/Mostly_Mycology/Diane_Howarth/frames.htm)

5.3. Komercijalna upotreba mikorize

Najveća upotreba mikorize je u agrokulturi i hortikulturi. Istraživanja su pokazala da inokulacija sa gljivama koje formiraju arbuskularnu mikorizu doprinosi većem urodu. Kulture kukuruza i pšenice nakon inokulacije sa gljivama koje formiraju arbuskularnu mikorizu pokazuju veći doprinos za 2.3, 3 i 4 puta, ovisno o duljini inokulacije. Luk u mikorizi s gljivama pokazuje čak šest puta veći doprinos od luka koji nije uspostavio mikorizu (Preuzeto i prilagođeno iz www.world-of-fungi.org).

Bez obzira na pozitivne učinke, mikoriza se još uvijek jako malo koristi. Predviđa se veće korištenje kako potražnja za organskom hranom bude sve veća. Zaštita od patogena možda će se u budućnosti rješavati mikorizom nego raznim fungicidima i pesticidima. Trenutno se saznanja o mikorizi najviše koriste u šumarstvu i to u svrhu pošumljavanja (ektomikoriza).

6. Literatura

Gianinazzi-Pearson V, 1996. Plant Cell Responses to Arbuscular Mycorrhizal Fungi: Getting to the Roots of the Symbiosis. *The Plant Cell* **8**, 1871-1883.

Parniske M, 2004. Molecular genetics of arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Plant Biology* **7**, 414-421.

Reinhardt D, 2007. Programming good relations- development of the arbuscular mycorrhyzal symbiosis. *Plant Biology* **10**, 98-105.

http://www.agr.hr/smotra/pdf/acs63_40.pdf

http://web.bf.uni-lj.si/ag/botanika/gradiva/Preparati-botanikaII-eBook-v1_1.pdf

http://www.world-of-fungi.org

http://www.world-of-fungi.org/Mostly_Mycology/Diane_Howarth/frames.htm

7. Sažetak

Mikoriza je simbioza korijenja biljaka i gljiva pri čemu dolazi do izmjene hranjivih tvari između biljke i gljive. Mikorizne gljive vjerojatno su bile važne u naseljavanju kopna biljkama. Biljka i gljiva utječu jedno na drugo na mnogo načina, međutim, koordinirani razvojni procesi na obje strane rezultiraju funkcionalnom simbiontskom jedinicom.

Mikoriza se dijeli na dvije glavne vrste: endomikorizu i ektomikorizu. Postoji i prijelazni oblik, ektoendomikoriza. Najčešći i najvažniji tip endomikorize je arbuskularna mikoriza Uspostavljanje arbuskularne mikorize počinje izmjenom signala između gljive i biljke. Nakon toga dolazi do ekspresije gena za simbiozu te grananja hife i korijena. Kad hifa dođe do korijena na vrhu hife formira se apresorij, pomoću kojeg hifa ulazi u korijen sve do unutarnje kore gdje se u stanicama formiraju arbuskuli. Arbuskuli se koriste za razmjenu hranjivih tvari između biljaka i gljive. I drugi su tipovi endomikorize važni, erikoidna mikoriza i orhidejna mikoriza.

Mikoriza se koristi u agrokulturi, hortikulturi, šumarstvu i cvjećarstvu. Premda je poznato da mikotrofne biljke imaju poboljšan rast i prinos te da su otpornije na promjene u okolišu mikoriza se još uvijek slabo koristi u poljoprivredi. Glavni razlog tome su tehnike izolacije i produkcije inokuluma na čijem se poboljšanju danas intenzivno radi.

8. Summary

A mycorrhiza is a symbiotic association between a fungus and the roots of a plant. The association is characterized by the movement of plant-produced carbon to the fungus and fungal-acquired nutrients to the plant. Mycorrhizas probably played a crucial role in the initial colonisation of land by plants. The establishment of the mycorrhiza involves specific developmental adaptations in both symbiotic partners.

Mycorrhiza is divided into two main types: endomycorrhiza and ectomycorrhiza. There is also a transitional form, ectoendomycorrhiza. The most common and most important type of endomycorrhiza is arbuscular mycorrhiza. Establishment of arbuscular mycorrhiza starts by exchanging signals between fungi and plants. Signal exchange induces hyphal and root branching. When the fungus reaches the root surface, it forms appressoria, from which an infection hypha penetrates deep into the parenchyma cortex. Here, intercellular hyphae branch into root cells, where they differentiate into highly ramified arbuscules. Ericoid mycorrhiza, orchid mycorrhiza and ectomycorrhiza are also important types of mychorrizas.

Given that mycorrhizas are nearly always beneficial to a plants growth and often health, their potential use to humans, in terms of agriculture and horticulture, could be immense. Despite this potential inoculation of crops is rarely seen and mycorrhizas are only introduced deliberately in a few industries. The main reasons are techniques of inoculum production and isolation, in which are still improving.