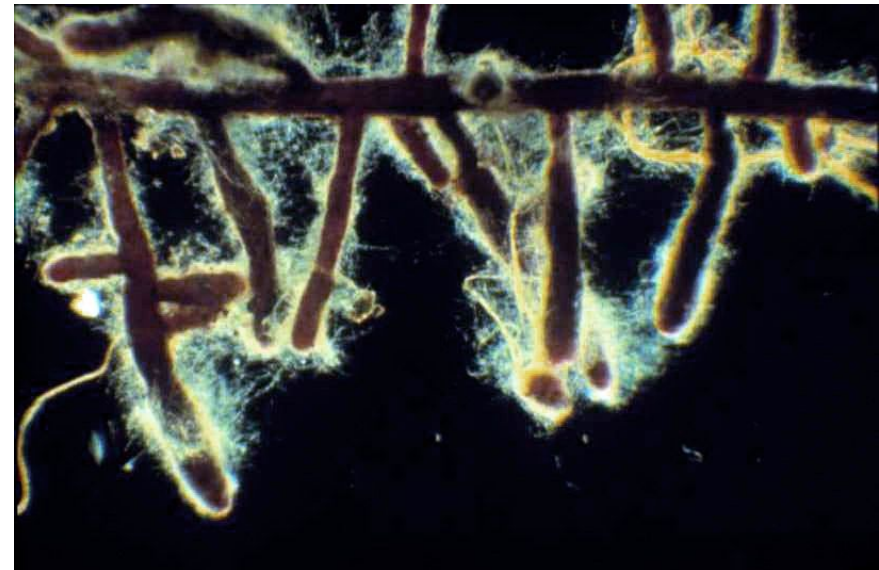




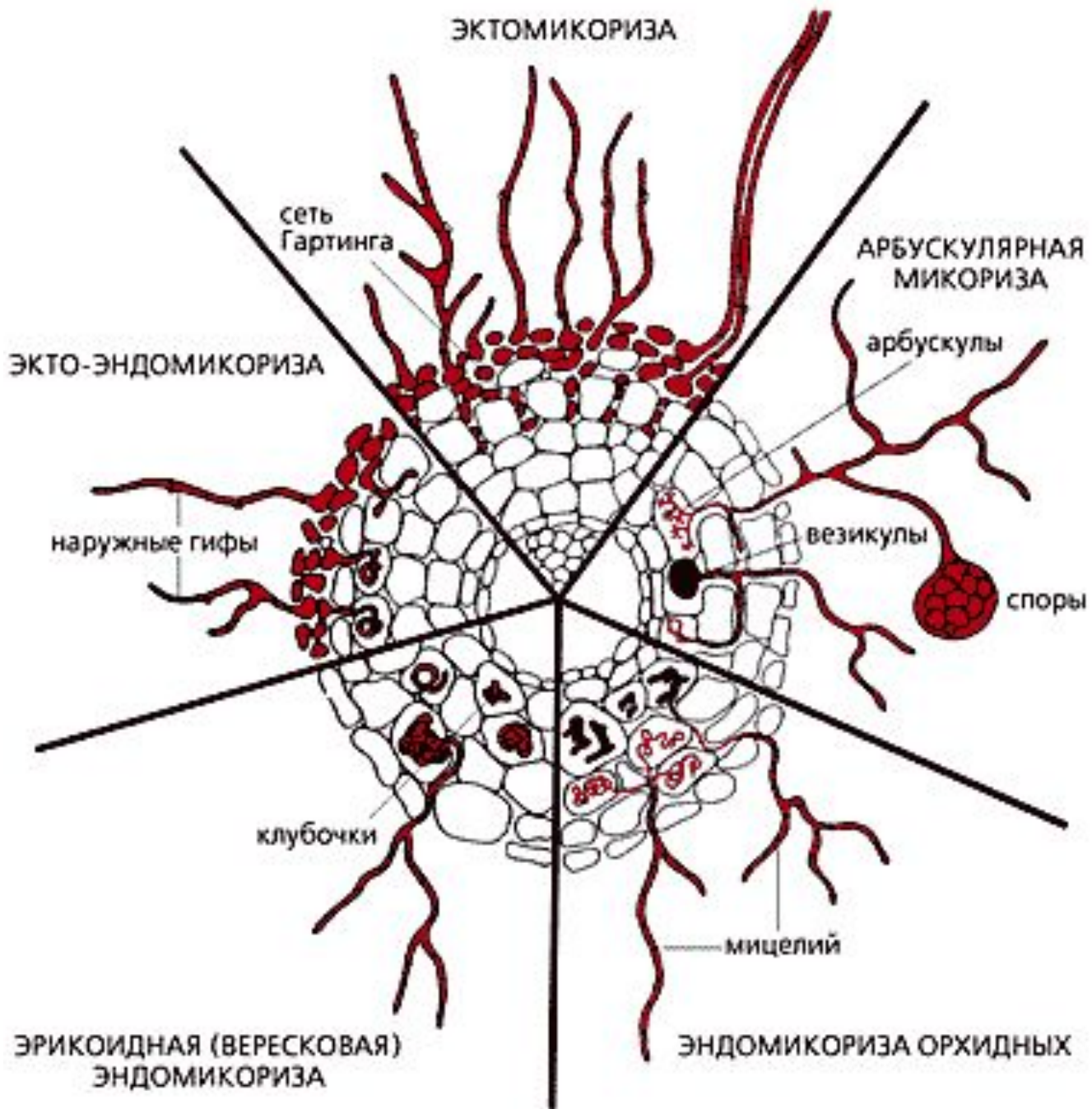
**Лекция 6.
Симбиогенетика
микоризы**

Фундаментальное значение микоризных ассоциаций для наземных растений

- **Микориза** — тип микробно-растительного симбиоза, который формируется между растениями и грибами, колонизирующими корни, при котором часть микобионта находится внутри корня, а другая часть — в почве.
- Гриб выполняет функцию посредника между растением и почвой. Объем общей поглощающей поверхности корня растения увеличивается в тысячи раз.
- Лишь некоторые короткоживущие и водные растения могут самостоятельно удовлетворять свои потребности в минеральном питании и воде. Микоризы образуются у 90 % видов наземных растений.
- Бигон, Харпер и Таунсенд (1986): *«Большинство высших растений не имеют корней, а имеют микоризу»*.
- Стивен Вильям, американский фитопатолог: *«... у полевых сельскохозяйственных растений, корней собственно говоря, нет; они используют микоризу»*.
- У орхидных растений (Orchidaceae) эта зависимость более глубока, они не могут проходить развитие без грибов, необходимых для прорастания семян и эмбриогенеза.



Типы микориз



- **Эктомикоризы** - распространение гриба ограничено межклеточными пространствами
- **Эндомикоризы** - гриб проникает в растительные клетки, образуя специальные субклеточные структуры:
 - **Арбускулярная микориза (АМ)** – гриб формирует **арбускулы** – разветвленные впячивания сложной формы, содержащие гифу гриба, окруженную растительной плазмалеммой и клеточной стенкой.
 - **Везикулярно-арбускулярная микориза (ВАМ)** – гриб формирует везикулы
 - **Эрикоидная эндомикориза** – гриб формирует клубочки
 - **Эндомикориза орхидных** – гриб

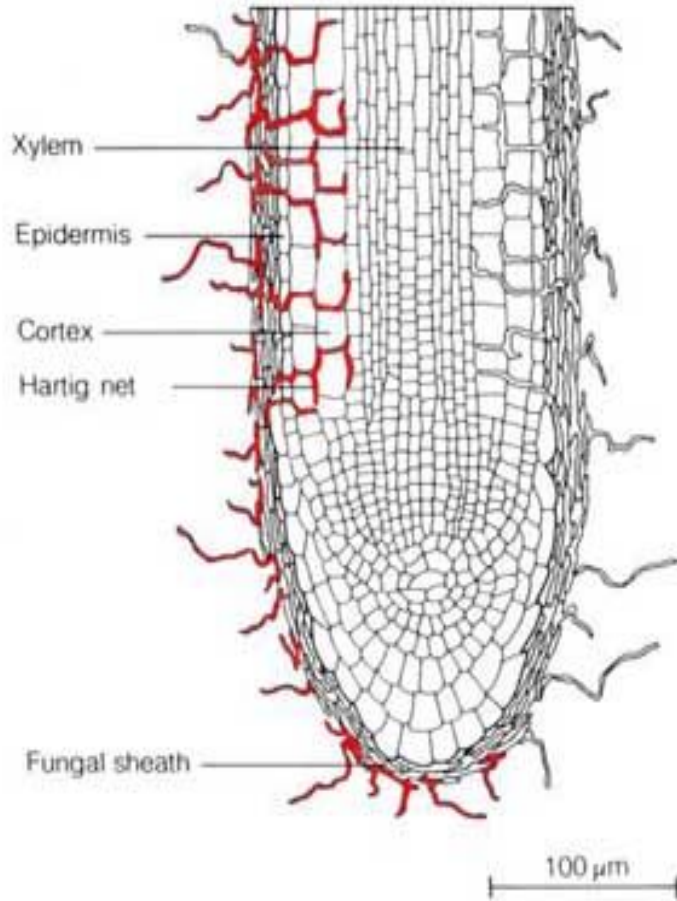
Эктомикориза, распространение и значение

- Эктомикориза – наиболее часто встречающийся в лесах средне-европейской полосы корневой симбиоз.
- Подобная форма симбиотических отношений характерна для берез, буков, сосен, ив и розоцветных.
- Партнерами-грибами выступают представители отряда Boletales и Agaricales, а в редких случаях также сумчатые грибы (аскомицеты), такие как трюфель
- Многие виды больших грибов способны к образованию эктомикоризы – в Центральной Европе их более тысячи; к ним относятся сыроежки, подорешники, рядовки, гигрофор, мухоморы, бледная поганка, лисички.



Строение эктомикоризы

Figure 10: A root infected with ectomycorrhizal fungi



- Гифы гриба прорастают в корковый слой корня, но, не проникая в корневые клетки, образуют во внеклеточном пространстве сеть, которая способствует оптимизации обмена питательными веществами между грибом и растением (сеть Хартига).
- Модификация архитектуры корней: формируются многочисленные толстые и короткие боковые корни (что увеличивает поверхность, доступную для колонизации грибом) и редуцируются корневые волоски, функционально замещаемые гифами



Эктомикориза, образованная мицелием мухомора

Онтогенез эктомикориз (ЭМ)

3 стадии:

- Преинфекционные процессы: индукция корневыми экссудатами прорастания покоящихся спор и рост гифов, направленный к корням. Индукторами служат **зеатин** (он индуцирует специфическое ветвление гифов вблизи корней) и **рутин**, который в низких концентрациях индуцирует рост гифов.
- Формирование многослойной **мантии**, покрывающей корень.
- Формирование **экстра-мантийного мицелия** и **внутрикорневого (межклеточного) мицелия**, называемого **сетью Гартига**. Экстрамантийный мицелий может распространяться на несколько метров от корня, образуя в почве плотные маты. Они выполняют трофическую и репродуктивную функции (образование плодовых тел у многих ЭМ-грибов происходит только при взаимодействии с хозяином).

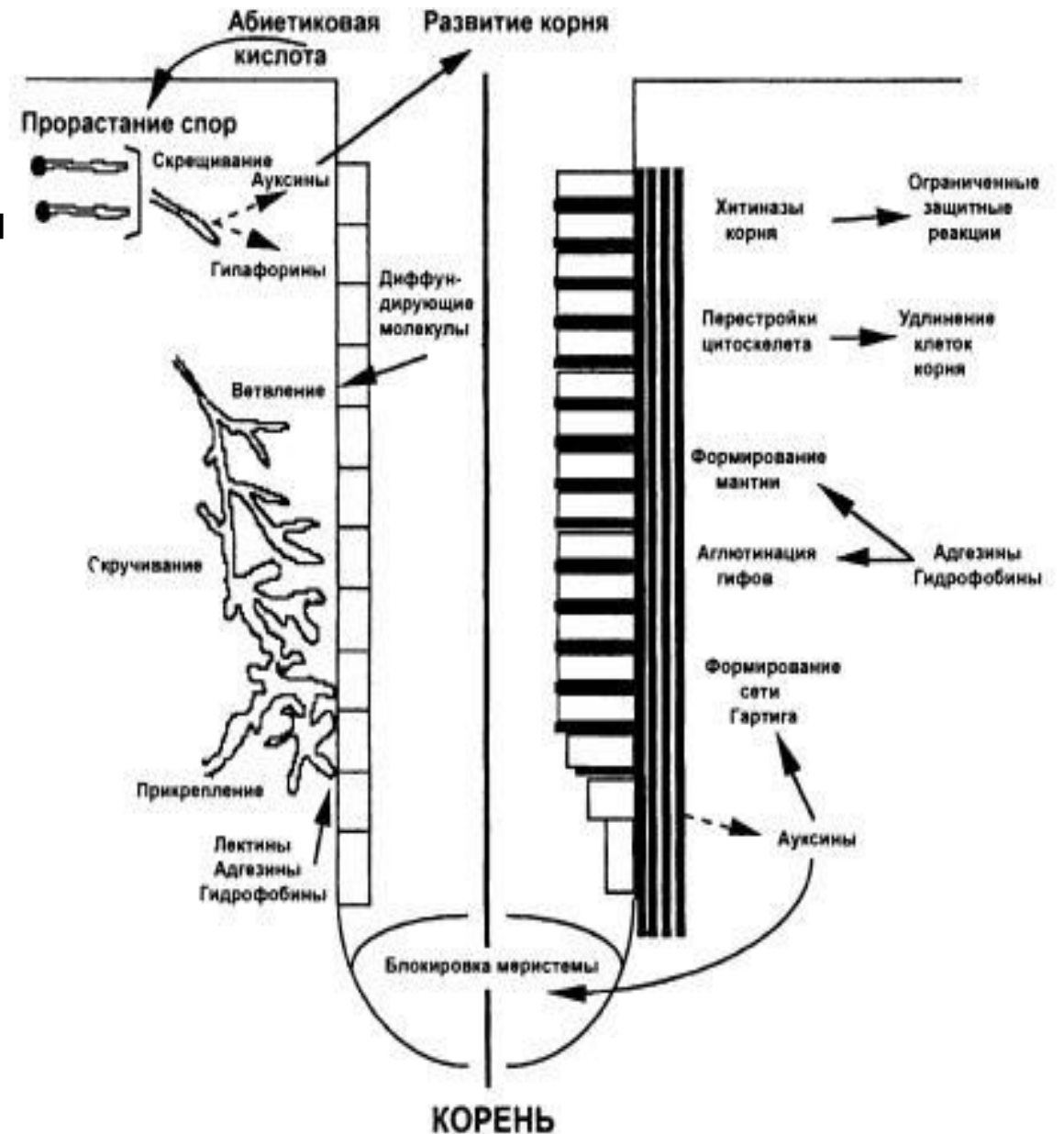
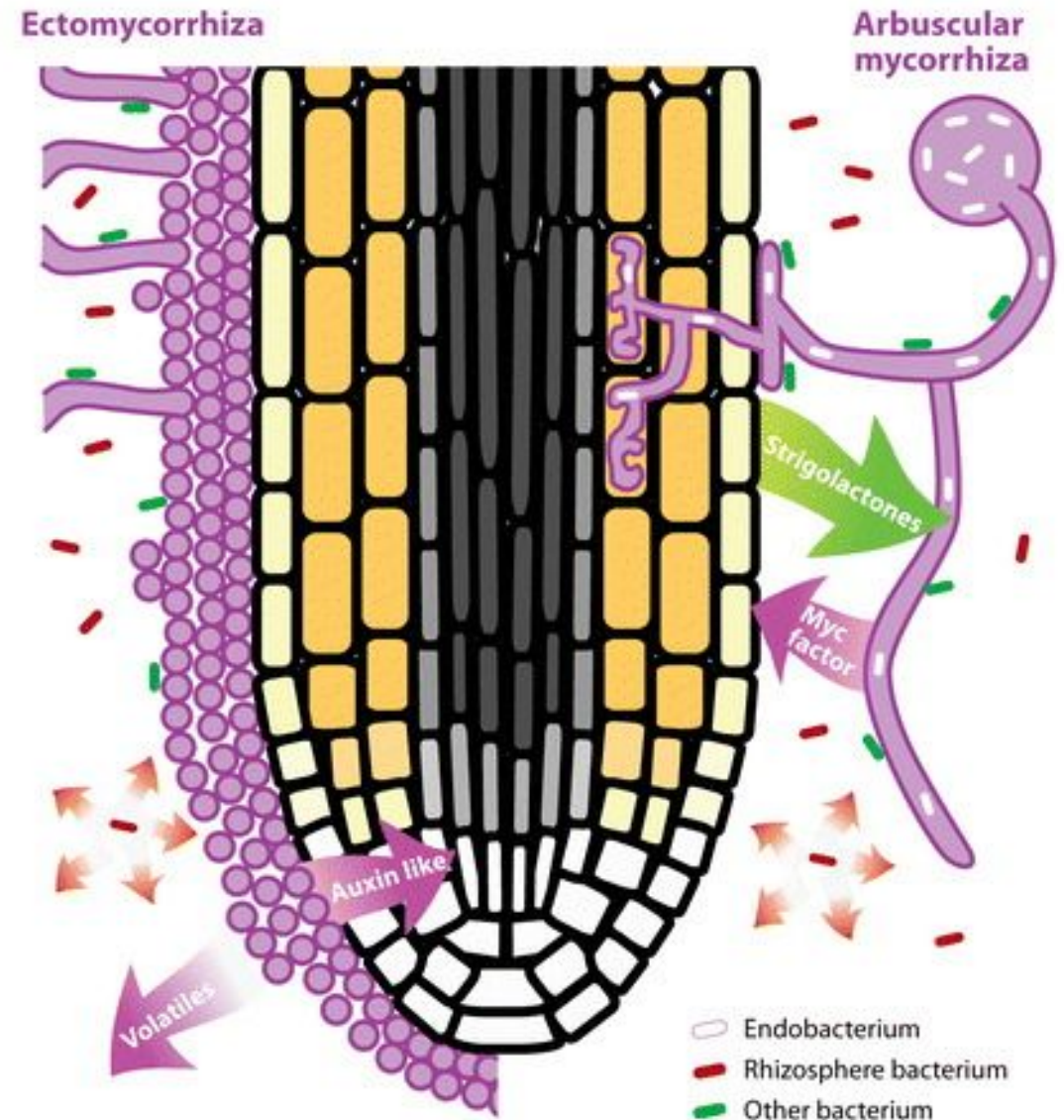


Рис. 11.15. Развитие эктомикоризы

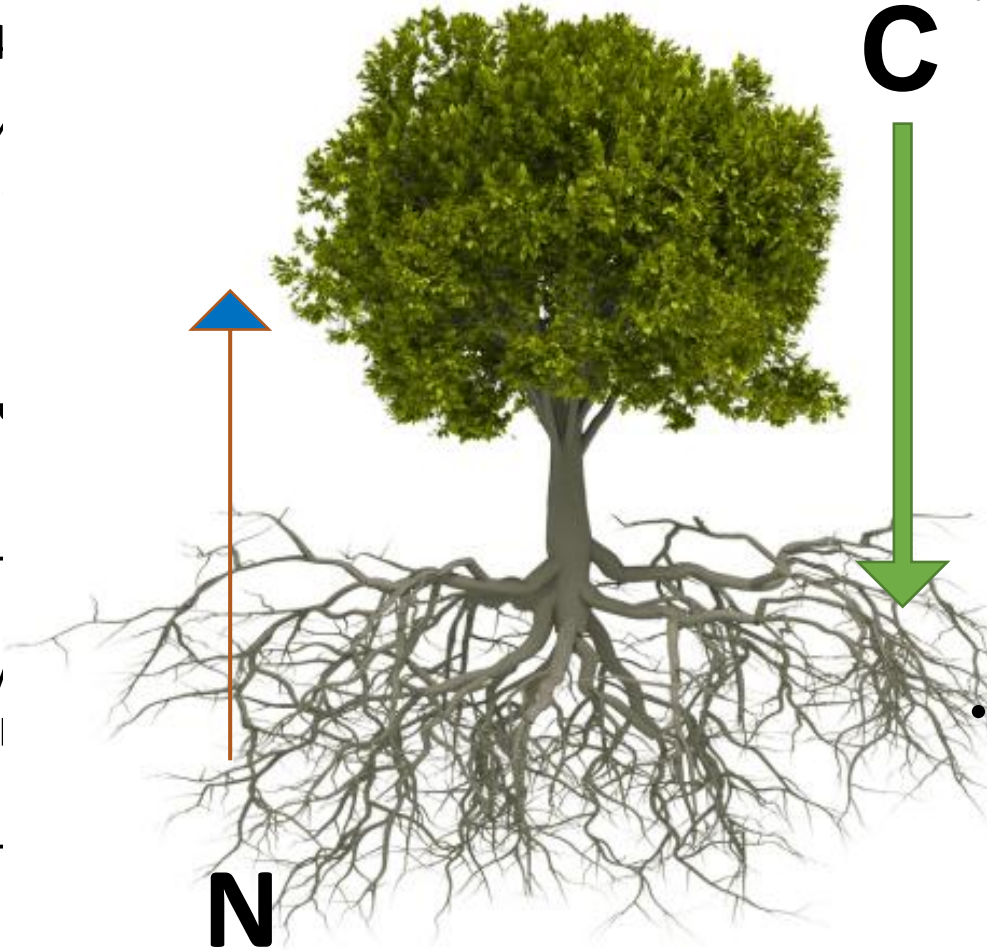
Регуляция эктомикориз (ЭМ)

- Гипотеза о ведущей роли **фитогормонов**, синтезируемых грибами (**ауксин-подобные соединения**)
- В ходе образования ЭМ партнеры синтезируют ряд новых белков:
 - **Гидрофобины** — небольшие богатые цистеином белки, которые накапливаются в гифах
 - **SRAP (symbiosis-regulated acid proteins)**
- **Дифференциальная экспрессия генов**, кодирующих структуры гидрофобинов и SRAP, транскрипционно активируются при формировании ЭМ.
- Локальные защитные процессы: **накопление фенолов и флавоноидных фитоалексинов**, а также **литических ферментов**.



Метаболическая интеграция партнеров эктомикоризы (ЭМ)

- Основная функция ЭМ заключается в обеспечении хозяина азотом (NH_4)
- В деградации почвенной органики грибами играют пептидазы, эстеразы, тирозиназы, пероксидазы и полифенол-оксидазы, лигниназы и ферменты для разложения компонентов растительных клеточных стенок.
- Питательные вещества, поглощенные грибом из почвы, сначала концентрируются в мантии, затем транспортируются в сеть Гартига и перемещаются к сайтам метаболического обмена с растением посредством везикул и гранул, транспорт которых облегчен редукцией межклеточных перегородок



- Продукты фотосинтеза поступают в микоризованные корни в форме сахарозы, которая гидролизуется до гексоз растительной инвертазой, локализованной внеклеточно в местах контакта партнеров.
- Гексозы поглощаются грибом с помощью специальных транспортных белков, отсутствующих у растений.

Сопряженность С и N метаболизма при эктомикоризе

- Мобилизация почвенного азота — это многоступенчатый процесс, включающий разрушение полимера, поглощение грибом образующихся низкомолекулярных продуктов, перевод содержащегося в нем азота в состав аминокислот, которые затем передаются через апопласт в растительные клетки.
- Продукты растительного фотосинтеза используются грибом не только для развития и обеспечения энергией осмотрофных процессов, но и для ассимиляции поглощаемого из почвы азота.

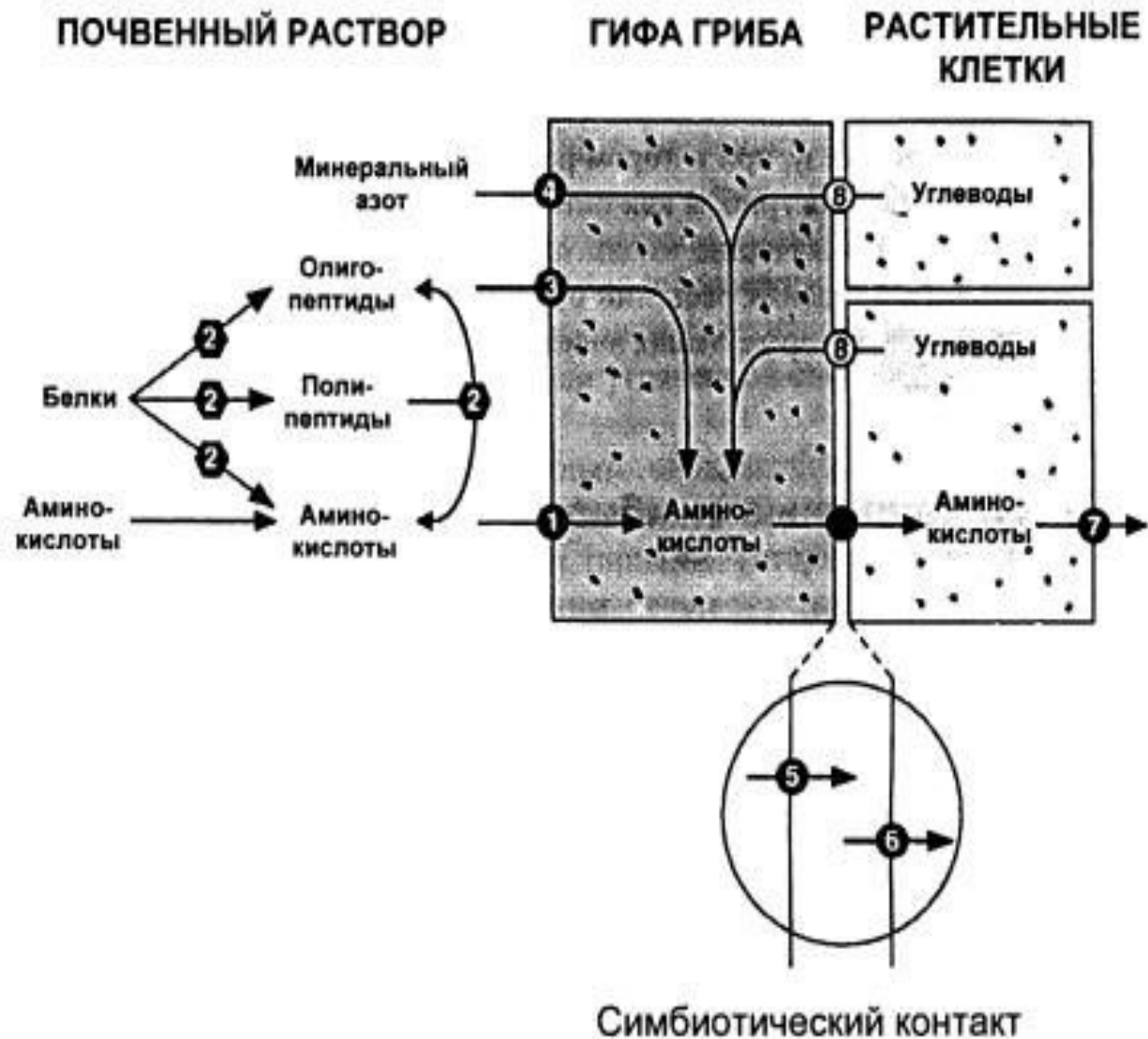


Рис. 11.16. Усвоение почвенных пептидов эктомикоризой: 1, 5, 6, 7 — белки-переносчики аминокислот, 2 — протеазы микоризного гриба, 3 — белки-переносчики олигопептидов, 4 — белки-переносчики минеральных соединений азота, 8 — белки-переносчики углеводов

Везикулярно-арбускулярная микориза (ВАМ): распространение и значение

- Грибы-зигомицеты из порядка Glomales (200 видов)
- Симбиоз между корнями растения и грибами отдела Glomeromycota возник около 450 миллионов лет назад.
- АМ-грибы существуют 900 млн.-1,2 млрд. лет, будучи значительно старше наземных растений. В качестве симбиотических партнеров тогда выступали цианобактерии.
- Для грибов симбиоз является облигатной стадией. Для растений ВАМ может быть как облигатным (многолетние формы и растения со слабо развитой корневой системой), так и факультативным.
- Мицелии *Glomus* переводят нерастворимые формы фосфатов в растворимые, обеспечивая растение фосфатами, и могут быть использованы в сельском хозяйстве для обеспечения растений фосфатами.
- В настоящее время более 80% наземных растений формируют АМ, которая играет огромную роль в улучшении минерального питания растений, увеличивает их устойчивость к биотическим и абиотическим стрессовым факторам.

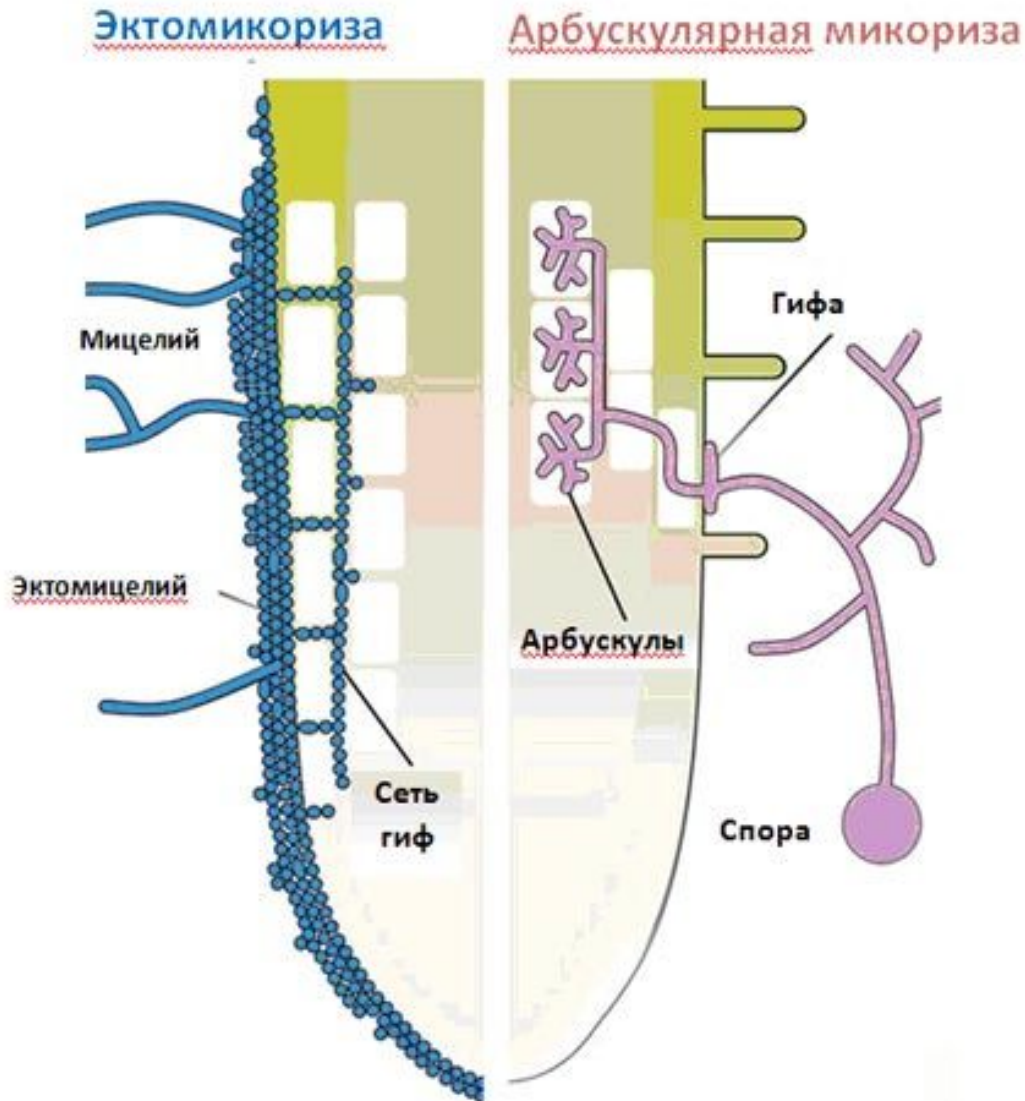


Glomus fasciculatum



Gigaspora margarita

Стадии развития арбускулярной микоризы



3 этапа:

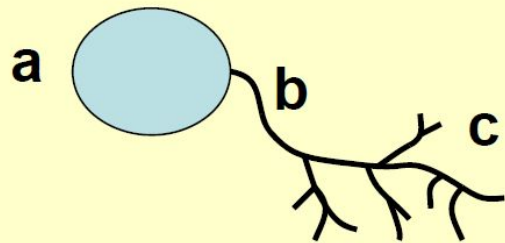
- преинфекционные взаимодействия: споры гриба прорастают в почве под действием растительных выделений и образуют специальные структуры прикрепления – **апрессории**.
- Формирование межклеточного мицелия: из апрессорий во внутрь корня начинает расти **инфекционная гифа**, проникая через эпидермис в ткани кортекса, ветвится и образует мицелий.
- Развитие внутриклеточной симбиотической структуры: в местах тесного контакта мицелия с клетками гифы проникают в растительные клетки, где образуются **арбускулы**.

1 стадия - преинфекционные взаимодействия

a) Прорастание споры

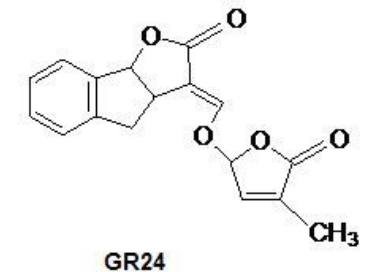
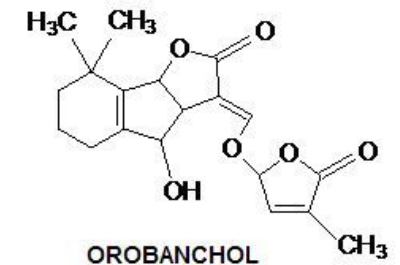
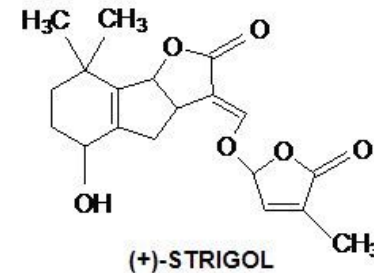
b) Преинфекционный рост

c) Преинфекционное ветвление



- Хемотаксис
- Растительными сигналами, активирующими прорастание спор, рост зародышевых трубок по направлению к корню и их ветвление, являются вещества из группы **стриголактонов**.

Если зародышевая трубка не достигает поверхности корня в течение 5-7 дней после прорастания споры, ее рост становится обратимым: зародышевая трубка разрушается и питательные вещества возвращаются в спору.

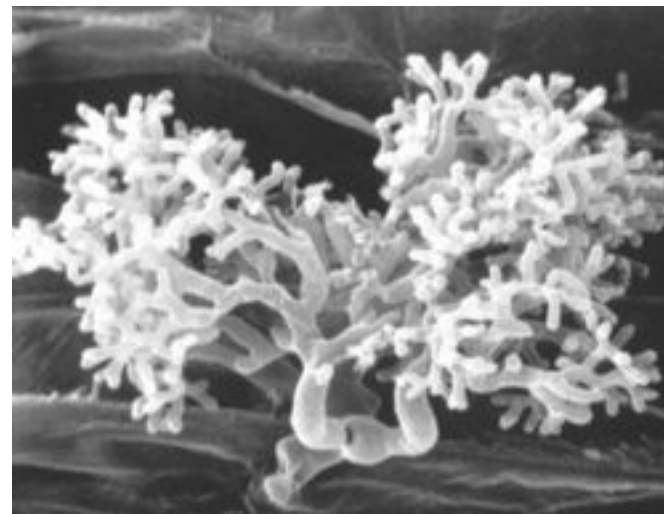
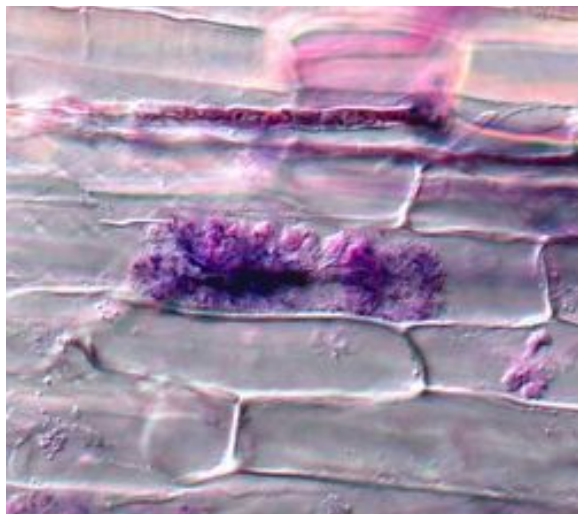
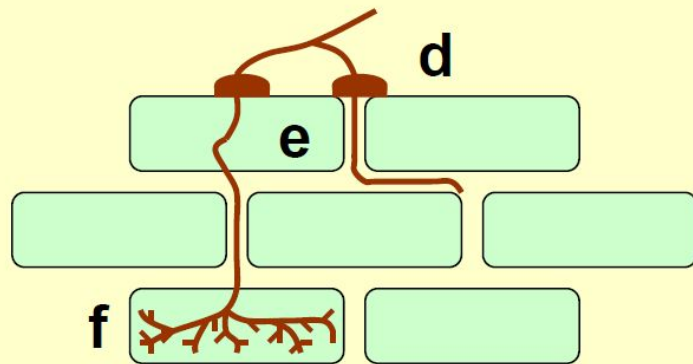


2 стадия - инфекционная

d) Формирование апрессориев

e) Развитие инфицирующих гифов

f) Формирование арбускулы

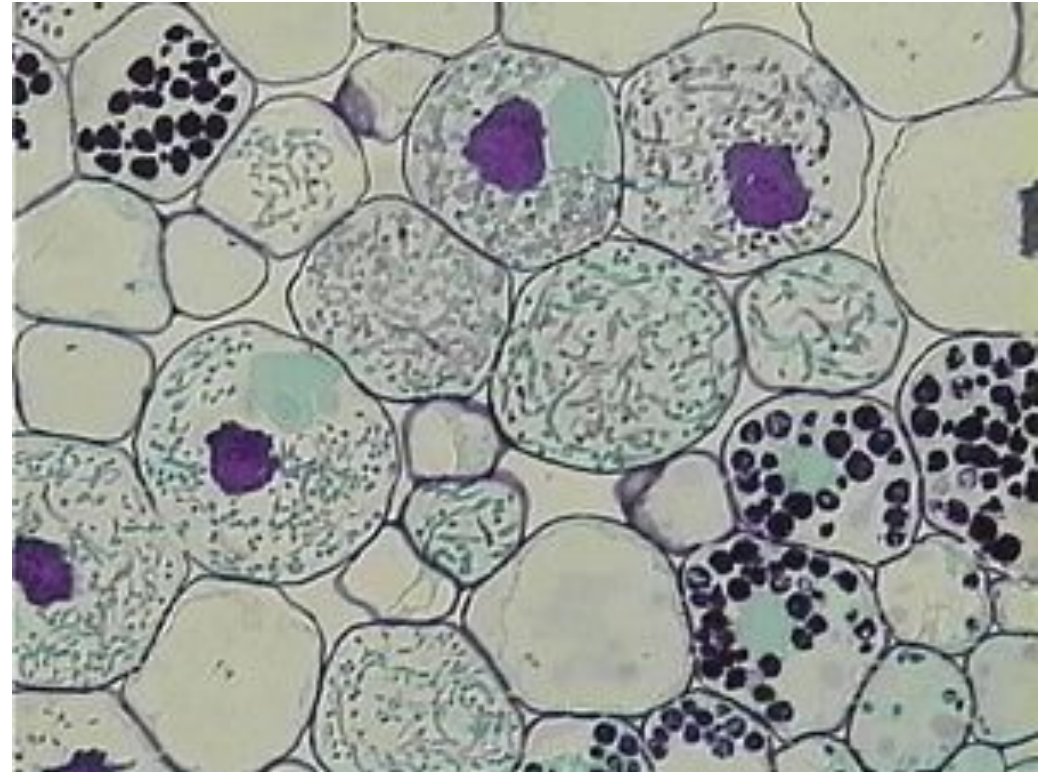


- **Апрессории** – специальные структуры прикрепления.
- Изменения в растительных клетках:
 - Вакуоль резко уменьшается или деградирует
 - Количество α -тубулина возрастает.
 - Ядро деформируется, а хроматин переходит в деконденсированное состояние, что говорит о его высокой транскрипционной активности.
 - Количество телец эндоплазматического ретикулума и аппарата Гольджи резко возрастает.
- Эфемерность существования арбускул: через 4-7 дней после образования арбускула разрушается клеткой-хозяином, и из находящейся рядом гифы формируется новая арбускула.

Две морфологические формы эндомикоризной ассоциации “*Arum*” и “*Paris*”



Арбускулярная микориза у клевера (арбускулы в клетке кортекса корня).
Фото с сайта <http://www.biology.ed.ac.uk>

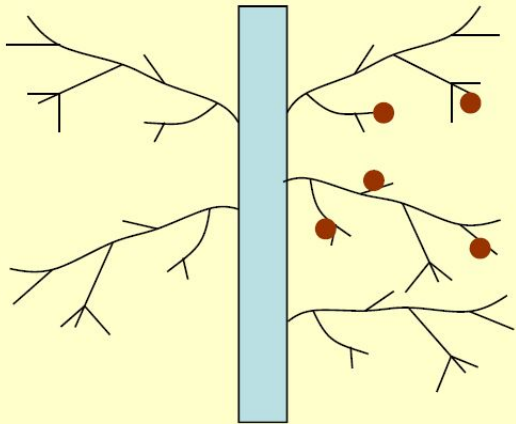


Арбускулярная микориза: грибные гифы в клетках корня орхидеи. Фото с сайта <http://faculty.clintoncc.suny.edu>

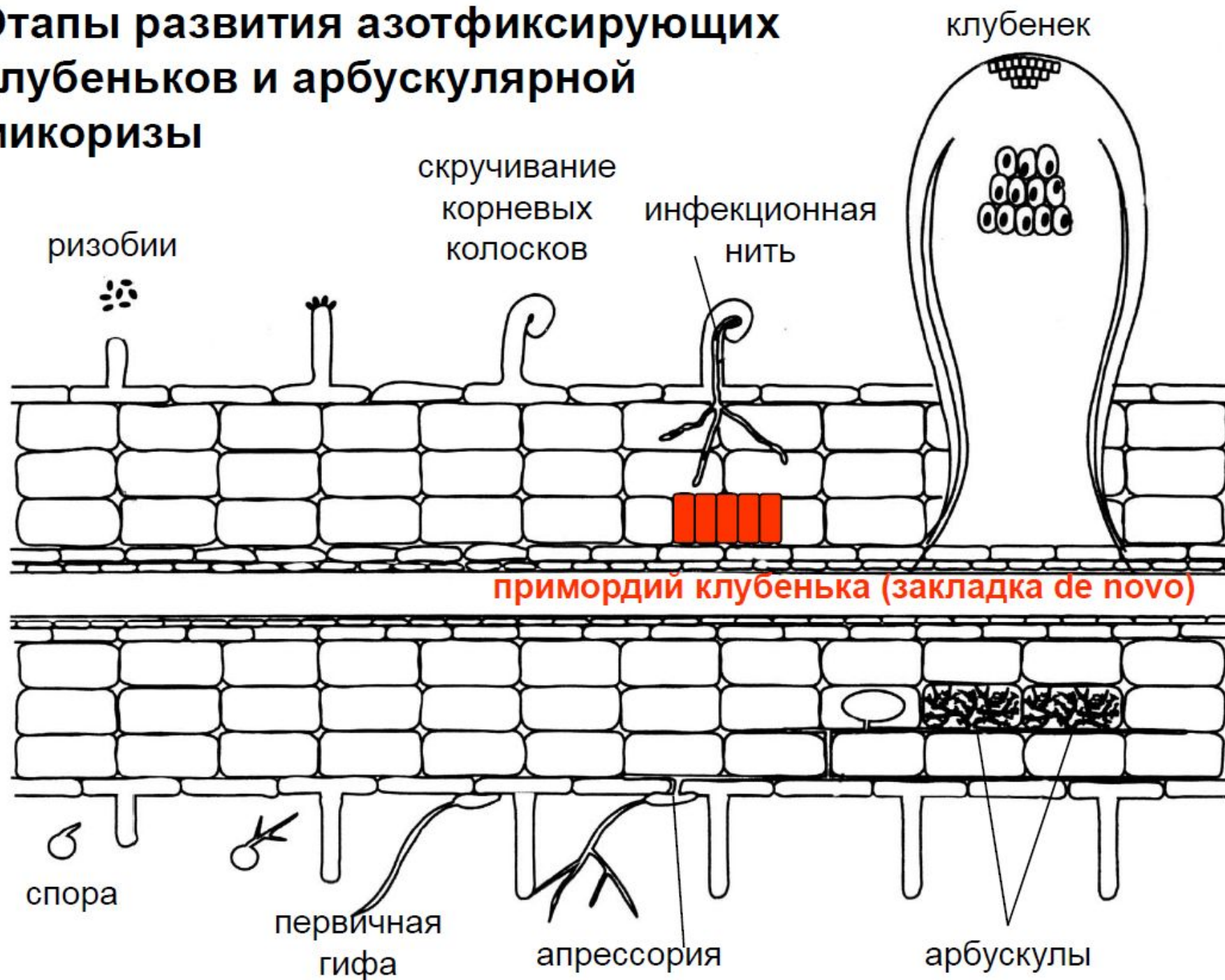
3 стадия — формирование внекорневых гифов

- Для растения-хозяина наиболее важна их трофическая функция (поглощение почвенных веществ), а для микобионта — репродуктивная функция (формирование спор).
- Наличие развитой системы внекорневых гифов - 70-80 м на 1 м корня.
- Важным свойством наружных гифов является способность проникать в находящиеся рядом другие корни, благодаря чему растения разных видов могут обмениваться питательными веществами и сигнальными молекулами.

g) Развитие наружных гифов и формирование спор



Этапы развития азотфиксирующих клубеньков и арбускулярной микоризы



Симбиогенетика АМ

Анализ контроля над развитием АМ, осуществляемого со стороны хозяина, был начат в конце 1980-х гг., когда выяснилось, что мутанты бобовых, отобранные по неспособности формировать клубеньки, часто лишены и микоризации.

Весь процесс образования АМ у растений контролируется комплексом симбиотических генов (SYM-8, SYM-19 и SYM-30), аналогичных nod-генам.

Изучение многочисленных мутантов бобовых позволило выявить серию Sym-генов, нарушение которых приводит к двойному фенотипу (Nod- Muc-).

2 типа мутаций, прерывающих развитие АМ:

- Мус-1, у которых развитие АМ останавливается сразу после формирования аппрессориев: инфицирующие гифы abortируются при прохождении через эпидермис.
- Мус-2 формируют аппрессории и межклеточный мицелий, однако арбускулы у них не развиваются.



Горох (*Pisum sativum* L.) является одним из наиболее изученных модельных объектов генетики АМ.

Сходство генетического контроля формирования АМ и клубенькообразования

Выявляется 300-400 генов, активируемых при развитии АМ, причем около 100 генов являются общими для развития клубеньков - **симбиозины**.

Микоризация приводит к синтезу ряда белков **микоризинов**, которые составляют 4-5 % белков корня, и некоторые из них идентичны нодулинам, включая белки перибактероидной и периарбускулярной мембран, ранние нодулины ENOD2, ENOD11, ENOD12, ENOD40 и леггемоглобин, который в небольших количествах образуется в клетках, содержащих арбускулы.

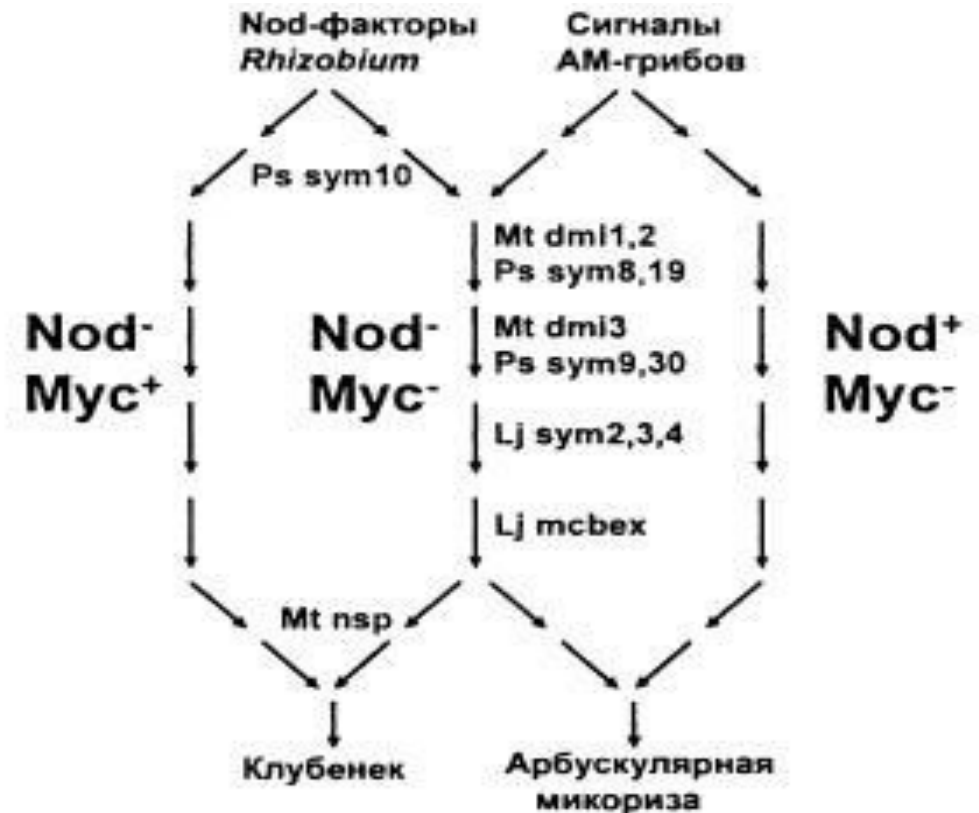
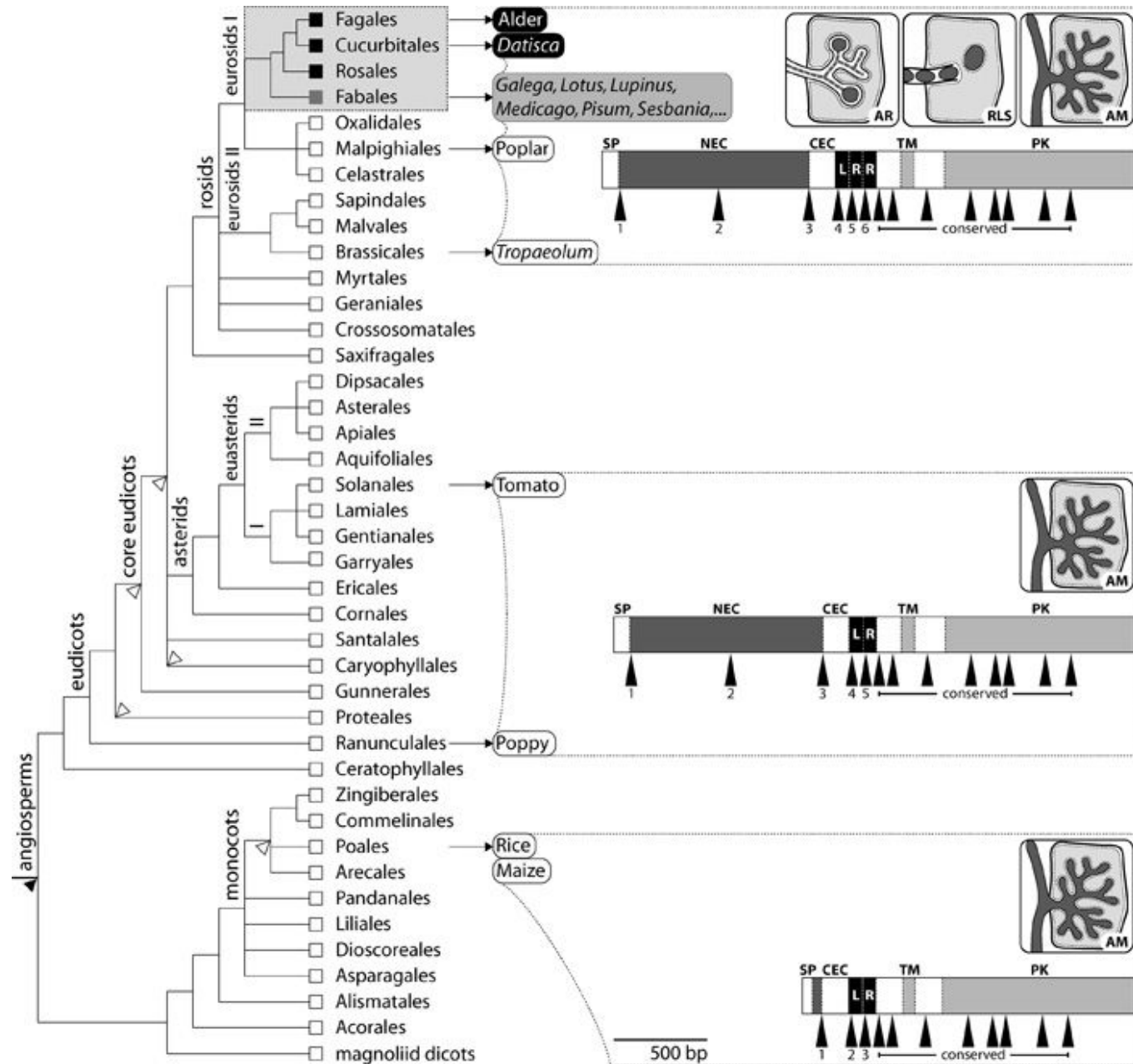


Рис. 11.14. Компоненты сигнального каскада, действующего при образовании клубеньков и арбускулярной микоризы. Фенотипы: Nod — образование клубеньков, Muc — образование арбускулярной микоризы. Симбиотические гены идентифицированы у модельных бобовых: Ps — *Pisum sativum*, Lj — *Lotus japonicus*, Mt — *Medicago truncatula*

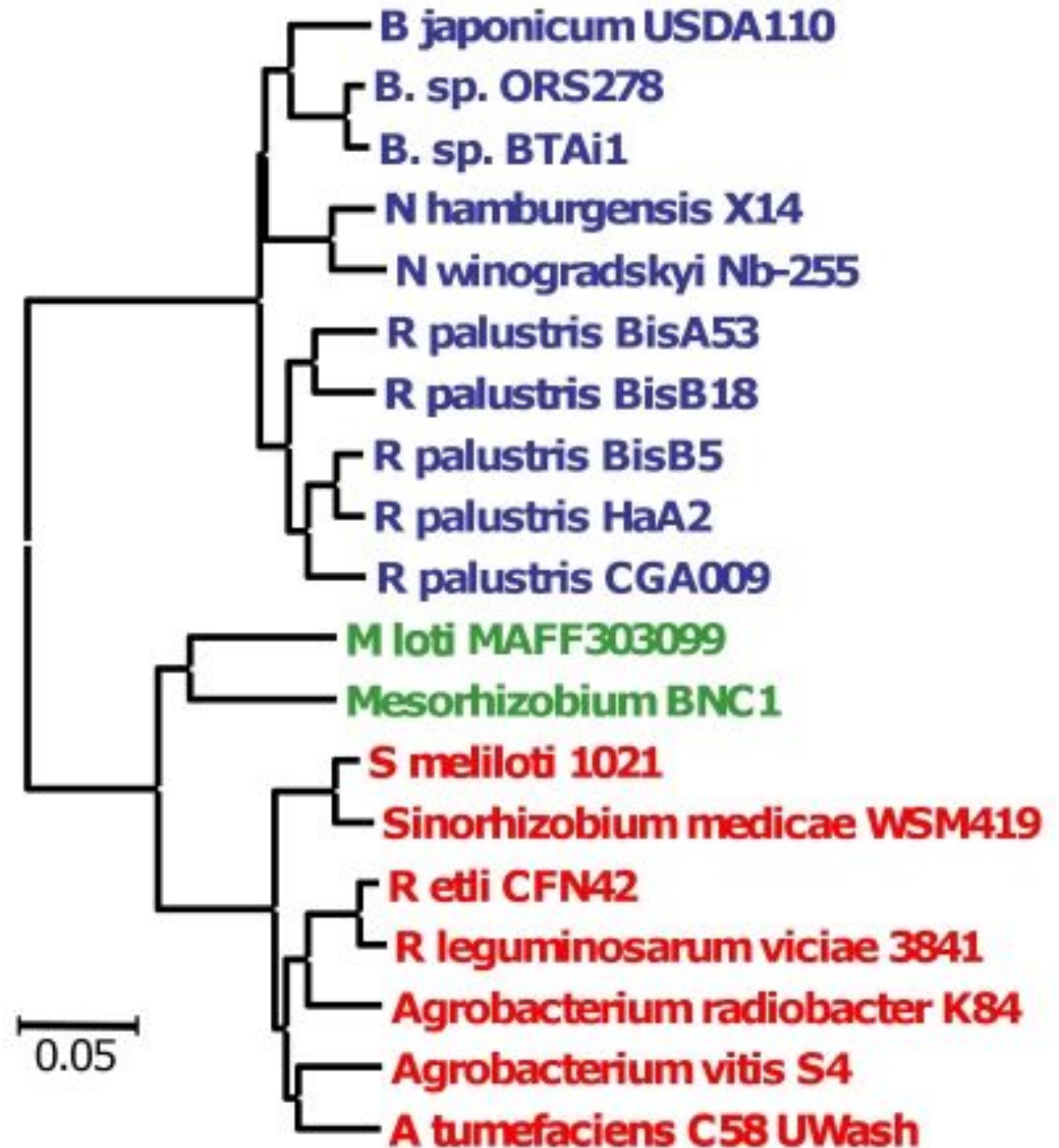
Гены симбиоза у растений

- Один и тот же ген SYMRK необходим для успешного сожительства растений с тремя типами внутриклеточных корневых симбионтов: грибов (микориза), актинобактерий (актинориза) и бактерий-ризобий.
 - Модификация гена SYMRK в одной из групп цветковых растений, произошедшая сравнительно недавно, открыла путь для приобретения новых внутриклеточных симбионтов — ризобий и актинобактерий.
 - SYMRK (symbiosis receptor kinase) – трансмембранный белок-рецептор, необходим для формирования внутриклеточных структур — «симбионто-приемников» (инфекционных нитей).
- Слева — эволюционное древо цветковых.



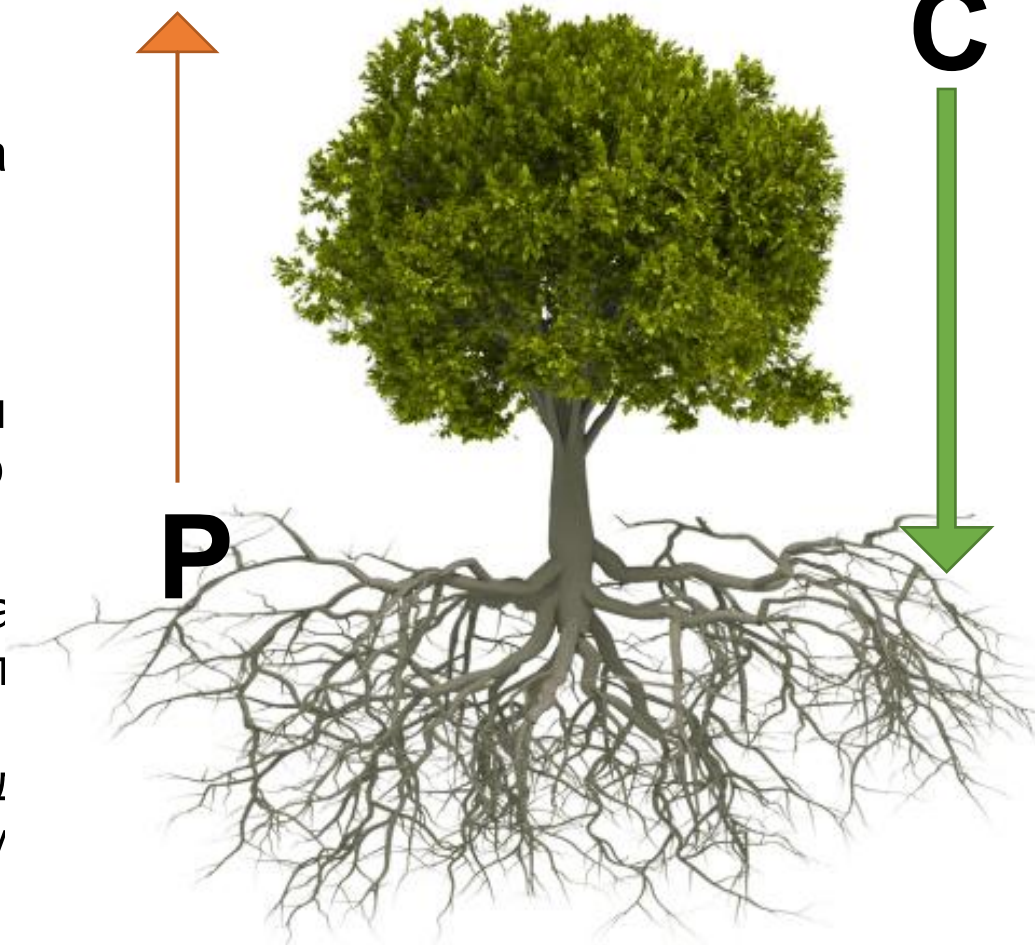
Эволюция генов симбиоза у растений

- «Генетическая программа» клубенькового симбиоза представляет собой модификацию «генетической программы» более древней арбускулярной микоризы.
- По меньшей мере семь генов задействованы в обоих симбиозах. Эти гены получили название «**общих генов симбиоза**» (*common symbiosis genes*).
- Часть генов являются также общими с агробактериями, и приобретены, скорее всего, путем горизонтального переноса.



Метаболическая интеграция партнеров арбускулярной микоризы (АМ)

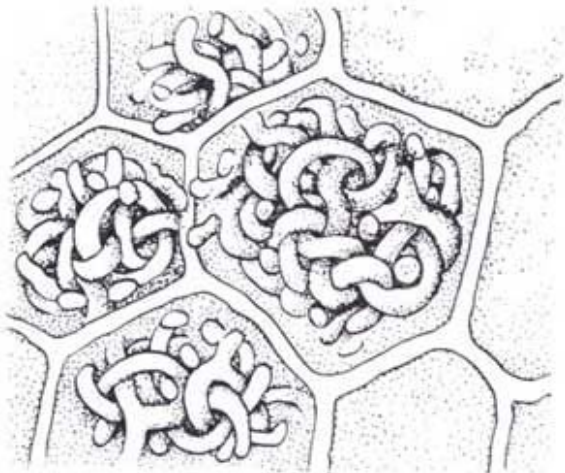
- Инокуляция АМ-грибами улучшает поступление в растения всего комплекса питательных веществ, одна наиболее сильный эффект выявляется в отношении фосфатов.
- Микориза поглощает из поч растворимые формы фосф (ионы $H_2PO_4^-$)
- Фосфор включается в состав полифосфатов, гранулы которых обогащенные Р-содержащими эфирами, перемещаются в гифов, будучи упакованным цилиндрические вакуоли, транспорт которых происходит с помощью фибрилл тубулина



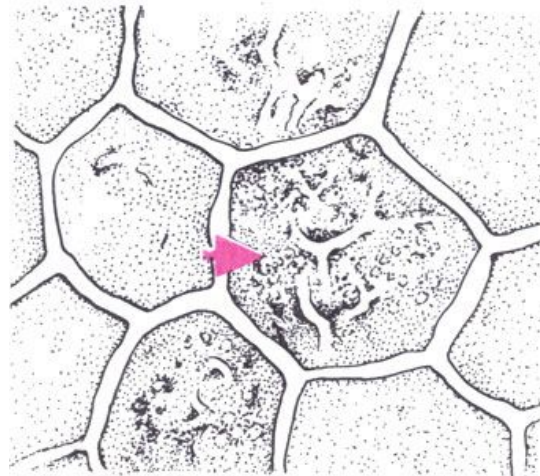
- От растения-хозяина активно поступают С-соединения.
- Основная часть получаемого грибом углерода включается в состав липидов, гликогена и трегалозы (димер глюкозы).
- Липиды и гликоген формируют гранулы для транспортировки из внутрикорневого во внекорневой мицелий.

Орхидная микориза

- Практически все орхидные (сем. Orchidaceae) являются **облигатными микотрофами**, не способными осуществлять прорастание семян и ранний эмбриогенез без помощи микобионта.
- В орхидной микоризе осуществляется необычная стратегия растительно-микробного взаимодействия, так как гриб является для растений источником углерода.
- Значительная часть этого углерода поступает в гриб от других растений, поскольку многие грибы орхидной микоризы формируют эктомикоризу или патогенные ассоциации с находящимися рядом неорхидными растениями



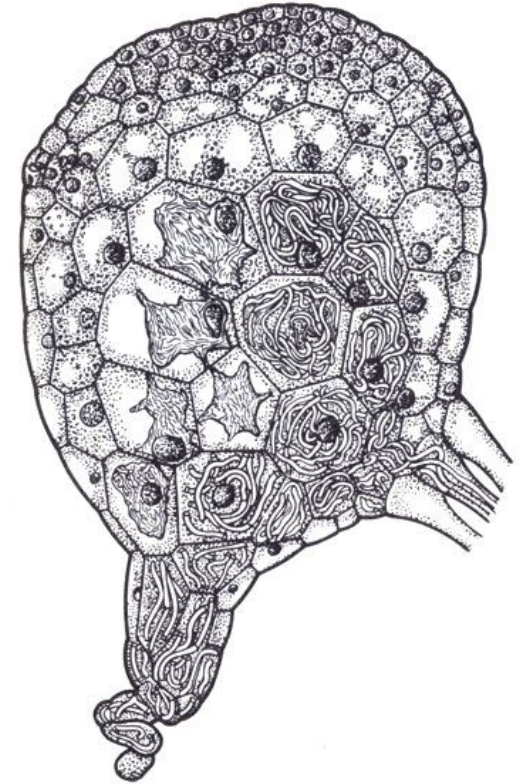
Микориза любки двулистной.



Микориза ятрышника пятнистого.



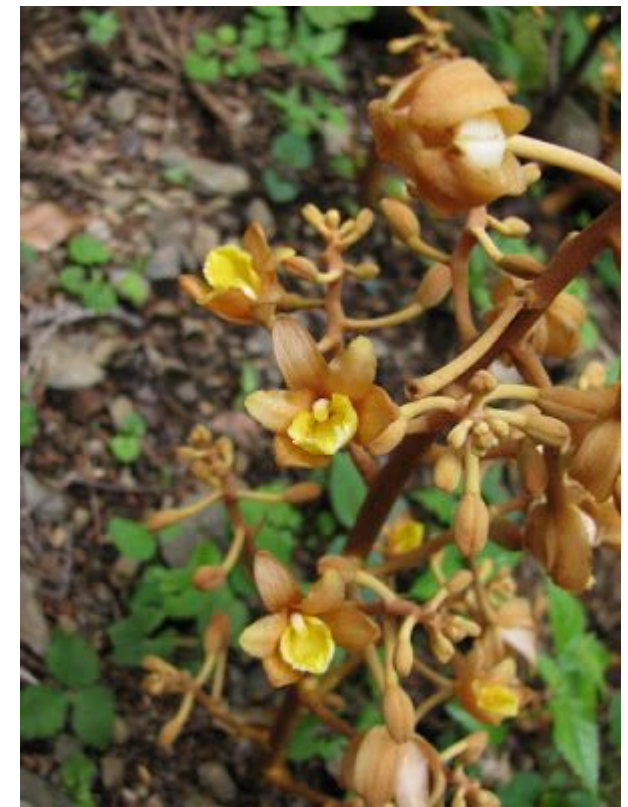
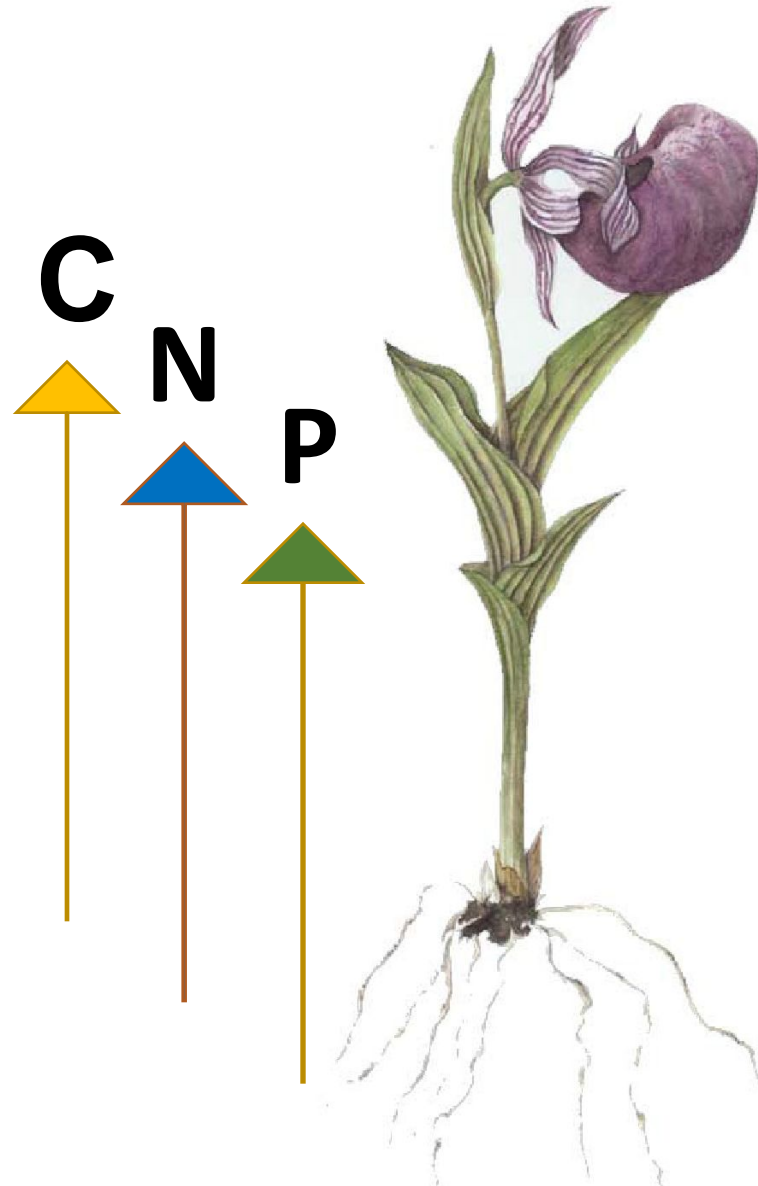
Коммуникационные гифы в корневом волоске.



Четырехмесячный зародыш орхидеи одонтоглоссум с клубками гиф (по Н. Бернару)

Метаболическая стратегия орхидных

- Мико-гетеротрофия может рассматриваться как один из крайних вариантов растительно-грибных отношений — «эксплуатационный симбиоз», противоположный фитопатогенезу, при котором растение является объектом одностороннего использования грибов как источника питания.
- Большинство орхидных использует получаемый от гриба углерод лишь на ранних стадиях своего развития, а взрослые растения переходят к фотосинтезу и становятся независимыми от микобионта. Известны бесхлорофильные орхидеи.
- Разрушение грибных гифов растительными клетками позволяет рассматривать орхидеи как



Galeola septentrionalis



Armillaria jezoensis