Postępy Nauk Rolniczych nr 5/97

Józef Kobus, Andrzej Księżniak
Zakład Mikrobiologii Rolniczej
Instytut Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa w Puławach

Mikoryza wezikularno-arbuskularna roślin zielnych

Większość ekosystemów lądowych zdominowana jest przez rośliny, które w symbiozie z grzybami mikoryzowymi mogą być bardziej konkurencyjne i produktywne. Ten rodzaj symbioz został wykryty ponad 150 lat temu. Według Trappe [48], pierwszym uczonym, który opisał w 1840 roku mikoryzę, był Theodor Hartig. Bardziej szczegółowego opisu współżycia korzeni roślin i grzybów dokonał w 1882 roku polski uczony — profesor Kamieński. Przeprowadzając badania anatomiczne korzeniówki *Monotropa hypopitys* L., stwierdził, że cały korzeń i jego rozgałęzienia, a zwłaszcza wierzchołki wzrostu są otoczone grubą warstwą silnie splecionej grzybni, którą nazwał "narzędzia odżywcze korzeniówki". Były to przeprowadzone po raz pierwszy klasyczne badania, które wyjaśniały istotę współżycia roślin wyższych z grzybami. W 1885 roku botanik niemiecki, A.B. Frank, nazwał to zjawisko "grzybo-korzenie", czyli "mycorrhiza". Jednakże dopiero obecnie stosowane metody pozwoliły na prowadzenie badań nad mikoryzami na szersza skalę — w aspekcie taksonomicznym, ekologicznym, morfologicznym i mechanizmów tego zjawiska (fizjologicznych, biochemicznych i genetycznych).

Najważniejszą cechą grzybów mikoryzowych jest ich zdolność tworzenia pomostu pomiędzy glebą i rośliną. Strzępki tych grzybów penetrują i kolonizują komórki korzeni gospodarza, równocześnie strzępki znajdujące się w glebie nawiązują bezpośredni kontakt z mikrobiotą agregatów glebowych. Strzępki glebowe grzybów mikoryzowych biorą też udział w tworzeniu struktury gleby. W ten sposób pośredniczą one w uruchamianiu i przepływie składników pokarmowych między rośliną i glebą, przez co mają wpływ na wzrost i zdrowotność roślin oraz na rozwój i aktywność populacji organizmów glebowych. Rośliny z kolei, poprzez wydzieliny korzeniowe, dostarczają do gleby substraty o charakterze pokarmowym i energetycznym, wykorzystywane przez mikroorganizmy ryzosferowe. Za ich pośrednictwem rośliny mogą kształtować również właściwości chemiczne i fizyczne gleby pod kątem ich potrzeb wzrostowych. Grzyby mikoryzowe zwiększają możliwości roślin do pobierania wody i składników mineralnych, zaś od rośliny otrzymują węglowodany pochodzące z fotosyntezy. W niektórych przypadkach kontakt z grzybami mikoryzowymi może być szkodliwy dla

rośliny-gospodarza, jeżeli w miejsce symbiozy współżycie partnerów nabiera cech komensalizmu lub pasożytnictwa. Forma zależności pomiędzy grzybem mikoryzowym i rośliną może zmieniać się wraz z rozwojem rośliny lub zmianą warunków środowiskowych. Stąd terminy takie jak mutualizm lub pasożytnictwo mogą być niekiedy dużym uproszczeniem przy opisywaniu i ocenie tego zjawiska.

Systematyka mikoryzy

Do tej pory pod kątem możliwości tworzenia mikoryzy zbadano mniej niż 5% rodzajów roślin [49]. W celu ułatwienia opisu i porównań mikoryz u różnych roślin opracowano różne ich klasyfikacje, oparte na morfologii lub szczególnych cechach fizjologicznych.

Pierwszy podział mikoryzy wprowadził w 1887 roku uczony niemiecki Frank. Jego obserwacje wykazały, że korzenie niektórych gatunków roślin były otoczone przez grzybnię tworzącą pochewkę (tzw. mufkę); natomiast rośliny, u których nie stwierdzano symbionta grzybowego, nie miały tych pochewek. Z wewnętrznej strony pochewki strzępki przenikają przez warstwę komórek epidermy do wnętrza korzeni. Strzępki wytwarzane od zewnętrznej strony mufki penetrują otaczającą glebę. Uczony ten stwierdził ponadto, że mikoryza występuje również u roślin, których korzenie nie były otoczone grzybnią i nie tworzyły się na nich mufki. Na podstawie tych badań doszedł do przekonania, że istnieją dwie różniące się między sobą formy mikoryzy.

Jedną z nich określił jako ektotroficzną (EM = ektomikoryza), czyli zewnętrzną, a drugą jako endotroficzną, czyli wewnętrzną. Jedna i druga forma współżycia grzybów z korzeniami roślin jest szeroko rozpowszechniona w przyrodzie.

Obecnie uważa się, że niemal wszystkie rośliny nagozalążkowe i około 85% okrytozalążkowych jest zdolnych do tworzenia mikoryzy. Wszystkim nagozalążkowym roślinom lądowym mikoryza umożliwia lub wspomaga przeżywalność i reprodukcję. Pomimo że niewiele gatunków roślin należy do nagozalążkowych, to jednak rośliny te mają duże znaczenie w ekosystemach leśnych; duży udział w nich mają drzewa należące do rodziny *Pinaceae*. Duży udział w tych ekosystemach mają także okrytozalążkowe z rodzin *Betulaceae* i *Fagaceae*. Większość drzew w naszych lasach, jak dęby, buki, graby, brzozy i inne tworzy mikoryzy ektotroficzne.

Rośliny zielne tworzą głównie endomikoryzy typu wezikularno-arbuskularnego (VAM = vesicular-arbuscular mycorrhiza). Ten rodzaj mikoryzy spotyka się sporadycznie także u drzew i krzewów należących do roślin nagozalążkowych, jak np. jałowiec i cyprys. Korzenie drzew zasiedlane są głównie przez grzyby ektomikoryzowe. Podobnie przez grzyby EM zasiedlane są niektóre rośliny trawiaste, takie jak turzyce czy rośliny z rodziny *Polygonaceae*.

Niektóre rośliny mogą żyć i rozwijać się bez mikoryzy, chociaż mają zdolność do nawiązywania symbiozy z grzybami mikoryzowymi — są więc roślinami fakultatywnie mikotroficznymi. Należą do nich głównie chwasty.

W artykule tym zwrócono szczególną uwagę na mikoryzę endotroficzną, ponieważ jest ona najbardziej rozpowszechniona wśród roślin zielnych, głównie użytkowych. Z wyjątkiem gorczycy *(Brassicaceae)* i kilku innych roślin (burak, gryka), większość roślin uprawianych rolniczo jest mikotroficzna. Niektóre z nich mogą być mikotrofami fakultatywnymi, jak np. pszenica. Inne, takie jak kukurydza i soja, bardzo silnie reagują na obecność mikoryzy — uważane są za rośliny obligatoryjnie mikotroficzne.

Mikoryza endotroficzna

Mikoryza endotroficzna, czyli wewnętrzna, charakteryzuje się znacznie bliższym kontaktem symbionta grzybowego z tkankami i komórkami korzeni rośliny. Korzenie roślin z endomikoryzą nie różnią się praktycznie swoim zewnętrznym wyglądem od korzeni bez mikoryzy; brak jest typowych dla EM zmian morfologicznych korzeni, nie obserwuje się na ich powierzchni wytworów ze zbitej masy grzybni. Przy odpowiedniej metodzie mikroskopowania można jedynie obserwować na zewnątrz korzeni pojedyncze strzępki — niekiedy z wezikulami pozakorzeniowymi lub sporami. Charakterystyczną cechą strzępek grzybów VAM jest brak septowania i zazwyczaj większa średnica strzępek w porównaniu ze strzępkami grzybów saprofitycznych i patogennych.

Strzępki grzybni — po przeniknięciu do wnętrza korzeni przez warstwę komórek epidermalnych — rozrastają się pomiędzy komórkami tkanki korzeniowej albo przerastają z komórki do komórki, nie wchodząc do walca osiowego i wiązek naczyniowych. Mogą one wewnątrz komórek tworzyć rozgałęzienia, pęcherzyki — wezikule (kuliste lub owalne), oraz przekształcać się w formy drzewiaste — arbuskule.

Arbuskule w komórkach tkanki korzeniowej rozmieszczone są nierównomiernie. Na ogół liczniej występują w pobliżu walca osiowego. Pęcherzyki, czyli wezikule, powstają wówczas, gdy endofit jest dobrze zadomowiony w korzeniu rośliny-gospodarza. Są to utwory pochodzące ze wzdęć strzępek grzybni na ich zakończeniach, a więc powstające terminalnie, lub na ich ciągu — czyli interkalarnie. Cechą charakterystyczną tego typu mikoryzy jest wykształcanie wezikul i arbuskul, dlatego też nadano jej nazwę mikoryzy wezikularno-arbuskularnej (VAM).

Systematyka grzybów VAM

Grzyby wywołujące mikoryzę wezikularno-arbuskularną — według Mortona i Benny [35] — można usystematyzować w następujący sposób:

Klasa: *Zygomycetes*
Rząd: *Glomales*
A. Podrząd: *Glomineae*
Rodzina I *Glomaceae*
Rodzaj *I Glomus*
Rodzaj *II Sclerocystis*
Rodzina II *Acaulosporaceae*
Rodzaj I *Acaulospora*
Rodzaj *II Entrophospora*
B. Podrząd: *Gigasporineae*
Rodzina III: *Gigasporaceae*
Rodzaj I *Gigaspora*
Rodzaj II *Scutellospora*

Grzyby wytwarzające wewnątrzkorzeniowe wezikule i arbuskule należą do podrzędu *Glomineae*. Natomiast grzyby, które na strzępkach pozakorzeniowych tworzą równocześnie komórki sporogenowe i pomocnicze (auxillary cells) oraz nie tworzą wewnątrzkomórkowych wezikul, zaliczane są do podrzędu *Gigasporineae*.

Taksonomia grzybów endomikoryzowych opiera się na morfologii chlamydospor i zygospor [35]. Charakterystyka spor obejmuje ich kształt, wielkość, kolor, budowę, ornamentację i strukturę ściany spor. Szczególnie ważna przy diagnostyce jest charakterystyka ściany komórkowej. Dotyczy to głównie tych spor, których ściany składają się z wielu warstw, tak jak np. w rodzajach *Acaulospora* i *Scutellospora*. Natomiast ściany spor grzybów z rodzaju *Glomus* zawierają najwyżej do 3 warstw. Obecnie do oznaczania i różnicowania spor grzybów mikoryzowych stosowane są również techniki molekularne. Jedna z nich opiera się na wykorzystaniu aktywności polimerazy DNA w łańcuchu reakcji (PCR) — powielania rybosomalnego DNA z grzybów VAM i następnie analizy produktu metodą elektroforezy na żelu agarozowym [51]. Do identyfikacji spor stosuje się też immunochemię. Krytycznym punktem tej metody jest uzyskanie przeciwciał na drodze immunologicznej. Identyfikacja molekuł specyficznych z VAM jest bardzo ważna nie tylko dla taksonomii grzybów, ale także dla różnicowania gatunkowego grzybów VAM w materiale biologicznym. Pozwoliło to między innymi na potwierdzenie hipotez o możliwości równoczesnej kolonizacji korzeni rośliny przez kilka gatunków grzybów VAM. Otrzymanie przeciwciał poliklonalnych (pAb) i monoklonalnych (mAb) daje badaczowi potężne narzędzie do badań taksonomicznych, ekologicznych i fizjologicznych grzybów mikoryzowych VAM.

Adaptacje morfologiczne partnerów w symbiozie VAM

Grzyby wywołujące mikoryzę wezikularno-arbuskularną są obligatoryjnymi biotrofami, czerpiącymi składniki pokarmowe z żywych komórek gospodarza. Procesowi infekcji korzeni gospodarza towarzyszą liczne morfogenetyczne zmiany grzyba. Obejmują one wiele stadiów: kiełkowanie spor, różnicowanie grzybni, tworzenie apresoriów, penetrację korzeni, wzrost wewnątrzkomórkowy strzępek, tworzenie arbuskul i wezikul oraz sporulację [8].

Kiełkowanie spor i początkowy, samodzielny wzrost hyfy VAM w glebie może się odbywać nawet, gdy nie ma kontaktu z korzeniami. Jest to faza saprofityczna warunkująca dalszy wzrost i infekcję korzeni gospodarza. Szybka infekcja korzeni gospodarza jest z kolei warunkiem przeżycia grzybni i efektywności symbiozy. Do rozpoznania i ewentualnej penetracji korzeni potencjalnego gospodarza służą apresoria [8].

Korzenie roślin po zasiedleniu przez grzyby VAM zmieniają barwę z białawej na jasnożółtą i z czasem zabarwienie to się nasila. Przykładem takiego zjawiska może być zmiana koloru u zainfekowanych przez *Glomus* sp. korzeni *Allium cepa.* Pogłębienie koloru związane jest ze starzeniem się arbuskul. Bothe i in. [9] stwierdzili, że wiele roślin po skolonizowaniu korzeni przez grzyby VAM wytwarza korzenie grubsze i z mniejszą liczbą włośników w porównaniu z roślinami kontrolnymi.

Zmianom morfologicznym korzeni towarzyszą też zmiany poziomu fitohormonów. Wśród badanych hormonów (auksyn, cytokinin i kwasu abscysynowego — ABA) stwierdzono znaczny wzrost poziomu ABA w skolonizowanych przez grzyby VAM korzeniach i łodygach kukurydzy. Doss i in. [15] stwierdzili w sporach i hyfach grzybów izolowanych z korzeni mikoryzowych roślin kukurydzy wysoką zawartość wolnego i związanego ABA — około dwudziestokrotnie wyższą we fragmentach grzybni niż w korzeniach. Wielu autorów wykazało, że również powierzchnia korzeni roślin skolonizowanych przez grzyby VAM była o wiele większa niż w roślinach kontrolnych — niemikoryzowych.

Z powyższych danych wynika, że interakcje pomiędzy partnerami symbiozy powodują bardzo głębokie zmiany zarówno w organach podziemnych, jak i nadziemnych rośliny. Kolonizacja korzeni przez grzyby mikoryzowe wywołuje zmiany w:

— ilości i jakości produkowanych przez korzenie wydzielin;
— sposobie rozprowadzania węgla pomiędzy liście, łodygi i korzenie roślin;
— zaopatrzeniu roślin w składniki pokarmowe — dotyczy to szczególnie koncentracji fosforu, azotu oraz mikroelementów;
— być może również w tolerancji lub odporności roślin na zawartość metali ciężkich w podłożu.

Zmiany te mają również wpływ na mikroorganizmy [4] wiążące wolny azot, rozkładające resztki roślinne, biorące udział w krążeniu składników pokarmowych dla roślin; na zdrowotność roślin; kompetycję roślin i ich sukcesję w naturalnych ekosystemach oraz na powstawanie agregatów glebowych.

Rozprzestrzenienie grzybów VAM

Wielu badaczy uważa, że około 85 do 90% roślin lądowych żyje w symbiozie z grzybami VAM. Dotyczy to około 231 000 gatunków roślin okrytonasiennych [44]. Do tej pory opisano blisko 150 gatunków grzybów VAM (126 do 1988 roku), które są zdolne do tworzenia efektywnej symbiozy z roślinami. Według Trappe [49], wszystkie rodziny roślin naczyniowych, z wyjątkiem *Chenopodiaceae*, *Brassicaceae*, *Caryophyllaceae* i kilku innych [10], mają przedstawicieli zdolnych do tworzenia symbiozy z grzybami VAM. Toksyny i fizyczne bariery mogą wyjaśniać niepowodzenie w kolonizacji niektórych roślin. Wiele wyników badań wskazuje, że czynniki genetyczne gospodarza limitują lub sprzyjają kolonizacji korzeni przez grzyby VAM [27]. Grzyby VAM są biotroficzne i mają zdolność do wykorzystywania wielu substancji roślinnych jako źródła pokarmu i dlatego ich specyficzność (wybiórczość partnera symbiozy) jest mniejsza niż roślin.

Potwierdza to też duża łatwość wchodzenia w symbiozę niewielkiej liczby gatunków grzybów VAM z wieloma gatunkami i rodzajami roślin. Ścisła zależność odżywcza i wzrostowa tych grzybów od rośliny powoduje, że ich rozprzestrzenienie w decydującym stopniu zależy od szaty roślinnej.

Wydzieliny korzeniowe

Stwierdzono, że kolonizacja korzeni roślin przez grzyby zarówno VAM, jak i EM powoduje zmiany składu i redukcję ilości wydzielin korzeniowych [36]. Symbiozy te mogą zwiększać ilość pobieranych przez rośliny składników pokarmowych (w szczególności fosforu), co — być może — wpływa na lepsze dostosowywanie się roślin mikoryzowych do warunków glebowych.

Korzyść dla rośliny-gospodarza z symbiozy jest oczywista, wynika ona ze wspomagania zasięgu korzeni roślin przez strzępki [22], co zwiększa transfer mineralnych składników pokarmowych przez grzyb do rośliny-gospodarza. Składniki pokarmowe są transportowane do korzeni roślin zazwyczaj na zasadzie dyfuzji.

Szczególnie interesujące jest zagadnienie pobierania fosforu przez rośliny mikoryzowe. Fosfor jest niezbędny dla roślin w stosunkowo dużych ilościach, a ponieważ jest bardzo silnie adsorbowany przez cząsteczki glebowe — stąd w glebie znajduje się relatywnie mało fosforu dostępnego dla roślin. Zewnętrzna grzybnia, oplatając bardzo silnie cząsteczki glebowe, pozwala uwalniać z gleby większe ilości jonów fosforanowych, które dzięki powoli zachodzącym procesom dyfuzji dostają się do korzeni roślin [25].

Według Sylvii [45], długość hyf zewnętrznych penetrujących glebę waha się w granicach od 1 do 50 m w 1 g gleby, a najczęściej od 5 do 15 m. Jest to około 100-krotnie więcej niż długość korzeni w tej samej objętości gleby. Wzrost strzępek

pozakorzeniowych jest w dużym stopniu stymulowany przez glebową materię organiczną — być może, że stymulacja ta wynika również ze zwiększonej aktywności mikroorganizmów [50].

Mechanizm symbiozy VAM

Funkcjonowanie mikoryzy rozpoczyna się po penetracji grzyba do korzeni i wytworzeniu arbuskul, co umożliwia wymianę substratów (gównie fosforu i węglowodanów) pomiędzy partnerami. Ograniczona infekcja korzeni przez grzyby mikoryzowe — bez wytworzenia arbuskul i następnie sporulacji — nie daje efektywnej symbiozy.

Po to, aby nastąpiła symbioza pomiędzy roślinnym gospodarzem i grzybem VAM, muszą zadziałać molekularne sygnały, które doprowadzają do fizjologicznych i anatomicznych zmian u obu symbiontów. Następuje to poprzez wiele etapów, aż do wytworzenia funkcjonalnej mikoryzy. Każdy z tych etapów wymaga wysłania właściwego sygnału przez jednego partnera i rozpoznania tego sygnału przez drugiego, jest to warunkiem wytworzenia właściwej symbiozy. Sygnały te wymieniane są pomiędzy grzybem i rośliną w ryzosferze. Punktem odbioru sygnałów — według Smitha i Gianinazzi-Pearsona [40] — mogą być spory lub receptory wewnątrzkorzeniowe [2].

Becard i in. [7] badali wpływ różnych flawonoidów na kiełkowanie spor i wzrost grzybni. Stwierdzili oni, że tylko flawonole stymulowały wzrost grzybni grzybów mikoryzowych VAM, a flawony, flawonony i izoflawony były na ogół inhibitorami tego procesu.

Spośród badanych in vitro flawonoidów największą stymulację wykazywała kwercetyna, o wiele mniejszą myricetyna i kaempferol. Inhibitorami były natomiast: chryzyna, biochanina A, flawon i apigenina. Metabolity znajdujące się przy korzenich roślin mogą regulować adhezję i penetrację strzępek; natomiast wewnątrz korzeni mogą mieć wpływ na tworzenie się arbuskul, szybkość transportu węglowodanów do grzyba, wzrost grzyba wewnątrz korzeni i na produkcję wezikul i spor.

Korzenie wytwarzają wiele różnorodnych związków organicznych — lotnych lub rozpuszczalnych w wodzie; niektóre z nich są bezpośrednio przyswajalne dla mikroorganizmów ryzosferowych. Związki te mogą służyć jako atraktanty, źródło składników pokarmowych, a także jako wspomniane sygnały dla grzybów VAM w glebie przed infekcją korzeni.

Wiele związków produkowanych przez korzenie może równocześnie oddziaływać korzystnie, jako substancje wzrostowe zarówno na grzyby mikoryzowe, jak i na mikroflorę ryzosferową. Udowodniono, że kiełkowanie spor grzybów VAM i infekcja korzeni rośliny zależy od wielu czynników, między innymi od metabolitów bakteryjnych oraz licznych rozpuszczalnych metabolitów korzeniowych [4]. Żaden z tych

związków nie jest absolutnie niezbędny do kiełkowania spor lub wzrostu hyfy, lecz wiele z nich może regulować te procesy.

Po osiągnięciu powierzchni korzenia przez strzępkę grzyba, wydłużanie hyfy może być wspomagane przez wydzieliny korzeniowe. Na przykład wodorozpuszczalne wydzieliny z korzeni koniczyny [20] zwiększały wydłużanie się hyfy grzybów VAM. Nie wszystkie infekcje mikoryzowe korzeni są zapoczątkowane przez spory, niektóre mogą być inicjowane przez fragmenty natywnych strzępek i wezikul.

Również fosfor ma wpływ na skład chemiczny wydzielin korzeniowych, a zwłaszcza na stosunek cukrów do kwasów karboksylowych i aminocukrów [38]. Od jego zawartości w środowisku zależy także zawartość flawonoidów w wydzielinach korzeniowych.

Flawonoidy: apigenina, naringenina i hesperidina indukowały u roślin motylkowatych geny nodABC i zarazem zwiększały szybkość kiełkowania grzybów mikoryzowych [20]. Inne związki flawonoidowe również wykazują aktywność regulującą. Kwercetyna stymuluje kiełkowanie spor i wzrost hyf, izoflawonoidy (formononedina i biochanina-A) oraz flawon (chryzina) mogą stymulować wzrost grzybni i infekcję korzeni koniczyny przez *Glomus* sp. Wyżej wymienione związki wykazywały aktywność przy koncentracji od 0,5–5 $\mu g \cdot ml^{-1}$. Związki te zapewne nie służyły jako źródło węgla.

Dużą rolę w regulacji infekcji odgrywają też wspomniane lotne związki wydzielane przez korzenie roślin do ryzosfery. Mają one zdolność dyfundowania w glebie na większą odległość niż wydzieliny korzeniowe znajdujące się w roztworach glebowych. Dlatego też mogą one być lepiej dostosowane do komunikacji z niektórymi układami roślina–grzyb.

Wydzieliny gazowe pełnią w glebie wiele funkcji, między innymi uczestniczą w regulacji aktywności mikroflory glebowej. Produkowane są zarówno przez rośliny mikotroficzne (marchew), jak i niemikotroficzne (buraki). Udowodniono to umieszczając w pobliżu korzeni roślin naczynko z KOH, którego roztwór wiązał wydzieliny gazowe korzeni. Stosując równocześnie roztwór KOH i $KMnO_4$ ($KMnO_4$ utlenia niektóre związki organiczne) wykazano brak jakiejkolwiek reakcji grzyba VAM, co potwierdza że CO_2 jest w tym przypadku związkiem aktywnym. Zwiększenie koncentracji CO_2 o 0,5% stymulowało w obecności wydzielin korzeniowych wydłużanie się strzępek grzybów VAM.

Z badań Gemma i Koske [18] wynika, że gazowe wydzieliny roślin oddziałują chemotroficznie na grzybnię mikoryzową w obecności CO_2. Substancje stymulujące kiełkowanie spor VAM mogą produkować również mikroorganizmy glebowe [4]. Ryzosfera roślin zawiera bardzo dużą liczbę mikroorganizmów w porównaniu z ich liczebnością w glebie pozakorzeniowej. Zaobserwowano, że w warunkach naturalnych niektóre gatunki drobnoustrojów mogą oddziaływać stymulująco na grzyby VAM. Dla tych drobnoustrojów wprowadzono określenie "mycorrhizal helper bacteria" (MHB — bakterie wspomagające mikoryzę).

Thangstad i in. [47] stwierdzili, że spory grzybów mikoryzowych przed kiełkowaniem i bezpośrednio po wykiełkowaniu nie mogą syntetyzować DNA. Dopiero roślina-gospodarz dostarcza sygnałów do zainicjowania tego procesu i kontroli jego przebiegu, podobnie jak *u Rhizobium* — gdzie tworzenie brodawek jest kontrolowane przez gen nodABC. Transkrypcja tych genów jest kontrolowana przez produkty genu nodD i zawarte w wydzielinach korzeniowych związki fenolowe należące do flawonów lub flawononów. Regulatorowe metabolity mogą być również produkowane przez mikroorganizmy (zwłaszcza MHB) żyjące w ryzosferze roślin. Służą one do kontroli aktywności grzybów mikoryzowych [20].

Przy niskiej koncentracji związki fenolowe stają się niemalże uniwersalnymi sygnalnymi molekułami, którymi posługują się zarówno bakterie symbiotyczne roślin motylkowatych *(Rhizobium* i *Bradyrhizobium),* pasożytnicze bakterie takie jak *Agrobacterium,* jak również pasożytnicze *Angiospermae* [14]. Przy wyższym stężeniu wiele z tych sygnalnych molekuł jest czynnikiem allelopatycznym i antymikrobiologicznym (fitoaleksyny), co sugeruje, że wiele układów symbiotycznych wykorzystuje metabolity ochronne gospodarza do rozpoznania partnera symbiotycznego. System odporności roślin na atak patogenów opiera się — jak wspominano — na fenolach, których aktywność jest w dużym stopniu uzależniona od peroksydazy. Peroksydaza katalizuje bowiem utlenianie związków fenoli wchodzących w skład ściany komórkowej roślin. Spanau i Bonfante-Fasolo [41] wykazali, że szczepienie roślin grzybami mikoryzowymi wpływało na wzrost aktywności peroksydazy wydzielanej z korzeni w porównaniu z roślinami nie szczepionymi.

Infekcja roślin przez grzyby mikoryzowe powoduje przejściowo zwiększenie wydzielania aktywnej chitynazy przez korzenie roślin szczepionych w porównaniu z roślinami nie szczepionymi [40]. Wyniki te potwierdzają hipotezy, że grzyby mikoryzowe mogą inicjować różne akcje obronne rośliny.

Innym czynnikiem obronnym roślin przed patogenami jest produkcja i szybka akumulacja fitoaleksyn — związków, których synteza jest indukowana przez elicitor (metabolit wywoławczy) molekularny pochodzący z atakującego grzyba lub bakterii [43]. Morandi i in. [33] w badaniach nad soją stwierdzili, że grzyby mikoryzowe po zainfekowaniu korzeni roślin wywoływały u nich wzrost poziomu izoflawonoidu o charakterze fitoaleksyny. Zakażenie rośliny *Salsola kali* (*Chenpodiaceae*) grzybami mikoryzowymi VAM indukuje u niej system obronny. Część korzeni zainfekowanych staje się brunatna i fluoryzująca, co sugeruje, że jest to fenolowy system obronny. Przypadek ten wskazywałby na potraktowanie wówczas przez roślinę grzyba mikoryzowego VAM jako potencjalnego pasożyta.

W naturze bardzo rzadko spotyka się niemikotroficzne gatunki roślin. Badanie reakcji tych roślin na grzyby VAM w porównaniu do reakcji roślin mikotroficznych może wyjaśnić wiele problemów. Gatunki roślin, u których nie stwierdza się rozwoju mikoryzy arbuskularnej, należą najczęściej do *Caryophyllaceae, Phytolaccaceae, Nyctaginaceae, Chenopodiaceae, Amaranthaceae, Portulaceae, Caryophylaceae,*

Brassicaceae, Capparaceae, Resedaceae. Znane też są wyjątki, że wśród mikotroficznych rodzin występują gatunki roślin niemikotroficzne, jak np. *Lupinus* sp. należący do rodziny *Papillionaceae* [3].

Badania wykazały, że rośliny zainfekowane grzybami mikoryzowymi mają zdolność pobierania większej ilości fosforu z gleby niż rośliny nie zainfekowane. Rośliny zaś niemikotroficzne wyposażone są we włośniki, które również pomagają im w pobieraniu fosforu, w ekskrecji proteidów korzeniowych, chelatów i kwasów oraz w zakwaszaniu ryzosfery i w podnoszeniu aktywności fosfatazy [37]. Gorczyca może przykładowo redukować konkurencję o fosfor poprzez produkcję substancji allelopatycznych [27]. *Urtica dioica* (pokrzywa parząca) jest również przedstawicielem roślin niemikotroficznych, która z kolei stosuje inną strategię; rośnie ona w warunkach naturalnych na glebach o dużej zawartości fosforu [37].

Zaobserwowano, że u roślin niemikotroficznych hyfy grzyba rosną jedynie wokół korzeni roślin, bez penetrowania ich tkanek. Niezdolność do penetracji może być wywołana brakiem dodatniej stymulacji lub też brakiem wystarczającej ilości pokarmu. Obecność korzeni mikotroficznych gatunków może w niektórych przypadkach (bliskie sąsiedztwo roślin, uprawy mieszane) wspomagać penetrację i pewien wzrost grzybów VAM w korzeniach roślin niemikotroficznych. Wzrost strzępek i kolonizacji stymulowany w ten sposób obserwowano u niektórych roślin z rodzin *Chenopodiaceae, Brassicaceae* i rodzaju *Lupinus* [12, 34].

Znaczenie antygrzybowych związków produkowanych przez różne gatunki roślin niemikotroficznych

Badania nad mechanizmem odpowiedzialnym za brak mikotrofizmu u roślin bardzo często prowadzone są na gorczycy. Z nasion gorczycy produkuje się olej musztardowy (izotiocyjaniny), który posiada potencjalne właściwości toksyczne i może wykazywać działanie owadobójcze [30], antybiotyczne, a także działanie allelopatyczne i grzybobójcze [24]. Izotiocyjaniny są produktami hydrolizy metabolitów zawierających siarkę, zwanych glukozynolatami; często są to związki lotne, chociaż znane są też i formy nielotne. Glukozynolaty w trakcie hydrolizy mogą przekształcać się w inne związki, w tym w nitrylowe, tiocyjaninowe i inne — zależnie od struktury związku, z którego powstają i od warunków hydrolizy [13].

Nadal aktualne pozostaje otwarte pytanie, czy duża koncentracja izotiocyjanin występująca w ryzosferze i ryzoplanie może być przyczyną braku mikoryzy u niektórych roślin, zwłaszcza zawierających w tkankach tiocyjaniny. Stwierdzono, że glukozynolaty nie są zaangażowane w inhibicji infekcji *Brassica* sp. przez grzyby mikoryzowe. Z drugiej strony zauważono ograniczanie kolonizacji VAM jedynie do strefy martwych komórek korowych, niezdolnych do produkcji izotiocyjanin. Zarazem strzępki grzyba wzrastające w pobliżu zdrowych komórek wykazywały anormal-

ne przemieszczenia cytoplazmy. Podobnie też Tester i in. [46] uważają, że izotiocyjaniny nie były skuteczne w hamowaniu infekcji mikoryzowej roślin, ponieważ niektóre gatunki roślin produkujące izotiocyjaniny były pomimo to kolonizowane przez grzyby VAM.

Można przypuszczać, że zróżnicowane oddziaływanie izotiocyjanin na kiełkowanie spor i kolonizację korzeni przez strzępki VAM może być wynikiem dużej zmienności struktury, stężenia i aktywności tej grupy związków, różnej wrażliwości poszczególnych gatunków grzybów VAM oraz potencjalnych możliwości detoksykacji tych związków w strefie korzeniowej różnych gatunków roślin.

Pojawia się coraz więcej informacji o tym, że gorczyca produkuje wiele związków, które oddziałują niekorzystnie na grzyby mikoryzowe. Stwierdzono także, że frakcja lotna wydzielana przez gorczycę jest produktem reakcji glukozynolatu, synigryny z myrosinazą (enzym) [24]. Powstały związek jest bardzo lotnym, silnym inhibitorem kiełkowania spor grzybów *Glomus mosseae* [49]. Również ekstrakty rzodkiewki i roślin kapustnych zastosowane na korzenie lucerny redukują skutecznie zdolność do infekcji korzeni tej rośliny przez grzyby mikoryzowe oraz hamują kiełkowanie spor *Glomus mosseae*. Z badań tych jednoznacznie wynika, że niektóre izotiocyjaniny są inhibitorami grzybów mikoryzowych [50].

Związki przeciwgrzybowe produkowane są także przez rośliny należące do innych rodzin. Na przykład w obecności korzeni *Lupinus* hyfy grzybów VAM są anormalne i anatomicznie zdeformowane [34]. Badania Gianinazzi-Pearson i Gianinazzi [19] wykazały, że szczepienie łodygi łubinu na korzeniach mikotroficznego grochu wywoływało kompletne zahamowanie tworzenia arbuskul i redukowało rozwój grzybni w korzeniach tej rośliny. Sugeruje to, że czynnik hamujący mikoryzę wytwarzany był w łodydze łubinu, jednakże dotychczas nie został on zidentyfikowany [21].

Urtica dioica L. (pokrzywa parząca) jest niemikotroficznym przedstawicielem roślin z rodziny *Urticaceae*. Roślina ta produkuje lektyny (*Urtica dioica* aglutynin = UDA) zdolne do wiązania chityn i będące potencjalnym inhibitorem rozwoju grzybów [11]. Inne lektyny roślinne, takie jak aglutyniny kiełków pszenicy i lektyny ziemniaków, wykazują mniejszą aktywność antygrzybową. Interesujące jest, że pomimo to pszenica i ziemniaki należą do gatunków mikotroficznych. Brak jest dotychczas jednoznacznych dowodów na to, że UDA może efektywnie zapobiegać tworzeniu się mikoryzy.

Niektóre związki produkowane przez gatunki niemikotroficzne mogą zakłócać reakcje lub same sygnały w interakcjach roślin mikotroficznych z grzybami VAM. Na przykład izotiocyjaniny wykazują aktywność antybakteryjną, ponieważ mają duże powinowactwo do aminokwasow i peptydów, protein, zwłaszcza zawierających grupy tiolowe, siarczkowe i terminalne grupy aminowe [29]. Jeśli peptydy, proteiny lub inne związki z grupami tiolowymi, siarczynowymi lub aminowymi były włączone w proces sygnalizacyjny niezbędny do mikoryzowej infekcji, to wtedy obecność izotio-

cyjanin blokowała możliwość takiej infekcji, niezależnie od innych bezpośrednich oddziaływań antygrzybowych.

Vierheilig i Ocampo [50] wykazali, że niektóre związki rozpuszczalne, izolowane ze szpinaku (*Chenopodiaceae*) wykazywały zdolność do inhibicji kiełkowania spor VAM. W wielu wypadkach również gazowe wydzieliny korzeniowe roślin z rodziny komosowatych miały właściwości antygrzybowe [50]. Gazowe wydzieliny z korzeni buraka mają z kolei właściwości stymulujące wzrost hyf grzybów VAM [6], a także mogą wykazywać działanie chemotropiczne. Należy tu podkreślić, że więcej przypadków symbiozy opisywano w rodzinie *Chenopodiaceae* niż w rodzinie *Brassicaceae.*

Na ogół bardzo trudno jest uogólniać naturę kompatybilności pomiędzy grzybami mikoryzowymi i ich gospodarzem. Należy sądzić, że u niemikotroficznych gatunków roślin jest wiele mechanizmów nie dopuszczających do powstawania symbiozy. Jednym z nich może być brak odpowiednich związków (mediatorów) pozwalających na rozpoznanie się właściwego gospodarza z właściwym grzybem. Innym mechanizmem blokowania symbiozy może być produkcja związków przeciwgrzybowych przez rośliny. Brak mikotrofizmu u niektórych gatunków roślin może wynikać z równoczesnego zaangażowania obydwu opisanych mechanizmów.

Regulacja infekcji i wzrost grzyba VAM w roślinie-gospodarzu

W regulacji symbiozy występuje wiele mechanizmów ograniczających lub stymulujących kolonizację (infekcję) korzeni roślin przez grzyby VAM, uruchamianych zależnie od warunków środowiskowych. Schwab i in. [39] sugerują, że jednym z mechanizmów może być wzajemny transfer węglowodanów i fosforanów pomiędzy symbiontami. Mechanizm translokacji węglowodanów i fosforu nie jest jeszcze dokładnie poznany, chociaż uważa się, że translokacja fosforu z grzybni do rośliny-gospodarza może być aktywna, podobna do obserwowanej na membranach chloroplastów — gdzie fosforan jest wymieniany na fosfotriozę. Dawałoby to odpowiedź na pytanie, dlaczego u roślin rosnących w warunkach ekstremalnie niskiej zawartości fosforu w glebie występuje mała kolonizacja korzeni przez grzyby VAM [1]. Przy bardzo małej zawartości fosforu w glebie za mało jest w roślinie Pi niezbędnego do translokacji węglowodanów dla grzybów mikoryzowych. Często ograniczenie infekcji może być wynikiem niedostatecznego dopływu energii świetlnej niezbędnej w fotosyntezie węglowodanów, co w efekcie może ograniczać produkcję spor przez grzyby i szybkość infekcji korzeni przez grzyba VAM.

Zawartość fosforu w roślinie często wykazuje odwrotną korelację z poziomem infekcji VAM. Stwierdzono, że dodatek fosforu redukuje szybkość wzrostu hyf wewnątrz korzenia, a także szybkość infekcji zewnętrznej i liczbę nowych punktów

infekcji [1, 17, 28]. Efekt ten niektórzy badacze nazywają samoregulacją, ponieważ wzrost dostępności w glebie fosforu przyswajalnego powoduje, że grzyb przestaje być ważnym czynnikiem z punktu widzenia gospodarki fosforowej gospodarza. Dodatek azotu może zwiększać infekcję mikoryzową, ponieważ następuje wówczas spadek stężenia fosforanów w tkankach, wywołany wzrostem roślin [23]. Wynika z tego, że roślina-gospodarz posługuje się wieloma mechanizmami regulującymi infekcję mikoryzową korzeni. Po pierwsze, chemiczne sygnały produkowane przez gospodarza przyspieszają infekcję. Po drugie, produkowane chemiczne związki defensywne mogą działać selektywnie jako czynniki ograniczające infekcję. W końcu, roślina-gospodarz może regulować również szybkość przepływu węglowodanów wykorzystywanych przez grzyba.

Regulacja przez związki chemiczne, enzymy i zmiany anatomiczne

Stwierdzono, że w regulacji infekcji korzeni roślin przez grzyby mikoryzowe ważną rolę mogą odgrywać związki chemiczne, takie jak: chitynazy, fenole, fitoaleksyny i inne [12].

Ważną rolę odgrywają tu zmiany anatomiczne i chemiczne związki obronne, które wpływają na szybkość penetracji korzeni przez grzyby VAM. Wytwarzanie brodawek na korzeniach wokół hyfy może również ograniczać ich infekcję przez grzyby mikoryzowe. Duże znaczenie mają także przebiegające przez korzenie kanały powietrzne, które pozwalają na szybki wzrost grzybni wewnętrznej. Drew i in. [16] stwierdzili, że niedobór fosforu powoduje tworzenie się tkanki powietrznej w kukurydzy. Jakkolwiek może to mieć pewien wpływ na szybkość wewnętrznej kolonizacji korzeni, zależność taka nie została jednak w pełni wyjaśniona; badania w tym kierunku mogą więc dostarczyć wielu cennych informacji. Stwierdzono również, że suberyzacja ścian komórkowych egzodermalnych może także stanowić fizyczną barierę dla ich penetracji przez grzyby VAM.

Regulacja poprzez kontrolę transferu węglowodanów

Grzyby mikoryzowe niemal całkowicie są uzależnione od transferu węglowodanów, dlatego też regulacja wzrostu grzybów VAM poprzez dostępność tego substratu jest bardzo silna. Regulacja może odbywać się wieloma drogami, w tym poprzez:

— zmiany w przemieszczaniu węglowodanów do systemu korzeniowego,
— zmiany szybkości wydzielania węglowodanów z korzeni,
— kontrolę liczebności arbuskul,

— regulację transferu węglowodanów do arbuskul.

Jeżeli wzrasta ilość przyswajalnego fosforu w ryzosferze, to zmniejsza się przemieszczanie węglowodanów [48]. W niektórych wypadkach spada całkowita ilość przemieszczanych węglowodanów, w innych wzrasta frakcja przyswajalnych fosforanów, co może powodować miejscowe namnażanie się hyf grzybów w korzeniu [42], co — jak wiadomo — wymaga zwiększonego dopływu węglowodanów. Stosunkowo mało uwagi poświęcano dotychczas zagadnieniu, jaki wpływ na wzrost grzybów mikoryzowych wywiera przemieszczanie się węglowodanów do systemu korzeniowego. Wykazano jednak w wielu badaniach, że gdy zmniejsza się zawartość fosforanów w komórkach, to membrany korzeni stają się mało szczelne. Schwab i in. [38] uważają, że wzrost ilości wydzielin pozakorzeniowych ma miejsce wówczas, gdy zmniejsza się zaopatrzenie roślin w fosfor. Następuje wówczas stymulacja aktywności grzybów, co powoduje wzrost infekcji korzeni.

Ilość wydzielin korzeniowych wzrasta także przy wyższych temperaturach gleby [22], w trakcie wzrostu rośliny-gospodarza i przy małym natężeniu światła [48]. W każdym z wymienionych wypadków, niezależnie od stanu zaopatrzenia roślin w fosfor, od ilości wydzielin korzeniowych zależy tempo infekcji i występuje tu ścisła korelacja tych czynników. U wielu roślin już kiełkujący korzonek zarodkowy jest infekowany przez grzyby mikoryzowe. W ten sposób, gdy w glebie są propagule grzybów mikoryzowych, to infekcja może nastąpić niezależnie od zawartości przyswajalnego fosforu w glebie. Wielu autorów uważa jednak, że wysoki poziom P i N może ewidentnie zmniejszać kolonizację korzeni przez grzyby VAM i produkcję strzępek pozakorzeniowych [1].

Proporcje pomiędzy zawartościami N i P w roztworze glebowym wpływają także na kolonizację [5], chociaż pewien wpływ mają również poszczególne genotypy grzybów, w różnym stopniu reagujące na stosunek N/P [26]. Obserwuje się wiele interakcji pomiędzy żywieniem rośliny a jej infekcją przez grzyby VAM, brak więc w warunkach polowych korelacji między tymi czynnikami nie budzi zdziwienia.

Adaptacja i reakcja wzrostowa roślin na mikoryzę

Grzyby mikoryzowe VAM mogą adaptować się zarówno do niskiego, jak i do wysokiego poziomu nawożenia gleby. Lambert i in. [30] sprawdzali poziom infekcji roślin przez wiele gatunków grzybów VAM w zależności od zawartości rozpuszczalnego P w glebie. Stwierdzili oni, że plon roślin był zawsze wyższy wówczas, gdy do ich szczepienia używano grzybów rodzimych. Podobne wyniki uzyskali Henkel i in. [23], wnioskując z tego, grzyby VAM mogą się adaptować do niskich zawartości P w glebie.

Stwierdzono również, że grzyby mikoryzowe mogą występować także w glebach o dużej zawartości rozpuszczalnego fosforu. Grzyby te są tolerancyjne na podwyższo-

ne stężenie P w glebie. Przypuszczalnie genotyp grzyba VAM może się adaptować zarówno do niskiej, jak i do wysokiej zawartości P. Efekt mikoryzy VAM na rośliny w warunkach wysokiego nawożenia jest zmienny. W niektórych przypadkach nie widać korzystnego oddziaływania tych grzybów na rośliny [26], zwłaszcza w postaci przyrostu plonu [32]; często — w warunkach wysokiej zawartości P w glebie — spotyka się nawet obniżanie plonu roślin mikoryzowych w stosunku do roślin niemikoryzowych.

Podsumowanie

Obecnie uważa się, że niemal wszystkie rośliny nagozalążkowe i około 85% okrytozalążkowych może tworzyć mikoryzy. Wszystkie nagozalążkowe rośliny lądowe infekowane są przez tworzące ektomikoryzę grzyby, które umożliwiają lub wspomagają przeżywalność i ich reprodukcję. Rośliny zielne tworzą głównie endomikoryzę typu wezikularno-arbuskularnego w symbiozie z grzybami należącymi do klasy *Zygomycetes* — rzędy *Glomales* i *Gigasporoceae*. Są to obligatoryjne biotrofy, czerpiące składniki pokarmowe z żywych komórek gospodarza. Interakcja pomiędzy partnerami symbiozy — rośliną i grzybem — prowadzi do bardzo głębokich zmian zarówno w organach podziemnych, jak i nadziemnych roślin, wyrażających się zmianą ilości i jakości wydzielin korzeniowych, sposobem rozprowadzania węgla w liściach, łodygach i korzeniach roślin, zaopatrzeniem roślin w składniki pokarmowe, takie jak fosfor, azot oraz mikroelementy. Wzrasta też u roślin odporność na niektóre patogeny, stres związany z deficytem wody i toksycznym wpływem metali ciężkich w podłożu. Po to, aby nastąpiła symbioza pomiędzy roślinnym gospodarzem i grzybem VAM, muszą zadziałać molekularne sygnały. Punktem odbioru sygnałów mogą być spory lub receptory wewnątrzkorzeniowe. Indukują one w roślinie geny kodujące odpowiednie zmiany fizjologiczne i anatomiczne do funkcjonowania efektywnej symbiozy.

Literatura

[1] Amijee F., Tinker P.B., Stribley D.P. 1989. The development of endomycorrhizal root systems. VII. A detailed study of effects of soil phosphorus on colonization. *New Phytol.* 111: 435–446.

[2] Anderson A.J. 1988. Mycorrhizae-host specificity and recognition. *Phytopathology* 78: 375–378.

[3] Avio L., Sbrana C., Giovannetti M. 1990. The response of different species of Lupinus to VAM endophytes. *Symbiosis* 9: 321–323.

[4] Azcon-Aguilar C., Diaz-Rodriguez R.M., Barea J.M. 1986. Effect of soil micro-organisms on spore germination and growth of the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus Glomus mosseae. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 86: 337—340.

[5] Baath E., Spokes J. 1989. The effect of added nitrogen and phosphorus on mycorrhizal growth response and colonization in Allium schoenoprasum. *Can. J. Bot.* 67: 3227–3232.

[6] Becard G., Piche Y. 1989. New aspects on the acquisition of biotrophic status by a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus Gigaspora margarita. *New Phytol.* 112: 77–83.
[7] Becard G., Piche Y. 1989. Fungal growth stimulation by CO_2 and root exudates in vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Appl. Environ. Microbiol.* 55: 2320–2325.
[8] Bonfante P. 1994. The infection process in arbuscular mycorrhizae. Arbusclar Mycorrhizae — Towards a European Network Abstracts. Meeting in Kraków, Poland, 2nd to 5th June 1994. pp. 17.
[9] Bothe H., Danneberg G., Latus C., Esch H., Hundeshagen B. 1994. Phytohormonal balances in arbuscular mycorrhiza. Arbuscular Mycorrhizae — Towards a European Network Abstracts. Meeting in Kraków, Poland, 2nd to 5th June 1994. pp. 16.
[10] Brett C., Waldron K. 1990. Physiology and Biochemistry of Plant Cell Walls, pp. 137–154. London: Univ. Hyman. 194 pp.
[11] Broekaert W.F., Van Parijs J., Leyns F., Joos H., Peumans W.J. 1989. A chitin-binding lectin from stinging nettle rhizomes with antifungal properties. *Science* 245: 1100–1102.
[12] Campbell A.G. 1959. A germination inhibitor and root growth retarder in Chou Moellier (Brassica oleracea var.). *Nature* 183: 1263–1264.
[13] Chew F.S. 1988. Biological effects of glucosinolates. In Biologically Active Natural Products: Potential Use in Agriculture, ed. H.G. Cutler, pp. 155–181. Washington, DC: Am. Chem. Soc.
[14] Dixon R.A., Lamb C.J. 1990. Molecular communication in interactions between plants and microbial pathogens. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 41: 439–467.
[15] Doss D.D., Bagyaraj D J., Syamasundar J. 1989. Morphological and histochemical changes in the roots of finger millet Eleusine coracana colonized by VA mycorrhiza. Proc. Indian Natl. Sci. Acad. 54: 291–293. [19] Douds, D.D.
[16] Drew M.C., Morgan P.W. 1989. Decreased ethylene biosynthesis and induction of starvation in adventitious roots of Zea mays L. *Plant Physiol.* 91: 266–271.
[17] Fitter A.H. 1988. Water relations of red clover Trifolium pratense L. as affected by VA mycorrhizal colonization of phosphorus supply before and during drought. *J. Exp. Bot.* 39: 595–603.
[18] Gemma J.N.,Koske R.E. 1988. Preinfection interactions between roots and the mycorrhizal fungus Gigaspora gigantea: chemotropism of germ tubes and root growth response. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 91: 123–132.
[19] Gianinazzi-Pearson V., Gianinazzi S. 1989. Cellular and genetical aspects of interactions between hosts and fungal symbionts in mycorrhizae. *Genome* 31: 336–341.
[20] Gianinazzi-Pearson V., Branzanti B., Gianinazzi S. 1989. In vitro enhancement of spore germination and early hyphal growth of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus by host root exudates and plant flovonoids. *Symbiosis* 7: 243–255.
[21] Giovanetti C., Sbrana A.S., Citernesi L., Avio A., Gollotte V., Gianinazzi-Pearson V., Gianinazzi S., 1994. Recognition and infection process, basis for host specificity of arbuscular mycorrhizal fungi. In Impact of arbuscular mycorrhizas on sustainable agriculture and natural ecosystems. S. Gianinazzi and H. Schuepp (eds.). 1994. Birkhauser Verlag, pp.61–72.
[22] Graham J.H. 1988. Interactions of mycorrhizal fungi with soilborne plant pathogens and other organisms: an introduction. *Phytopathology* 78: 365–366.
[23] Henkel T.W., Smith W.K., Christensen M. 1989. Infectivity and effectivity of indigenous vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi from contiguous soils in southwestern Wyoming. USA. *New Phytol.* 112: 205–214.
[24] Holley R.A., Jones J.D. 1985. The role of myrosinase in the development of toxicity toward Nematospora in mustard seed. *Can. J. Bot.* 63: 521–526.
[25] Jakobsen I., Joner E.J., Larsen J. 1994. Hyphal phosphorus transport, a keystone to mycorrhizal enhancement of plant growth. In: Immpact of arbuscular mycorrhizas on sustainable agriculture and natural ecosystems. S. Gianinazzi, H. Schuepp (eds). 1984, pp. 147–166, Birkhauser Verlage.
[26] Johnson N.C., Pfleger F.L., Crookston R.K.; Simons S.R., Copeland P.J. 1991. Vesicular-arbuscular mycorrhizas respond to corn and soybean cropping history. *New Phytol.* 117: 657–663.

[27] Ju H.Y., Bible B.B., Chong C. 1983. Influence of ionic thiocyanide on growth of cabbage, bean, and tobacco. *J. Chem. Ecol.* 9: 1255–1262.
[28] Jungk A. 1987. Soil-root interactions in the rhizosphere affecting plant availability of phosphorus. *J. Plant. Nutr.* 19: 1197–1204.
[29] Kawakishi S., Kaneko T. 1985. Interaction of oxidised glutathione with allyl isothiocyanate. *Phytochemistry* 24: 715–718.
[30] Larson P.O. 1981. Glucosinolates. In The Biochemistry of plants, ed. P.K. Stumpf, E.E. Conn, 7: 501–525. London: Academic Press,UK.
[31] Lambert D.H., Cole H., Baker D.E. 1980b. Adaptation of vesicular-arbuscular mycorrhizae to edaphic factors. *New Phytol.* 85: 513–520.
[32] McGonigle T.P., Fitter A.H. 1988. A numerical analysis of published field trials with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Funct. Ecol.* 2: 473–478.
[33] Morandi D., Bailey J.A., Gianinazzi-Pearson V. 1984. Isoflavonoid accumulation in soyabean roots infected with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Physiol. Plant Pathol.* 24: 357–364.
[34] Marley C.D., Mosse B. 1976. Abnormal vesicular-arbuscular mycorrhizal infections in white clover induced by lupin. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 67: 510–513.
[35] Morton J.B., Benny G.L. 1990. Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): A new order, Glomales, two new suborders Glomineae and Gigasporineae, and two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an emendation of Glomaceae. *Mycotaxon* 37: 471–491.
[36] Ocampo J.A., Cardona F.L., El-Atrach F. 1986. Effect of root extracts of non host plants on VA mycorrhizal infection and spore germination. In Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae, ed. V. Gianinazzi-Pearson, S. Gianinazzi, pp. 721–724, Paris: INRA, 832 pp.
[37] Rorison I.H. 1968. The response to phosphorus of some ecological distinct plant species. I. Growth rates and phosphorus absorption. *New Phytol.* 67: 913–923.
[38] Schwab S.M., Menge J.A., Leonard R.T. 1983. Quantitative and qualitative effects of phosphorus on extracts and exudates of sudangrass roots in relation to vesicular-arbuscular mycorrhiza formation. *Plant Physiol.* 73: 761–765.
[39] Schwab S.M., Menge J.A., Tinker P.B. 1991. Regulation of nutrient transfer between host and fungus in vesicular-arbuscular mycorrhizas. *New Phytol.* 117: 387–398.
[40] Smith S.E., Gianinazzi-Pearson V. 1988. Physiological reactions between symbionts in vesicular-arbuscular mycorrhizal plants. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 39: 221-244.
[41] Spanu P., Bonfante-Fasolo P. 1988. Cell-wall-bound peroxidase activity in roots of mycorrhizal Alium porrum. *New Phytol.* 109: 119–124.
[42] Stebbins G.L. 1974. Flowering Plants: Evolution Above. Cambridge, MA: Harvard Univ. Press.
[43] Stone B.A. 1989. Cell walls in plant-microorganisms associations. *Aust. J. Plant Physiol.* 16: 5–17.
[44] Sylvia D.M., Jarstfer A.G. 1992. Sheared-root inocula of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Appl. Environ. Microbiol.* 58: 229–232.
[45] Sylvia D.M. 1992. Quantification of external hyphae a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. In: I.R. Norris, D.J. Read and A.K. Varma (eds). Methods in Microbiology. 24: 53–65.
[46] Tester M., Smith S.E., Smith F.A. 1987. The phenomenon of nonmycorrhizal plants. *Can. J. Bot.* 63: 419–431.
[47] Thangstad O.P., Iverson T.H., Slupphaugh G., Bones A. 1990. Immunocytochemical localization of myrosinase in Brasica napus L. *Planta* 180: 245–248.
[48] Thomson B.D., Robson A.D., Abbott L.K. 1990. Mycorrhizas formed by Gigaspora calospora and Glomus fasciculatum on subterranean clover in relation to soluble carbohydrate concentrations in roots. *New Phytol.* 114: 217–225.
[49] Trappe J.M. 1987. Phylogenetic and ecologic aspects of mycotrophy in the angiosperms from an evolutionary standpoint. In Ecophysiology of VA Mycorrhizal Plants, G.R. Safir (ed). CRC Press, Boca Roton, pp. 2–25.

[49] Vierheilig H., Ocampo J.A. 1990. Role of root extract and volatile substances of non-host plants on vesicular-arbuscular mycorrhizal spore germination. *Symbiosis* 9: 199–202.
[50] Wyss P., Bonfante P. 1993. Amplification of genomic DNA of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi by PCR and short arbitrary primers. *Mycol. Res.* 97: 1351–1357.

Vesicular-arbuscular mycorrhizas of herbaceous plants

Summary

Probably all gymnosperms and about 85% angiosperms are able to form mycorrhizae. All terrestial gymnosperms seem to require mycorrhizae for survival and reproduction in the natural environment. Most of the herbaceous plants are exlusively VAMF partners.

The VAM fungi show a wide distribution — they belong to several genera of the *Zygomycetes*, Glomales and *Gigasporinae* orders. They are obligatory biotrophic organisms, acquiring nutritional elements from living cells of plant roots.

The interaction between root cells and arbuscular mycorrhizal fungi changes: quantity and quality of roots exudates; transportation of carbon between leaves, stalks and roots of plants, uptake of P, N and microelements by plants. The root colonization by symbiotic fungi contributes to biocontrol of plant pathogens, decrease of water deficiency stress and toxicity of heavy metals to plants. Plant roots colonization by VAM fungi is controlled by molecular signals. These signals reach both the fungal spores and intracellular receptors of plants on specific points on the membrane.

Molecular signals from VAM fungi induce expression of specific plant symbiosis genes controlling establishment and effectiveness of mycorrhiza.