

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Speciální biochemické obory

Obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



Jana Janoušková

Lokalizace membránových transportérů ve vztahu k diferenciaci exodermis

Localisation of membrane transporters in relation to exodermis differentiation

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Edita Tylová, Ph.D.

Konzultant: RNDr. Aleš Soukup, Ph.D.

Praha 2016

Poděkování:

Velice děkuji své školitelce RNDr. Editě Tylové, Ph.D. za veškeré pečlivé korektury, ochotu pomoci a za rady a nápady, kterými mne inspirovala a motivovala k dokončení této práce.

Prohlášení:

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

V Praze, 5.5.2016

.....

Obsah

1. Úvod.....	1
2. Radiální transport látek kořenem.....	2
2.1 Apoplast, symplast, transcelulární cesta.....	2
3. Apoplastické bariéry.....	4
3.1 Endodermis.....	5
3.2 Exodermis.....	6
4. Lokalizace membránových transportérů živin a vody v kořenech rostlin.....	9
3.3 Aquaporiny.....	9
3.4 Křemíkové transportéry.....	12
3.5 Transport boru.....	16
3.6 Fosfátové transportéry.....	19
3.7 Transportéry nitrátu a amonného iontu.....	23
5. Závěr.....	27
6. Seznam použité literatury:.....	28

Abstrakt:

Radiální transport živin a vody kořenem rostlin během jejich pohybu z rhizosféry do vodivých pletiv středního válce je ovlivněn mnoha faktory, mezi které patří i tvorba apoplastických bariér exodermis a endodermis. Diferenciace těchto bariér probíhá v několika stupních, je ovlivněna podmínkami prostředí i druhem rostliny. Některé druhy tvoří pouze endodermis, avšak u jiných nalezneme pod rhizodermálními buňkami diferencovanou strukturu zvanou exodermis. Exodermis a endodermis brání volnému pohybu látek apoplastem, tedy prostorem zahrnujícím buněčné stěny. Přechod do symplastu je klíčovým místem regulace příjmu látek do rostliny a endodermis v tomto směru představuje zásadní strukturu. Přítomnost exodermis však ovlivňuje propustnost apoplastu povrchových vrstev kořene a může proto ovlivnit zapojení buněk primární kůry v příjmu látek z prostředí. Recentně se také diskutuje význam transcelulární cesty transportu látek primární kůrou kořene, během které jsou látky (např. ionty minerálních živin) opakovaně přijímány a vydávány do apoplastu. Transcelulárního transportu se mohou účastnit membránové přenašeče lokalizované na plazmatické membráně buněk různých kořenových struktur, exodermis a endodermis nevyjímaje. Význam transcelulární cesty není doposud objasněn. Cílem práce je proto shrnout dosavadní poznatky o výskytu (lokalizaci) membránových transportérů živin a vody v kořenech rostlin, které exodermis tvoří v porovnání s druhy, u kterých k diferenciaci exodermis nedochází. Práce zároveň shrnuje poznatky o možné změně výskytu transportérů na plazmalemě buněk primární kůry v souvislosti s postupem diferenciaci exodermální vrstvy. Tyto poznatky přispějí k pochopení reálného dopadu přítomnosti exodermis na transportní vlastnosti kořene i mechanismus radiálního transportu látek kořenem.

Klíčová slova: exodermis, endodermis, symplast, apoplast, transport, transportér, příjem, kořen, plazmalema, rýže (*Oryza sativa*)

Abstract:

Radial transport of nutrients and water by plant roots during their movement from the rhizosphere to vascular tissues of a central cylinder is influenced by many factors, which include a creation of apoplastic barriers such as exodermis and endodermis. Differentiation of these barriers occurs in several steps, it is influenced by environmental conditions and plant species. Some species create only the endodermis but in many others differentiated structure called exodermis can be found under rhizodermal cells. The exodermis and the endodermis impede a free movement of substances within apoplast. A transition to a symplast is a key point of uptake control in plant roots and the endodermis represents the key structure. Presence of the exodermis affects apoplast permeability of root surface layers and can therefore affect an involvement of cortex cells in uptake of the substances from the environment. Recently an importance of a transcellular pathway of the transport of the substances within root cortex is also discussed during which the substances (eg. ions of mineral nutrients) are repeatedly entering symplast and leaving for the apoplast. Membrane transporters localized on a plasma membrane of cells of different root structures including exodermis and endodermis can participate in the transcellular transport. An importance of transcellular pathway has not been elucidated yet. An aim of this work is to summarize existing knowledge about the occurrence (localization) of membrane transporters of nutrients and water in the roots of plants, which create the exodermis compared with species where the exodermis is lacking. This thesis also summarizes information on possible change of an occurrence of carriers at the plasmalemma of the cortex cells in a context of a process of the exodermal layer differentiation. These findings may elucidate a real impact of the presence of the exodermis on transport properties of the root and a mechanism of the radial transport by root.

Key words: exodermis, endodermis, symplast, apoplast, transport, transporters, uptake, root, plasmatic membrane, rice (*Oryza sativa*)

Seznam použitých zkratek:

AtAMT - Ammonium transporter u *Arabidopsis thaliana*

AtBOR1 - boron efflux carrier u *Arabidopsis thaliana*

AtNIP - Nodulin26-like major Intrinsic Proteins u *Arabidopsis thaliana*

AtNRT - Nitrate Transporters family u *Arabidopsis thaliana*

BOR1 - boron efflux carrier

BS - buněčná stěna

CLC - Chloride Carrier/Channel family

CP – Casparyho proužky

CTC – „cell to cell“

ER – endoplazmatické retikulum

HATS – High Afinity Transporters

HvLsi - Low silicon rice u *Hordeum vulgare*

HvPht - Phosphate transporter u *Hordeum vulgare*

LATS – Low Afinity Transporters

LeAMT - Ammonium transporter u *Solanum lycopersicum*

Lsi – Low silicon rice

MIP – Major Intrinsic Protein

NIPs – Nodulin26-like major Intrinsic Proteins

NRT1/PTR - Nitrate Transporters/Peptide Transporters family

NRT2 - Nitrate Transporters family

OsAMT – Ammonium transporter u *Oryza sativa*

OsBOR1 - boron efflux carrier u *Oryza sativa*

OsNIP - Nodulin26-like major Intrinsic Proteins u *Oryza sativa*

OsNPF – dříve NRT1/PTR

OsPht - Phosphate transporter u *Oryza sativa*

OsPIP - Plasma membrane Intrinsic Proteins u *Oryza sativa*

OsTIP - Tonoplast Intrinsic Proteins u *Oryza sativa*

Pht1 - high-affinity inorganic Phosphate transporter

PIPs - Plasma membrane Intrinsic Proteins

SCR – SCARECROW

SHR - SHORTROOT

SIPs – Small basic Intrinsic Proteins

StPT2 - Phosphate Transporter u *Solanum tuberosum*

TIPs – Tonoplast Intrinsic Protein

XIPs - unclassified X Intrinsic Proteins

ZmLsi – Low silicon rice u *Zea mays*

ZmNRT – Nitrate Transporters family u *Zea mays*

ZmPht - Phosphate transporter u *Zea mays*

ZmPIP - Plasma membrane Intrinsic Proteins u *Zea mays*

ZmPIP - Plasma membrane Intrinsic Proteins u *Zea mays*

NAXT1– Nitrate excretion transporter

1. Úvod

Exodermis, hypodermis s diferencovanými Casparyho proužky, je apoplastická bariéra nacházející se u mnohých druhů vyšších rostlin v kořenech pod rhizodermis, která ovlivňuje transportní vlastnosti kořene. Tento vliv naznačují měření pomocí různých metod – měřením kyslíkovými elektrodami (Armstrong a Armstrong, 2005), iontově selektivními mikroelektrodami (Colmer a Bloom, 1998) nebo měřením vodivosti (Zimmermann a Steudle, 1998). Tyto metody však nemohou poskytnout podrobnou informaci o zapojení buněk pokožky a primární kůry v příjmu a radiálním transportu živin a vody do středního válce v konkrétním místě kořene. Pro přenos některých látek přes exodermis a endodermis byl již ukázán polarizovaný výskyt transportérů na distální nebo proximální straně plazmatické membrány buněk, např. u transportérů pro bor u huseníčku nebo pro bor a křemík u rýže. To však neplatí obecně pro všechny přijímané živiny. Pro některé živiny byla ukázána polarizovaná lokalizace transportérů v rhizodermis (P, Fe), pro jiné látky podrobné údaje o lokalizaci zatím chybí nebo se transportéry zdají být umístěny na membránách buněk rhizodermis a primární kůry v nepolarizovaném uspořádání. Dle nejnovějších studií je lokalizace transportérů na membráně endodermálních buněk ovlivněna ukládáním suberinu a tvorbou suberinových lamel, které blokují přístup iontů z apoplastu k membráně (Barberon et al., 2016). Stejná práce také naznačuje schopnost kořene potlačit rozsah suberinizace endodermis při nedostatku živin, což může usnadnit jejich příjem do rostliny. Pro exodermis podobné informace chybí, přestože lze předpokládat, že její přítomnost výrazně ovlivňuje příjem látek z rhizosféry a jejich následný transport kořenem v radiálním směru.

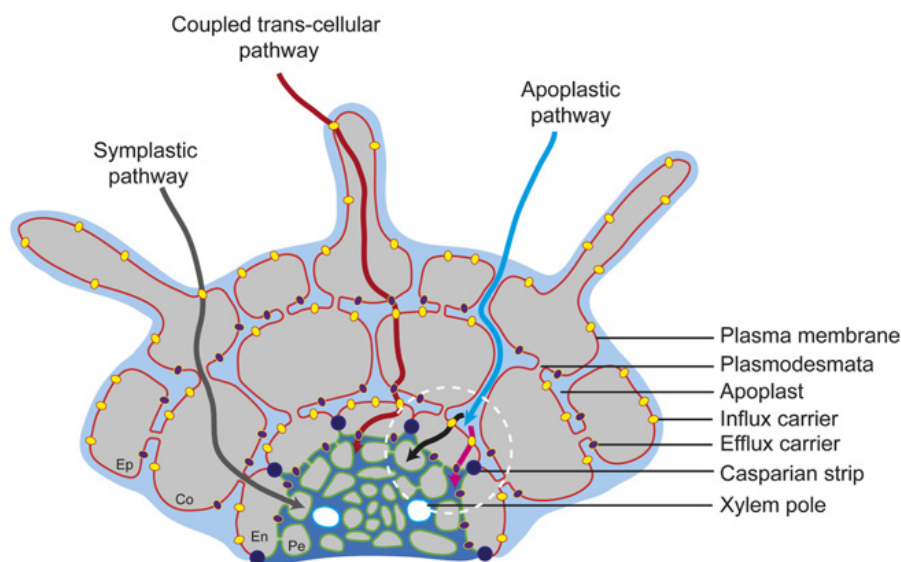
Já se ve své práci pokusím charakterizovat dopad přítomnosti exodermis na příjem látek kořenem pomocí zmapování výskytu membránových transportérů klíčových živin a vody na plazmatických membránách buněk rhizodermis a primární kůry u rostlin tvořících exodermis v porovnání s rostlinami, které ji netvoří. Následně se pokusím vyhodnotit, zda se s přítomností diferencované exodermis lokalizace těchto transportérů mění či nikoli, což by mohlo ukazovat její reálný dopad na pohyb látek kořenem. Co se týče rostlin, je nejvíce studovanou rostlinou huseníček (*Arabidopsis thaliana*), jehož kořeny se skládají z rhizodermis, 1-2 vrstev buněk primární kůry, endodermis a stélé. Kvůli absenci exodermis poslouží této práci pro porovnání lokalizace transportérů s rostlinami, u kterých se exodermis vyskytuje, což je

v tomto případě např. rýže (*Oryza sativa*). Rýže, jakožto mokřadní rostlina vytváří exodermis konstitutivně a dochází u ní k odumření některých buněk primární kůry, čímž vzniká pletivo zvané lysigenní aerenchym, které umožňuje transport plynů včetně kyslíku (Jackson a Armstrong, 1999). V radiálním uspořádání kořene se liší od huseníčku charakterem vnějších vrstev primární kůry, kde se diferencuje dvouvrstvá hypodermis tvořená jednovrstevnou exodermis s Casparyho proužky a sklerenchymatickým prstencem (Coudert et al., 2010). Dalšími rostlinami uváděnými v této práci jsou kukuřice (*Zea mays*) a ječmen (*Hordeum vulgare*), u kterých je diferenciace exodermis více ovlivněna podmínkami prostředí (Redjala et al., 2011; Zimmermann a Steudle, 1998).

2. Radiální transport látek kořenem

2.1. Apoplast, symplast, transcelulární cesta

Radiální transport látek do stéle kořene může být zprostředkován třemi různými způsoby (Obr. 1). Primárně se jedná o cestu symplastem a apoplastem (Taiz a Zeiger, 2014). Možnou alternativou je transcelulární cesta, o jejímž reálném významu se zatím pouze spekuluje (Barberon a Geldner, 2014).



Obrázek 1: Schématické znázornění tří různých cest radiálního transportu látek kořenem (Barberon a Geldner, 2014).

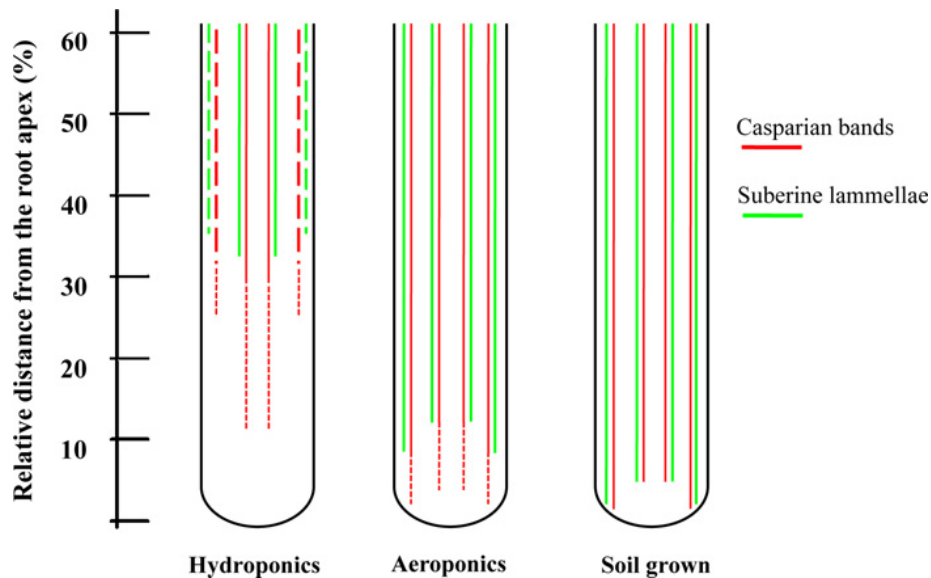
Symplastická cesta zahrnuje příjem látek do buňky přes plazmatickou membránu a jejich průchod cytoplasmou buněk přes plasmodesmy – kanály spojující cytoplasmu jednotlivých buněk, obsahující endoplazmatické retikulum (desmotubulus), vyskytující se u buněk s primární i sekundární buněčnou stěnou (Lucas et al., 1993). Množství plasmodesmů a jejich funkčnost je závislá na konkrétních stresových podmínkách, kdy v případě potřeby může být průchodnost omezena ukládáním kalózy (β -1,3- glukan)(Levy et al., 2007). Symplastem mohou být na krátké vzdálenosti transportovány látky organické i anorganické (Marschner, 1995).

Dalším možným způsobem transportu látek je apoplastická cesta zahrnující prostor buněčné stěny, mezibuněčné prostory primární kůry a stélé. V mezibuněčných prostorech však dochází pouze k transportu plynů (Taiz a Zeiger, 2014). Je jí umožněn rychlejší přesun látek než symplastem, neboť se jedná o pasivní transport relativně volným prostorem (Marschner, 1995). Jde především o transport vody, plynů, organických i anorganických látek v závislosti na velikosti dané molekuly a rozdílné koncentraci iontů mezi vnějším prostředím a apoplastem, poháněný prostou difúzí či hromadným tokem (Marschner, 1995). Pohyb látek je také ovlivněn strukturou – pórovitostí (makro/mikropóry) a chemickým složením buněčné stěny (celulóza, hemicelulóza, pektiny, proteiny) (Barberon a Geldner, 2014). Díky přítomnosti záporného náboje karboxylových skupin dochází v pórech k vazbě kladně nabitých částic. Tyto navázané částice mohou být vyměněny za jiné kationty a transportovány dále. Tento prostor tedy funguje jako iontoměničový systém s omezenou kapacitou (Dainty a Hope, 1961; Bernstein a Nieman, 1960).

Alternativou i doplňkem k výše zmíněným cestám může být transcelulární transport zprostředkovaný transportéry vyskytujícími se na plazmatické membráně polarizovaně, kdy dochází k opakovanému přechodu látek z apoplastu do symplastu a obráceně. Význam této alternativy je zatím nejasný, ale je pravděpodobné, že během příjmu látek z prostředí a jejich transportu do středního válce kořene dochází ke kombinaci všech tří cest pro dosažení maximální účinnosti kořenového systému (Barberon a Geldner, 2014).

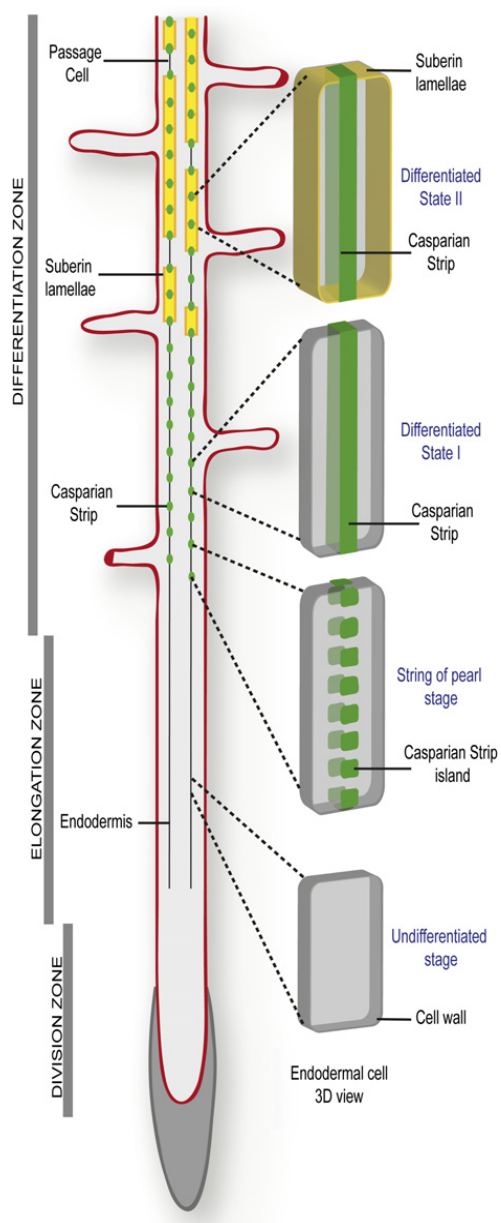
3. Apoplastické bariéry

Pro regulaci pohybu látek kořenem jsou významné apoplastické bariéry. Tj. u všech cévnatých rostlin (vyjma *Lycopodium*, kde nebyla endodermis v kořenech detekovaná (Damus et al., 1997)) se vyskytující endodermis a u některých z nich, především krytosemenných, exodermis. Téměř většina výtrusných rostlin (výjimky nalezeny u čeledi *Selaginellaceae*) a nahosemenné rostliny exodermis netvoří (Brundrett et al., 1990; Damus et al., 1997; Hose et al., 2001). Tyto bariéry hrají významnou roli v ochraně rostliny, podílí se na regulaci příjmu živin a vody, díky svým vlastnostem brání volnému pohybu iontů do stéle i naopak. Též zabraňují pronikání patogenů, těžkých kovů a dalších látek s negativními účinky (Enstone et al., 2003). Diferencují se v určité vzdálenosti od špičky kořene v závislosti na podmínkách prostředí – viz Obr. 2 (Lux et al., 2004; Redjala et al., 2011; Vaculík et al., 2012).



Obrázek 2: Schématické znázornění apoplastických bariér v kořeni kukuřice pěstované za různých podmínek (Redjala et al., 2011).

3.1. Endodermis



Obrázek 3: Schématické znázornění diferenciace endodermis a jejích jednotlivých kroků (Barberon a Geldner, 2014).

Transportované látky jsou tak nuceny k průchodu přes plazmalemu, kde dochází k jejich selekci. CP jsou zakládány v místě membránové domény Casparioho proužku, kde se vyskytují specifické proteiny - Casparian strips domain proteins důležité pro správnou formaci této struktury (Roppolo et al., 2014, 2011). V případě plasmolýzy buňka v místě CP zůstává spojena s buněčnou stěnou a nedochází tak ke ztrátě funkčnosti endodermis (Bonnett, 1968; Geldner, 2013).

Endodermis je nejvnitřnější vrstva buněk primární kůry. Buňky endodermis podléhají několika modifikacím buněčné stěny, které zabraňují volnému pohybu solutů a patogenů apoplastem z primární kůry do středního válce – stéle a tedy i do nadzemních částí rostliny (Obr. 3). Vznik endodermis je řízen souhrou transkripčních faktorů SCARECROW (SCR) a SHORTROOT (SHR), kdy SHR přechodem ze stéle do kortikálních endodermálních iniciál a interakcí se SCR spouští periklinální dělení buněk a vznik dvou buněčných vrstev – primární kůry a endodermis (Helariutta et al., 2000). Plazmalema endodermálních buněk obsahuje membránové přenašeče pro transport látek z apoplastu do symplastu (Geldner, 2013).

Jednou z modifikací buněčné stěny endodermálních buněk jsou struktury zvané Casparioho proužky (CP) (Esau, 1953; Kroemer, 1903), jež vznikají ukládáním ligninu (Naseer et al., 2012), případně suberinu (Zeier et al., 1999) do střední části transverzálních a radiálních buněčných stěn zabraňující toku vody a solutů apoplastickou cestou a jejich zpětnému toku z apoplastu stéle do apoplastu primární kůry.

Dalším stupněm specifikace endodermis je ukládání suberinu - hydrofobního polymeru obsahujícího alifatické (mastné kyseliny, glycerol a další) a fenolické domény (deriváty hydroxykyselin - monolignoly) - do celého prostoru mezi primární BS a plazmalemou, tedy vznik suberinových lamel (Bernards, 2002; Zeier et al., 1999). Plasticita ukládání nebo odbourávání suberinu je ovlivněna množstvím živin a stresových hormonů (Barberon et al., 2016). Na rozdíl od CP ovlivňují především přechod látek z apoplastu do cytosolu endodermálních buněk, v závislosti na povaze substrátu (Geldner, 2013), tedy transcelulární a apoplastickou cestu transportu (Barberon et al., 2016). Zabraňují ztrátám vody a zamezují průchodu patogenům (Enstone et al., 2003). V některých buňkách endodermis či exodermis dochází k ukládání suberinu později. Jedná se o tzv. propustné buňky - viz Obr. 4 (passage cells), které zůstávají v prvním vývojovém stádiu (pouze s CP) i ve starších částech kořenů (Meyer et al., 2011a). Předpokládá se, že slouží k transportu látek a nalezneme je především v místech xylémových pólů (Peterson a Enstone, 1996). U některých rostlin postupem času či vlivem podmínek zanikají (Esau, 1953).

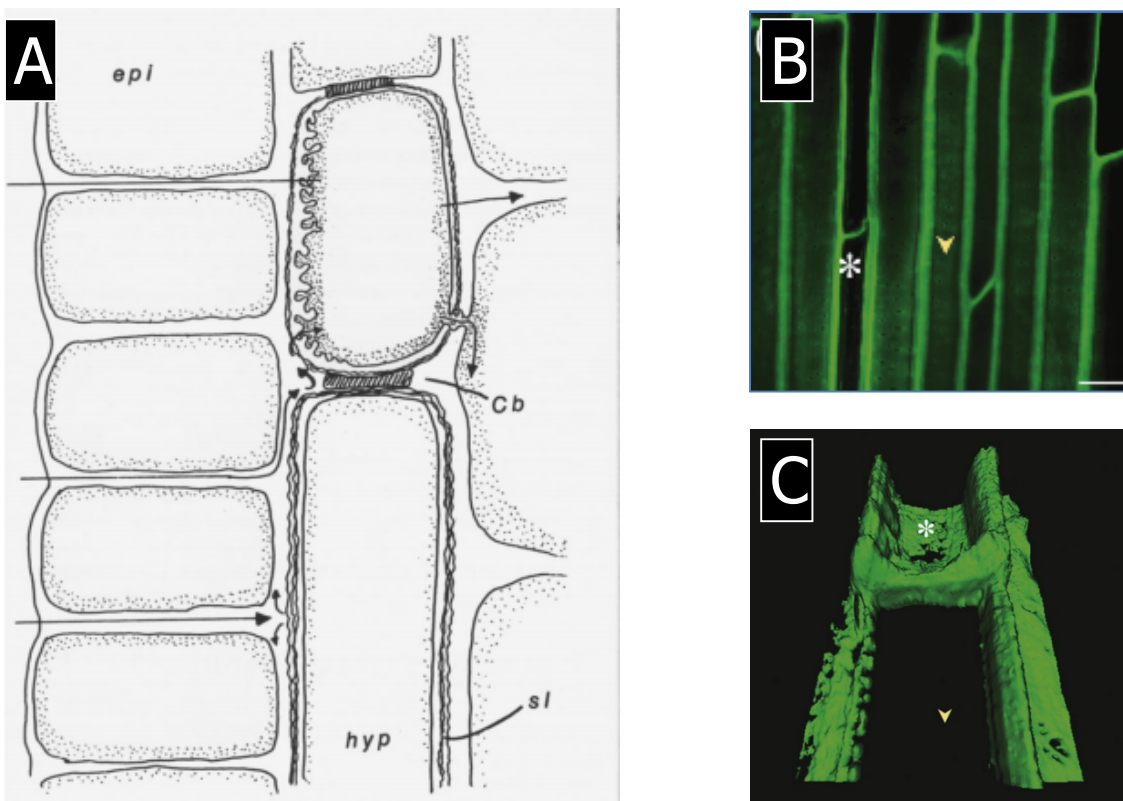
Poslední modifikací apoplastických bariér a tedy terciárním vývojovým stupněm endodermis je ukládání sekundární buněčné stěny pozorované pouze u některých zástupců rostlinné říše (především jednoděložných) (Enstone et al., 2003). Jedná se o ukládání celulózní sekundární buněčné stěny, popřípadě později i ligninu, mezi plazmatickou membránu a suberinovou lamelu (Peterson a Enstone, 1996) do radiálních a vnitřní periklinální stěny endodermální buňky (Enstone et al., 2003), což dává vzniknout struktuře tvaru „U“, která má nejspíše vliv na mechanickou odolnost kořene. Sekundární BS nalezneme také například při diferenciaci xylému nebo u druhotného tloušťnutí dřevin a bylin, ale nevzniká v místě plazmodesmů (Enstone et al., 2003).

3.2. Exodermis

Další apoplastickou bariérou četných rostlinných druhů (vyjma např. nahosemenných rostlin) je exodermis (Damus et al., 1997; Perumalla et al., 1990; Peterson a Perumalla, 1990). Tato vnější vrstva buněk primární kůry je specializovaným typem hypodermis s velice podobnou strukturou a vlastnostmi jako endodermis. Exodermis se však většinou dotváří pozdě-

ji, tj. dále od kořenové špičky (několik centimetrů oproti milimetrům) a může být i vícevrstevná (Hose et al., 2001), což je časté u rostlin tolerantních k suchu (Meyer et al., 2009). Tudíž zde nalezneme CP, je lignifikovaná a suberinizovaná a taktéž může podléhat terciární modifikaci. Ta je nicméně méně častá a nedochází ke vzniku U - ztlustlin (Enstone et al., 2003). Obsah suberinu a ligninu je nižší než u endodermis (Schreiber et al., 1999). K tvorbě suberinových lamel dochází současně nebo vzápětí po diferenciaci CP, které zabírají téměř celou délku radiálních stěn. Exodermis může být dimorfní či uniformní. Buňky uniformní exodermis jsou stejného tvaru, velikosti a neliší se v rychlosti vzniku suberinové lamely. U dimorfního typu nalezneme dlouhé suberinizované buňky střídající krátké buňky bez suberinových lamel nebo je u nich tvorba lamel opožděna, ty pak bývají označovány opět jako tzv. propustné buňky - viz Obr. 4A (Hose et al., 2001; Enstone et al., 2003; Peterson a Enstone, 1996). Přítomnost exodermis ovlivňuje vývoj a růst rostliny v mnoha aspektech. Její vznik je nezřídka indukován různými stresovými faktory – suchem, salinitou, vlivem těžkých kovů, nadbytkem či nedostatkem živin a kyslíku (Enstone et al., 2003; Hose et al., 2001; Redjala et al., 2011; Vaculík et al., 2012; Zimmermann a Steudle, 1998), kdy může docházet k odumírání rhizodermis a exodermis se tak stává nejsvrchnější vrstvou. Z toho vyplývají její protektivní vlastnosti, jako je zabránění ztrátám vody v podmínkách sucha a tedy následnému poškození primární kůry a ztrátě látek v ní uložených. Další funkcí může být prevence akumulace nežádoucích látek v apoplastu primární kůry kořene (Enstone et al., 2003). Za přítomnosti exodermis je apoplastický transport omezen pouze na rhizodermis, což znesnadňuje průchod a příjem látek – například kadmia a solí (Krishnamurthy et al., 2011; Redjala et al., 2011). U rostlin s více diferencovanou exodermis byla pozorována snížena vodivost kořenů vody (Zimmermann a Steudle, 1998). To v důsledku vede ke snížení hydraulické vodivosti čili zvýšení hydraulického odporu kořene, čímž se exodermis stává významnou rezistentní bariérou a podněcuje tak transport symplastem (Meyer et al., 2011b; Zimmermann et al., 2000; Zimmermann a Steudle, 1998). U rýže byl pozorován nižší hydraulický odpor v exodermis než v endodermis (Ranathunge et al., 2003), což autoři vysvětlují přítomností míst, která mohou zprostředkovat průtok bariérou. Jedná se o místa odbočování postranních kořenů nebo tzv. „oken“- oblastí buněk bez suberinových lamel či CP, které se nachází v oblasti nad prorůstajícími primordií postranních kořenů (Armstrong a Armstrong, 2005; Ranathunge et al., 2005; Soukup et al., 2002). Příjem látek z apoplastu do symplastu je též omezen snížením počtu buněk a povrchu membrán, které se na něm jinak podílejí (Enstone et al., 2003). Pokud má

exodermis výrazný vliv na radiální příjem látek apoplastem, lze předpokládat v závislosti na míře její diferenciace změnu v distribuci transportérů na membránách rhizodermis a primární kůry. Této problematice se doposud nevěnovalo mnoho pozornosti. Vyjma například studie lokalizace aquaporinů, ve které pozorovali zvýšení jejich exprese s diferenciací kořene v buňkách exodermis a rhizodermis (Hachez et al., 2006). Recentně také byla ukázána změna distribuce membránových transportérů endodermálních buněk v souvislosti s ukládáním suberinové lamely (Barberon et al., 2016). Pro lepší objasnění vlivu přítomnosti exodermis na transport a příjem vody a živin se v následujících kapitolách pokusím tento aspekt analyzovat shrnutím informací o lokalizaci membránových transportérů těchto látek.



Obrázek 4: A – Schématické znázornění transportu látek povrchovými vrstvami (Clarkson, 1993); B, C - Schématické znázornění a 3D rekonstrukce propustných buněk (Waduwara et al., 2008)

4. Lokalizace membránových transportérů živin a vody v kořenech rostlin

Přechod látek přes plazmatickou membránu je zprostředkován transmembránovými transportéry s různou lokalizací v rámci buňky i celého kořene. U některých transportérů minerálních živin nebo vody byla pozorována polarizovaná lokalizace na plazmalemě různých buněk kořene (v endodermis, rhizodermis nebo výjimečně i primární kůře), ale zdaleka ne všechny studované transportéry polarizovanou lokalizaci vykazují. Řada jich se vyskytuje rovnoměrně, nebo jejich lokalizace nebyla detailněji popsána. První polarizované umístění transportéru na vnější, jinak řečeno periferní - distální (opakem vnitřní - centrální - proximální) stranu plazmatické membrány neboli stranu blíže k povrchu kořene bylo dokumentováno u bramboru (*Solanum tuberosum*), u transportéru pro fosfát StPT2 v buňkách pokožky (Gordon-Weeks, 2003). Poté, po objevení dalších polarizovaně se vyskytujících transportérů (např. transportéry boru a křemíku v endodermis a exodermis), je zřejmé, že tento způsob lokalizace je velice účinný pro efektivní příjem živin z rhizosféry a jejich následný pohyb kořenem v radiálním směru do stéle (Barberon a Geldner, 2014). Polarizované umístění transportérů boru je dokonce patrné již v časných stádiích embryogeneze (Alassimone et al., 2010; Takano et al., 2010).

4.1. Aquaporiny

Voda je nezbytnou součástí života všech živých organismů, jejichž těla tvoří z 60 a více procent. Slouží k transportu látek, jako rozpouštědlo, je prostředím, ve kterém probíhají chemické reakce či se jich sama účastní, reguluje tělesnou teplotu, udržuje tvar buněk a mnoho dalších funkcí. Rostlinami může být přijímána (hojně v oblasti kořenových vlásků) aktivně, nebo pasivně v závislosti na přítomnosti listů, vnějších podmínkách a potřebách rostliny, osmózou nebo difuzí (Taiz a Zeiger, 2014). Pohybuje se apoplastem, symplastem či transcelulárně (tzv. kompozitní model transportu (Steudle a Peterson, 1998)). Experimentálně nelze rozlišit, zda se jedná o pohyb symplastem nebo transcelulárně, a tak se této cestě říká souhrnně „z buňky do buňky“ (CTC; cell to cell). Předpokládá se, že pasivní příjem vody kořeny rostlin s listy je poháněn transpirací vznikajícím gradient vodního potenciálu mezi půdou a

xylémem (Steudle a Peterson, 1998; Chaumont a Tyerman, 2014), kterým je voda vtahována. Tento pohyb usnadňují vodní kanály, takzvané aquaporiny.

Aquaporiny jsou malé membránové proteiny z rodiny MIP (*Major Intrinsic Protein*) o velikosti 21kD (některé články uvádějí 23kD) - 34kD mající 6 transmembránových domén (α -helix), 5 smyček a N a C konec směřující do cytosolu (Chaumont a Tyerman, 2014; Kaldenhoff a Fischer, 2006a). Každý aquaporin se skládá ze 4 funkčních jednotek – monomerů, které svou interakcí vytvářejí homo/heterotetramer (Maurel et al., 2015). Aquaporiny lze rozdělit do 5 podrodin na základě podobnosti sekvencí a výskytu na membránách. Jedná se tedy o aquaporiny plazmatické membrány – PIPs (*Plasma membrane Intrinsic Proteins*); tonoplastu – TIPs (*Tonoplast Intrinsic Proteins*); plazmalemy, membrány ER a membrány kompartmentů interagující se symbionty – NIPs (*Nodulin26-like Intrinsic Protein*), membrány ER – SIPs (*Small basic Intrinsic Proteins*) a plazmalemy – XIPs (*unclassified X Intrinsic Proteins*). Tyto proteiny usnadňují transport malých nenabitých molekul, nejen vody, ale i například močoviny, boru, křemíku, glycerolu či různých plynných látek (CO_2 , NH_3) (Kaldenhoff a Fischer, 2006b; Maurel et al., 2015; Nada a Abogadallah, 2014) a mají tudíž význam i při výživě a signalizaci. Pomocí těchto proteinů rostlina efektivně reguluje příjem vody – jejich přítomnost reversibilně mění propustnost membrány pro vodu (normálně 10 $\mu\text{m/s}$, v přítomnosti aquaporinů 100 až 1000 $\mu\text{m/s}$). Aktivita aquaporinů je regulována fosforylací, H^+ či jinými kationty (Maurel et al., 2015). Jsou inhibovány rtutí, jejich exprese je regulována kyselinou abscisovou, denním cyklem, solným stresem a chladem (Zhu et al., 2005). První rostlinný aquaporin byl objeven na tonoplastu huseníčku AtTIP1;1 v roce 1993 (Maurel et al., 1993).

Dle studií prováděných na rýži dochází k nejvyšší expresi genů kódujících aquaporiny především v buňkách exodermis a endodermis, tedy diferencované zóně kořene (Hachez et al., 2006; Sakurai et al., 2008), kde je zastaven transport apoplastem. U rýže při vysoké transpiraci a dostatku vody převažuje transport apoplastem, který je nejvíce limitován endodermis. Naopak při nedostatku vody jde až 40% přijatého objemu CTC cestou (Nada a Abogadallah, 2014). U této rostliny bylo popsáno 33 genů pro aquaporiny. Z toho 11 pro PIPs, které se dělí na 2 podskupiny - PIP1s a PIP2s a 10 pro TIPs (Nada a Abogadallah, 2014). PIP2s a TIPs jsou vysoce aktivní v porovnání s PIP1s. Nejvíce kořenových aquaporinů bylo lokalizováno

na exodermis a endodermis (OsPIP2;1, OsPIP2;3, OsPIP2;5 a OsTIP1;1). Také v oblasti kořenové špičky byl pozorován hojný výskyt aquaporinů, který může mít vliv na elongaci buněk. Mezi další aquaporiny přítomné v kořeni patří: PIP1;1, PIP1;2, PIP1;3 a TIP2;1, avšak různé kultivary rýže vykazují různé exprese a vznikající aerenchym snižuje jejich výskyt (Sakurai et al., 2008).

Zajímavá studie korelující výskyt aquaporinů na membránách buněk kořene s jeho vývojem byla provedena u primárního kořene aeroponicky pěstované kukuřice (Hachez et al., 2006). Zde byla v buňkách meristému, elongační i maturované zóně detekována exprese všech *ZmPIPs* kromě *ZmPIP2;7*. Expres těchto genů se lišila v závislosti na vývojovém stadiu kořene, obecně byla zvýšená v elongační a maturační zóně oproti kořenové čepičce, kde byla pozorována pouze exprese *ZmPIP2;4*. Nejvýraznější nárůst exprese ve starších částech kořene byl pak pozorován u *ZmPIP1;5* a *ZmPIP2;5*. Na radiálním pohybu vody se v diferencované části kořene očividně nejvíce podílejí právě *ZmPIP1;5* a *ZmPIP2;5* lokalizované v exodermis a endodermis, v menším rozsahu ale i v rhizodermis a primární kůře. Jejich exprese zde zastává 50% ze všech exprimovaných *PIPs*. Zajímavým úkazem je detekce proteinu *ZmPIP2;5* v buňkách primární kůry, přestože v dané oblasti kořene byla exodermis diferencovaná (Obr. 5). Mimo to *ZmPIP2;5* nalezneme polárně lokalizovaný na vnější periklinální straně rhizodermis kořenové špičky – viz Obr. 5B (Hachez et al., 2006).



Obrázek 5: Imunolokalizace *ZmPIP2;5*; A, B - příčný řez na 5 mm od špičky, C - 5 cm od špičky; A – ve stélé, rhizodermis, endodermis a primární kůře, B - v rhizodermis, C - silnější ve 2 kruzích – rhizodermis + exodermis a okolo stélé (Hachez et al., 2006)

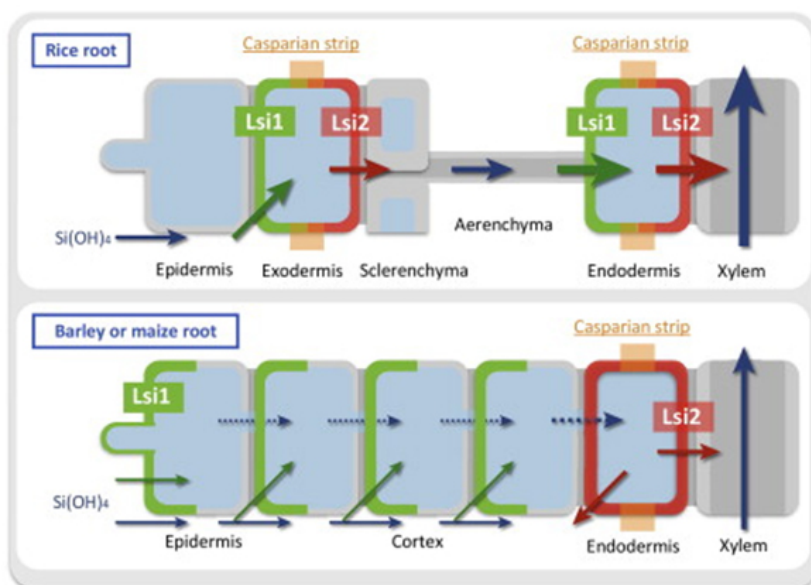
4.2. Křemíkové transportéry

Křemík patří mezi benefiční prvky, které svým působením usnadňují rostlinám růst, lépe zvládat stresové podmínky, zmírňovat toxicitu jiných prvků (Mn, Fe, Al, Cd), zvyšovat rezistenci vůči chorobám a patogenům a další (Richmond a Sussman, 2003). Pro vývoj některých rostlin, jako například přesličku (*Equisetum*) či rýži, je esenciálním prvkem akumulovaným ve vyšších hodnotách (>10% sušiny)(Ma et al., 2006; Marschner, 1995). Je přijímán ve formě kyseliny křemičité H_2SiO_3 , která je elektroneutrální, což jí umožňuje volných průchod apoplastem, a translokován především do buněčné stěny, kterou tím zpevňuje (Ma et al., 2006; Yamaji a Ma, 2007). Rostliny můžeme dle obsahu křemíku rozdělit na akumulátory, střední typy a rostliny křemík neakumulující. Tento rozdíl v akumulaci je připisován schopnosti kořenů přijímat křemík, následná akumulace ve stonku je též ovlivněna genotypem (Ma et al., 2007).

Absorpce křemíku probíhá pomocí transportérů Lsi1 a Lsi2 (*low silicon rice 1 a 2*), jejichž bližší charakterizace přináší zajímavý vhled do fungování membránového transportu živin v kořeni ve vztahu k přítomnosti apoplastických bariér. Transportér Lsi1 spadá do aquaporinové rodiny, mezi NIP. Tyto proteiny obsahují 6 transmembránových domén a konzervované Asn – Pro – Ala (NPA) motivy (Park a Saier Jr, 1996). Byl popsán u rýže, jako transportér OsLsi1(OsNIP2;1) z rodiny NIP III, mající selektivní filtr složen z motivu Gly-Ser-Gly-Ser-Arg (Ma a Yamaji, 2015). Gen *OsNIP2;1* je exprimován především ve starších částech hlavního i postranních kořenů (Ma et al., 2007; Yamaji a Ma, 2007) oproti apikální části kořene zahrnující čepičku, meristém a elongační zónu, kde k expresi nedochází. U rýže je tento transportér lokalizován na distální straně plazmatické membrány buněk exodermis i endodermis (Obr. 7A, C). V rhizodermis včetně kořenových vlásků nebyla lokalizace pozorována. Lsi1 zajišťuje vstup kyseliny křemičité do buňky a je též permeabilní pro selenit a arzen (Zhao et al., 2010) díky chemické podobnosti s kyselinou křemičitou, takže se spolu s fosfátovými transportéry účastní příjmu těchto látek. Jelikož se u rýže jedná o polarizovaný transport křemíku, Lsi1 je doplněn přenašečem, který křemík transportuje ven z buňky do apoplastu. Tuto úlohu vykonává Lsi2 lokalizovaný na proximální straně plazmalemy buněk exodermis i endodermis (Obr. 7E, G), patřící do rodiny transportérů aniontů mající 11 transmembránových domén. Expres obou transportérů je při přidání křemíku snížena. U rýže do-

cházi ke vzniku aerenchymu a tedy k destrukci většiny buněk primární kůry, což je spolu s vysokým požadavkem na křemík zřejmě příčinou vzniku tohoto uspořádání transportního systému (Ma et al., 2007).

Homologní transportéry k OsLsi1 nalezneme například u pšenice, okurky, sóji, dýně (zde bez polarizované lokalizace), kukuřice a ječmene (Ma a Yamaji, 2015). U kukuřice a ječmene, které akumulují křemík v menších hodnotách (Ma et al., 2006), se taktéž tvoří aerenchym a exodermis. U těchto druhů se však na rozdíl od rýže netvoří exodermis konstitutivně, ani nevzniká sklerenchymatický prstenec lokalizovaný pod ní. Vznik exodermis je zde více ovlivněn podmínkami prostředí a stářím kořene. Proteiny ZmLsi1 a HvLsi1 mají podobnou lokalizaci, avšak jinou než Lsi1 u rýže (Obr. 6)



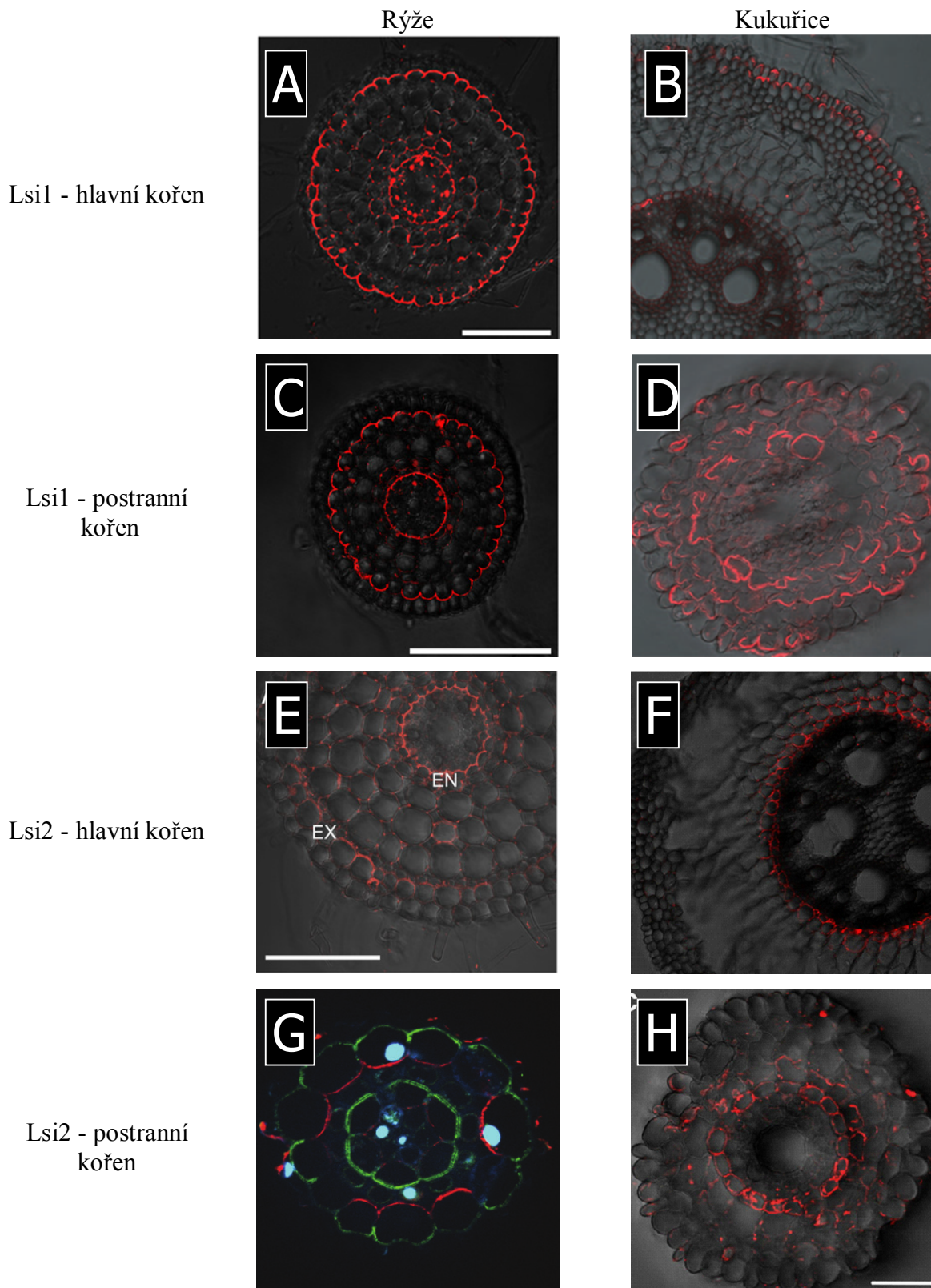
Obrázek 6: Schématické znázornění příjmu křemíku u rýže, kukuřice a ječmene (Ma a Yamaji, 2015)

lemě rhizodermis a buněk primární kůry – viz Obr. 7D (Namiki Mitani et al., 2009), zatímco HvLsi1 je lokalizován na distální straně plazmalemy buněk hypodermis v bazálních částech laterálního kořene (Chiba et al., 2009). Jejich exprese není ovlivněna změnou koncentrace křemíku. U obou homologů se jedná o pasivní transport na základě koncentračního gradientu. U ječmene byl navíc pozorován vyšší příjem křemíku v oblasti kořenové špičky, což značí přítomnost jiného transportéru. Tímto transportérem je HvLsi6 nacházející se častěji na distální straně plazmalemy buněk rhizodermis po endodermis – viz Obr. 8 (Yamaji et al.,

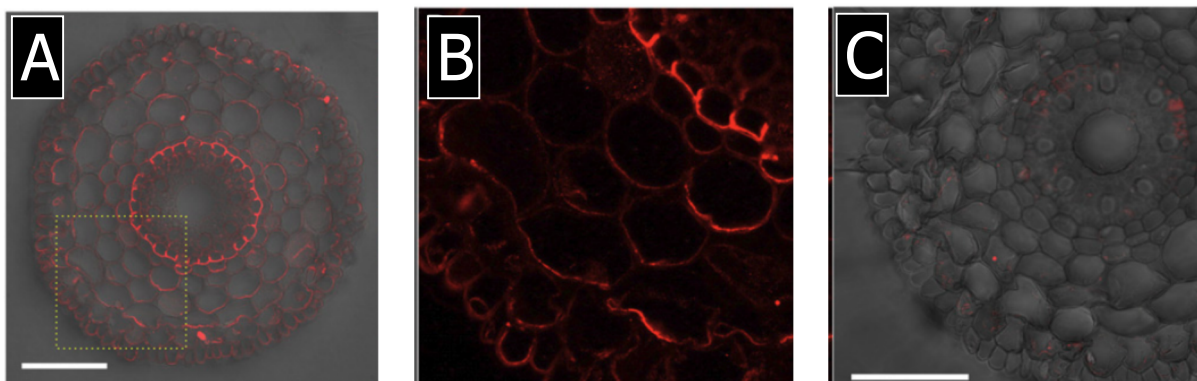
ZmLsi1 se nachází na distální straně plazmalemy epidermálních a hypodermálních buněk seminálního kořene (Obr. 7B) a v menší míře u adventivního kořene rostoucího ze stonkového nodu. V postranních seminálních kořenech jej nalezneme na plazma-

2012), kdežto u kukuřice slouží ZmLsi6 k nakládání do xylému a je v kořenech na rozdíl od prýtu umístěn nepolarizovaně. Za normálních podmínek kukuřice exodermis tvoří v menším rozsahu, a tak se křemík do stéle dostává zřejmě symplastickou cestou (Mitani et al., 2009). U kukuřice i ječmene nalezneme homology také k OsLsi2, avšak lokalizované bez polarizované orientace na plazmalemě endodermis – viz Obr. 6; 7F, H (u kukuřice vyjma nodálních kořenů – tam pouze ZmLsi1 a 6), nikoli jako u rýže na distální straně. Pro ječmen a absorpci křemíku je tento protein zásadní. Tentokrát se jedná o aktivní transport řízen protonovým gradientem (Mitani et al., 2009).

Huseníček nemá geny z rodiny NIP III, ale nalezneme zde homology k Lsi2 (Ma a Yamaji, 2015). Geny pro křemíkové transportéry nalezneme i u rajčete, které však Si neakumuluje. Funkce těchto proteinů je závislá na pozici jejich výskytu.



Obrázek 7: Imunolokalizace Lsi1 (A – D) a Lsi2 (E – H) pomocí anti - Lsi polyklonálních protilátek, A, C (Yamaji a Ma, 2007); E - Imulokalizace Lsi2 u rýže 2 cm od špičky pomocí anti-Lsi2 polyklonální protilátky (Ma et al., 2007b). B, D, F, H ZmLsi1, 2 (Mitani et al., 2009), G – Lsi2 červeně (Yamaji a Ma, 2011)

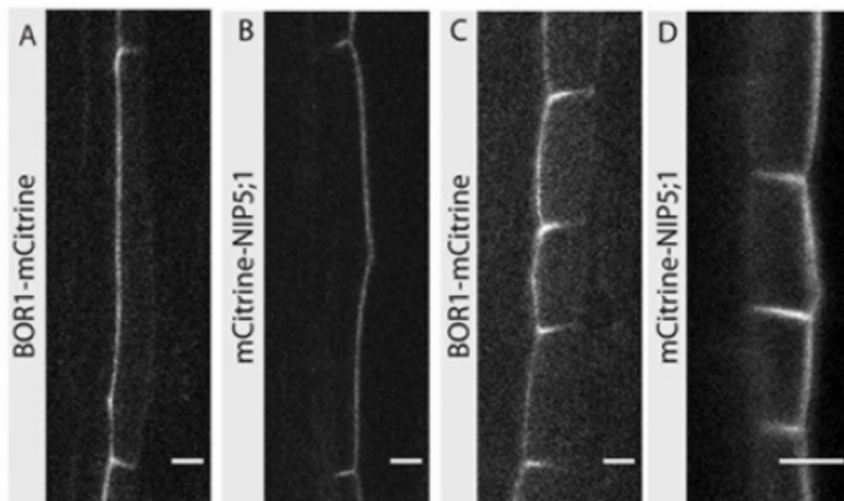


Obrázek 8: Imunolokalizace HvLsi6 pomocí anti-HvLsi6. A, B – 1 cm od špičky, C – diferencovaná oblast kořene (Naoki Yamaji et al., 2012)

4.3. Transport boru

Bor je esenciální mikroprvek důležitý především pro stavbu a funkčnost buněčné stěny, při vyšších koncentracích je však pro rostlinu toxický (Camacho-Cristóbal et al., 2008), tudíž je nutné regulovat jeho příjem. Jeho potřeba je vyšší u dvouděložných rostlin (Nakagawa et al., 2007). Je přijímán jako nedisociovaná kyselina boritá $B(OH)_3$ pasivní difusí či usnadněnou difusí přes přenašeče (Takano et al., 2010). Transportu boru se účastní dva vzájemně ko-

operující transportéry.



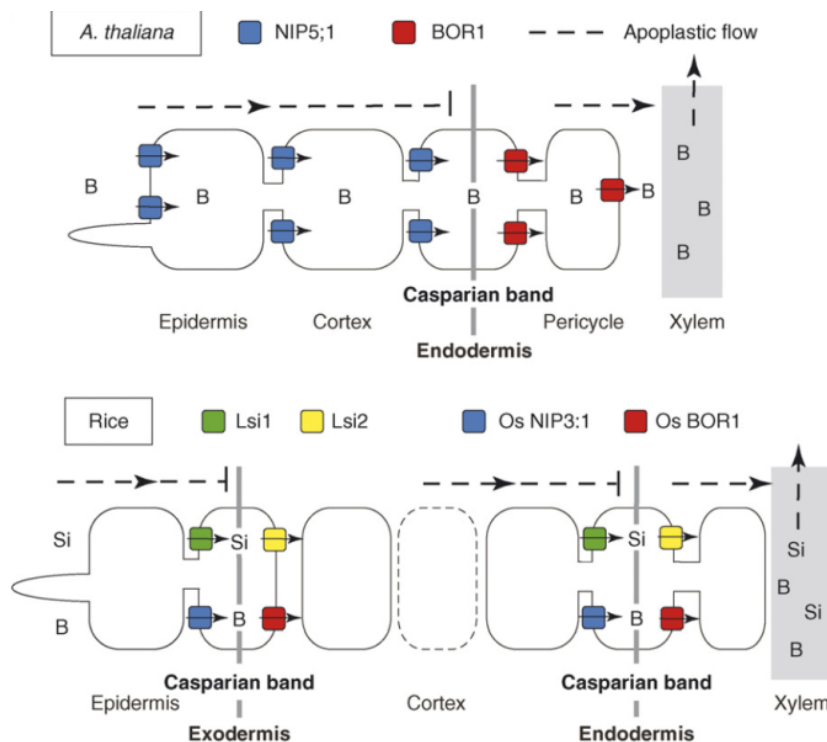
Obrázek 9: Lokalizace AtNIP5;1 a AtBOR1 translační fúzí s mCitrine, A, B – diferencovaná oblast kořene, C, D – meristematická (Alassimone et al., 2010)

operující transportéry. Kanál z rodiny NIP zajišťující vstup kyseliny borité do buňky a přenašeč BOR1 (*boron efflux carrier 1*), který transportuje bor jako borátový anion ven z buňky (Obr. 9). Homology BOR1 nalezneme i u savců (Takano et al., 2002).

Transport boru je

usnadněn také pomocí křemíkového transportéru Lsi1, který se podílí na jeho příjmu (Schnurbusch et al., 2010).

Nejprve byl tento polarizovaný transport zkoumán u huseníčku. Za vstup boru, potažmo kyseliny borité do buněk je zodpovědný AtNIP5;1, který je lokalizovaný na distální straně plazmalemy buněk rhizodermis v oblasti meristému, elongační zóně a v kořenové čepičce – viz Obr. 11A (Takano et al., 2010) a ve straších částech v endodermis (Alassimone et al.,



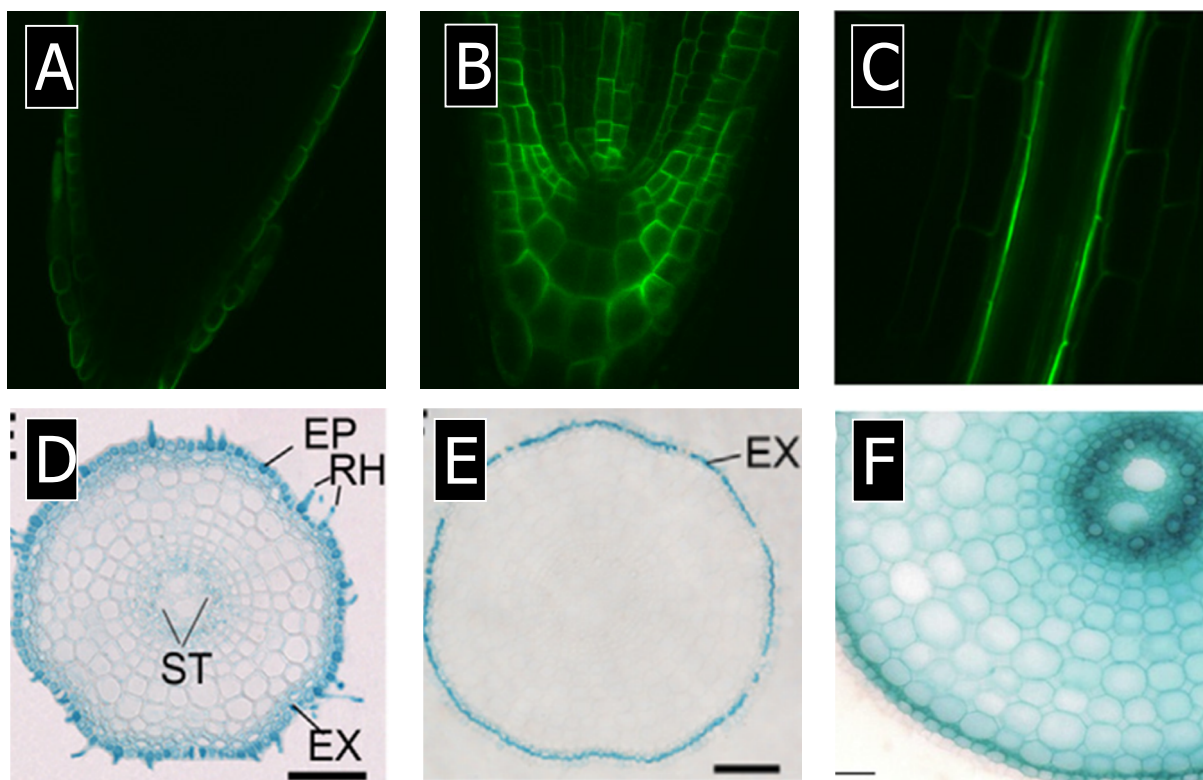
Obrázek 10: Schématické znázornění transportérů boru u huseníčku a rýže (Takano et al., 2008)

endodermis plně vytvořena. U starších částí, kde je endodermis již plně funkční, je lokalizace AtBOR1 dominantní právě v buňkách endodermis. S postupem diferenciací endodermis tedy dochází ke změnám ve výskytu obou těchto transportérů. Huseníček má 7 genů pro tento transportér s C a N doménou orientovanou do cytosolu (Takano et al., 2008). V kořenech rýže nalezneme transportér OsNIP3;1 (*AtNIP5;1 - like gene*) z podrodiny NIP II (Wallace et al., 2006), jehož lokalizace prozatím nebyla pozorována. Pozorovaná byla alespoň exprese, která

Doplňujícím transportérem, jehož funkcí je vynášet bor v podobě kyseliny borité či borátového anionu z buňky je na proximální straně plazmalemy buněk rhizodermis mladších částí kořenů nacházející se AtBOR1, který je důležitý pro nakládání do xylému (Obr. 11B). V oblasti kořenových vlásků byl pozorován i v primární kůře a stélé (Obr. 11C) (Takano et al., 2010), kde není

byla u mladých rostlin nejvyšší v buňkách rhizodermis, exodermis a stélé (Obr. 11D) (Hanaoka et al., 2014; Liu et al., 2015). U starších rostlin pouze v exodermis (Liu et al., 2015). Na příčném řezu kořenem v oblasti s kořenovými vlásky je patrná výrazná exprese *OsNIP3;1* především v exodermis a středním válci. *OsNIP3;1* je důležitý jak pro příjem boru (především u mladých semenáčků), tak jeho transport do stonku (Hanaoka et al., 2014; Liu et al., 2015). V případě transportéru, který vynáší bor ven z buňky, mluvíme o *OsBOR1*. Exprese *OsBOR1* byla v oblasti 2cm za špičkou pozorována ve všech částech kořene a při nedostatku boru exprese stoupala především v exodermis a endodermis (Obr. 11F) (Nakagawa et al., 2007). Polarizovaná lokalizace se zatím pouze předpokládá (Obr. 10). Rýže má pro tento transportér 4 geny – *OsBOR1 – 4*, přičemž 1 je nejvíce podobná *AtBOR1*, ale jsou rozdílné fylogeneticky a mechanismem regulace. *OsBOR1* se na rozdíl od *AtBOR1* vyskytuje i v nadzemní části rostliny, takže slouží pro příjem i translokaci boru (Nakagawa et al., 2007). *OsBOR1* je složen ze 711 aminokyselin a 10 transmembránových domén (Nakagawa et al., 2007).

U huseníčku byl v rhizodermis objeven další polarizovaně lokalizovaný transportér *AtBOR4* a to na distální straně plazmatické membrány epidermálních buněk, který se podílí na výdeji přebytečného boru při jeho vysokých koncentracích a toxicitě (Takano et al., 2010).



Obrázek 11: A – C: lokalizace *AtNIP5;1*, A – oblast kořenové čepičky, B - kořenová čepičce, C – zóna kořenových vlásků; deficientní bor (Takano et al., 2010), D, F: lokalizace exprese *OsNIP3;1*, D - 7 denní rostlina, E - 30 dní stará rostlina (Liu et al., 2015), F - *OsBOR1* cca 2 cm od špičky, dostatek boru (Nakagawa et al., 2007)

4.4. Fosfátové transportéry

Fosfor patří mezi makroprvky důležité pro rostlinu v mnoha směrech. Je nepostradatelnou součástí fosfolipidů, ATP, nukleových kyselin, v neposlední řadě se účastní regulace metabolických drah a aktivace proteinů (enzymů) (Schachtman et al., 1998). V půdě se vyskytuje vázaný v minerálních a organických látkách (Turner et al., 2002) a v této formě je pro rostliny z velké části nedostupný. Přestože se jeho celkové množství v 15 cm svrchní vrstvy půdy může pohybovat kolem 1000 kg P na ha, jeho množství v půdním roztoku zřídka přesahuje 1-10 μM (Brady a Weil, 2001). Rostlinami je přijímán v podobě anorganického fosfátu P_i v anionu H_2PO_4^- nebo HPO_4^{2-} pomocí energeticky řízeného kotransportu s 2-4 protony (Sakano,

1990), neboť jeho koncentrace je uvnitř buňky 5-17mM (Smith et al., 2003), tedy vyšší než v rhizosféře. Pro regulaci příjmu fosfátu nemění rostliny pouze délku kořenů, ale i jejich transportní vlastnosti pomocí změn exprese genů pro vysokoafinitní fosfátové transportéry (Muchhal a Raghothama, 1999).

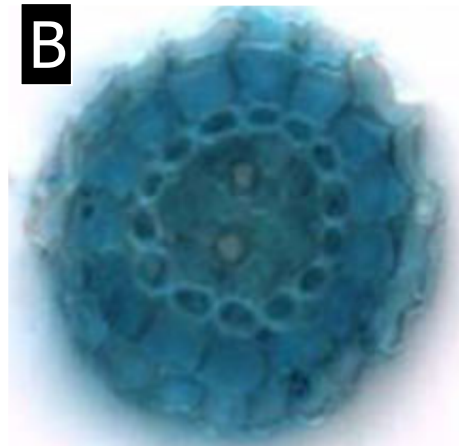
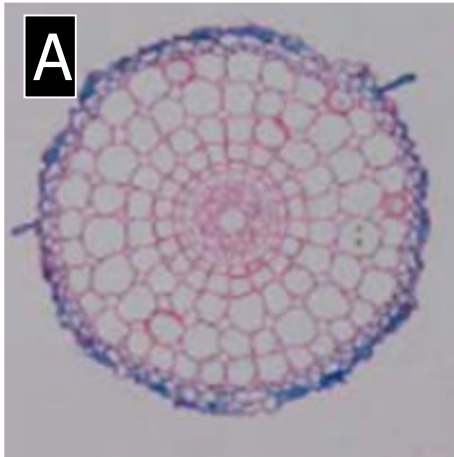
Rostlinné fosfátové transportéry jsou rozděleny do 4 rodin (Rausch a Bucher, 2002). V kořenech nalezneme zástupce rodiny Pht1 (*high-affinity inorganic phosphate transporter*), kteří se podílejí na příjmu fosfátu a některé i na jeho translokaci z kořene do stonku. Jejich exprese je řízena množstvím P a stářím kořene (Mudge et al., 2002). Při nedostatku P jsou více exprimovány geny pro vysokoafinitní transportéry lokalizované v plazmatické membráně především buněk rhizodermis (Liu et al., 1998; Paszkowski et al., 2002; Remy et al., 2012). Zde zřejmě mohou být lokalizovány polarizovaně. Pro *StPT2* bramboru byla popsána lokalizace v distální části plazmalemy buněk rhizodermis a jak již bylo zmíněno výše, jedná se o první transportér s identifikovanou polarizovanou lokalizací (Gordon-Weeks, 2003).

Nízkoafinitní přenašeče se účastní translokace do stonku a jsou exprimovány konstitutivně (Muchhal a Raghothama, 1999), podílejí se však i na příjmu a jejich exprese může být ovlivněna nedostatkem P (Ai et al., 2009a, 2009b). Rodina Pht1 je součástí MFS (*Major Facilitator Superfamily*) (Pao et al., 1998). Členové této rodiny jsou ze 75 - 85% identičtí, mají velikost 58 kD a skládají se z 520–550 aminokyselin (Smith, 2002). Jsou tvořeny hydrofobními klenutými doménami, které většinou obsahují 17-25 aminokyselin v helixu. Těchto domén je 12, mezi 6. a 7. je dlouhá centrální hydrofilní smyčka, jež je spolu s N a C koncem proteinu orientovaná do cytosolu (Smith, 2002, 2001; Smith et al., 2003). Přes tyto transportéry je možný i přenos fosfitu a arseničnanu (Nussaume, 2011).

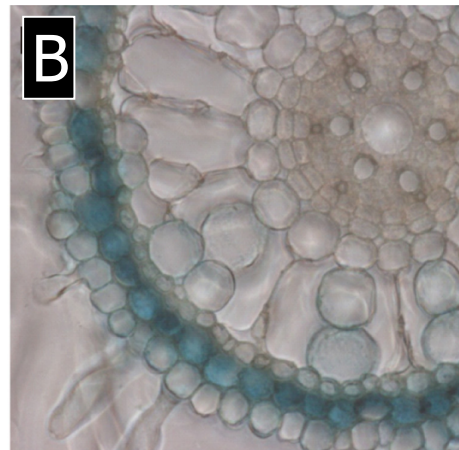
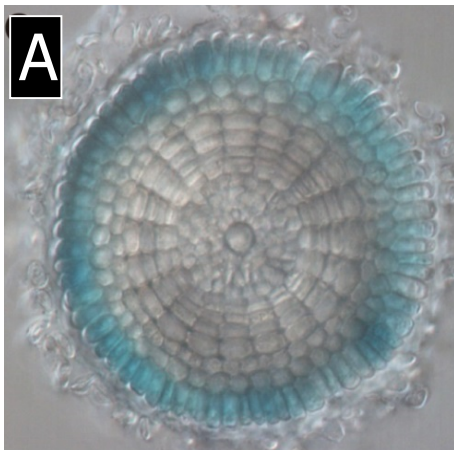
U huseníčku bylo popsáno 9 členů Pht1 rodiny lokalizovaných v různých částech kořene, především v rhizodermis, stéle a kořenových vláscích, které jsou pro příjem fosfátu zásadní (Nussaume, 2011). Jejich exprese je ovlivněna vnitřní koncentrací P či nízkou koncentrací P v půdě. Ve starších částech kořene byly pozorovány pouze transportéry AtPht1;2,3 a 4 (Nussaume, 2011). Naopak u mladších kořenů se AtPht1;1 a 2 vyskytují i v primární kůře (Mudge et al., 2002). Přibližně 20% z celkově přijatého P kořeny je přijato přes kořenovou čepičku, kde je vysoká koncentrace těchto transportérů (Kanno et al., 2016)

U rýže bylo prozatím izolováno 13 členů rodiny Pht1 (Paszkowski et al., 2002), z nichž 8 bylo detailněji charakterizováno. Transportéry rýže OsPht1 (*Oryza sativa Phosphate transporter*) nacházející se v kořenech (rhizodermis, primární kůře, stélé, potažmo exodermis) jsou důležité pro absorpci fosfátu (Ai et al., 2009a; Sun et al., 2012; Wang et al., 2014). Některé jsou exprimovány konstitutivně, nezávisle na koncentraci P, kdežto exprese genů jiných fosfátových transportérů je regulována deficiencí či nízkou koncentrací fosfátu. *OsPht1;2* (nízkoafinitní) a *OsPht1;8* jsou exprimovány především ve stélé a jejich hlavní rolí je translokace Pi z kořenů do stonku. Avšak *OsPht1;2* se spolu s *OsPht1;6* podílejí na příjmu P (Sasaki et al., 2016), ale nacházejí se i ve stonku a nenalezneme je v kořenové čepičce (Ai et al., 2009a). *OsPht1;6* je exprimován v rhizodermis, primární kůře i stélé mladých kořenů, více při nedostatku P (Ai et al., 2009a). Podobně také *OsPht1;9* je výrazněji exprimován při nedostatku P a to především v rhizodermis mladší části hlavního kořene (včetně kořenových vlásků) a v krátkých postranních kořenech, kde je exprese patrná v rhizodermis, celé primární kůře i středním válci (Obr. 12) (Wang et al., 2014). Pouze u jediného fosfátového transportéru byla pozorována výraznější exprese v exodermis v diferencované části kořene (Obr. 13). Bylo tomu u *OsPht1;4* (Ye et al., 2015a), avšak v jiném článku (Zhang et al., 2015) není o výskytu toho transportéru v exodermis žádná zmínka, neboť se zabývá jeho důležitostí při embryogenezi. Při pěstování v podmínkách bez fosforu byla pozorována exprese *OsPht1;4* i buňkách primární kůry, kde se za normálních podmínek nevyskytuje. Primární kůra hraje roli při příjmu látek jak symplastem, tak apoplastem a tudíž výskyt transportéru při deficienci může pomoci rostlině zefektivnit symplastický transport. Též má roli v translokaci Pi z kořene do stonku (Ye et al., 2015b).

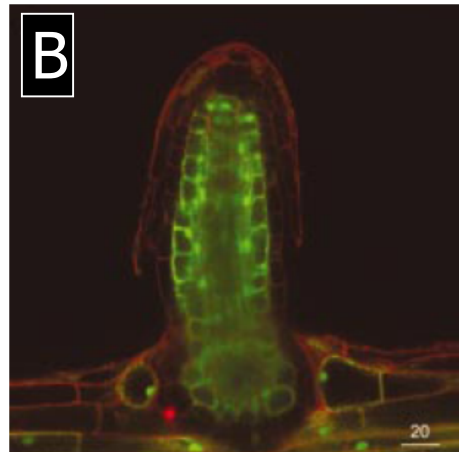
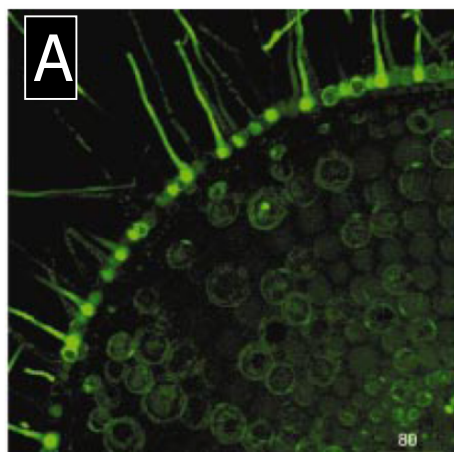
Pro fosfátové transportéry ječmene *HvPht1;1* a *HvPht1;2* byla při jejich expresi v rýži pozorována lokalizace v hlavním kořeni především v buňkách rhizodermis, včetně kořenových vlásků, méně v oblasti primární kůry. Naopak v mladých postranních kořenech byla exprese *HvPht1;1* lokalizována především v primární kůře a jen minimálně v rhizodermis, což naznačuje možnou změnu v lokalizaci v souvislosti s postupem diferenciací hypodermálních vrstev. (Schunmann, 2004). To podporuje i nižší exprese *HvPht1;1* v hlavním kořeni v oblasti 8 cm za špičkou oproti 4 cm.



Obrázek 12: Lokalizace exprese *OsPht1;9*, A - oblast s kořenovými vlásky, B - postranní kořen (Wang et al., 2014)



Obrázek 13: Lokalizace exprese *OsPht1;4*, A – kořenová špička, B - diferencovaná část kořene (Ye et al., 2015a)



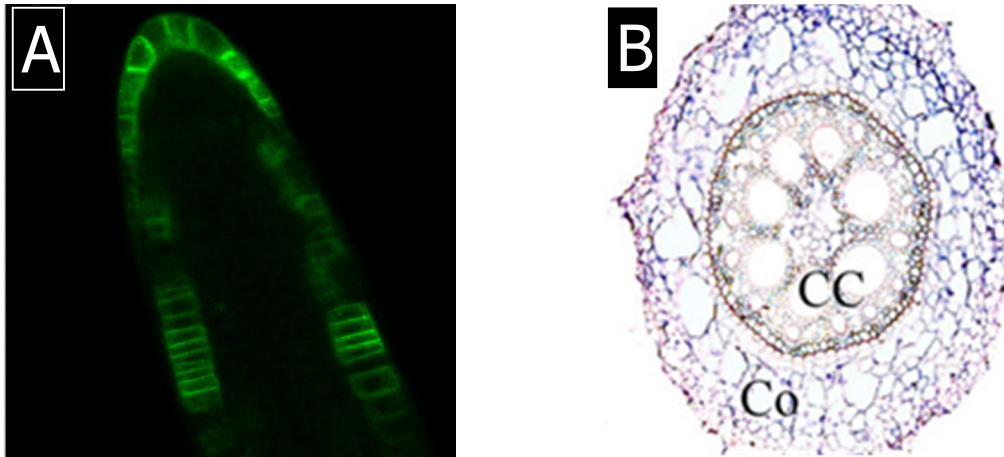
Obrázek 14: Lokalizace *HvPT1;1*, A - nodální kořen, B - vznikající postranní kořen (Schunmann, 2004)

4.5. Transportéry nitrátu a amonného iontu

Dusík je jednou z nejdůležitější minerálních živin zapojenou v mnoha procesech rostlinného metabolismu, stavební komponentou proteinů a dalších organických látek. Jeho množství v rostlinném těle je uváděno 1-5% sušiny (Marschner, 1995). I přes vysoký přísun N do půdy bývá jeho příjem nedostatečný. V půdě se vyskytuje formě nitrátu NO_3^- nebo amonného iontu NH_4^+ (především zaplavované oblasti nebo kyselá lesní půda (Britto a Kronzucker, 2002)). V těchto formách je též rostlinami přijímán. Vzdušný dusík je přijímán pouze u rostlin žijících v symbióze s hlízkovými bakteriemi nebo sinicemi (Maathuis, 2009; Von Wirén et al., 1997). O dostupný dusík rostliny bojují s půdními mikroorganismy a při jeho nedostatku může docházet i k příjmu aminokyselin (Näsholm et al., 2009).

Transportu dusíku se účastní mnoho přenašečů, já však zmíním pouze některé, důležité z hlediska lokalizace. Mezi transportéry dusíku můžeme zařadit vysokoafinitní transportéry amonného iontu (rodina AMT; *Ammonium transporter*) a transportéry nitrátové, u kterých rozlišujeme vysokoafinitní HATS, které lze dále dělit dle rozdílů v expresi (Forde, 2000) a nízkoafinitní LATS (Tsay et al., 2007), které přenášejí i IAA, ABU, glukosinoláty, dikarboxyláty a aminokyseliny (Léran et al., 2014). Nitrátové transportéry využívají energie protonového gradientu (Wang et al., 2012).

U huseníčku dochází k příjmu nitrátu kořeny prostřednictvím tří různých typů transportérů. Tyto transportéry jsou členy rodin NRT1/PTR (*Nitrate Transporters/Peptide Transporters family*), NRT2 (*Nitrate Transporters family*) a rodiny CLC (*Chloride Carrier/Channel family*). Příjem probíhá skrz vysokoafinitní transportéry AtNRT2;1 a AtNRT2;2 jejichž geny jsou exprimovány v rhizodermis i primární kůře. Dále s pomocí transportérů AtNRT1;1 (CHL1) a AtNRT1;2. AtNRT1;1 je transportér s duální afinitou zapojený při vysoko i nízkoafinitním příjmu dusíku (Liu a Tsay, 2003).

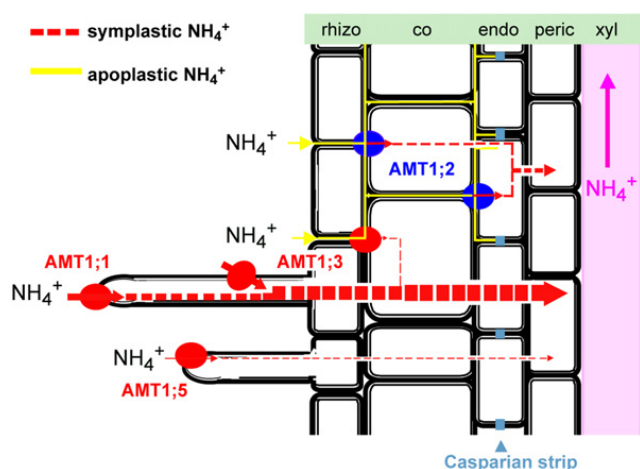


Obrázek 15: A – lokalizace AtNRT1;1 v mladém postranním kořeni huseníčku (Krouk et al., 2010), B - lokalizace exprese *ZmNrt2;1* v primární kůře (Trevisan et al., 2008)

AtNRT1;1 je lokalizovaný spíše v radiální části plazmalemy povrchové vrstvy buněk krátkých postranních kořenů (Obr. 15A) (Krouk et al., 2010) v blízkosti kořenové špičky, ale s diferenciací kořene se přesouvá do primární kůry a endodermis (Forde, 2000; Huang et al., 1996). AtNRT1;1 se podílí na transportu auxinu a růstu postranních kořenů, což vysvětluje pozorovanou lokalizaci (Krouk et al., 2010). Exprese *AtNRT1;2* je konstitutivní v rhizodermis a vláscích bez změny se stářím kořene (Huang et al., 1999). Člen rodiny NRT1/PTR transportér NAXT1 slouží k přenosu nitrátu ven z buněk primární kůry diferencované části kořene (Wang et al., 2012).

Za příjem a translokaci nitrátu je u rýže odpovědný OsNPF2;4, který se vyskytuje v rhizodermis a stélé a OsNRT1;1 pozorovaný v celém kořeni kromě špičky v rhizodermis a kořenových vláscích (Xia et al., 2015). Příjem nitrátu u kukuřice je zprostředkován díky *ZmNRT2;1*, který je lokalizován v primární kůře, avšak chybí ve středním válci (Obr. 15B), kde se naopak vyskytuje *ZmNRT2;2*, který se zřejmě účastní nakládání do xylému (Trevisan et al., 2008).

Příjem amonného iontu (Obr. 16) je u huseníčku zprostředkován AtAMT1;1, AtAMT1;3 a AtAMT1;5, jejichž exprese je v rhizodermis (Neuhäuser et al., 2007) při deficienci dusíku zvýšena a jsou lokalizovány v rhizodermis včetně kořenových vlásků (Yuan 2007). AtAMT1;1 navíc intenzivněji v distální části plazmalemy rhizodermálních buněk (Neuhäuser et al., 2007). Naopak AtAMT1;2 je lokalizován v buňkách primární kůry a endodermis, v rhizodermis chybí (Obr. 17A, B). To naznačuje jeho význam v příjmu amonného iontu z apoplastu vnitřní části primární kůry (Yuan 2007). Na plazmalemě endodermálních buněk je jeho výskyt intenzivnější na distální straně, což naznačuje polarizovanou lokalizaci (Neuhäuser et al., 2007).



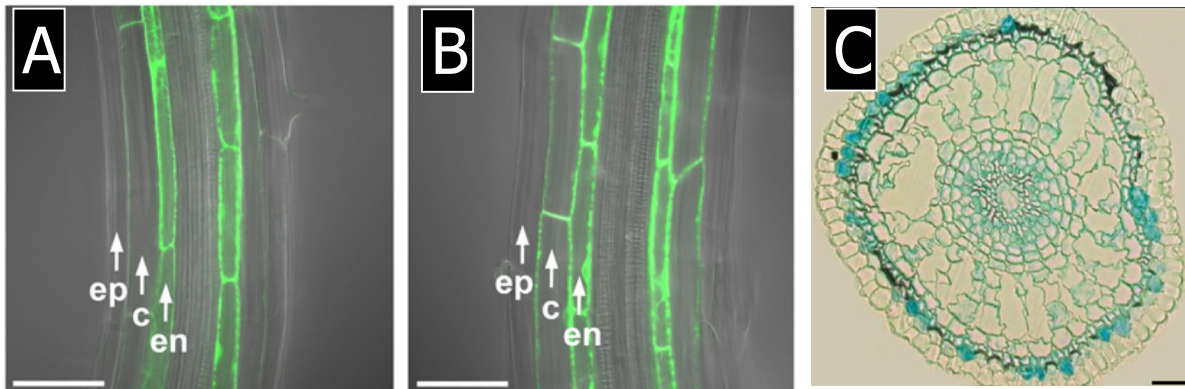
Obrázek 16: Schématické znázornění vysokoafinitního příjmu amonného iontu u huseníčku (Yuan et al., 2007)

jeho výskyt intenzivnější na distální straně, což naznačuje polarizovanou lokalizaci (Neuhäuser et al., 2007).

Rýže jako mokřadní rostlina přijímá dusík především v podobě amonného iontu, nejvíc v oblasti blízko kořenové špičky (Colmer a Bloom, 1998), ale je schopna přijímat i nitrát (Chen a Ma, 2015). Příjmu amonného iontu se zde účastní 3 členové rodiny *OsAMT1* (*Oryza sativa ammonium transporters*) s 11 transmembránovými doménami (Sonoda et al., 2003) a to *OsAMT1;1 – 3* s podobnou sekvencí, avšak rozlišnou afinitou k NH_4^+ . Jejich exprese je ovlivněna vnější koncentrací dusíku (Ferreira et al., 2015). *OsAMT1;1* je konstitutivně exprimován v endodermis a exodermis. Při transientní expresi v buňkách cibule (*Allium cepa*) vykazuje lokalizaci na plazmatické membráně, ale jeho přesná lokalizace v kořenech rýže nebyla prokázána. Při této lokalizaci by mohl fungovat jako AtAMT1;2 u huseníčku (Ranathunge et al., 2014). *OsAMT1;2* se účastní příjmu i translokace dusíku do cévních svazků a jeho exprese byla pozorována v exodermis, sklerenchymu, endodermis a středním válci ve špičce primárního kořene (Sasaki et al., 2016; Sonoda et al., 2003), zatímco u rajčete *LeAMT1;2* především v kořenových vláscích (Von Wirén et al., 2000). Při nízké koncentraci dusíku dochází ke zvýšené expresi *OsAMT1;3* především v místě vzniku postranních kořenů a kořenové

cienci dusíku zvýšena a jsou lokalizovány v rhizodermis včetně kořenových vlásků (Yuan 2007). AtAMT1;1 navíc intenzivněji v distální části plazmalemy rhizodermálních buněk (Neuhäuser et al., 2007). Naopak AtAMT1;2 je lokalizován v buňkách primární kůry a endodermis, v rhizodermis chybí (Obr. 17A, B). To naznačuje jeho význam v příjmu amonného iontu z apoplastu vnitřní části primární kůry (Yuan 2007). Na plazmalemě endodermálních buněk je

čepičce (Obr. 17C) a též dochází k morfologickým změnám kořene. V mladších částech kořene se *OsAMT1;3* exprimuje v exodermis, sklerenchymu, primární kůře a stéle. Ve starších částech je jeho výskyt nejvýraznější v exodermis a místě vzniku postranních kořenů, z primární kůry tedy alespoň částečně mizí (Ferreira et al., 2015). Bylo vypořádováno, že kromě transportu dusíku funguje *OsAMT1;3* jako senzor vnější koncentrace (Ferreira et al., 2015).



Obrázek 17: A – B: Lokalizace *AtAMT1;2* A – oblast kořenových vlásků, B – střední část kořene (Yuan et al., 2007), C – lokalizace exprese *OsAMT1;3* v kořenové špičce (Ferreira et al., 2015)

5. Závěr

Na základě informací získaných touto prací si dovoluji tvrdit, že apoplastické bariéry, konkrétně exodermis, ovlivňují příjem a radiální transport látek kořenem nebo spíše umístění transportérů, které se přenosu živin a vody účastní. Porovnáním lokalizací těchto transportérů u rostliny s exodermis a bez ní jsou zřetelné rozdíly. Nejen mezi odlišnými rostlinnými druhy, ale i v rámci jedné rostliny podél axiální osy kořene můžeme pozorovat různá umístění transmembránových proteinů zapojených do příjmu a transportu látek. V řadě případů dochází s diferenciací kořene a jeho struktur k přesunu exprese transportérů především do buněk exodermis, potažmo endodermis (exodermis - *OsNIP3;1*, *OsPht1;4*, *OsAMT1;3*, endodermis - *AtNRT1;1*, *AtBOR1*, *AtNIP5;1* či výjimečně rhizodermis - *HvPht1;1*, *HvPht1;2*). Zřejmě pro ještě větší efektivnost transportu látek jsou některé transportéry lokalizovány polarizovaně na plazmatických membránách distálních nebo proximálních stran buněk (rhizodermis - *ZmPIP2;5*, *ZmLsi1*, *AtBOR4*, *AtAMT1;1*; exodermis a endodermis - *HvLsi1*, *OsLsi1*, *OsLsi2*, *AtNIP5;1*, *AtBOR1*, *AtAMT1;2*). Bohužel nemalé množství článků zaměřených spíše na molekulární podstatu transportu (charakterizaci konkrétního transportního proteinu) detailněji nezmiňuje, z jaké vývojové zóny kořene jsou data o lokalizaci pořízena, což komplikuje jednoznačné vyhodnocení vlivu přítomnosti diferencované exodermis/hypodermis na lokalizaci a mé snažení komplikuje. Na úrovni endodermis však bylo recentně ukázáno, že uložení suberinové lamely ovlivňuje výskyt transportérů živin na plazmalemě endodermálních buněk. Ukládání suberinu je ovlivněno stresovými podmínkami (Barberon et al., 2016). Exodermis však v tomto směru nebyla věnována systematictější pozornost, proto bych se ráda ve své další, diplomové práci zaměřila na detailní analýzu vlivu diferenciacie exodermis na lokalizaci vybraných transportérů živin (např. fosfátového transportéru *Pht1;1-2*) podél celé axiální osy kořene, tedy ve všech vývojových fázích u hydroponicky pěstované rýže, ječmene nebo kukuřice. Podobným způsobem bych se ráda zaměřila i na význam propustných buněk, u kterých se suberinová lamela ukládá později. V endodermis se často vyskytují proti xylémovým pólům (Peterson a Enstone, 1996) a je jim připisován intenzivnější transport do středního válce, což však doposud nebylo jednoznačně experimentálně prokázáno. Detailní analýza lokalizace transportérů živin na membráně propustných buněk či buněk primární kůry

v jejich okolí by opět mohla pomoci prokázat jejich reálný význam v radiálním transportu látek do stéle.

6. Seznam použité literatury:

- Ai, P., Sun, S., Zhao, J., Fan, X., Xin, W., Guo, Q., Yu, L., Shen, Q., Wu, P., Miller, A.J., Xu, G., 2009a. Two rice phosphate transporters, OsPht1;2 a OsPht1;6, have different functions a kinetic properties in uptake a translocation. *Plant J.* 57, 798–809.
- Ai, P., Sun, S., Zhao, J., Xu, G., 2009b. Regulation a function of Pht1 family phosphate transporters in rice, in: *The Proceedings of the International Plant Nutrition Colloquium XVI*.
- Alassimone, J., Naseer, S., Geldner, N., 2010. A developmental framework for endodermal differentiation a polarity. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 107, 5214–5219.
- Armstrong, J., Armstrong, W., 2005. Rice: Sulfide-induced Barriers to Root Radial Oxygen Loss, Fe²⁺ a Water Uptake, a Lateral Root Emergence. *Ann. Bot.* 96, 625–638.
- Barberon, M., Geldner, N., 2014. Radial Transport of Nutrients: The Plant Root as a Polarized Epithelium. *PLANT Physiol.* 166, 528–537.
- Barberon, M., Vermeer, J.E.M., De Bellis, D., Wang, P., Naseer, S., Aersen, T.G., Humbel, B.M., Nawrath, C., Takano, J., Salt, D.E., Geldner, N., 2016. Adaptation of Root Function by Nutrient-Induced Plasticity of Endodermal Differentiation. *Cell* 164, 447–459.
- Bernards, M.A., 2002. Demystifying suberin. *Can. J. Bot.* 80, 227–240.
- Bernstein, L., Nieman, R.H., 1960. Apparent free space of plant roots. *Plant Physiol.* 35, 589.
- Bonnett, H., T., 1968. The root endodermis: fine structure a function. *Dep. Biol. Univ. Or. Eugene Or.* 97403.
- Brady, N.C., Weil, R.R., 2001. *The Nature a Properties of Soils*. Prentice Hall, Uper Saddle River, New Jersey.
- Britto, D.T., Kronzucker, H.J., 2002. NH₄⁺ toxicity in higher plants: a critical review. *J. Plant Physiol.*
- Brundrett, M., Murase, G., Kendrick, B., 1990. Comparative anatomy of roots a mycorrhizae of common Ontario trees. *Can. J. Bot.* 68, 551–578.
- Camacho-Cristóbal, J.J., Rexach, J., González-Fontes, A., 2008. Boron in Plants: Deficiency a Toxicity. *J. Integr. Plant Biol.* 50, 1247–1255.
- Chaumont, F., Tyerman, S.D., 2014. Aquaporins: Highly Regulated Channels Controlling Plant Water Relations1. *Plant Physiol.* 164, 1600–1618.
- Chen, Z.C., Ma, J.F., 2015. Improving Nitrogen Use Efficiency in Rice through Enhancing Root Nitrate Uptake Mediated by a Nitrate Transporter, NRT1.1B. *J. Genet. Genomics* 42, 463–465.
- Chiba, Y., Mitani, N., Yamaji, N., Ma, J.F., 2009. HvLsi1 is a silicon influx transporter in barley. *Plant J.* 57, 810–818.
- Clarkson, D.T., 1993. Roots a the delivery of solutes to the xylem. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 341, 5–17.
- Colmer, T.D., Bloom, A.J., 1998. A comparison of NH₄⁺ a NO₃⁻ net fluxes along roots of rice a maize. *Plant Cell Environ.* 21, 240–246.

- Coudert, Y., Périn, C., Courtois, B., Khong, N.G., Gantet, P., 2010. Genetic control of root development in rice, the model cereal. *Trends Plant Sci.* 15, 219–226.
- Dainty, J., Hope, A.B., 1961. The electric double layer a the Donnan equilibrium in relation to plant cell walls. *Aust. J. Biol. Sci.* 14, 541–551.
- Damus, M., Peterson, R.L., Enstone, D.E., Peterson, C.A., 1997. Modifications of cortical cell walls in roots of seedless vascular plants. *Bot. Acta* 110, 190–195.
- Enstone, D.E., Peterson, C.A., Ma, F., 2003. Root Endodermis a Exodermis: Structure, Function, a Responses to the Environment. *J. Plant Growth Regul.* 21, 335–351.
- Esau, K., 1953. *Plant Anatomy*. Wiley, New York.
- Ferreira, L.M., de Souza, V.M., Tavares, O.C.H., Zonta, E., Santa-Catarina, C., de Souza, S.R., Fernandes, M.S., Santos, L.A., 2015. OsAMT1.3 expression alters rice ammonium uptake kinetics a root morphology. *Plant Biotechnol. Rep.* 9, 221–229.
- Forde, B.G., 2000. Nitrate-transporters-in-plants-structure-function-a-regulation_2000_Biochimica-et-Biophysica-Acta-BBA-Biomembranes.pdf. *Biochim. Biophys. Acta*.
- Geldner, N., 2013. The Endodermis. *Annu. Rev. Plant Biol.* 64, 531–558.
- Gordon-Weeks, R., 2003. Restricted spatial expression of a high-affinity phosphate transporter in potato roots. *J. Cell Sci.* 116, 3135–3144.
- Hachez, C., Moshelion, M., Zelazny, E., Cavez, D., Chaumont, F., 2006. Localization a Quantification of Plasma Membrane Aquaporin Expression in Maize Primary Root: A Clue to Understanding their Role as Cellular Plumbers. *Plant Mol. Biol.* 62, 305–323.
- Hanaoka, H., Uruguchi, S., Takano, J., Tanaka, M., Fujiwara, T., 2014. OsNIP3;1, a rice boric acid channel, regulates boron distribution a is essential for growth under boron-deficient conditions. *Plant J.* 78, 890–902.
- Helariutta, Y., Fukaki, H., Wysocka-Diller, J., Nakajima, K., Jung, J., Sena, G., Hauser, M.-T., Benfey, P.N., 2000. The SHORT-ROOT gene controls radial patterning of the Arabidopsis root through radial signaling. *Cell* 101, 555–567.
- Hose, E., Clarkson, D.T., Steudle, E., Schreiber, L., Hartung, W., 2001. The exodermis: a variable apoplastic barrier. *J. Exp. Bot.* 52, 2245–2264.
- Huang, N.C., Chiang, C.S., Crawford, N.M., Tsay, Y.F., 1996. CHL1 encodes a component of the low-affinity nitrate uptake system in Arabidopsis a shows cell type-specific expression in roots. *Plant Cell* 8, 2183–2191.
- Huang, N.-C., Liu, K.-H., Lo, H.-J., Tsay, Y.-F., 1999. Cloning a Functional Characterization of an Arabidopsis Nitrate Transporter Gene That Encodes a Constitutive Component of Low-Affinity Uptake. *Plant Cell* 11, 1381–1392.
- Jackson, M.B., Armstrong, W., 1999. Formation of Aerenchyma a the Processes of Plant Ventilation in Relation to Soil Flooding a Submergence. *Plant Biol.* 1, 274–287.
- Kaldenhoff, R., Fischer, M., 2006a. Aquaporins in plants. *Acta Physiol.* 187, 169–176.
- Kaldenhoff, R., Fischer, M., 2006b. Aquaporins in plants. *Acta Physiol.* 187, 169–176.
- Kanno, S., Arrighi, J.-F., Chiarenza, S., Bayle, V., Berthomé, R., Péret, B., Javot, H., Delannoy, E., Marin, E., Nakanishi, T.M., others, 2016. A novel role for the root cap in phosphate uptake a homeostasis. *eLife* 5, e14577.

- Krishnamurthy, P., Ranathunge, K., Nayak, S., Schreiber, L., Mathew, M.K., 2011. Root apoplastic barriers block Na⁺ transport to shoots in rice (*Oryza sativa* L.). *J. Exp. Bot.* 62, 4215–4228.
- Kroemer, K., 1903. Wurzelhaut, Hypodermis und Endodermis der Angiospermentwurzel. *Bibl. Bot.* 1–160.
- Krouk, G., Lacombe, B., Bielach, A., Perrine-Walker, F., Malinska, K., Mounier, E., Hoyerova, K., Tillard, P., Leon, S., Ljung, K., Zazimalova, E., Benkova, E., Nacry, P., Gojon, A., 2010. Nitrate-Regulated Auxin Transport by NRT1.1 Defines a Mechanism for Nutrient Sensing in Plants. *Dev. Cell* 18, 927–937.
- Léran, S., Varala, K., Boyer, J.-C., Chiurazzi, M., Crawford, N., Daniel-Vedele, F., David, L., Dickstein, R., Fernaez, E., Forde, B., Gassmann, W., Geiger, D., Gojon, A., Gong, J.-M., Halkier, B.A., Harris, J.M., Hedrich, R., Limami, A.M., Rentsch, D., Seo, M., Tsay, Y.-F., Zhang, M., Coruzzi, G., Lacombe, B., 2014. A unified nomenclature of NITRATE TRANSPORTER 1/PEPTIDE TRANSPORTER family members in plants. *Trends Plant Sci.* 19, 5–9.
- Levy, A., Guenoune-Gelbart, D., Epel, B.L., 2007. beta-1,3-Glucanases: Plasmodesmal Gate Keepers for Intercellular Communication. *Plant Signal. Behav.* 2, 404–407.
- Liu, C., Muchhal, U.S., Uthappa, M., Kononowicz, A.K., Raghothama, K.G., 1998. Tomato Phosphate Transporter Genes Are Differentially Regulated in Plant Tissues by Phosphorus. *Plant Physiol.* 116, 91–99.
- Liu, K.-H., Tsay, Y.-F., 2003. Switching between the two action modes of the dual-affinity nitrate transporter CHL1 by phosphorylation. *EMBO J.* 22, 1005–1013.
- Liu, K., Liu, L.-L., Ren, Y.-L., Wang, Z.-Q., Zhou, K.-N., Liu, X., Wang, D., Zheng, M., Cheng, Z.-J., Lin, Q.-B., Wang, J.-L., Wu, F.-Q., Zhang, X., Guo, X.-P., Wang, C.-M., Zhai, H.-Q., Jiang, L., Wan, J.-M., 2015. Dwarf a tiller-enhancing 1 regulates growth a development by influencing boron uptake in boron limited conditions in rice. *Plant Sci.* 236, 18–28.
- Lucas, W.J., Ding, B., SCHOOT, C., 1993. Plasmodesmata a the supracellular nature of plants. *New Phytol.* 125, 435–476.
- Lux, A., Šottníková, A., Opatrna, J., Greger, M., 2004. Differences in structure of adventitious roots in *Salix* clones with contrasting characteristics of cadmium accumulation a sensitivity. *Physiol. Plant.* 120, 537–545.
- Maathuis, F.J., 2009. Physiological functions of mineral macronutrients. *Curr. Opin. Plant Biol.* 12, 250–258.
- Ma, J.F., Tamai, K., Yamaji, N., Mitani, N., Konishi, S., Katsuhara, M., Ishiguro, M., Murata, Y., Yano, M., 2006. A silicon transporter in rice. *Nature* 440, 688–691.
- Ma, J.F., Yamaji, N., 2015. A cooperative system of silicon transport in plants. *Trends Plant Sci.* 20, 435–442.
- Ma, J.F., Yamaji, N., Mitani, N., Tamai, K., Konishi, S., Fujiwara, T., Katsuhara, M., Yano, M., 2007. An efflux transporter of silicon in rice. *Nature* 448, 209–212.
- Marschner, H., 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. Gulf Professional Publishing.
- Maurel, C., Boursiac, Y., Luu, D.-T., Santoni, V., Shahzad, Z., Verdoucq, L., 2015. Aquaporins in Plants. *Physiol. Rev.* 95, 1321–1358.
- Maurel, C., Reizer, J., Schroeder, J.I., Chrispeels, M.J., 1993. The vacuolar membrane protein gamma-TIP creates water specific channels in *Xenopus* oocytes. *EMBO J.* 12, 2241–2247.

- Meyer, C.J., Peterson, C.A., Bernards, M.A., 2011a. Spatial a temporal deposition of suberin during maturation of the onion root exodermis. *Botany* 89, 119–131.
- Meyer, C.J., Peterson, C.A., Steudle, E., 2011b. Permeability of *Iris germanica*'s multiseriate exodermis to water, NaCl, a ethanol. *J. Exp. Bot.* 62, 1911–1926.
- Meyer, C.J., Seago, J.L., Peterson, C.A., 2009. Environmental effects on the maturation of the endodermis a multiseriate exodermis of *Iris germanica* roots. *Ann. Bot.* 103, 687–702.
- Mitani, N., Chiba, Y., Yamaji, N., Ma, J.F., 2009. Identification a Characterization of Maize a Barley Lsi2-Like Silicon Efflux Transporters Reveals a Distinct Silicon Uptake System from That in Rice. *PLANT CELL ONLINE* 21, 2133–2142.
- Mitani, N., Yamaji, N., Ma, J.F., 2009. Identification of Maize Silicon Influx Transporters. *Plant Cell Physiol.* 50, 5–12.
- Muchhal, U.S., Raghothama, K.G., 1999. Transcriptional regulation of plant phosphate transporters. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 96, 5868–5872.
- Mudge, S.R., Rae, A.L., Diatloff, E., Smith, F.W., 2002. Expression analysis suggests novel roles for members of the Pht1 family of phosphate transporters in Arabidopsis. *Plant J.* 31, 341–353.
- Nada, R.M., Abogadallah, G.M., 2014. Aquaporins are major determinants of water use efficiency of rice plants in the field. *Plant Sci.* 227, 165–180.
- Nakagawa, Y., Hanaoka, H., Kobayashi, M., Miyoshi, K., Miwa, K., Fujiwara, T., 2007. Cell-Type Specificity of the Expression of Os BOR1, a Rice Efflux Boron Transporter Gene, Is Regulated in Response to Boron Availability for Efficient Boron Uptake a Xylem Loading. *Plant Cell* 19, 2624–2635.
- Naseer, S., Lee, Y., Lapierre, C., Franke, R., Nawrath, C., Geldner, N., 2012. Casparian strip diffusion barrier in Arabidopsis is made of a lignin polymer without suberin. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 109, 10101–10106.
- Näsholm, T., Kiella, K., Ganeteg, U., 2009. Uptake of organic nitrogen by plants. *New Phytol.* 182, 31–48.
- Neuhäuser, B., Dynowski, M., Mayer, M., Ludewig, U., 2007. Regulation of NH₄⁺ Transport by Essential Cross Talk between AMT Monomers through the Carboxyl Tails. *Plant Physiol.* 143, 1651–1659.
- Nussaume, L., 2011. Phosphate import in plants: focus on the PHT1 transporters. *Front. Plant Sci.* 2.
- Pao, S.S., Paulsen, I.T., Saier, M.H., 1998. Major Facilitator Superfamily. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 62, 1–34.
- Park, J.H., Saier Jr, M.H., 1996. Phylogenetic characterization of the MIP family of transmembrane channel proteins. *J. Membr. Biol.* 153, 171–180.
- Paszkowski, U., Kroken, S., Roux, C., Briggs, S.P., 2002. Rice phosphate transporters include an evolutionarily divergent gene specifically activated in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 99, 13324–13329.
- Perumalla, C.J., Peterson, C.A., ENSTONE, D.E., 1990. A survey of angiosperm species to detect hypodermal Casparian bas. I. Roots with a uniseriate hypodermis a epidermis. *Bot. J. Linn. Soc.* 103, 93–112.
- Peterson, C.A., Enstone, D.E., 1996. Functions of passage cells in the endodermis a exodermis of roots. *Physiol. Plant.* 97, 592–598.

- Peterson, C.A., Perumalla, C.J., 1990. A survey of angiosperm species to detect hypodermal Casparian bas. II. Roots with a multiseriate hypodermis or epidermis. *Bot. J. Linn. Soc.* 103, 113–125.
- Ranathunge, K., El-kereamy, A., Gidda, S., Bi, Y.-M., Rothstein, S.J., 2014. AMT1;1 transgenic rice plants with enhanced NH₄⁺ permeability show superior growth a higher yield under optimal a suboptimal NH₄⁺ conditions. *J. Exp. Bot.* 65, 965–979.
- Ranathunge, K., Steudle, E., Lafitte, R., 2005. Blockage of apoplastic bypass-flow of water in rice roots by insoluble salt precipitates analogous to a Pfeffer cell. *Plant Cell Environ.* 28, 121–133.
- Ranathunge, K., Steudle, E., Lafitte, R., 2003. Control of water uptake by rice (*Oryza sativa* L.): role of the outer part of the root. *Planta* 217, 193–205.
- Rausch, C., Bucher, M., 2002. Molecular mechanisms of phosphate transport in plants. *Planta* 216, 23–37.
- Redjala, T., Zelko, I., Sterckeman, T., Legué, V., Lux, A., 2011. Relationship between root structure a root cadmium uptake in maize. *Environ. Exp. Bot.* 71, 241–248.
- Remy, E., Cabrito, T.R., Batista, R.A., Teixeira, M.C., Sá-Correia, I., Duque, P., 2012. The Pht1;9 a Pht1;8 transporters mediate inorganic phosphate acquisition by the *Arabidopsis thaliana* root during phosphorus starvation. *New Phytol.* 195, 356–371.
- Richmond, K.E., Sussman, M., 2003. Got silicon? The non-essential beneficial plant nutrient. *Curr. Opin. Plant Biol.* 6, 268–272.
- Roppolo, D., Boeckmann, B., Pfister, A., Boutet, E., Rubio, M.C., Dénervaud-Tendon, V., Vermeer, J.E.M., Gheyselinck, J., Xenarios, I., Geldner, N., 2014. Functional a Evolutionary Analysis of the CASPARIAN STRIP MEMBRANE DOMAIN PROTEIN Family. *Plant Physiol.* 165, 1709–1722.
- Roppolo, D., De Rybel, B., Tendon, V.D., Pfister, A., Alassimone, J., Vermeer, J.E.M., Yamazaki, M., Stierhof, Y.-D., Beeckman, T., Geldner, N., 2011. A novel protein family mediates Casparian strip formation in the endodermis. *Nature* 473, 380–383.
- Sakano, K., 1990. Proton/Phosphate Stoichiometry in Uptake of Inorganic Phosphate by Cultured Cells of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *Plant Physiol.* 93, 479–483.
- Sakurai, J., Ahamed, A., Murai, M., Maeshima, M., Uemura, M., 2008. Tissue a Cell-Specific Localization of Rice Aquaporins a Their Water Transport Activities. *Plant Cell Physiol.* 49, 30–39.
- Sasaki, A., Yamaji, N., Ma, J.F., 2016. Transporters involved in mineral nutrient uptake in rice. *J. Exp. Bot.* erw060.
- Schachtman, D.P., Reid, R.J., Ayling, S.M., 1998. Phosphorus uptake by plants: from soil to cell. *Plant Physiol.* 116, 447–453.
- Schnurbusch, T., Hayes, J., Hrmova, M., Baumann, U., Ramesh, S.A., Tyerman, S.D., Langridge, P., Sutton, T., 2010. Boron Toxicity Tolerance in Barley through Reduced Expression of the Multifunctional Aquaporin HvNIP2;1. *Plant Physiol.* 153, 1706–1715.
- Schreiber, L., Hartmann, K., Skrabs, M., Zeier, J., 1999. Apoplastic barriers in roots: chemical composition of endodermal a hypodermal cell walls. *J. Exp. Bot.* 50, 1267–1280.
- Schunmann, P.H.D., 2004. Characterization of promoter expression patterns derived from the Pht1 phosphate transporter genes of barley (*Hordeum vulgare* L.). *J. Exp. Bot.* 55, 855–865.
- Smith, F.W., 2002. The phosphate uptake mechanism. *Plant Soil* 245, 105–114.
- Smith, F.W., 2001. Sulphur a phosphorus transport systems in plants. *Plant Soil* 232, 109–118.

- Smith, F.W., Mudge, S.R., Rae, A.L., Glassop, D., 2003. Phosphate transport in plants. *Plant Soil* 248, 71–83.
- Sonoda, Y., Ikeda, A., Saiki, S., Wirén, N. von, Yamaya, T., Yamaguchi, J., 2003. Distinct Expression a Function of Three Ammonium Transporter Genes (OsAMT1;1 – 1;3) in Rice. *Plant Cell Physiol.* 44, 726–734.
- Soukup, A., Votrubová, O., Čížková, H., 2002. Development of anatomical structure of roots of *Phragmites australis*. *New Phytol.* 153, 277–287.
- Steudle, E., Peterson, C.A., 1998. How does water get through roots? *J. Exp. Bot.* 49, 775–788.
- Sun, S., Gu, M., Cao, Y., Huang, X., Zhang, X., Ai, P., Zhao, J., Fan, X., Xu, G., 2012. A Constitutive Expressed Phosphate Transporter, OsPht1;1, Modulates Phosphate Uptake a Translocation in Phosphate-Replete Rice. *PLANT Physiol.* 159, 1571–1581.
- Taiz, L., Zeiger, E., 2014. *Plant Physiology a Developement*. Sinauer Associates Inc., U.S., Sunderla, United States.
- Takano, J., Miwa, K., Fujiwara, T., 2008. Boron transport mechanisms: collaboration of channels a transporters. *Trends Plant Sci.* 13, 451–457.
- Takano, J., Noguchi, K., Yasumori, M., Kobayashi, M., al, et, 2002. Arabidopsis boron transporter for xylem loading. *Nature* 420, 337–40.
- Takano, J., Tanaka, M., Toyoda, A., Miwa, K., Kasai, K., Fuji, K., Onouchi, H., Naito, S., Fujiwara, T., 2010. Polar localization a degradation of Arabidopsis boron transporters through distinct trafficking pathways. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 107, 5220–5225.
- Trevisan, S., Borsa, P., Botton, A., Varotto, S., Malagoli, M., Ruperti, B., Quaggiotti, S., 2008. Expression of two maize putative nitrate transporters in response to nitrate a sugar availability. *Plant Biol.* 10, 462–475.
- Tsay, Y.-F., Chiu, C.-C., Tsai, C.-B., Ho, C.-H., Hsu, P.-K., 2007. Nitrate transporters a peptide transporters. *FEBS Lett.* 581, 2290–2300.
- Turner, B.L., Papházy, M.J., Haygarth, P.M., McKelvie, I.D., 2002. Inositol phosphates in the environment. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 357, 449–469.
- Vaculík, M., Konlechner, C., Langer, I., Adlassnig, W., Puschenreiter, M., Lux, A., Hauser, M.-T., 2012. Root anatomy a element distribution vary between two *Salix caprea* isolates with different Cd accumulation capacities. *Environ. Pollut.* 163, 117–126.
- Von Wirén, N., Gazzarrini, S., Frommer, W.B., 1997. Regulation of mineral nitrogen uptake in plants. *Plant Soil.*
- Von Wirén, N., Lauter, F.-R., Ninnemann, O., Gillissen, B., Walch-Liu, P., Engels, C., Jost, W., Frommer, W.B., 2000. Differential regulation of three functional ammonium transporter genes by nitrogen in root hairs a by light in leaves of tomato. *Plant J.* 21, 167–175.
- Waduwara, C.I., Walcott, S.E., Peterson, C.A., 2008. Suberin lamellae of the onion root endodermis: their pattern of development a continuity. *Botany* 86, 623–632.
- Wallace, I.S., Choi, W.-G., Roberts, D.M., 2006. The structure, function a regulation of the nodulin 26-like intrinsic protein family of plant aquaglyceroporins. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Biomembr.* 1758, 1165–1175.
- Wang, X., Wang, Y., Piñeros, M.A., Wang, Z., Wang, W., Li, C., Wu, Z., Kochian, L.V., Wu, P., 2014. Phosphate transporters OsPHT1;9 a OsPHT1;10 are involved in phosphate uptake in rice: Function of OsPT9 a OsPT10. *Plant Cell Environ.* 37, 1159–1170.

- Wang, Y.-Y., Hsu, P.-K., Tsay, Y.-F., 2012. Uptake, allocation a signaling of nitrate. *Trends Plant Sci.* 17, 458–467.
- Xia, X., Fan, X., Wei, J., Feng, H., Qu, H., Xie, D., Miller, A.J., Xu, G., 2015. Rice nitrate transporter OsNPF2.4 functions in low-affinity acquisition a long-distance transport. *J. Exp. Bot.* 66, 317–331.
- Yamaji, N., Chiba, Y., Mitani-Ueno, N., Feng Ma, J., 2012. Functional Characterization of a Silicon Transporter Gene Implicated in Silicon Distribution in Barley. *PLANT Physiol.* 160, 1491–1497.
- Yamaji, N., Chiba, Y., Mitani-Ueno, N., Ma, J.F., 2012. Functional Characterization of a Silicon Transporter Gene Implicated in Silicon Distribution in Barley. *Plant Physiol.* 160, 1491–1497.
- Yamaji, N., Ma, J.F., 2011. Further characterization of a rice silicon efflux transporter, Lsi2. *Soil Sci. Plant Nutr.* 57, 259–264.
- Yamaji, N., Ma, J.F., 2007. Spatial Distribution a Temporal Variation of the Rice Silicon Transporter Lsi1. *Plant Physiol.* 143, 1306–1313.
- Ye, Y., Yuan, J., Chang, X., Yang, M., Zhang, L., Lu, K., Lian, X., 2015a. The Phosphate Transporter Gene *OsPht1;4* Is Involved in Phosphate Homeostasis in Rice. *PLOS ONE* 10, e0126186.
- Ye, Y., Yuan, J., Chang, X., Yang, M., Zhang, L., Lu, K., Lian, X., 2015b. The Phosphate Transporter Gene *OsPht1;4* Is Involved in Phosphate Homeostasis in Rice. *PLoS ONE* 10, e0126186.
- Yuan, L., Loqué, D., Kojima, S., Rauch, S., Ishiyama, K., Inoue, E., Takahashi, H., Wirén, N. von, 2007. The Organization of High-Affinity Ammonium Uptake in Arabidopsis Roots Depends on the Spatial Arrangement a Biochemical Properties of AMT1-Type Transporters. *Plant Cell* 19, 2636–2652.
- Zeier, J., Goll, A., Yokoyama, M., Karahara, I., Schreiber, L., 1999. Structure a chemical composition of endodermal a rhizodermal/hypodermal walls of several species. *Plant Cell Environ.* 22, 271–279.
- Zhang, F., Sun, Y., Pei, W., Jain, A., Sun, R., Cao, Y., Wu, X., Jiang, T., Zhang, L., Fan, X., Chen, A., Shen, Q., Xu, G., Sun, S., 2015. Involvement of *OsPht1;4* in phosphate acquisition a mobilization facilitates embryo development in rice. *Plant J.* 82, 556–569.
- Zhao, X.Q., Mitani, N., Yamaji, N., Shen, R.F., Ma, J.F., 2010. Involvement of Silicon Influx Transporter OsNIP2;1 in Selenite Uptake in Rice. *Plant Physiol.* 153, 1871–1877.
- Zhu, C., Schraut, D., Hartung, W., Schäffner, A.R., 2005. Differential responses of maize MIP genes to salt stress a ABA. *J. Exp. Bot.* 56, 2971–2981.
- Zimmermann, H.M., Hartmann, K., Schreiber, L., Steudle, E., 2000. Chemical composition of apoplastic transport barriers in relation to radial hydraulic conductivity of corn roots (*Zea mays* L.). *Planta* 210, 302–311.
- Zimmermann, H.M., Steudle, E., 1998. Apoplastic transport across young maize roots: effect of the exodermis. *Planta* 206, 7–19.