Zusammenfassung

Die Symbiose der arbuskulären Mykorrhiza (AM) wird seit über 400 Millionen Jahren durch funktionale orthologe Gene reguliert. In den Wirtspflanzen wird die intrazelluläre Aufnahme des Symbionten durch den gemeinsamen Symbiose-Signalweg (CSSP) reguliert, der von Pflanzen rekrutiert wurde, die eine Wurzelknöllchen-Symbiose (RN) eingehen. In Nicht-AM-Wirtspflanzen ging ein Teil des CSSP verloren und damit auch die Fähigkeit, AM- oder RN-Symbiosen aufzubauen. *Arabidopsis thaliana* kompensiert den Verlust der AM-Symbiose durch die Interaktion mit *Colletotrichum tofieldiae*, hier AtCt genannt. Dabei überträgt der Ascomycet anorganisches Phosphat an Arabidopsis. Darüber hinaus wird die AtCt-Symbiose durch den Phosphatstatus der Pflanze gesteuert. Bis vor kurzem ging man davon aus, dass beide Merkmale nur in der AM-Symbiose vorkommen. In dieser Studie untersuchen wir, ob es konservierte Gene und Signalwege gibt, die beide Symbiosen regulieren. Mithilfe von vergleichender Transkriptomik und Orthologieanalyse identifizierten wir orthologe Rezeptorkinasen (RK) in *Lotus japonicus* und Arabidopsis, die während der Interaktion mit Pilz-Endophyten hochreguliert werden. Die Gruppe der RKs umfasste drei Transmembrankinasen (RLKs) und eine zytoplasmatische Kinase (RLCK). Pflanzliche RKs sind für die AM-Entwicklung unerlässlich, und ihre Funktion ist vor allem bei der Signaltransduktion an der Plasmamembran bekannt. Die Mechanismen, die der Plasmamembran nachgeschaltet sind, sind jedoch nur unzureichend bekannt.

Durch reverses genetisches Screening haben wir gezeigt, dass das RLCK KIN2 das Ergebnis von AM- und AtCt-Symbiosen beeinflusst. Analysen zur funktionellen Charakterisierung zeigten jedoch, dass KIN2 ein nicht-funktionelles Ortholog in AM-Wirtspflanzen und Nicht-Wirtspflanzen ist. Die evolutionäre und funktionelle Divergenz war möglicherweise eine Folge des Verlusts des CSSP in Arabidopsis. In Lotus interagiert LjKIN2 auf der Transkriptions- und Posttranskriptionsebene mit Mitgliedern der CSSP, nämlich *CCaMK*, *CYCLOPS* und *SymRK*. Im Vergleich zum Wildtyp führte der Funktionsverlust von *LjKIN2* zu einer reduzierten Entwicklung von Arbuskeln und einer unterdrückten Expression von AM-Markergenen, die mit dem Nährstoffaustausch zusammenhängen. Zusammengefasst deuten diese Ergebnisse darauf hin, dass *LjKIN2* in den frühen Stadien der AM-Entwicklung eine Rolle spielt. Außerdem konnten wir zeigen, dass LjKIN2 *in vitro* mit einem anderen RLCK namens LjKIN5 interagiert. Die Neuartigkeit dieses Ergebnisses verdient weitere Aufmerksamkeit im Hinblick auf die biologische Bedeutung einer solchen Interaktion. Zusammenfassend deuten unsere Ergebnisse darauf hin, dass die Kinase-vermittelte Signalübertragung stromabwärts der Plasmamembran für die Aufrechterhaltung der AM-Symbiose notwendig ist.

Abstract

Arbuscular mycorrhiza (AM) symbiosis has been regulated by functional orthologues genes for over 400 million years. In host plants, intracellular accommodation of the symbiont is regulated by the common symbiosis signalling pathway (CSSP), which was recruited by plants engaging in root nodule (RN) symbiosis. In non-AM host plants, a fraction of the CSSP was lost, thus the ability to establish AM or RN symbioses. *Arabidopsis thaliana* compensates for the loss of AM symbiosis through the interaction with *Colletotrichum tofieldiae*, here named AtCt. Whereby the ascomycete transfers inorganic phosphate to Arabidopsis. In addition, AtCt symbiosis is controlled by the phosphate status of the plant. Until recently, both features were thought to be exclusive from AM symbiosis. Here, we ask whether there are conserved genes and signalling pathways that regulate both symbioses. Using comparative transcriptomics and orthology analysis, we identified orthologous receptor kinases (RK) in *Lotus japonicus* and Arabidopsis, which are up-regulated during the interaction with fungal endophytes. The group of RKs comprised three transmembrane kinases (RLKs) and one cytoplasmic kinase (RLCK). Plant RKs are essential for AM development and their function is particularly known in signal transduction at the plasma membrane. However, the mechanisms downstream of the plasma membrane are poorly understood.

Using reverse genetic screening we showed that the RLCK KIN2 influences the outcome of AM and AtCt symbioses. However, functional characterisation analyses demonstrated that KIN2 is a non-functional orthologue in AM host and non-host plants. Evolutionary and functional divergence was possibly a consequence of the loss of the CSSP in Arabidopsis. In Lotus, *LjKIN2* interacts at the transcription and post-transcriptional level with members of the CSSP, namely *CCaMK*, *CYCLOPS* and *SymRK*. Compared to wild type, loss of function of *LjKIN2* resulted in reduced arbuscule development and repressed expression of AM marker genes related to nutrient exchange. Together, these results suggest that *LjKIN2* functions in the early stages of AM development. Furthermore, we show that *LjKIN2* interacts *in vitro* with another RLCK named *LjKIN5*. The novelty of this result deserves further attention with regard to the biological significance of such an interaction. In summary, our results suggest that kinase-mediated signaling downstream of the plasma membrane is necessary to sustain AM symbiosis.