



Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV –0719–12**
Ca²⁺ homeostáza a signalizácia vo fyziológii a vývoji Trichoderma spp.

Zodpovedný riešiteľ **doc. Ing. Martin Šimkovič, Ph.D.**
Príjemca **Fakulta Chemickej a Potravinárskej Technológie STU v Bratislave**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

1. Ústav biochémie a mikrobiológie, FChPT, STU, Radlinského 9, 81237 Bratislava
2. Centrálné laboratória, FChPT, STU, Radlinského 9, 81237 Bratislava
- 3.
- 4.
- 5.

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

1. Bio-Protection Research Centre, Lincoln University, Lincoln 7647, Canterbury, New Zealand
- 2.
- 3.

Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu

- 1.
- 2.
- 3.

Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače

1. Šimkovič, M., Olejníková, P., Mat'at'a, M., Žemla, P., Vilimová, V., Farkašová, L., Varečka, L. (2015) Nutrient transport into germinating *Trichoderma atroviride* conidia and development of its driving force. *Microbiology* 161(6), pp. 1240-1250
2. Steyaert, J.M., Weld, R.J., Mendoza-Mendoza, A., Kryštofová, S., Šimkovič, M., Varečka, L. and Stewart, A.: Asexual development in *Trichoderma*: From conidia to chlamydospores (Chapter 5), 88-110 pp.
In: Mukherjee P.K., Horwitz B.A., Singh U.S., Mukherjee M., Schmoll M. (Eds.), *Trichoderma, Genetics and Applications*, CABI Publishing, Wallingford, UK, 2013 (October

21), 275 pp. (ISBN 978-1780642475)

3. Kaliňák, M., Šimkovič, M., Žemla, P., Maťaťa, M., Molnár, T., Liptaj, T., Varečka, L., Hudecová, D. (2014) Changes in metabolome and in enzyme activities during germination of *Trichoderma atroviride* conidia. *FEMS Microbiol Lett.* 357(2), pp. 201-207

4. Molnár, T., Šimkovič, M., Varečka, L.: *Trichoderma atroviride* a jej vzťah k Ca^{2+} iónom. Zborník príspevkov, Drobnicov memoriál 8. ročník, Horský hotel Smrekovica, Slovensko, 23.-25. september 2015, pp. 67 (ISBN 978-80-970164-8-7)

5. Šimkovič, M., Kontár, S., Varečka, L.: The role of surface-bound Ca^{2+} in fungi of *Trichoderma* genus. Sborník přednášek a posterů, XXV. Biochemický sjezd, Praha, Česká Republika, 13.-16.9., 2016, pp. 258 (ISBN 978-80-270-0331-0)

Uplatnenie výsledkov projektu

Výsledky riešenia projektu sú využiteľné na biotechnologickú prípravu konídií *Trichoderma* spp., ktoré sú nepostrádateľnou zložkou biologickej ochrany poľnohospodársky významných plodín pred fytopatogénmi. V pedagogickom procese pri vzdelávaní študentov magisterského a doktorandského štúdia na Fakulte chemickej a potravinárskej technológie STU v Bratislave.

CHARAKTERISTIKA VÝSLEDKOV

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku (max. 20 riadkov)

V priebehu riešenia projektu sme charakterizovali viacero aspektov Ca^{2+} -homeostázy a signalizácii vo vzťahu k vývoju a diferenciacii vláknitých húb z rodu *Trichoderma*. Ukázalo sa, že k zásadným zmenám Ca^{2+} -transportu, akumulácie a distribúcie Ca^{2+} v hýfách húb dochádza počas konidiácie spustenej rôznymi extracelulárnymi podnetmi. Už krátkodobá expozícia vzdušného mycélia *Trichoderma atroviride* na svetlo stimulovala expresiu génov kódujúcich cytoplazmové Ca^{2+} -kanály (CCH1 a MID1) a mitochondriálnu Ca^{2+} permeázu (MCU). Súčasne, tvorba a dozrievanie konídií stimulované svetlom viedlo k dočasnému vzrastu množstva Ca^{2+} viazaného na povrchové štruktúry hýf a k zvýšeniu Ca^{2+} -väzbovej kapacity a Ca^{2+} -afinity bunkových stien, kým v neskoších fázach konidiácie sa pozorovala redistribúcia Ca^{2+} v povrchových štruktúrach hýf. Autoradiografickou analýzou povrchovej kultúry *T. atroviride* rastúcej na pôde s $^{45}\text{Ca}^{2+}$ a fluorescenčnou mikroskopiou s chlortetracyklínom sa zistilo, že majoritný podiel Ca^{2+} sa v priebehu konidiácie spustenej svetlom ukladá priamo v konídiách a v reprodukčných štruktúrach hýf. Odpoveď húb, uskutočnená prostredníctvom zmien Ca^{2+} -homeostázy, na konidiáciu vyvolanú iným podnetom ako svetlom, napr. mechanickým poškodením, bola rozdielná. Tieto pozorovania indikujú, že zmeny v Ca^{2+} homeostáze sú dôležitou súčasťou vzniku a dozrievania konídií húb z rodu *Trichoderma*. Bola vypracovaná metóda na detekciu metabolickej aktivity konídií pomocou ^{13}C -NMR metódy, ktorá umožní študovať mechanizmy dlhodobého prežívania konídií.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v anglickom jazyku (max. 20 riadkov)

During the project several aspects of Ca^{2+} -homeostasis and Ca^{2+} -signalling in relation to development and differentiation of filamentous fungi from *Trichoderma* genus have been characterized. The results has shown that conidiation triggered by different extracellular stimuli lead to the underlying changes in transport, accumulation and distribution of Ca^{2+} ions. Short-time light exposure of the aerial mycelium of *Trichoderma atroviride* stimulated the expression of genes encoding cytoplasmic Ca^{2+} -channels (CCH1 a MID1) and mitochondrial calcium uniporter (MCU). At the same time, the formation and maturation of conidia induced by the light lead to the temporary increase of Ca^{2+} amount bound to the hyphal cell-surface structures and to the increase of Ca^{2+} -affinity of cell walls, while the Ca^{2+} redistribution in the hyphal cell-surface structures was observed during the later phases of conidiation. Autoradiographic analysis of the surface culture of *T. atroviride* grown on the

medium supplemented with $^{45}\text{Ca}^{2+}$, and fluorescence microscopy using chlortetracycline have revealed that the major fraction of Ca^{2+} is deposited in the conidia and hyphal reproductive structures during the conidiation induced by the light. Fungal response mediated via changes in Ca^{2+} homeostasis to the conidiation stimulus other than light, such as mechanical injury of mycelia, was different. These observations indicate that changes in Ca^{2+} homeostasis are part of the conidia formation and conidia maturation in fungi of the genus *Trichoderma*. A method for detection of metabolic activity in conidia using the ^{13}C -NMR spectroscopy was designed to enable to study the mechanisms of long-time survival of conidia.

Svojím podpisom potvrdzujem, že údaje uvedené v záverečnej karte sú pravdivé a úplné a súhlasím s ich zverejnením.

Zodpovedný riešiteľ

doc. Ing. Martin Šimkovič, PhD.

V Bratislave 28. 04. 2017

Štatutárny zástupca príjemcu

prof. Ing. Ján šajbidor, DrSc.

V Bratislave 28. 04. 2017

.....
podpis zodpovedného riešiteľa

.....
podpis štatutárneho zástupcu príjemcu