

**Univerzita Karlova v Praze**  
**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Biologie  
Studijní obor: Biologie



**Ondřej Borovec**

Mykorhizní a endofytické houby v kořenech vodních  
cévnatých rostlin

Mycorrhizal and endophytic fungi in roots of aquatic vascular  
plants

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Martin Vohník, Ph.D.

Praha, 2012

**Vedoucí bakalářské práce:**

RNDr. Martin Vohník, Ph.D. (Katedra experimentální biologie rostlin PřF UK & Oddělení mykorhizních symbióz BÚ AV ČR, v.v.i.)

**Konzultanti bakalářské práce:**

RNDr. Radka Sudová, Ph.D. (Oddělení mykorhizních symbióz BÚ AV ČR, v.v.i.)

Mgr. Petr Kohout (Katedra experimentální biologie rostlin PřF UK & Oddělení mykorhizních symbióz BÚ AV ČR, v.v.i.)

**Prohlášení:**

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

V Praze, 11. 5. 2012

## Použité zkratky:

AM .....	arbuskulární mykorhiza
AMH .....	arbuskulární mykorhizní houby
DSE .....	endofytické houby s tmavým přepážkovaným myceliem (z angl. dark septate endophytes)
LSU .....	velká ribozomální podjednotka (z angl. large subunit)
rDNA .....	ribozomální DNA

## Poděkování:

Především bych chtěl poděkovat svému školiteli Martinu Vohníkovi za trpělivost, kterou se mnou, ne právě ideálním studentem, vždy má, a za rady a pomoc při psaní této práce. Velký dík patří i mým rodičům a sestře za to, že mě podporují ve studiu a v mé snaze uplatnit se ve vědě. Děkuji i kolegům z Oddělení mykorhizních symbióz Botanického ústavu AV ČR, jmenovitě Tereze Lukešové, Radce Sudové, Petru Kohoutovi, Janě Rydlové a Liboru Mrnkovi za to, že mi jsou kdykoliv ochotni poradit a pomoci.

## Abstrakt

Interakce mezi houbou a rostlinou jsou přítomné všude kolem nás. Jen stěží bychom hledali rostlinu, která nemá v rhizosféře ani jednu hyfu nebo není napadena houbovým patogenem. Zatímco v terestrických ekosystémech jsou interakce těchto organismů zmapovány kvalitně a systematicky, pod vodní hladinou je situace zcela jiná. Vzhledem k obtížné přístupnosti podvodních ekosystémů a také obrovskému ekonomickému významu interakcí terestrických, které zaměstnávají většinu odborníků z oboru, jsou vodní houby a jejich vztah k rostlinám dosud ne zcela probádaným tématem.

Ve vodním prostředí byly objeveny všechny základní typy interakcí rostlina-houba. Z mutualistických, tedy mykorhizních asociací je stejně jako na souši nejrozšířenější arbuskulární mykorhiza, naopak ostatní známé typy mykorhiz jako orchideoidní nebo erikoidní se pod vodou nevyskytují vzhledem k absenci příslušných hostitelských rostlin. Široce rozšířený je endofytismus. Běžně jsou v kořenech vodních rostlin pozorovány i vřecovýtrusé houby s tmavými přepážkovanými hyfami, které se označují se souhrnným pojmem “dark septate endophytes” (DSE). Zdá se, že jsou stejně rozšířeny ve vodě, jako na souši. V neposlední řadě napadá vodní rostliny mnoho houbových endoparazitů.

AMH mohou ve vodním prostředí hrát důležitou roli v příjmu živin u některých druhů rostlin. Na druhou stranu mnoho druhů vodních rostlin může přijímat živiny rozpuštěné ve vodě i jinými částmi těla než kořeny, a v sedimentech dna mnoha vodních nádrží jsou nevhodné podmínky pro růst hub, zejména nedostatek kyslíku. Některé rostliny, například isoetidy, však dokážou do své rhizosféry kyslík uvolňovat a růst hub umožňovat.

Přestože vodní mykologie jako samostatná vědní disciplína existuje již přes 60 let, naše znalosti z tohoto oboru jsou stále kusé. Vodní houby a jejich hostitelé jsou přitom klíčové pro fungování ekosystémů, ve kterých se vyskytují.

## Klíčová slova:

arbuskulární mykorhiza, endofytické houby, vodní rostliny, mořské trávy, podmořské louky, dark septate endophytes, šídlatky

## Abstract

Interactions between fungi and plants can be found all around us. We would hardly find a plant neither containing a single hypha in its rhizosphere nor infested with a fungal pathogen. Whereas interactions of these organisms are well and described in terrestrial ecosystems, situation below the water level is completely different. The status of aquatic fungi and their relation to aquatic plants is to date not clear at all regarding difficulties of reaching them and huge value of terrestrial interactions, which occupy most of the experts.

All the basic plant-fungus interactions have been detected also underwater. As well as on the land, the most widespread aquatic mycorrhizal association is arbuscular mycorrhiza. On the contrary, the other well known mycorrhiza types such as orchid or ericoid mycorrhiza do not occur in the aquatic environment where their hosts are absent. On the other hand, endophytism is relatively frequent. Ascomycetous fungi with dark septate hyphae, collectively being referred to as “dark septate endophytes” (DSE), seem to be as abundant in the water as on the land. Additionally, aquatic plants are being challenged by numerous fungal parasites.

AMF may play an important role in nutrient uptake of some plants from the aquatic environment. However, many species of aquatic plants are able to receive water-dissolved nutrients with non-root parts of their bodies. Moreover, conditions in the floor deposits in many water reservoirs are unsuitable for fungal growth, especially account on lack of oxygen, though some kinds of plants including isoetids are able to oxygenate the floor deposits which makes it possible for fungi to grow there.

In spite of the fact that aquatic mycology is an independent field of science for over 60 years, our knowledge of its topic is still rather incomplete, although aquatic fungi and their hosts play key roles in the aquatic ecosystem functioning.

## Key words:

arbuscular mycorrhiza, endophytic fungi, submerged plants, seagrasses, “sea meadows,” dark septate endophytes, isoetids

## Obsah

Použité zkratky .....	3
Abstrakt .....	4
Klíčová slova .....	4
Abstract .....	5
Key words .....	5
Obsah .....	6
1 Úvod .....	7
2 Vodní rostliny	
2.1 Sladkovodní rostliny.....	8
2.2 Mořské rostliny .....	9
2.2.1 Vyšší rostliny Středozemního moře .....	10
3 Houbové asociace kořenů vodních rostlin	
3.1 Sladkovodní .....	12
3.1.1 Arbuskulární mykorhizní houby .....	12
3.1.2 Dark septate endophytes .....	14
3.2 Mořské .....	15
3.2.1 Mykorhizní a endofytické houby.....	15
3.2.2 Parazitické a patogenní houby .....	16
4 Poznámka: úvod do diplomové práce .....	18
5 Závěry .....	19
6 Seznam použité literatury .....	20

## 1. Úvod

Endofytické houby a symbiotické vztahy mezi houbou a rostlinou jsou jedním z nejpozoruhodnějších a zároveň nejvýznamnějších jevů živé přírody. Vztah těchto dvou skupin organismů však funguje na škále od oboustranně prospěšného mutualismu přes endofytismus – neutrální vztah, kdy houbový organismus roste v pletivech rostliny, ale nijak jí nepomáhá ani neškodí, až po parazitismus (Johnson a kol., 1997). Mutualistická asociace kořenů a hub se označuje jako mykorhiza (z řeckých slov mykés – houba a rhíza, ríza – kořen). Nejedná se o žádnou vzácnost, velká většina rostlin je kolonizována symbiotickými houbami, které vytvářejí některou z forem mykorhizní asociace (Gryndler a kol., 2004).

Rostliny jsou elementárním prvkem ekosystémů. Stojí na bázi mnoha trofických řetězců, díky fotoautotrofii jsou primárními producenty kyslíku, nejvýznamnějšími producenty biomasy a v jejich tělech vzniká mnoho metabolitů klíčových pro ostatní organismy. Ve značném množství se rostliny vyskytují i ve vodním prostředí. Tato práce je zaměřena na submerzní makrofyty, rostliny žijící ponořené pod vodní hladinou.

Tyto rostliny, ač pocházejí z několika nepříbuzných skupin, charakterizuje několik společných znaků, například tenčí kutikula oproti terestrickým příbuzným. Samozřejmě není nutné chránit rostlinu proti vysychání a dalším atmosférickým vlivům. Nemají potřebu pevné fyzické opory, jsou nadnášeny vodním prostředím, které zároveň usnadňuje jejich příjem živin. Co je však důležité pro výzkum asociací s houbami, tyto rostliny mají hůře vyvinuté kořenové systémy, protože jim nemusí poskytovat oporu, slouží pouze k přichycení k podkladu. Vzhledem k všudypřítomnosti vody probíhá příjem této látky nejen kořenovou soustavou, ale i ostatními orgány. Přenos živin probíhá zpravidla formou obvyklou pro terestrické rostliny, totiž rhizosférou ze substrátu. V prostředích s bohatším obsahem živin rozpuštěných ve vodě však nezanedbatelná část jejich příjmu probíhá difúzí prostřednictvím nadzemních částí rostliny, zejména listy (Green & Short, 2003).

Evolučně se přechod do vodního prostředí mnohokrát opakoval. Jistou výjimku v tomto ohledu tvoří šidlatkotvaré (Isoëtales), které nikdy v evoluci neopustily mokřadní a trvale vlhké prostředí. Ve sladké vodě je poměrně velká diverzita cévnatých rostlin, nejméně 40 čeledí má významný podíl vodních rostlin. Do moře se však rozšířily pouze rostliny třídy jednoděložných (Liliopsida), konkrétně podtřídy Alismatidae (Les a kol, 1997).

Výskyt hub ve vodním prostředí je znám již od poloviny 19. století, ale většina raných objevů těchto organismů se týkala lignikolních hub. Nálezy hub na jiných podvodních

substrátech se datují až do 70. let 20. století. Objevy hub rostoucích na vodních rostlinách a v jejich tělech včetně kořenů probíhaly spíše náhodou, neplánovaně, dodnes je zmapován jen zlomek jejich diverzity u vodních rostlin. Problematická je i definice vodní – mořské houby (“marine fungi”). Mnoho druhů, které jsou v terestrickém prostředí považovány za kosmopolitní až ubikvitní, je přítomno i pod vodní hladinou nejen v podobě spor, ale tvoří zde i mycelia a další struktury známé z terestrického prostředí (Jones, 2011).

## 2.1 Sladkovodní rostliny

Mezi sladkovodní makrofyty, tedy makroskopické rostliny ponořené ve sladkých vodách, patří zástupci různých skupin rostlin. Stejný biotop obývají i nerostlinné fotosyntetizující makroskopické organismy – sinice (Cyanobacteria) a různobrvky (Xanthophyta). Do ekologicko-morfologické skupiny makrofytů lze zařadit mnoho ruduch (Rhodophyta) a zelených řas jak z chlorofytní, tak streptofytní linie (Chambers a kol., 2008). Známe okolo 110 sladkovodních druhů organismů známých dříve jako mechorosty (Bryophyta) (Cook, 1999). Dále se ovšem budu zabývat pouze makrofyty ze skupiny cévnatých rostlin (Tracheophyta).

Vznik cévnatých rostlin je spjat s přechodem rostlin na souš ve spodním paleofytku. Při výstupu nad vodní hladinu byla pro tyto pionýrské kolonizátory mokřadů a posléze souše klíčová schopnost zajistit přísun vody i do těch orgánů, které byly obklopeny vzduchem. Evolučně nejvýhodnějšími se ukázaly být cévní elementy, které dokázaly zásobit nadvodní a nadzemní části vodou a živinami a díky lignifikovaným buněčným stěnám poskytovaly oporu. Suchozemské rostliny následně prošly masivní radiací.

Oproti statisícům druhů suchozemských rostlin představují vodní cévnaté rostliny jen zlomek diverzity Tracheophyt, a to okolo 1 %. Pozoruhodné ovšem je, že makrofyty jsou zastoupeny v 88 čeledích, byť někdy jen několika druhy. Podle Cooka (1999) proběhl přechod cévnatých rostlin do vodního prostředí 252 krát, možná i vícekrát.

Zástupci výtrusných vodních rostlin heterosporické plavuně z řádu šidlatkotvarých (Isoëtales), dále skupiny vodních kapradin marsilkovité (Marsileaceae), nepukalkovité (Salviniaceae), azolovité (Azollaceae) a rohatcovité (Ceratopteridaceae). V rámci krytosemenných rostlin (Angiospermae) se do vodního prostředí vracely zejména bazálnější skupiny. Všichni zástupci čeledí leknínovité (Nymphaeaceae), Cabombaceae, Hydatellaceae a růžkatcovité (Ceratophyllaceae) jsou akvatičtí (Chambers a kol., 2008).



Mnohé makrofyty jsou schopny uvolňovat kyslík do substrátu přes kořenovou soustavu. Tato vlastnost je zřejmě výsadou cévnatých rostlin, bezcévné makrofyty množství kyslíku v rhizosféře nijak neovlivňují (Jaynes & Carpenter, 1986). Tento jev má vliv na redoxní potenciál půdy v místech výskytu rostlin, původně redukující substrát získává oxidační vlastnosti. Je poté schopen vázat fosfor, čímž rostliny udržují relativně stálou koncentraci tohoto prvku v okolní vodě. V letním období se zvyšuje uvolňování fosforu ze sedimentu, ovšem díky výše popsaným procesům vedoucím k vázání tohoto prvku v substrátu si makrofyty ve svém okolí udržují podmínky vhodné pro svůj růst (Jaynes & Carpenter, 1986). Naproti tomu v eutrofních vodních nádržích je vzhledem k velkému množství biomasy řas a sinic výrazně vyšší množství rozkládajících se organických zbytků. Rozkladné procesy působí na substrát redukčně, čímž neumožňují oxidizující procesy rostlin a neomezeně se uvolňující fosfor způsobuje další růst sinic. Cévnaté makrofyty tím trpí, posléze odumírají a rovnováha ekosystému je narušena.

## 2.2 Mořské rostliny

Mořské prostředí je domovem pro zástupce velké většiny rostlinných linií, z cévnatých rostlin se však do světového oceánu rozšířili pouze zástupci řádu šmelotvarých (Alismatales) ze třídy jednoděložných rostlin, pokud uvažují pouze rostliny zcela ponořené (Les a kol., 1997). Obecně se označují jako mořské trávy (seagrasses). Mezi mořské trávy se řadí asi 60 druhů rostlin patřících do 13 rodů a 6 čeledí. Tato skupina je pravděpodobně parafyletická, spojuje ji příslušnost k jedné nice a prakticky shodná životní strategie (Short & Coles, 2001).

Při přechodu do slané mořské vody bylo třeba se vyrovnat s některými nepříznivými faktory. Ve vodě je výrazně nižší koncentrace kyslíku a oxidu uhličitého, difúzní šíření plynů může být ne zcela dostačující a rostlina je nucena se vyrovnat s hypoxií. Na exponovanějších úsecích pobřeží vlnobití znesnadňuje uchycení k podkladu, mořské trávy se adaptovaly tak, že tvoří rozsáhlý a hustý systém kořenů. Jejich rozsáhlé porosty navíc odolávají působení vln lépe, než by mohli osamoceně rostoucí jedinci. Dalším problémem je ve vodě opylování. Mořské trávy se rozmnožují převážně nepohlavně, klonálně, z kořenů mateřského organismu vyrůstají noví jedinci. V neposlední řadě je velkým stresorem samotná slaná voda, zejména pokud se salinita mění, jako v okolí ústí řek (Green & Short, 2003).

Biologové stanovili šest, popř. deset regionů výskytu mořských trav, přičemž jednotlivé druhy se obvykle vyskytují pouze v jedné, případně ve dvou sousedních oblastech.

Kosmopolitnímu rozšíření se blíží jen výjimky, například *Zostera marina*. Mořské trávy se vyskytují v mořích téměř po celém světě s výjimkou polárních a subpolárních oblastí a některých částí pobřeží omývaných studenými mořskými proudy, například západního pobřeží Jižní Ameriky a jihozápadního pobřeží Afriky. Na pobřeží Antarktidy nebyl jejich výskyt zaznamenán. Mořské trávy rostou i v některých slanovodních jezerech, například v Aralském jezeře nebo Kaspickém moři. Těžiště diverzity mořských trav je v tropických oblastech, zejména u pobřeží Austrálie a sundského souostroví, dále pak v moři u části východní Afriky, Indie a japonského ostrova Kjúšú. V evropských vodách je nejvyšší diverzita mořských trav ve středomořské oblasti (Green & Short, 2003; Short & Coles, 2001).

Mořské trávy vytvářejí souvislé zapojené porosty, takzvané mořské louky. Analogie s terestrickými porosty graminoidů není jen v pojmenování a vzhledu, ale i funkci. Slouží jako primární zdroj potravy pro býložravce, tvoří habitat nebo úkryt pro mnoho druhů živočichů (Hemminga & Duarte, 2000).

Je známa široká škála organismů asociovaných s mořskými travami. Bylo popsáno více než 450 epifytních druhů řas, v loukách žijí stovky druhů členovců, měkkýšů, mnoho ryb, z nichž jsou některé i komerčně významné. Porosty těchto rostlin vykazují vyšší druhovou diverzitu než části mořského dna bez rostlinného pokryvu, ale naopak nižší ve srovnání s korálovými útesy a dnem pokrytým jinými typy vegetace (Green & Short, 2003).

## 2.2.1 Vyšší rostliny Středozemního moře

Dominantním druhem mořské trávy v oblasti Středozemního moře je posidonie Neptunova (*Posidonia oceanica*), která je tamějším endemitem. Rod *Posidonia* má disjunktní areál rozšíření, jeho ostatní zástupci se vyskytují u jižního pobřeží Austrálie. Dalšími druhy rostoucími v mediteránu jsou vocha mořská (*Zostera marina*), *Zostera noltii*, *Cymodocea nodosa*, *Ruppia cirrhosa*, *Ruppia maritima* a *Halophila stipulacea*, která byla pravděpodobně do Středozemního moře zavlečena člověkem v nedávné době, až po výstavbě Suezského průplavu. Tato relativně vysoká diverzita je mimo jiné umožněna rozdílnou ekologickou valencí jednotlivých druhů. Od mělčin do hloubky se vytváří gradient několika druhů, ve větších hloubkách jednoznačně převládá *Posidonia oceanica*. Zvláštností je, že některé severozápadoafrické druhy se nerozšířily Gibraltarským průlivem do Středomoří, přestože by tam měly vhodné podmínky (Green & Short, 2003). Příbuzný a mořským travám podobný druh *Potamogeton pectinatus* žije naopak pouze v Černém a Azovském moři, protože tento

druh roste v brakické vodě a v relativně vysokosalinním Středozemním moři by nepřežil (Milchakova, 1999).

Porosty podmořských luk se tvoří klonálním rozmnožováním v průběhu tisíců let. Jedna genetická jednotka může porůstat území o rozloze až několika kilometrů čtverečních a dožít se i několika desítek tisíc let (Arnaud-Haond a kol., 2012). Přitom stáří jednotlivých listů posidonie je maximálně jeden rok (Cebrián a kol., 1994). Skutečnost, že tyto rostliny dosahují takových rozměrů a věku, svědčí o stálosti prostředí, ve kterém se vyskytují. Na tento pomalu rostoucí klimaxový druh může mít velký vliv disturbance. Středozemní moře je v současnosti silně zatíženo lidskou činností, zejména v okolí velkých přístavů a hustě zalidněných částí pobřeží. Porosty posidonie v těchto oblastech mizí až několikrát rychleji, než přirůstají (Arnaud-Haond a kol., 2012). Jedním z možných řešení, jak zabránit úbytku těchto důležitých součástí mořského ekosystému, je systematické vysazování semenáčků ve vhodných lokalitách, které mnohonásobně urychlí rychlost regenerace. Řádově desítky procent vysazených rostlin však nepřežijí (Balestri a kol., 1998).

Dalším nebezpečím pro porosty mořských trav ve Středomoří je invaze člověkem introdukované zelené makrofytní řasy lazuchy tisolisté (*Caulerpa taxifolia*). První záznam ze Středozemního moře pochází z okolí francouzského města Nice z roku 1984, systematické záznamy jsou pořizovány od roku 1987, kdy už bylo zřejmé, že probíhá masivní invaze (Villèle & Verlaque, 1995). Tyto původem cirkumtropické řasy osidlují stejný habitat a postupně prorůstají polštáři posidonii. Lazuchy rostou rychleji a začínají růst dříve na jaře. Tvoří hustší porosty, následkem čehož posidonie nemohou přijímat dostatečné množství živin a odumírají. Lazuchy navíc uvolňují terpenoidní látky, které jsou pro ostatní organismy toxické (Bartolli & Bourdesque, 1997).

Nebezpečí pro mořské trávy představují i houboví parazité a patogeny, o těch se však zmíním až v kapitole o houbových asociacích.

### 3.1 Sladkovodní houbové asociace kořenů vodních rostlin

Vzhledem k absenci rostlin z čeledí Orchideaceae a Ericaceae ve vodním prostředí se u vodních rostlin nevyskytují ani příslušné mykorhizní asociace, přestože spory příslušných hub se nacházejí i v sedimentech na dně vodních nádrží. Významně jsou naopak zastoupeny arbuskulární mykorhizní houby z oddělení Glomeromycota a rovněž DSE. V kořenech vodních rostlin byly dále objeveny i houby stopkovýtrusé a chytridiomycety (Kohout a kol., 2011).

#### 3.1.1 Arbuskulární mykorhizní houby

Arbuskulární mykorhiza je jednoznačně nejrozšířenější mykorhizní symbiózou. Až na výjimky má každá rostlinná čeleď alespoň několik zástupců vstupujících do symbiózy s arbuskulárními mykorhizními houbami. Mezi ony výjimky patří například čeleď Dipterocarpaceae (Newman & Reddel, 1987). Nejstarší paleontologické nálezy arbuskulí se datují do období spodního devonu, přibližně před 400 miliony let. Byly objeveny ve zkamenělinách rostlin rodů *Aglaophyton* a *Rhynia* ve strukturách připomínajících palisádový parenchym (Redecker a kol., 2000). Mykorhiza patrně hrála důležitou roli už v přechodu rostlin na souš (Remy a kol., 1994, Selosse & Le Tacon, 1998). AMH byly dokladovány v kořenech přibližně 83 % dvouděložných a 79 % jednoděložných terestrických rostlin (Trappe, 1987, podle Kai a Zhiwei, 2006).

První zprávy o AMH v kořenech vodních rostlin poskytli Søndergaard & Laegaard (1977), čímž vyvrátili předpoklad, že arbuskulární mykorhiza je pouze suchozemský fenomén. Bylo provedeno několik dalších studií na různých rostlinách, ale neproběhl žádný širší systematický výzkum, takže spektrum prozkoumaných asociací je neúplné. Jsou známy spíše jednotlivé práce z konkrétních vodních nádrží.

Předpokládá se, že AM u vodních rostlin ovlivňuje zisk živin ze substrátu. Andersen & Andersen (2006) Inokulovali sterilní rostliny pobřežnice jednokvěté (*Littorella uniflora*) AMH. Po 60 dnech porovnali přírůstek biomasy inokulovaných a kontrolních sterilních rostlin pobřežnice pěstovaných ve dvou várkách v oligotrofních a mezotrofních podmínkách a zjistili, že v oligotrofním prostředí rostliny kolonizované arbuskulární mykorhizní houbou vykazovaly signifikantně vyšší nárůst biomasy než v kontrole (Andersen & Andersen, 2006). Zatímco rostlina dokáže získávat fosfor pouze ve formě iontů z půdních pórů, houba dokáže

využít a pro rostlinu do vstřebatelné formy zpracovat i fosfor z pevných částí půdy (Wigand a kol., 1998).

Sudová a kol. (2011) pozorovala AM kolonizaci kořenů dvou druhů šídlatek (šídlatka jezerní, *Isoëtes lacustris* a šídlatka ostnovýtrusá, *I. echinospora*) v Černém a Plešném jezeře na Šumavě. U obou druhů byly nalezeny hyfy AMH, ale kolonizace byla relativně nízká, nepřekročila 25%. Na rozdíl od předchozích studií (Søndergaard & Laegaard, 1977; Farmer, 1985; Nielsen a kol., 2004; podle Sudová a kol., 2011) byla zaznamenána přítomnost AM hyf i v *I. lacustris*. Také Wigand a kol. (1998) pozorovali houbové struktury v kořenech šídlatky jezerní: malé vezikuly nepřipojené k hyfám byly zaznamenány ve 47 % kořenů. V substrátu se však nacházelo velké množství AMH spor, což bylo potvrzeno experimentálně pěstováním druhu pobřežnice jednokvětá v sedimentu ze dna jezera. Následné mikroskopické pozorování kořenů pobřežnice odhalilo 80 – 100% kolonizaci kořenů houbami (Wigand a kol., 1998). Toto číslo odpovídá výsledkům Sudové a kol. (2011), kteří odebrali sediment z obou výše uvedených jezer a pěstovali v něm právě pobřežnici jednokvětou. Kolonizace této krytosemenné rostliny z čeledi jitrocelovitých dosahovala 86 %, přičemž hojně byly pozorovány arbuskuly i vezikuly.

Není jisté, jestli je tento stav způsoben tím, že šídlatky se obejdou bez mykorhizních symbiontů a neumožňují jim kolonizaci, nebo kvůli anoxickým podmínkám ve větších hloubkách osidlovaných šídlatkami. V obou jezerech z tohoto výzkumu je *I. lacustris*, resp. *I. echinospora* jediným druhem submerzních makrofyt (Sudová a kol., 2011).

AMH potřebují ke svému růstu a vývoji dostatečné zásobení kyslíkem, což limituje jejich růst v anoxických sedimentech některých vodních nádrží a mokřadů. Právě rostliny ze skupiny isoetidů však uvolňují jisté množství kyslíku do své rhizosféry (Sand-Jensen a kol., 1982; Christensen a kol., 1994; Pedersen a kol., 1995; podle Kai a Zhiwei, 2006). Díky tomuto jevu by tedy mohly spory AMH přítomné v sedimentu vyklíčit a kolonizovat kořeny. Oxidace sedimentu však způsobuje srážení fosforu na fosforečnan železitý. Fosfor v této formě je pro rostliny nedostupný. Isoetidy tak vlastně zapříčiňují oligotrofii sedimentu ve své rhizosféře. Většina rostlin potom nemůže v těchto podmínkách růst. Samotné isoetidy získávají díky přítomnosti AMH fosfor, který by pro ně jinak byl nedostupný, a díky tomu přežijí (Smolders a kol., 2002).

Vyšší redoxní potenciál je, zdá se, důležitým parametrem prostředí u všech rostlin kolonizovaných arbuskulárními mykorhizními houbami. Vyšší výskyt mykorhizních struktur v kořenech rostlin byl pozorován v mělkých vodách, zatímco s rostoucí hloubkou přítomnost hub signifikantně klesala (Wigand a kol., 1998). Ze stejného důvodu s velkou

pravděpodobností Kai a Zhiwei (2006) pozorovali výrazně vyšší výskyt rostlin kolonizovaných AMH v rostlinách nasbíraných z potoka, kde je voda vzhledem k proudění a kompletnímu promíchávání bohatá na kyslík, oproti situaci na dně jezera, kde lze předpokládat jistý stupeň anoxizace (Kai a Zhiwei, 2006).

Dalo by se předpokládat, že v oligotrofních vodních tocích a nádržích budou mít výhodu rostliny spolupracující s mykorhizními houbami. Zdá se však, že zvýhodněny jsou spíše druhy, které jsou samy schopny zvýšené absorpce živin, zejména dusíku a fosforu. De Marins, Carrenho a Thomaz (2009) provedli výzkum makrofyt na horním toku jihoamerické řeky Paraná v kanálech a slepých ramenech spojených s hlavním tokem. Nejúspěšnější a nejrozšířenější byly rostliny nemykorhizní, které se adaptovaly na místní podmínky, a dokázaly zvýšit absorpci živin a jejich ukládání do biomasy v období záplav, kdy se obsah nezbytných anorganických látek v jinak oligotrofní říční vodě výrazně zvyšuje.

### 3.1.2 Dark septate endophytes

Termínem dark septate endohytes (DSE) se označují houby, které tvoří melanizovaná, tedy tmavě zbarvená přehrádkovaná mycelia vyskytující se převážně v asociaci s kořeny rostlin. Fylogeneticky patří s největší pravděpodobností mezi Ascomycota, ale molekulární analýzy poukazují na jejich polyfylii v rámci vřeckovýtrusých hub. U většiny nejsou známa pohlavní stadia a útvary, byly pozorovány pouze nepohlavní konidiofory. Mnoho DSE je tedy řazeno mezi imperfektní houby. Molekulární analýzy řadí tyto houby do mnoha řádu askomycetů, nejvíce zastoupeny jsou v řádech Pleosporales, Pezizales a Leotiales (Jumpponen & Trappe, 1998). Na povrchu kořene mohou tvořit plášť. V případě intenzivnější kolonizace prorůstají jejich hyfy do kortikálních buněk a formují rozvětvenou strukturu, která se morfologicky podobá Hartigově síti známé u ektomykorhizních hub (Jumpponen, 2001). Typickým útvarem DSE jsou intracelulární mikrosklerocia. Tmavé septované hyfy při průniku z buňky do buňky mohou tvořit útvary připomínající apresoria arbuskulárních mykorhizních hub (Newsham, 2011).

Vědci si nejsou jisti, jakou funkci vlastně DSE v rostlinách zastávají. Relevantní zdroje udávají různé výsledky fyziologického působení na různé rostliny, od mutualismu po parazitismus (Jumpponen, 2001). DSE mohou sloužit rostlině k příjmu živin a rozkladu organických látek na anorganické, které rostlina dokáže využít. Mandyam a Jumpponen (2005) zjistili, že tyto houby dokážou poskytnout rostlině amonné kationty, z hlediska

rostlinné výživy nejvhodnější formu dusíku. Na  $\text{NH}_4^+$  dokážou přeměnit mnoho různých organických látek včetně některých aminokyselin a heterocyklů obsahujících dusík. Podobně dokážou zužitkovat i půdní sloučeniny fosforu (Mandyam & Jumpponen, 2005).

DSE houby se vyskytují i v kořenech vodních makrofyt. Kromě pro tento typ hub charakteristických tmavých septovaných hyf vytvářejí v kořenech i hyfové zámotky (coils) a mikrosklerocia. Trappe & Jumpponen (1998) potvrdili přítomnost DSE prakticky ve všech terestrických ekosystémech, zatímco výskyt těchto organismů ve vodním prostředí dlouho nebyl znám. První důkaz o rozšíření DSE v kořenech vodních hub přinesli Kai a Zhiwei (2006). DSE často kolonizují rostliny spolu s AMH a někdy dokonce koexistují ve stejných kořenech.

Houby ze skupiny DSE jsou v terestrickém prostředí rozšířeny kosmopolitně a na rozdíl od většiny mykorhizních hub dobře snášejí i extrémní podmínky; v polárních oblastech a vysokých horách v kořenech rostlin výrazně převažují. Je tedy možné, že i ve vodě, prostředí, které je svým způsobem také extrémní, nahrazují funkci mykorhizních symbiontů (Mandyam & Jumpponen, 2005).

## 3.2 Houbové asociace kořenů mořských rostlin

Velká část prací o mořských endofytických houbách se týká mangrovových porostů a omezuje se téměř výhradně na tropické oblasti. Naopak mořským travám se věnuje jen několik autorů, a to zejména houbám, které rostou na detritu z odumřelých rostlin. Podle několika studií endofytických hub se však druhová skladba hub v obou zmíněných typech mořské vegetace příliš neliší (Jones, 2011).

### 3.2.1 Mykorhizní a endofytické houby

V kořenových systémech mořských trav pravděpodobně úplně chybí arbuskulární mykorhizní houby. Podle Nielsena a kol. (1999) nebyla v době napsání jeho článku známa jediná práce, která by zaznamenala pozorování AMH v této skupině rostlin, a . Tým kolem Nielsena provedl vlastní průzkum kořenů vochy mořské (*Zostera marina*) a „želví trávy“ *Thalassia testudinum*. V kořenech obou druhů nenalezl žádné známky kolonizace kořenů arbuskulárními mykorhizními houbami, a v *Thalassii* dokonce nebyly objeveny ani žádné endofytické houby. Nielsen předpokládal, že hyfy hub skupiny Glomeromycota

v podmořských habitatech absentují kvůli nízkému množství kyslíku v sedimentu mořského dna a vysoké salinitě. Tyto faktory působí jako přílišné stresory. Upozornil ale také na fakt, že oba druhy z jeho výzkumu mají kořenové vlášení. To plní funkci získávání živin ze substrátu, a je tedy možné, že žádné mykorhizní asociace nevznikly právě kvůli jeho přítomnosti. AMH sice byly nalezeny v kořenech rostlin rostoucích na slaniskách, ale v případné kolonizaci mořských trav hraje rozhodující roli kombinace všech tří výše zmíněných faktorů.

V kořenech tropické mořské trávy *Enhalus acoroides* rovněž nebyla nalezena přítomnost AMH, přestože Sakayaroj a kol. (2010) u ní objevili desítky druhů endofytických hub a dokonce i možnou mykorhizní asociaci s neznámým druhem houby z řádu holubinkotvarých (Russulales), patřícího mezi houby stopkovýtrusé. Jedná se o první izolaci stopkovýtrusé houby z kořenů mořských makrofyt. Situace se může lišit u druhů mořských trav, které nemají kořenové vlášení, tedy těch z čeledí Cymodoceaceae a Posidoniaceae.

V kořenech druhu *Thalassia testudinum* neobjevil Nielsen (1999) žádné známky přítomnosti hub, kdežto v kořenech vochy zaznamenal až 55% kolonizaci blíže neurčeným typem hub. Podle Sakayaroj a kol. (2010) měly v rostlinách druhu *Enhalus acoroides* dominantní zastoupení vřeckovýtrusé houby (98 %). Jedinou další detekovanou neaskomycetní skupinou byly houby stopkovýtrusé (Agaricomycotina). K identifikaci využil její tým molekulární analýzu LSU rDNA. Nejčastějšími nalezenými houbami byly běžné anamorfní houby jako *Aspergillus*, *Cladosporium* nebo *Penicillium*. Hojně se vyskytovaly i typicky mořské anamorfní houby, jmenovitě *Acremonium fuci*, *Dendrophyella salina* a *Sigmoidea marina*.

Pro srovnání, v chaluze pilovité (*Fucus serratus*) bylo objeveno spektrum hub velmi podobné těm z mořských trav, z ubikvitně rozšířených hub převažovalo *Fusarium*, jinak byly nejčastější druhy totožné (Zuccaro a kol., 2007).

Kolonizace mořských trav houbami je tedy všeobecně relativně nízká. Listy mořských trav bývají kolonizovány různými organismy jako řasami, rozsivkami, bakteriemi nebo prvoky. Jejich přítomnost může bránit v kolonizaci houbám. Dalšími vlivy mohou být nedostatek kyslíku, slaná voda a nedostatek dostupných živin, tedy stejné příčiny, které limitují výskyt mykorhizy u ostatních vodních rostlin (Sakayaroj a kol., 2010).

### 3.2.2 Parazitické a patogenní houby

Důležitým faktorem limitujícím růst a prosperitu mořských rostlin jsou patogenní houby a houbám podobné organismy. Největší zaznamenanou epidemií byla takzvaná “eelgrass



wasting disease” (termín se používá i v češtině, je možné ho přeložit jako chřadnutí, ničivá choroba trávy *Zostera marina*). Ve 30. letech 20. století zapříčinila tato choroba vymizení zhruba 90 % jedinců tohoto druhu z příbřežních oblastí Evropy a Severní Ameriky (<http://seagrassli.org>). Zhruba 20 let od nákazy dosahovala obnova porostů této “úhoří trávy” (doslovně z angl. eelgrass) místy pouhých 8 %. Trvalo řádově desítky let, než se z refugií začala šířit do původního areálu a mnohdy to už nebylo možné kvůli narůstajícímu vlivu lidské činnosti (Godet a kol., 2008). Tato nemoc byla způsobena vodní hlenkou *Labyrinthula zosterae*, patřící do chromalveolátní skupiny Labyrinthulomycetes. Vědci zaznamenali v průběhu 20. století ještě několik vln nákazy, které všechny prokazatelně pocházely od stejného patogena (Muehlstein, 1991). Z nakažených rostlin se povedlo vyizolovat houbám podobný organismus, který byl molekulárně identifikován jako *Labyrinthula*. Po infikování sterilizovaných listů touto kulturou se projevíly typické symptomy choroby, na listech vznikaly tmavé léze, které posléze nekrotizovaly. Po dvou týdnech již byly jednotlivé listy prakticky odumřelé, choroba se rozšířila na většinu prýtu a růst rostliny byl prakticky zastaven (Short a kol., 1987).

Mořské trávy jsou napadány jak specializovanými houbovými patogeny, tak parazitickými houbami se širokým spektrem rostlinných hostitelů. Každý druh mořských trav vytváří poněkud odlišné ochranné spektrum chemických látek, takže nákaze podlehne často jen jediný, zatímco ostatní se ubrání bez větší úhony (Engel a kol., 2002; podle Ross a kol., 2008). Ross a kol. (2008) provedli experiment, kdy byly extrakty z některých druhů mořských trav použity jako médium a naočkovány několika determinovanými kmeny hub. Čtyři z pěti extraktů inhibovaly růst alespoň jednoho druhu parazitické houby. Nejvýraznější obranná reakce byla zaznamenána v případě ubikvitně rozšířené anamorfní vřeckovýtrusé houby rodu *Fusarium* (Ross a kol., 2008). Titěz badatel prokázal, že mořské trávy v obranné reakci na přítomnost patogenu uvolňují peroxid vodíku a jiné aktivní formy kyslíku, podobně jako terestrické rostliny. Nepotvrdili domněnku, že přítomnost peroxidu působí přímo fungicidně, ani následné efekty známé z výzkumů na terestrických rostlinách, tj. aktivaci kaspáz, expresi specifických obranných genů ani spuštění programované buněčné smrti, ovšem to může být způsobeno pozorováním reakcí extraktů namísto živých organismů (Ross a kol., 2008).

## Poznámka: úvod do diplomové práce

Tato bakalářská práce by měla být jakýmsi teoretickým úvodem do tématu mé budoucí diplomové práce, která se bude týkat asociací mezi kořeny vodních rostlin a houbami. Můj výběr konkrétních taxonů rostlin a regionů jejich výskytu není náhodný, ale řídí se tématy práce a projekty řešenými v Oddělení mykorhizních symbióz BÚ AV ČR, v.v.i. Proto jsem také poměrně zevrubně popsal druhy vodních rostlin, kterými se hodlám po dobu svého magisterského studia zabývat, posidonii Neptunovu a šídlatky.

## Závěry

Vodní houby a cévnaté rostliny spolu vytvářejí různé asociace, jež jsou známé i ze suchozemského prostředí. Mykorrhizní houby přijímají živiny ze sedimentu, a jsou schopny přenosu živin do rostliny i ve vodním prostředí. Dosud nevíme, jestli mykorrhizní houby plní i ostatní funkce známé ze suchozemského prostředí, jako například zvyšování rezistence vůči patogenům.

Ještě nejasnější je funkce endofytů. U mnoha z nich se jistě jedná o neutralismus a tyto houby využívají kořeny rostlin pouze jako vhodný substrát k růstu, protože například v písčitém prostředí s intenzivním vlnobitím se hyfy těžko udrží podkladu. Přes přibývající počet výzkumů v posledních letech stále není zřejmé, jak na rostlinu působí DSE; výsledky jednotlivých studií se v tomto směru často velmi liší. V suchozemském prostředí byla pro DSE pozorována celá škála interakcí s hostitelskou rostlinou, od parazitismu po mutualismus.

I když v posledních letech roste zájem vědců o tuto sféru výzkumu, odborných prací na dané téma je velmi málo. Například studií zabývajících se kolonizací mořských trav houbami existuje přibližně desítky; ve sladkovodním prostředí je situace přece jen lepší. Ovšem na každém dosud nepopsaném substrátu je objevena široká škála druhů a téměř každá studie v této oblasti přinese nový poznatek. Existuje i možnost objevu nových typů mykorrhizních asociací, viz. objev interakce holubinkotvaré houby a mořské trávy, který učinili Sakayaroj a kol. (2010) Možností výzkumu je opravdu mnoho. Pokud se tomuto oboru budu věnovat, nebudu mít o inspiraci na vědeckou práci jistě nouzi.

## Seznam použité literatury

- Andersen F.Ø. a Andersen T. (2006)** Effects of arbuscular mycorrhizae on biomass and nutrients in the aquatic plant *Litorea uniflora*. *Freshwater biology* **51**: 1623-1633
- Arnaud-Haond S., Duarte C.M., Diaz-Almela E., Marbà N., Sintès T. a Serrão E.A. (2012)** Implications of Extreme Life Span in Clonal Organisms: Millenary Clones in Meadows of the Threatened Seagrass *Posidonia oceanica*. *PLoS ONE* **7**: e30454
- Balestri E., Piazzì L. a Cinelli F. (1998)** Survival and growth of transplanted and natural seedlings of *Posidonia oceanica* (L.) Delile in a damaged coastal area. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **228**: 209-225
- Bartolli P. a Boudouresque C.-F. (1997)** Transmission failure of parasites (Digenea) in sites colonized by the recently introduced invasive alga *Caulerpa taxifolia*. *Marine Ecology Progress Series* **154**: 253-260
- Cebrián J., Marbà N. a Duarte C.M. (1994)** Estimating leaf age of the seagrass *Posidonia oceanica* (L.) Delile using the plastochrone interval index. *Aquatic Botany* **49**: 59-65
- Chambers P.A., Lacoul P., Murphy K.J. a Thomaz S.M. (2008)** Global diversity of aquatic macrophytes in freshwater. *Hydrobiologia* **595**: 9-26
- Cook C.D.K. (1999)** The number and kinds of embryo-bearing plants which have become aquatic: a survey. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* **2/1**: 79-102
- Godet L., Fournier J., van Katwijk M.M., Olivier F., Mao P.L. a Retière C. (2008)** Before and after wasting disease in common eelgrass *Zostera marina* along the French Atlantic coasts: a general overview and first accurate mapping. *Diseases of Aquatic Organisms* **79**: 249-255
- Green E.P. a Short F.T. (2003)** World Atlas of Seagrasses. *Prepared by the UNEP World Conservation Monitoring Centre. University of California Press, Berkeley, USA.*
- Gryndler M., Baláž M., Hršelová H., Jansa J. a Vosátka M. (2004)** Mykorhizní symbióza. O soužití hub s kořeny rostlin. *Academia, Praha.*
- Hemminga M.A. a Duarte C.M. (2000)** Seagrass Ecology. *Cambridge University Press, Cambridge, UK.*
- Jaynes M.L. a Carpenter S.R. (1986)** Effects of vascular and nonvascular macrophytes on sediment redox and solute dynamics. *Ecology* **67**: 875-882
- Johnson N.C., Graham J.H. a Smith F.A. (1997)** Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism-parasitism continuum. *New Phytologist* **135**: 575-585
- Jones E.B.G. (2011)** Fifty years of marine mycology. *Fungal Diversity* **50**: 73-112
- Jumpponen A. (2001)** Dark septate endophytes-are they mycorrhizal? *Mycorrhiza* **11**: 207-211

- Jumpponen A. a Trappe J.M. (1998)** Dark septate endophytes: a review of facultative biotrophic root-colonizing fungi. *New Phytologist* **140**: 295-310
- Kai W. a Zhiwei Z. (2006)** Occurrence of Arbuscular Mycorrhizas and Dark Septate Endophytes in Hydrophytes from Lakes and Streams in Southwest China. *International Review of Hydrobiology* **91**: 29-37
- Kohout P., Sýkorová Z., Čtvrtlíková M., Rydlová J., Suda J., Vohník M. a Sudová R. (2011)** Surprising spectra of root-associated fungi in submerged aquatic plants. *FEMS Microbiology Ecology* **80**: 216-235
- Les D.H., Cleland M.A. a Waycott M. (1997)** Phylogenetic Studies in Alismatidae, II: Evolution of Marine Angiosperms (Seagrasses) and Hydrophily. *Systematic Botany* **22**: 443-463
- Mandyam K. a Jumpponen A. (2005)** Seeking the elusive function of the root-colonising dark septate endophytic fungi. *Studies in Mycology* **53**: 173-189
- de Martins J.F., Carrenho R. a Thomaz S.M. (2009)** Occurrence and coexistence of arbuscular mycorrhizal fungi and dark septate fungi in aquatic macrophytes in a tropical river-floodplain system. *Aquatic Botany* **91**: 13-19
- Milchakova N.A. (1999)** On the status of seagrass communities in the Black Sea. *Aquatic Botany* **65**: 21-32
- Muehlstein L.K., Porter D. a Short F.T. (1991)** *Labyrinthula zosterae* sp. nov., the causative agent of wasting disease of eelgrass, *Zostera marina*. *Mycologia* **83**: 180-191
- Newman E.I. a Reddell P. (1987)** The distribution of mycorrhizas among families of vascular plants. *New Phytologist* **106**: 745-751
- Newsham K.K. (2011)** A meta-analysis of plant responses to dark septate root endophytes. *New Phytologist* **190**: 783-793
- Nielsen S.L., Thingstrup I. a Wigand C. (1999)** Apparent lack of vesicular-arbuscular mycorrhiza (VAM) in the seagrasses *Zostera marina* L. and *Thalassia testudinum* Banks ex König. *Aquatic Botany* **63**: 261-266
- Redecker D., Kodner R. a Graham L.E. (2000)** Glomalean Fungi from the Ordovician. *Science* **289**: 1920-1921
- Remy W., Taylor T.N., Hass H. a Kerp H. (1994)** Four hundred-million-year-old vesicular arbuscular mycorrhizae. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **91**: 11841-11843
- Ross C., Puglisi M.P. a Paul V.J. (2008)** Antifungal defenses of seagrasses from the Indian River Lagoon, Florida. *Aquatic Botany* **88**: 134-141

**Sakayaroj J., Preedanon S., Supaphon O., Jones E.B.G. a Phongpaichit S. (2010)** Phylogenetic diversity of endophyte assemblages associated with the tropical seagrass *Enhalus acoroides* in Thailand. *Fungal Diversity* **42**: 27-45

**Sellose M.A. a Le Tacon F. (1998)** The land flora: a phototroph-fungus partnership? *Trends in Ecology & Evolution* **13**: 15-20

**Short F.T. a Coles R.G. (eds) (2001)** Global Seagrass Research Methods. *Elsevier Science B.V., Amsterdam*.

**Short F.T., Muehlstein L.K. a Porter D. (1987)** Eelgrass wasting disease: cause and recurrence of a marine epidemic. *The Biological Bulletin* **173**: 557-562

**Smolders A.J.P., Lucassen E.C.H.E.T. a Roelofs J.G.M. (2002)** The isoetid environment: biogeochemistry and threats. *Aquatic botany* **73**: 325-350

**Søndergaard M. a Laegaard S. (1977)** Vesicular–arbuscular mycorrhiza in some aquatic vascular plants. *Nature* **268**: 232-233

**Sudová R., Rydlová J., Čtvrtlíková M., Havránek P. a Adamec L. (2011)** The incidence of arbuscular mycorrhiza in two submerged *Isoëtes* species. *Aquatic Botany* **94**: 183-187

**Trappe J.M. (1987)** Phylogenetic and ecologic aspects of mycotrophy in the angiosperms from an evolutionary standpoint. *Z Safir G.R. (Ed.), Ecophysiology of VA mycorrhizal plants, 1987 - Florida: CRC Press, Boca Raton*, pp. 5-25

**Villèle X. de a Verlaque M. (1995)** Changes and Degradation in a *Posidonia oceanica* Bed Invaded by the Introduced Tropical Alga *Caulerpa taxifolia* in the North Western Mediterranean. *Botanica Marina* **38**: 79-87

**Wigand C., Andersen F.Ø., Christensen K.K., Holmer M. a Jensen H.S. (1998)** Endomycorrhizae of isoetids along a biogeochemical gradient. *Limnology and Oceanography* **43**: 508-515

**Zuccaro A., Schoch C.L., Spatafora J.W., Kohlmeyer J., Draeger S. a Mitchell J.I. (2008)** Detection and Identification of Fungi Intimately Associated with the Brown Seaweed *Fucus serratus*. *Applied and Environmental Microbiology* **74**: 931-941

[http://seagrassli.org/ecology/wasting\\_disease.html](http://seagrassli.org/ecology/wasting_disease.html)