

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Katedra fyziologie rostlin



Symbiotické vlastnosti a ekofyziologický význam hub agregátu

*Rhizoscyphus ericae* pro hostitelské rostliny

Petr Kohout

Praha 2008

---

**Vedoucí bakalářské práce:**

RNDr. Martin Vohník, Ph.D. (Katedra fyziologie rostlin PřF UK, Oddělení mykorhizních symbióz BÚ AVČR)

**Konzultant bakalářské práce:**

doc. RNDr. Jana Albrechtová, Ph.D. (Katedra fyziologie rostlin PřF UK, Oddělení mykorhizních symbióz BÚ AVČR)

*Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracoval samostatně s použitím citované literatury pod vedením Martina Vohníka a doc. Jany Albrechtové.  
Souhlasím s jejím zveřejněním.*

*V Praze dne 13.8.2008*

*Petr Kohout*

---

*Děkuji svým kolegům,*

*Martinovi Vohníkovi, paní docentce Albrechtové, panu doktorovi Vosátkovi a Zuzce Sýkorové  
za konstruktivní připomínky při tvorbě mé bakalářské práce.*

*V neposlední řadě děkuji své přítelkyni, Kristýně*

---

## Použité zkratky

AM – arbuskulární mykorhiza nebo arbuskulárně mykorhizní (dle kontextu)

EcM – ektomykorhiza nebo ektomykorhizní (dle kontextu)

ErM – erikoidní mykorhiza nebo erikoidně mykorhizní (dle kontextu)

OrM – orchideoidní mykorhiza nebo orchideoidně mykorhizní (dle kontextu)

DSE – z anglického „Dark Septate Endophytes“, asociace hub tvořících tmavá, přehrádkovaná mycelia s kořeny hostitelských rostlin.

CMN(s) – z anglického „Common Mycorrhizal Network(s)“, myceliální síť(ě) spojující více než dvě hostitelské rostliny prostřednictvím mimokořenového mycelia

rDNA – ribozomální DNA

ITS – z anglického „Internal Transcribed Spacer“, variabilní oblast rDNA

PCR – z anglického „Polymerase Chain Reaction“

DGGE – z anglického „Denaturing Gradient Gel Electrophoresis“

TGGE – z anglického „Temperature Gradient Gel Electrophoresis“

T-RFLP – z anglického „Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism“

---

## Obsah

Abstrakt .....	6
Klíčová slova.....	6
Abstract.....	7
Key words.....	7
1. Úvod .....	8
2. Erikoidní mykorhiza.....	9
3. DSE asociace .....	12
3.1. Struktura DSE asociace .....	12
3.2. Výskyt DSE hub .....	14
3.3. Ekofyziologické vlastnosti DSE hub .....	15
4. Agregát <i>Rhizoscyphus ericae</i> .....	15
4.1. <i>Cadophora finlandica</i> jako ErM i EcM mykobiont .....	18
4.2. <i>Meliniomyces variabilis</i> – nejasný mykorhizní status.....	19
4.3. <i>Meliniomyces bicolor</i> – ErM i EcM mykobiont.....	19
4.4. <i>Rhizoscyphus ericae</i> – ErM mykobiont.....	20
4.5. Rostliny asociující se zástupci agregátu <i>Rhizoscyphus ericae</i> .....	20
4.6. Ekofyziologický význam mykobiontů agregátu <i>R. ericae</i> .....	21
5. CMN – myceliální síť spojující hostitelské rostliny .....	23
6. Závěr.....	25
7. Seznam citované literatury .....	27

## Abstrakt

Mykorhizní symbióza kořenů rostlin se symbiotickými houbami je jednou z nejdůležitějších symbióz na Zemi. Důležitá je funkce mykorhiz především na živinově chudých stanovištích, jako např. vřesoviště či rašeliniště, kde jsou hostitelské rostliny převážně z čeledi Ericacea, vystaveny stresovým podmínkám. Enzymatický aparát některých erikoidně mykorhizních (ErM) hub umožňuje využívat jako zdroj živin i látky, které jsou pro rostliny jinak nedostupné.

Nejlépe prozkoumaným ErM taxonem je *Rhizoscyphus ericae* (Read) Korf a Kernan, který spadá spolu s dalšími mykorhizními houbami do fylogeneticky špatně uchopitelného agregátu *Rhizoscyphus ericae*. Někteří zástupci tohoto agregátu mohou vytvářet erikoidní mykorhizu v kořenech ErM rostlin a ektomykorhizu (EcM) v kořenech ektomykorhizních rostlin. Mezi taxony, jež jsou této „promiskuity“ schopny patří *Cadophora finlandica* (Wang a Wilcox) Harr. a McNew a *Meliniomyces bicolor* Hambleton a Sigler, oba členové agregátu *R. ericae*. Ostatní členové agregátu *R. ericae*, jmenovitě *Meliniomyces variabilis* Hambleton a Sigler a *R. ericae*, mohou vytvářet jen erikoidní mykorhizu v kořenech ErM rostlin. Některá pozorování však naznačují schopnost *R. ericae* a *M. variabilis* kolonizovat i kořeny EcM rostlin či, v případě *R. ericae*, dokonce rhizoidy nižších rostlin, jätrovek. Členové agregátu *R. ericae* jsou tedy teoreticky schopni propojovat rostliny různých mykorhizních preferencí systémem mimokořenového mycelia do vzájemně komunikujících celků, které umožňují, výměnu látek, energie a informací mezi jednotlivými členy, tzv. CMNs – „Common mycorrhizal networks“. Dopad těchto interakcí není znám ani pro jednotlivé organismy ani pro fungování celého ekosystému. Je jasné, že dle výskytu hub agregátu *R. ericae* u rostlin s různými hostitelskými preferencemi se nejedná jen o regionální fenomén, ale mohlo by jít o interakci, která může ovlivňovat v konečném důsledku celou biosféru naší planety.

## Klíčová slova

Agregát *Rhizoscyphus ericae*, CMNs - myceliální síť spojující hostitelské rostliny, DSE asociace, ektomykorhiza, erikoidní mykorhiza, interakce mezi rostlinou a houbou, mykorhizní preference hostitelských rostlin, specifita mykorhizních symbióz.

## Abstract

Mycorrhizal symbiosis of plant roots with symbiotic fungi represents one of the most important symbioses on the Earth. Functions of mycorrhiza are especially expressed on nutrient-poor habitats, such as peat bogs and lands, where dominant host plants of the family Ericaceae are subjected to highly stressed conditions. The functioning of enzymatic apparatus of some ericoid mycorrhizal (ErM) fungi provides sources of nutrients unavailable to plants in its original form.

The best investigated ErM taxon is *Rhizoscyphus ericae* (Read) Korf and Kernan, which belongs with other mycorrhizal fungi into difficult-to-define phylogenetic aggregate *Rhizoscyphus ericae*. Some of the members of the aggregate can form both - ericoid mycorrhizas and ectomycorrhizas in roots of ErM and EcM plants, respectively. Two members of the aggregate *Rhizoscyphus ericae* - *Cadophora finlandica* (Wang and Wilcox) Harr. and McNew and *Meliniomyces bicolor* Hambleton and Sigler – are capable of such „promiscuity“, while the other members of the aggregate *R. ericae*, namely *Meliniomyces variabilis* Hambleton and Sigler and *R. ericae*, can form only ericoid mycorrhiza in roots of ErM plants. Some studies indicate capability of *R. ericae* and *M. variabilis* to colonize also roots of EcM plants, in case of *R. ericae*, even rhizoids of liverworts. Thus, the members of the aggregate *R. ericea* are capable of theoretical interconnection of plants of different mycorrhizal preferences via system of extraradical mycelium into communicating complex systems enabling exchange of energy, nutrients and information among connected members of community. This interconnected systems are termed CMNs – „Common mycorrhizal networks“. All consequences of these interactions either for individual organisms or for functioning of the whole ecosystems have not been fully understood and revealed yet. It is apparent that occurrence of fungi of the aggregate *R. ericae* in roots of host plants of different mycorrhizal preferences is not only a regional phenomenon but it could represent an interaction, which could impact functioning of the whole biosphere of our planet.

## Key words

Aggregate *Rhizoscyphus ericae*, CMNs – common mycelial networks, DSE association, ectomycorrhiza, ericoid mycorrhiza, interaction between plant and fungus, mycorrhizal preferences of host plant, specificity of mycorrhizal symbioses.

## 1. Úvod

Mutualistické symbiózy, mezi které patří i mykorhizní symbióza, hrály a hrají nezastupitelnou roli během evoluce suchozemských rostlin. Nejstarší známé houbové spory, silně připomínající spory moderních arbuskulárně mykorhizních hub (AMF), jsou datovány do období před 460 miliony let (Redecker et al. 2000). V těchto dobách, na rozhraní Ordoviku a Siluru, se na Zemi odehrával bezprecedentní proces, který ovlivnil nejen budoucí vývoj biosféry, ale i klima celé planety. Touto událostí byla terestrializace rostlin. Soužití prvních rostlin s půdními houbami bylo jedním z klíčových faktorů, které umožnily fototrofním organismům překonat nehostinné podmínky pravěké souše (Selosse & Le Tacon 1998). Někteří autoři se dokonce domnívají, že mykorhiza mohla do značné míry utvářet i podobu dnešních kořenů (Brundrett 2002). Během Mesozoika a Kenozoika se poté vyvinuly i ostatní typy nám dnes známých mykorhiz, ektomykorhiza (EcM), erikoidní mykorhiza (ErM), orchideoidní mykorhiza (OrM), a také DSE-asociace (Cairney 2000).

DSE je zkratka z anglického „Dark Septate Endophytes“, v překladu – tmavá přehrádkovaná mycelia. Jde o interakci hub příbuzných *Phialocephala fortinii* Wang & Wilcox s celou řadou rostlinných druhů. Jelikož zatím není prokázán mykorhizní charakter interakce DSE hub s hostitelskými rostlinami budu dále nazývat tuto interakci DSE-asociace.

EcM houby jsou dnes nejdiverzifikovanější skupinou mykorhizních hub a vytvářejí EcM na kořenových špičkách většiny známých druhů dřevin (Smith & Read 1997). Na rozdíl od hub tvořících ektomykorhizu byla diverzita ErM hub donedávna považována za relativně nízkou, avšak s nástupem sofistikovanějších molekulárních metod detekce dnes již víme, že bohatost mykobiontů v kořenech ErM rostlin byla silně podhodnocována. Zajímavé je, že množiny hub, které vytváří oba zmíněné typy mykorhizy, se v určitých taxonech překrývají. Jedním z takových taxonů je agregát hub *Rhizoscyphus ericae* (Vralstad et al. 2000). Dalšími mykobionty, kteří mohou interagovat s kořeny ErM a EcM rostlin, ale i mnoha jiných druhů rostlin, jsou DSE houby (Jumpponen & Trappe 1998). Význam a funkce této skupiny hub však zůstává stále neznámá.

Cílem bakalářské práce byla literární rešerše, týkající se agregátu *Rhizoscyphus ericae*, jeho vlastností, výskytu u rostlin a ekofyziologickému významu pro hostitelské rostliny. Práce se v kapitolách 2 a 3 zabývá úvodem do problematiky mykorhiz, které houby agregátu *R. ericae* vytvářejí, a to obecné charakterizaci ErM a DSE-asociace. Přes to, že houby agregátu *R. ericae* vytvářejí EcM se svými hostitelskými rostlinami, ve své bakalářské práci se nebudu zabývat charakteristikou EcM, neboť je dobře popsána v diplomové práci

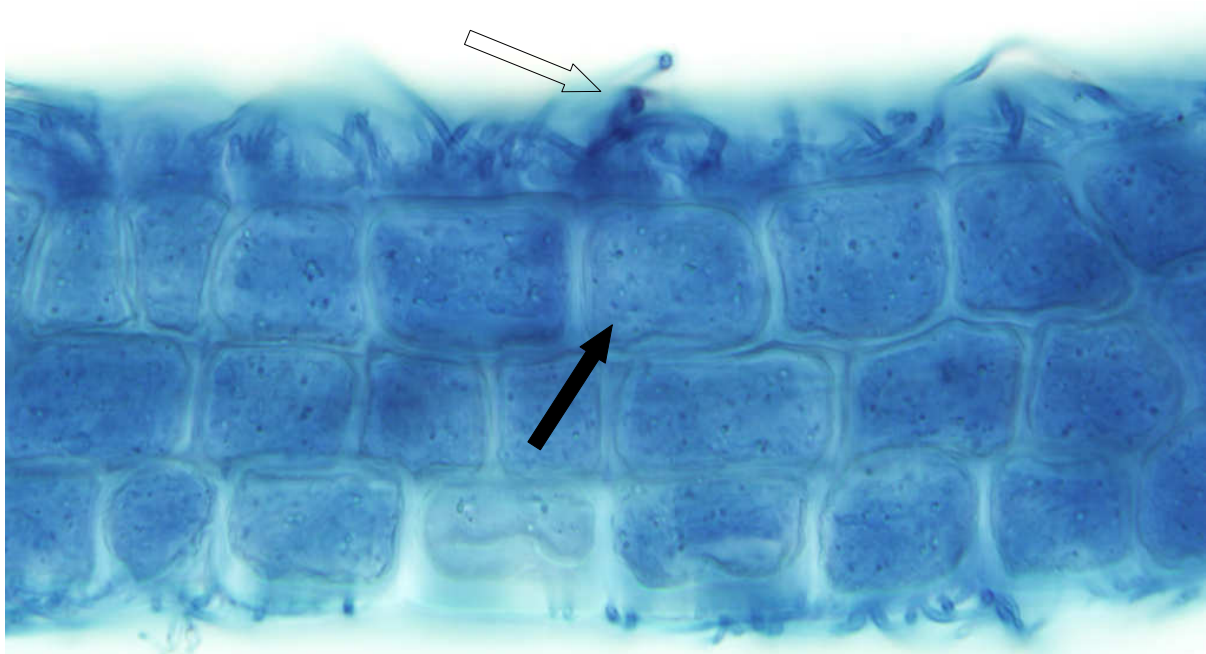


Mgr. Matyáše Fendrycha (Fendrych 2006). Hlavní část práce pak tvoří následující kapitola o symbiotických vlastnostech a ekofyziologickém významu jednotlivých zástupců hub agregátu *Rhizoscyphus ericae* pro hostitelské rostliny. Závěrečná kapitola je pak věnována významu různých symbióz zástupců hub agregátu *Rhizoscyphus ericae* v myceliálních sítích propojujících společenstva.

## 2. Erikoidní mykorhiza

Erikoidní mykorhiza se vyvinula u předků dnešní čeledi rostlin vřesovcovitých, Ericaceae (Cullings 1996). I když není jediným typem mykorhizní symbiózy, který u této čeledi najdeme, je zdaleka tím nejrozšířenějším. Někteří zástupci této skupiny rostlin vytvářejí odlišné typy symbióz, monotropoidní či arbutoidní mykorhizu (Gryndler et al. 2004), těmi se však v mé práci blíže zabývat nebudu.

Většina ErM rostlin se vyskytuje v prostředích pro jiné rostliny velmi nepříznivých. Jedná se např. o rašeliništní ekosystémy, vřesoviště, podrosty tajgového lesa či australské polopouště. V podmínkách špatné dostupnosti živin, nízkého pH, zvýšené dostupnosti toxických kovů, vodního stresu či vysokých teplotních výkyvů však tyto rostliny prosperují velmi dobře. Příčinu jejich dominance v těchto nehostinných ekosystémech je možné hledat právě ve schopnosti vytvářet symbiotický vztah s ErM houbami (Cairney & Meharg 2003).



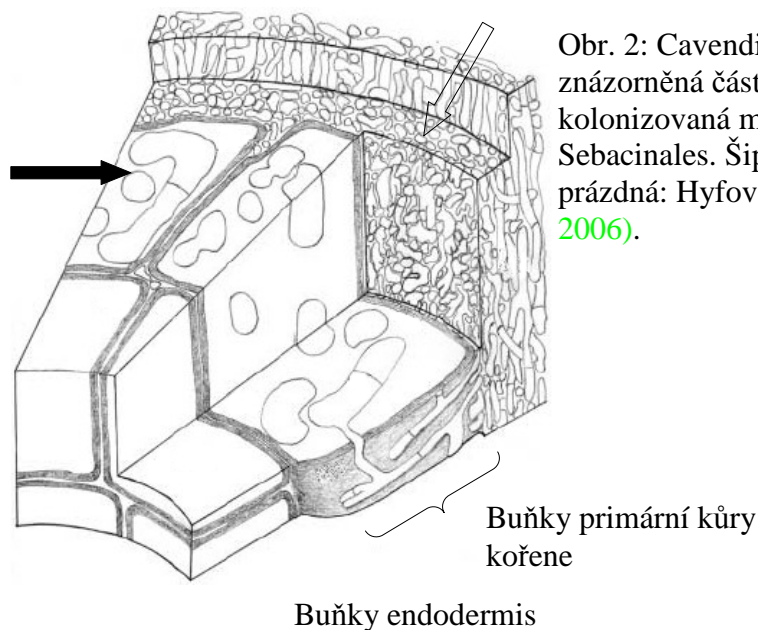
Obr. 1: ErM kolonizace kořene brusinky obecné *Vaccinium vitis-idae*. Plná šipka: buňka kořene *V. vitis-idae* kolonizovaná erikoidně mykorhizní houbou. Šipka prázdná: hyfy hub. Celý objekt, barveno trypanovou modří, světlé pole. Zvětšení: 1000x

Erikoidní mykorhiza je jedním z typů endomykorhiz, spolu s arbuskulární či orchideoidní mykorhizou. Hyfy ErM hub přijdou do kontaktu s tlustostěnnými buňkami vlasových kořenů ErM rostlin a projdou skrze buněčnou stěnu dovnitř buňky, kde vytvoří hyfové smotky (Obr.1). Intracelulární prostor rostlinné buňky je separován od hyfového vlákna perifungální membránou (Bonfante-fasolo & Gianinazzepearson 1979). Ve většině případů se zdá, že každá rhizodermální buňka je infikována jako samostatná jednotka z prostředí vně kořene, z vlastních pozorování, ale i z práce (Peterson & Massicotte 2004) víme, že ke kolonizaci přilehlých buněk může docházet i z buněk již infikovaných.

V dalších částech své bakalářské práce se budu zabývat především typickými symbionty ErM rostlin, patřícími do agregátu *Rhizoscyphus ericae*. Proto bych se na tomto místě rád zmínil o ostatních mykobiontech v kořenových systémech vřesovcovitých rostlin. Mezi jiné mykobionty patřící také do kmene Ascomycota patří rod *Oidiodendron* (Dalpe 1986) se svým nejběžnějším druhem *O. maius* Barron (Perotto et al. 2002). Rostliny *Rhododendron* cv. Azurro inokulované kmenem *O. maius* měly ve svých listech zvýšený obsah dusíku a fosforu oproti kontrolní variantě (Vohník et al. 2005). Jiným zástupcem kmene Ascomycota, který asociuje s kořeny ErM rostlin, je *Acremonium strictum* W. Gams (Monreal et al. 1999). Nálezy tohoto symbionta jsou však vzácné a sporadické. Daleko významnějším, leč dle mého soudu přehlíženým mykobiontem je *Capronia* sp.. Jde o konvenčními metodami snadno izolovatelnou houbu (Allen et al. 2003), která se v půdách boreálních lesů vyskytuje s větší frekvencí než dobře známý *R. ericae* (Lindahl et al. 2007). Ekofyziologický význam tohoto mykobionta a jeho enzymatické vlastnosti jsou však takřka neznámé. Pro pochopení vlivu *Capronia* sp. na svého hostitele a fungování ekosystému bude zapotřebí dalšího výzkumu. Ve starší práci autorky Bonfante-Fasolo (1980) je doložen výskyt blíže neurčeného symbionta patřícího dle ultrastruktury mezi Basidiomycota. Díky pozorování založeném pouze na morfologickém popisu je nemožné stanovit vliv této asociace na hostitelskou rostlinu.

Významnou metodickou inovací ve studiu diversity ErM hub bylo zavedení molekulárních metod detekce. Většina těchto metod je založena na přímé izolaci DNA z environmentálních vzorků a následné PCR reakci (Saiki et al. 1988) s použitím primerů specifických pro houby (White et al. 1990) (Gardes & Bruns 1993)). Takto získané PCR produkty jsou často tvořené mnoha různými molekulami DNA, pro jejichž separaci se využívá metod náhodného klonování, tzv. DGGE či TGGE (Muyzer 1999), T-RFLP (Dickie & FitzJohn 2007) apod. Jak ukazují recentní publikace, používající výše zmíněné metody, mohlo se v případě pozorování Bonfante-Fasolo (1980) jednat např. o zástupce řádu Sebaciales (Weiss et al. 2004). Jde o bazální mykorhizní skupinu kmene Basidiomycota,

jejíž zástupci vytváří OrM, ErM, EcM či „jungermannoidní“ mykorhizu (mykorhizní vztah mezi houbami a jätrovkami). Zástupci řádu Sebaciales jsou běžnými endofyty v kořenech erikoidně mykorhizních rostlin po celém světě (Selosse et al. 2007). O jejich mykorhizním statutu však není stále zcela jasno. Pokud bychom definovali mykorhizu jako orgán vzniklý spojením houbového partnera s rostlinou, bylo by použití tohoto termínu jistě na místě. Dokládají to mnohé ultrastrukturální studie. Na druhou stranu je pojem mykorhiza rovněž chápan jako mutualistický vztah mezi oběma partnery (Gryndler et al. 2004). Na základě současných znalostí nejsme schopni určit zda se v případě asociace hub řádu Sebaciales s rostlinnými partnery jedná o vzájemně prospěšný vztah. Hlavní překážkou je dosavadní nekultivovatelnost zástupců jedné z hlavních skupin řádu Sebaciales, a tudíž neschopnost provést resyntetické pokusy s hostitelskými rostlinami. Kosmopolitnost těchto mykobiontů dokládá i pozorování (Setaro et al. 2006), kteří z kořenů andské rostliny z čeledi Ericaceae, *Cavendishia nobilis*, popsali zvláštní typ EcM pojmenovaný cavendishoidní mykorhiza, tvořený právě zástupci řádu Sebaciales (Obr. 2).



Obr. 2: Cavendishoidní mykorhiza. Schematicky znázorněná část kořene *Cavendishia nobilis* kolonizovaná mykorhizní houbou řádu Sebaciales. Šipka plná: intracelulární hyfy. Šipka prázdná: Hyfový plášť. Převzato (Setaro et al. 2006).

Jak je patrné z výčtu prací, zabývajících se diverzitou symbiotických hub v kořenech ErM rostlin, hostí tyto rostliny širší spektrum hub, nežli se dříve předpokládalo. Zajímavá je především schopnost zástupců řádu Sebaciales tvořit jak OrM, tak ErM či EcM (Weiss et al. 2004). Avšak ekologická či fyziologická významnost tohoto fenoménu není zatím známa.

### 3. DSE asociace

Drtivá většina cévnatých rostlin hostí ve svém kořenovém systému nejen typické mykorhizní partnery, ale i houby, o jejichž ekofyziologickém významu se již dlouhou dobu vede debata (Jumpponen & Trappe 1998). **Dark Septate Endophytes (DSE)**, jak se tyto houby nazývají, tvoří z fylogenetického hlediska špatně definovanou skupinu sterilních hub, charakteristickou svým melanizovaným přehrádkovaným myceliem. Zástupci této skupiny tvoří polyfyletickou skupinu, jejíž členy najdeme i mezi příslušníky agregátu *Rhizoscyphus ericae*, např. *Cadophora finlandica* (Wang a Wilcox) Harr. a McNew. Jelikož význam a vlastnosti tohoto druhu shrnuje jiná kapitola, budu se dále zabývat jen komplexem druhů DSE hub *Phialocephala fortinii* s.l. – *Acephala applanata* (Grunig et al. 2008).

#### 3.1. Struktura DSE asociace

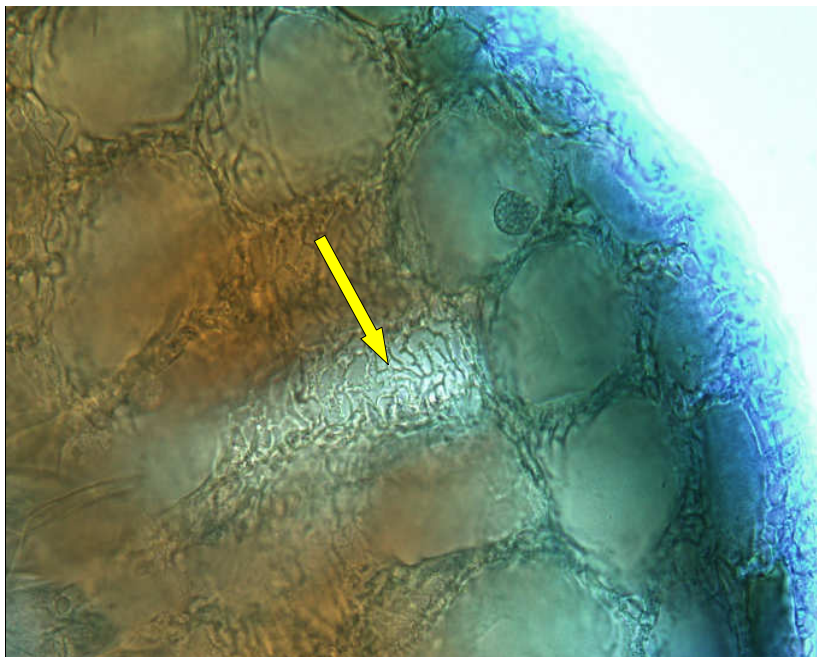
DSE houby kolonizují kořeny hostitelských rostlin jak intracelulárně, kde často vytváří shluky tlustostěnných, melanizovaných hyf, tzv. mikrosklerocia (Obr.3), tak intercelulárně.



Obr. 3: Mikrosklerocium (šipka) v Buňkách primární kůry kořene *Vaccinium myrtilus* tvořené DSE houbou *Acephala applanata*. Celý objekt, barveno trypanovou modří, „světlé pole“. Zvětšení: 1000x.

Funkce mikrosklerocií není přesně známa, široce přijímanou hypotézou je však jejich úloha coby disperzní propagule (Currah et al. 1993). Napovídá tomu např. vysoká melanizace těchto struktur, jelikož melanin může chránit hyfy proti vysychání či extrémním teplotám.

Mikrosklerocia obsahují převážně polysacharidy, proteiny a polyfosfáty (Yu et al. 2001a). Nejasný však zůstává jejich funkce pro hostitelskou rostlinu. Několik ultrastrukturálních studií ukazuje, že intracelulární hyfy DSE hub postrádají perifungální membránu, typickou to strukturu pro biotrofní symbiózu, která umožňuje výměnu látek mezi myceliem a rostlinnou buňkou (Peterson et al. 2008). V kořenech rostlin hostících DSE symbionty se kromě hyf melanizovaných nacházejí i houbová vlákna, v jejichž buněčných stěnách melanin nenajdeme. Jedná se o tzv. hyalinní hyfy, jejichž detekce je, díky nepřítomnosti melaninu a špatné barvitelnosti klasickými metodami (např. trypanovou modří), takřka nemožná. Alternativní způsob detekce je použití barvy Sudan IV, jež intenzivně barví lipidy ve vakuolách hub, a dojde tak ke zvýraznění i hyf hyalinních (Barrow & Aaltonen 2001). Vraťme se zpět k mimo buněčné kolonizaci kořene hostitelských rostlin, která je nápadná především na povrchu kořene, kde často vytváří řídkou myceliální síť. V některých případech se morfologické struktury mohou podobat i strukturám ektomykorhizním. Příkladem může být tzv. „labyrinthine tissue“, tedy labyrintové pletivo, typ houbového pletiva, jež je typické pro Hartigovu síť v mezibuněčných prostorách epidermis a kortexu symbiotických rostlin (Obr. 4). Tato struktura, připomínající na první pohled skládanku, byla popsána z kořenů *Pinus contorta*, kolonizovaných nejběžnějším zástupcem DSE hub, *Phialocephala fortinii* (Odell et al. 1993).



Obr. 4: „Labyrinthine tissue“ – labyrintové pletivo (šipka) v primární kůře kořene *Picea abies*. Příčný řez kořenem *Picea abies*. Barveno trypanovou modří, světlé pole. Zvětšení: 1000x. (Autor: M. Vohník)

### 3.2. Výskyt DSE hub

DSE houby se vyskytují ve většině terestrických ekosystémů. Jejich kolonizace byla popsána u mnoha zástupců AM, EcM, OrM i ErM rostlin (Jumpponen & Trappe 1998). DSE houby převažují v řadě druhů rostlin podél vlhkostního gradientu, od písčinych dun po bažiny (Addy et al. 2000). Pozoruhodný je výskyt těchto symbiontů v kořenech submerzních a emerzních rostlin, jak ve vodách stojatých tak tekoucích (Kai & Zhao 2006). Zdá se tedy, že nevykazují žádnou hostitelskou ani habitatovou specifitu.

Největší zastoupení mají DSE houby v prostředích klimaticky extrémních, což může být dáno schopností čelit nepříznivým podmínkám, jak díky melaninu v jejich buněčných stěnách, tak díky tvorbě mikrosklerocií v buňkách hostitele (viz výše). Tyto vlastnosti jim umožnily osídlit i tak nehostinné území, jakým je Antarktida (Laursen et al. 1997). DSE houby jsou i prvními kolonizátory v primární sukcesi, po obnažení povrchu ustupujícím ledovcem (Cazares et al. 2005). Je tedy zřejmé, že u nich musí existovat i velmi efektivní způsob disperse. Autoři zmíněného článku diskutují jako nejpravděpodobnější způsob transportu anemochorii, bohužel přesný mechanismus není zatím znám. Jak ukazují předchozí i jiná data (Haselwandter & Read 1980) (Ruotsalainen et al. 2002), zastoupení DSE hub v arktických oblastech je relativně dobře prostudováno (Mandyam & Jumpponen 2005).

Co však dosud uniká soustředěnější pozornosti, je výskyt těchto hub v boreálních lesních ekosystémech. Na základě druhového složení těchto ekosystémů můžeme soudit, že ani tam nebude jejich početnost o nic menší. Nedávná studie (Wagg et al. 2008), zabývající se kolonizačním charakterem u semenáčků rodu *Pinus*, ukázala pozitivní korelaci kolonizací AM a DSE houbami. Mechanismus tohoto jevu může být dán podobným charakterem vstupu těchto mykobiontů do kořene hostitelských rostlin. Zajímavá je pozitivní korelace výskytu DSE hub v kořenových systémech různých druhů rostlin s nadmořskou výškou, ve které se vyskytují, přičemž nejintenzivnější kolonizace hostitelských rostlin byla zaznamenána z výšek kolem 3000 m. Jak se se stoupající nadmořskou výškou zvyšuje zastoupení DSE hub v kořenech rostlin, klesá kolonizace AM houbami (Read & Haselwandter 1981). Podobné poměrné zastoupení mykorhizních hub bylo zjištěno u pouštní trávy *Bouteloua gracilis*, kde byla zaznamenána vyšší kolonizace DSE houbami v sušších čili více stresových podmínkách (Porrás-Alfaro et al. 2008). Výskyt DSE hub je závislý také na chemickém složení půdy. Silná negativní korelace existuje mezi pH půdy a frekvencí kolonizace DSE houbami, kdy s klesajícím pH se zvyšuje zastoupení těchto hub v kořenech hostitelských rostlin (Ahlich & Sieber 1996).

Z výše popsaných skutečností je zřejmé, že zastoupení těchto hub v kořenových systémech rostlin není ojedinělé ani sporé, ba naopak - jejich početnost se často blíží či dokonce převyšuje typické mykorhizní symbionty, a to především v podmínkách se zvýšenými stresovými faktory.

### 3.3. Ekofyziologické vlastnosti DSE hub

Zatímco o ekologické funkci mykorhizních hub máme mnoho dokladů (Smith and Read 1997), naše pochopení významu a role DSE hub v přírodních ekosystémech je dosud na začátku. Studie zabývající se jejich dopadem na přežívání či růstové vlastnosti rostlin přináší rozličné výsledky, od negativních přes neutrální až po pozitivní. Například semenáčky *Menziesia ferruginea* (Ericacea) vykazovaly významně zvýšenou mortalitu po inokulaci kmenem DSE houby *Phialocephala fortinii* (Stoyke & Currah 1993). Na druhou stranu, růst přeživších rostlin nebyl nikterak ovlivněn. Jiné závěry přináší studie (Haselwandter & Read 1982), kteří izolovali DSE houbu z kořenů *Carex sp.* Při zpětné inokulaci vykazovaly rostliny zvýšenou hmotnost suché biomasy spolu se zvýšeným obsahem P v nadzemní části. K podobným výsledkům dospěla nedávno publikovaná práce (Wu & Guo 2008), zabývající se interakcí DSE houby *Leptodontidium orchidicola* s hostitelskou rostlinou *Saussurea involucrata*. Rostliny kolonizované touto houbou produkovaly vyšší biomasu v nadzemních částech. I když obě tyto publikace ukazují pozitivní efekt na růst rostliny, nemusí jít nutně o mykorhizní efekt. Pozitivní vliv inokulace na biomasu hostitelských rostlin byl popsán i pod vlivem dvou kmenů *P. fortinii* na tvorbu biomasy u borovice *Pinus contorta* (Jumpponen et al. 1998). Na druhou stranu koncentrace N a P v jehlicích byla nižší. Autoři vyslovili hypotézu, že pozorovaný nárůst biomasy v aseptické kultuře byl dán spíše respirační mykobionta. Tomuto tvrzení napovídá pokus s otevřenými nádobami, kde byly semenáčky *P. contorta* inokulovány stejnými kmeny *P. fortinii*. Zde však inokulace neměla žádný efekt na biomasu ani koncentraci živin v biomase hostitelských rostlin. Významné zvýšení biomasy hostitelské rostliny v aseptických podmínkách způsobovalo i *Penicillium sp.* (Stoyke & Currah 1993), které nemá schopnost vytvářet mykorhizní asociace. Je tedy zřejmé, že posuzování fyziologického vlivu DSE hub na hostitelské rostliny je závislé na konkrétním experimentálním designu (Jumpponen 2001).

### 4. Agregát *Rhizoscyphus ericae*

Tradiční metody determinace hub jsou u zástupců ErM hub silně limitovány, jelikož jedinými sporulujícími taxony jsou zde rody *Rhizoscyphus* a *Oidiodendron*. Z mnoha prací však víme,

že diverzita mykobiontů v mykorhizosféře ErM rostlin je podstatně vyšší (Allen et al. 2003). Osvětlení fylogenetických vztahů přineslo během 90. let druhého a především ve třetím tisíciletí zavedení nových molekulárních metod, popsanych výše, do mykorhizního výzkumu. Mezi nejpoužívanější patří posuzování příbuzenských vztahů pomocí DNA sekvenace variabilních úseků, např. ITS (Internal Transcribed Spacer) oblasti rDNA (Gardes & Bruns 1993). Právě na základě dat z této části rDNA byl ustanoven agregát příbuzných taxonů *Rhizoscyphus ericae*, do nějž spadají jak druhy ErM, EcM, tak druhy s dosud nejasným mykorhizním charakterem (Hambleton & Sigler 2005). Porozumění fylogenetickým vztahům uvnitř této skupiny hub je základním krokem k pochopení jejich funkce v přírodních ekosystémech.

Agregát *Rhizoscyphus ericae* se skládá z několika hlavních větví, jejichž taxonomické postavení není zcela jednoznačné. Podle práce (Hambleton & Sigler 2005) si tyto taxonomické jednotky pojmenujeme: *Rhizoscyphus ericae*, *Meliniomyces bicolor* Hambleton a Sigler, *Cadophora finlandica* a *Meliniomyces variabilis* Hambleton a Sigler. Podobnou fylogenetickou analýzu agregátu provedla i Dr. Judith Fehrer s přispěním Dr. Libora Mrnky (BÚ AV ČR, Průhonice), jejich kladogram přináší podobné výsledky jako předchozí práce (Obr. 5). Geografické rozšíření zástupců tohoto agregátu je nejlépe známo u *R. ericae*, který byl popsán jak z rhizoidů antarktických jätrovek (Upton et al. 2007), tak z vřesovišť severní polokoule (Pearson & Read 1973). Z našich pozorování mohu potvrdit jeho výskyt i na území ČR. Je tedy zřejmé, že jeho rozšíření je vpravdě kosmopolitní.





Obr. 5: Fylogenetický strom agregátu *R. ericae* s vyznačenými taxony. Autoři: J. Fehrer a L. Mrnka

#### 4.1. *Cadophora finlandica* jako ErM i EcM mykobiont

Až donedávna se předpokládalo, že houby tvořící ErM a EcM jsou taxonomicky oddělené a tvoří dvě různé ekologické skupiny. Toto dogma padlo když byl *Meliniomyces bicolor* na základě sekvenace ITS oblastí rDNA zařazen do agregátu *R. ericae* (Vralstad et al. 2000). Vystala tedy jasná otázka, zda mohou erikoidně mykorhizní a ektomykorhizní rostliny sdílet ve svých kořenových systémech identické mykorhizní mycelium. Tuto hypotézu podpořila i práce (Bergero et al. 2000), kteří inokulovali semenáčky vřesovce stromového *Erica arborea* houbami odizolovanými z mykorhizních špiček dubu cesmínovitého *Quercus ilex*. V buňkách vřesovité rostliny pak mohli pozorovat struktury podobné ErM. V této studii byl prokázán i výskyt stejné houbové genety v kořenech jak ektomykorhizního *Q. ilex* tak erikoidně mykorhizní *E. arborea*, nejednalo se však o zástupce agregátu *R. ericae*. Resyntetické experimenty nepřinesly potvrzení této hypotézy, avšak jejich fylogenetická analýza založená na ITS sekvencích zahrnula do agregátu *Rhizoscyphus ericae* i DSE houbu *Cadophora finlandica* (Wang & Wilcox 1985) (Vralstad et al. 2002b). Její mykorhizní status hodnotila např. práce (Wilcox & Wang 1987), kteří použili mykobionta k inokulaci borovic *Pinus resinosa* a *Pinus rubens* a břízy *Betula alleghaniensis*. Z mikroskopických pozorování byla patrná jak kolonizace ektomykorhizní, tak ektendomykorhizní. Ektendomykorhiza je typem ektomykorhizy, kdy hyfová vlákna, tvořící Hartigovu síť, penetrují buněčné stěny kořenových buněk hostitele a vstupují do buněčného prostoru (Yu et al. 2001b). *C. finlandica* není však jen symbiont ektomykorhizních rostlin, ale dokáže vytvářet i ErM v kořenech rostliny *Gaultheria shallon* (Monreal et al. 1999). Konečné rozřešení otázky, zda může jedna mykorhizní houba vytvářet najednou jak ektomykorhizu s EcM rostlinami tak erikoidní mykorhizu s rostlinami čeledi Ericaceae poskytl až (Villarreal-Ruiz et al. 2004). Tito autoři použili kmen houby blízkce příbuzný *C. finlandica* odizolovaný z mykorhizních špiček *Pinus sylvestris* k resyntetickým pokusům na semenáčcích ektomykorhizní *P. sylvestris* a erikoidně mykorhizní *Vaccinium myrthillus*. V obou případech došlo k úspěšnému vytvoření mykorhiz a to u *P. sylvestris* k EcM a u *V. myrthillus* k ErM. Ani zde však zřejmě nekončí výčet rostlinných druhů, které mohou být kolonizovány druhem *C. finlandica*. *C. finlandica* se vyskytuje i v kořenech orchideoidně mykorhizních rostlin, a to konkrétně u okrotice červené *Cephalanthera rubra* a kruštíku tmavočerveného *Epipactis atrorubens* (Orchideaceae) (Bidartondo et al. 2004). Povaha této asociace je však zatím zcela neznámá.

## 4.2. *Meliniomyces variabilis* – nejasný mykorhizní status

Jiné možné propojení rostlin s ErM a EcM preferencemi prostřednictvím extraradikálního mycelia by mohl umožňovat jiný zástupce agregátu *R. ericae*, kterým je *Meliniomyces variabilis*. Z tohoto pohledu důležitou se jeví práce (Piercey et al. 2002), kde autoři použili tři různé mykorhizní houby: *R. ericae*, *M. variabilis* a *O. maius* k inokulaci EcM *Picea mariana* a ErM *Rhododendron groenlandicum*. Houbová vlákna *R. ericae* a *M. variabilis* kolonizovaly kortex a epidermis kořenů *P. mariana* jak intracelulárně, tak intercelulárně. Na druhou stranu v kořenech *R. groenlandicum* vytvářely tyto mykobionti struktury typické pro erikoidní mykorhizu. *M. variabilis* je schopen vytvářet erikoidní mykorhizu v kořenech erikoidně mykorhizních rostlin *Rhododendron* sp., *Vaccinium* sp. a *Gaultheria shallon* (Berch et al. 2002) (Vohník et al. 2007). Kmeny *M. variabilis* byly izolovány z mnoha hostitelských rostlin. V přirozeném prostředí se vyskytují jak v kořenech EcM smrků *Picea sitchensis* a *Picea mariana* (Schild et al. 1988), (Summerbell 1989) tak v ErM rostlinách (Bougoure et al. 2007).

ErM či EcM rostliny nejsou jedinými hostiteli *M. variabilis*, byl detekován i v kořenech střešníku *Cypripedium acaule* (Orchideaceae), (Hambleton & Sigler 2005) či v zástupci čeledi Poaceae metličce křivolaké *Avenella flexuosa* (Vralstad et al. 2002a). V případě tvorby struktur připomínajících ErM můžeme očekávat, že fyziologický efekt této asociace bude podobný jako u erikoidní mykorhizy. Fyziologický význam asociace *M. variabilis* s EcM, potažmo OrM rostlinami je zatím nejasný. (Zijlstra et al. 2005) zkoumali vliv mykobiontů z řádu Helotiales, kam patří i agregát *Rhizoscyphus ericae*, na experimentální rostliny *Avenella flexuosa*. Inokulované rostliny vykazovaly oproti kontrolní variantě vyšší obsah dusíku v nadzemních částech. Zda-li za tuto růstovou odezvu mohl přímo mykorhizní efekt symbiotických hub, není zcela jasné. Pro přesnější pochopení významu hub agregátu *Rhizoscyphus ericae* v kořenech AM rostlin bude ještě zapotřebí dalšího výzkumu.

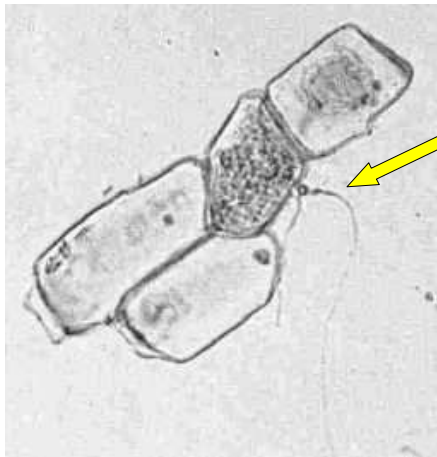
## 4.3. *Meliniomyces bicolor* – ErM i EcM mykobiont

Původně byl *M. bicolor* popsán z kořenových špiček *Picea abies*, kde vytvářel EcM struktury Brand et al. (1992). *Picea abies* však není jediným jeho rostliným hostitelem, *M. bicolor* byl izolován i ze semenáčků borovice lesní *Pinus sylvestris*, břízy pýřité *Betula pubescens*, topolu osiky *Populus tremula*, dubu červeného *Quercus robur* a vrby bobkolisté *Salix phylicifolia*, převážně ze stanovišť zasažených těžbou mědi (Vralstad et al. 2000). Z laboratoře BÚ AVČR pochází zatím nepublikované výsledky o schopnostech *M. bicolor* kolonizovat typicky ErM

rostliny. Tyto výsledky jsou ve shodě s prací (Vralstad et al. 2002b), kteří pozorovali schopnost *M. bicolor* tvořit ErM. I tato mykorhizní houba, stejně jako *C. finlandica*, je tedy schopna tvořit dva různé typy mykorhizních asociací s rostlinami odlišných mykorhizních preferencí.

#### 4.4. *Rhizoscyphus ericae* – ErM mykobiont

První izolace této houby z kořenů ErM rostliny byly provedeny u ruhy *Calluna vulgaris* (Pearson & Read 1973) (Obr. 6). V resyntetických pokusech je tato houba schopna vytvářet se zástupci čeledi Ericaceae struktury typické pro ErM symbiózu. *R. ericae* je schopen interagovat i s typicky EcM hostitelem *Picea marina* (Piercey et al. 2002). Hyfy symbiotické houby vytváří vnitrobuněčnou kolonizaci rhizodermis a primární kůry. Podobné pozorování přináší i nedávná diplomová práce vypracovaná na Katedře fyziologie rostlin a v BÚ AVČR (Fendrych 2006). V obou případech se však nevytvářely uvnitř buněk žádné smyčky ani nedocházelo k tvorbě Hartigovy sítě, čili se zřejmě jednalo o nespecifickou interakci, jejíž fyziologické účinky nejsou známy.



Obr. 6: Hyfy endofytické houby (šipka) rostoucí z mykorhizní buňky primární kůry kořene erikoidně mykorhizní rostliny. Převzato z (Pearson & Read 1973).

#### 4.5. Rostliny asociující se zástupci agregátu *Rhizoscyphus ericae*

Diverzita rostlinných symbiontů, kteří ve svých kořenových systémech mohou hostit zástupce agregátu *Rhizoscyphus ericae*, je značná a zahrnuje jak zástupce nahosemenných a krytosemenných rostlin, tak rostliny nižší. Typickými zástupci nižších rostlin, u nichž byla popsána schopnost interagovat s houbou *Rhizoscyphus ericae*, jsou játrovky (Duckett & Read 1995) (Obr. 7). Fyziologické ani ekologické efekty tohoto spojení nejsou dosud známy, jednou z diskutovaných možností je funkce této asociace jako mykorhizní inokulum pro okolní rostliny, neboť v resyntetických pokusech byla prokázána schopnost mykobiontů izolovaných z rhizoidů játrovek vytvářet ErM se zástupci čeledi Ericaceae. Podobná studie,

zabývající se asociací stejných partnerů (Chambers et al. 1999), prokázala výskyt *R. ericae* i v rhizoidech antarktických jätrovek.



Obr. 7: Rhizoidy jätrovky *Cephalozia connivens* kolonizované *R. ericae*. Převzato z (Read et al. 2000)

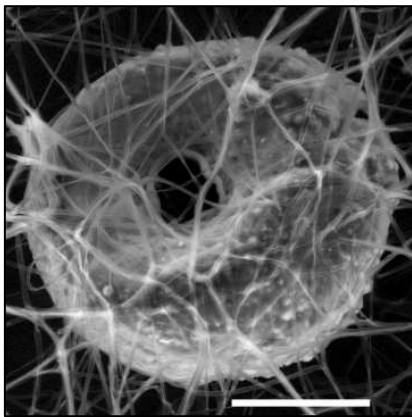
Nahosemenné rostliny, které dominují především v boreálních oblastech, mohou také hostit široké spektrum zástupců agregátu *R. ericae*. Autoři (Vralstad et al. 2002a) zahrnuli do tohoto agregátu i izoláty z kořenů borovice lesní *Pinus sylvestris* a smrku ztepilého *Picea abies*. Mezi jejich další hostitele patří i druhy rodu *Larix*, se kterými mohou tvořit ektendomykorhizy (Yu et al. 2001b). Z krytosemenných rostlin můžeme jmenovat zástupce hned několika čeledí: Ericaceae, Orchideaceae, Betulaceae, Salicaceae a Poaceae (Hambleton & Sigler 2005), (Vralstad et al. 2002b). Recentní publikace (Chambers et al. 2008) však ukazuje ještě daleko vyšší počet rostlin, které mohou ve svých kořenových systémech hostit tyto mykobionty. Izolace hub byla prováděna ze 17 rostlinných druhů, náležících do 10 různých čeledí krytosemenných rostlin. Část izolátů, které tvořily v kontrolovaných podmínkách ErM s kořeny vřesovcovitého keře *Woolfsia pungens* (Ericaceae) byla identifikována na základě sekvenční podobnosti ITS oblasti jako příslušníci řádu Helotiales, kam je řazen i agregát *R. ericae*. Je patrné, že hostiteli tohoto agregátu může být velké množství rostlinných druhů.

#### 4.6. Ekofyziologický význam mykobiontů agregátu *R. ericae*

Hlavní přínos pro hostitelskou rostlinu tkví především v enzymatické degradaci organických látek mykobiontem a transportu získaných živin do kořenového systému (Smith and Read 1997). Modelovým organismem pro studium enzymatických vlastností ErM hub se stal *R. ericae*, izolovaný již před vlemi dlouhou dobou (Pearson & Read 1973).

*R. ericae* je schopen využívat proteiny jako jediný zdroj dusíku díky produkci extracelulární proteázy. Optimální pH pro funkci tohoto enzymu je 2,2, což napovídá jeho

přizpůsobení se kyselým půdám, tolik typickým právě pro ErM (Leake & Read 1989a). Podobné výsledky byly získány i v laboratoři BÚ AVČR (Vohník et. al 2008), kde autoři prokázali schopnost této houby využívat schránky půdních krytenek jako jediného zdroje živin (Obr. 8). V ekosystémech jakými jsou rašeliniště či vřesoviště, typická to stanoviště pro výskyt erikoidně mykorhizních rostlin, představují krytenky až 48% veškeré



Obr. 8: Krytenka kolonizovaná izolátem *R. ericae*. Skenovací elektronová mikroskopie. Úsečka = 50  $\mu\text{m}$ . (Autor: M. Vohník)

mikrobiální biomasy nepočítaje houby (Gilbert et al. 1998). Zdá se tedy, že tvoří značný živinový zdroj, zřejmě dostupný skrze mykorhizní symbionty i rostlinám. Přístupnost jiného komplexního živinového substrátu díky enzymové aktivitě *R. ericae* byla prokázána v případě pěstování erikoidní rostliny *Vaccinium macrocarpon* na sterilní nekromase *V. macrocarpon* (Kerley & Read 1998). Neméně podstatným zdrojem dusíku v těchto ekosystémech je i chitin, který je využíván mykorhizními houbami (Leake & Read 1990). Mnohem významnější skutečností pro fungování symbiózy je fakt, že dusík takto získaný mykorhizními houbami může být transportován do hostitelských rostlin v množství významném pro zvýšení růstu hostitelských rostlin (Kerley & Read 1995). Proteiny nacházející se v půdách vřesovišť či rašelinišť bývají často vázány v komplexech s polyfenolickými látkami, což zvyšuje jejich stabilitu a odolnost proti enzymatické degradaci. Práce (Bending & Read 1996) však ukazuje schopnost ErM hub získávat dusík i z těchto komplexů. Mezi ErM houby, u kterých byla zkoumána schopnost využívat organický dusík, patří i *Oidiodendron maius* (Xiao & Berch 1999). Autoři této studie zkoumali růstové odezvy ErM rostliny *Gaultheria shallon* inokulované *O. maius* na různých organických substrátech. Ve všech pokusných variantách byl růst *G. shallon* signifikantně vyšší oproti nemykorhizním rostlinám.

Druhým nejvýznamnějším prvkem ve výživě rostlin po dusíku je fosfor. Tak jako v případě dusíku i v příjmu fosforu hraje ErM nezanedbatelnou úlohu. Díky syntéze extracelulární a v buněčné stěně vázané fosfodiesteráze, je *R. ericae* schopen využívat jako

jediný zdroj fosforu DNA (Leake & Miles 1996). Optimální pH tohoto enzymu je podobně jako u proteázy blízké hodnotám prostředí, ve kterém se mykobiont přirozeně vyskytuje. Tento fakt hraje roli i ve využívání organického fosforu ErM rostlinou *Vaccinium macrocarpon*. Mykorhizní kolonizace významně zvyšuje efektivitu využívání právě této formy fosforu oproti nemykorhizní kontrole, kde je příjem nulový (Myers & Leake 1996). Význam ErM hub ve výživě ErM rostlin nezahrnuje jen zvyšování příjmu dusíku a fosforu, ale podílí se významně i na zvýšení příjmu Ca (Leake & Read 1989b).

Jak je vidět z výčtu prací publikovaných na téma ekofyziologických vlastností ErM hub (především *R. ericae*), hrají tyto mykobionti naprosto fundamentální úlohu v přežívání a úspěšnosti ErM rostlin.

## 5. CMN – myceliální síť spojující hostitelské rostliny

CMN – „Common mycorrhizal network“, termín vyjadřující schopnost mykorhizních hub propojovat hostitelské rostliny systémem mimokořenového mycelia do vzájemně komunikujících celků, které umožňují, výměnu látek, energie a informací mezi jednotlivými členy. Toto spojení zásadním způsobem ovlivňuje jak rostlinnou diverzitu tak produktivitu ekosystémů (van der Heijden et al. 1998). Častou vlastností mykorhizních hub je jejich nízká specifická vůči rostlinným partnerům (Bruns et al. 2002), což umožňuje utváření CMN mezi různými rostlinnými druhy. Systém CMN nemusí vždy pocházet jen z jedné houbové genety, která kolonizuje kořenové systémy sousedících rostlin, ale i ze schopnosti houbového mycelia tvořit anastomózy. Na druhou stranu myceliem těchto hub se živí velké množství půdních živočichů, např. pancířníci (Schneider et al. 2005), kteří svým požerem narušují integritu myceliálních sítí. Vliv této složky edafonu na fungování CMN není zatím dostatečně popsán. Půdní živočichové či prvoci však mohou sloužit jako substrát pro kolonizaci mykorhizními houbami, které jsou schopny část získaných látek transportovat do hostitelských rostlin (Klironomos & Hart 2001, Vohník et al. 2008). Je tedy zřejmé, že interakce v mykorhizosféře rostlin jsou velmi spletité a pro jejich objasnění bude zapotřebí ještě mnoho práce.

Převládajícím typem mykorhizní symbiózy je jeden z typů endomykorhiz, arbuskulární mykorhiza, kterou tvoří zástupci kmene Glomeromycota (Schussler et al. 2001) s přibližně 70% dosud zkoumaných druhů vyšších rostlin. Zdá se, že CMN tvořená právě těmito houbami je běžnou součástí neotropických horských deštných lesů, kde propojuje různé druhy hostitelských stromů (Kottke et al. 2008). Na tuto myceliální síť však nemusí být napojeny

jen fotosyntetizující rostliny, ale i rostliny mykoheterotrofní, využívající pro příjem uhlíku právě myceliální síť (Bidartondo et al. 2002).

Podobnou myceliální síť vytváří i EcM houby. Genety těchto symbiontů mohou dosahovat rozměrů až několik metrů (Smith a Read 1997), což umožňuje propojení mnoha hostitelů. Jeden z dokladů CMN tvořené EcM houbami přináší studie (McGuire 2007) z tropických deštných lesů, kde tato síť propojuje kořenové systémy převládajících druhů dřevin.

Vezmeme-li však v úvahu výskyt mykorhizních hub v kořenových systémech rostlin, které nejsou jejich typickými hostiteli, dostane CMN zcela nový rozměr. Přes to, že jsou práce, které zmiňují současný výskyt EcM, AM a DSE hub v kořenech EcM semenáčků *Pinus muricata*, respektive současný výskyt AM, ErM a DSE hub u typicky ErM rostliny *Gaultheria poeppigii* (Horton et al. 1998, Urcelay 2002), není možné o nich mluvit jako o CMN, neboť nebyl prokázán symbiotický vliv všech zkoumaných hub na hostitelské rostliny. V těchto studiích se však zřejmě jednalo jen o náhodnou kolonizaci a nebylo možné z toho jednoznačně usoudit, že se jedná o zcela běžný fenomén. Významnějším se jeví schopnost některých mykorhizních hub vytvářet s různými hostiteli různé typy mykorhiz. Příkladem takového mykobionta je například výše popsaná *C. finlandica* (Villarreal-Ruiz et al. 2004). Podobné „promiskuity“ jsou schopny ale i některé druhy Basidiomycot, které kromě tvorby EcM na kořenech dřevin mohou kolonizovat i zástupce čeledi Orchideaceae, v podobě intracelulárních pelotonů, typických struktur pro OrM (Taylor & Bruns 1997).

CMNs mohou zprostředkovávat transport živin mezi rostlinami. Jak ukazuje práce (Simard et al. 1997), myceliální síť umožňuje transport uhlíku mezi různými druhy EcM stromů, jako jsou bříza *Betula papyrifera* a douglaska *Pseudotsuga manziesii*. Doklad o podobném toku látek u CMN vzniklé prostřednictvím AM hub přináší studie (Lerat et al. 2002).

Jak už to tak na světě chodí, vždy a všude se vyskytují nějakí příživníci, nejinak tomu je u CMNs. Těmito parazity jsou nezelené, mykoheterotrofní rostliny (Leake 1994), využívající jako jediný zdroj uhlíkatých látek okolo rostoucí zelené stromy skrze CMN (Taylor & Bruns 1997). Jedna z mykoheterotrofních rostlin, *Sarcodes sanguinea* (Ericaceae), vytváří se svými symbiotickými partnery (*Rhizopogon ellena* respektive *Abies magnifica*) úzce specializovaný vztah. V okolí rostliny *S. sanguinea* byla pozorována významně vyšší koncentrace kořenů *A. magnifica*. Naprostá většina těchto kořenů byla kolonizována právě mykobiontem *R. ellena*, který na druhou stranu ve větších vzdálenostech od *A. magnifica* nebyl detekován (Bidartondo et al. 2000).



Získávání uhlíkatých sloučenin z CMN není vždy jen výsadou mykoheterotrofních rostlin. Účinným nástrojem na určení povahy trofie konkrétního organismu je stanovení poměru stabilních izotopů dusíku C12:C13 v jeho biomase (Hobbie et al. 1999). S použitím této metody bylo zjištěno, že zástupci čeledi hruštičkovitých Pyrolaceae přijímají významnou část svého uhlíku skrze své mykorhizní partnery, které sdílí s okolními stromy (Tedersoo et al. 2007). Jaký význam má tento zdroj uhlíku pro rostliny čeledi Pyrolaceae si můžeme velmi dobře představit při pohledu na jejich habitat, kterým je typicky podrost boreálních lesů, kam dopadá jen malá část přicházejícího světla a fotosyntéza je tudíž limitována. Jak jsem již popsal v minulých kapitolách, jsou zástupci agregátu *R. ericae* schopni kolonizovat jak ErM rostliny tak rostliny EcM. I mezi nimi by se tedy mohla ustanovovat CMN, jejíž abundance by v ekosystémech jakými jsou např. boreální lesy či lesy mediteránní, mohla být velmi vysoká. Popis a vlastnosti této myceliální sítě si jistě zaslouží pozornost výzkumu a právě v mojí diplomové práci se chci této problematice věnovat.

## 6. Závěr

Členové agregátu *R. ericae* hrají v životě rostlin z čeledi Ericaceae nezastupitelnou úlohu. S postupujícím poznáním je nesporná jejich schopnost kolonizovat i rostliny jiných čeledí, od jätrovek přes nahosemenné až po trávy. Význam a funkce těchto asociací však dosud není dostatečně vysvětlena a je v současnosti předmětem výzkumu. Naopak četné jsou publikace zabývající se významem těchto mykobiontů pro jejich typické hostitele, ErM rostliny, jimž díky své enzymatické výbavě umožňují využívat širší spektrum organických látek.

Svou úlohu hraje mykorhizní symbióza i v ochraně rostlin proti stresu. ErM rostliny dominují především na rašeliništích či vřesovištích, kde jsou často vystaveny působení abiotického stresu a zde se významně projevuje pozitivní vliv ErM hub na hostitelskou rostlinu. V ekosystémech, v nichž se vyskytují ErM rostliny, najdeme také často EcM rostliny, se kterými mohou někteří zástupci agregátu *R. ericae* vytvářet EcM. Je tedy zřejmé, že zde může existovat propojení rostlin s odlišnou mykorhizní preferencí prostřednictvím myceliálních sítí CMNs. Přidáme-li k tomu skutečnost, že hostiteli agregátu *R. ericae* mohou být i typicky AM či OrM rostliny, pak by mohly myceliální sítě nabývat netušených rozměrů a funkcí. Dopad těchto interakcí není znám ani pro jednotlivé organismy ani pro fungování celého ekosystému. Je jasné, že dle výskytu hub agregátu *R. ericae* u rostlin s různými hostitelskými preferencemi se nejedná jen o regionální fenomén, ale mohlo by jít o interakci, která může ovlivňovat v konečném důsledku celou biosféru naší planety. V současnosti

výzkum CMNs nezahrnuje zástupce agregátu *R. ericae* a tudíž se otevírá nové, velmi aktuální téma, jehož součástí je i téma mojí diplomové práce.

## 7. Seznam citované literatury

Addy HD, Hambleton S, Currah RS (2000) Distribution and molecular characterization of the root endophyte *Phialocephala fortinii* along an environmental gradient in the boreal forest of Alberta. *Mycological Research* 104:1213-1221

Ahlich K, Sieber TN (1996) The profusion of dark septate endophytic fungi in non-ectomycorrhizal fine roots of forest trees and shrubs. *New Phytologist* 132:259-270

Allen TR, Millar T, Berch SM, Berbee ML (2003) Culturing and direct DNA extraction find different fungi from the same ericoid mycorrhizal roots. *New Phytologist* 160:255-272

Barrow JR, Aaltonen RE (2001) Evaluation of the internal colonization of *Atriplex canescens* (Pursh) Nutt. roots by dark septate fungi and the influence of host physiological activity. *Mycorrhiza* 11:199-205

Bending GD, Read DJ (1996) Nitrogen mobilization from protein-polyphenol complex by ericoid and ectomycorrhizal fungi. *Soil Biology & Biochemistry* 28:1603-1612

Berch SM, Allen TR, Berbee ML (2002) Molecular detection, community structure and phylogeny of ericoid mycorrhizal fungi. *Plant and Soil* 244:55-66

Bergero R, Perotto S, Girlanda M, Vidano G, Luppi AM (2000) Ericoid mycorrhizal fungi are common root associates of a Mediterranean ectomycorrhizal plant (*Quercus ilex*). *Molecular Ecology* 9:1639-1649

Bidartondo MI, Burghardt B, Gebauer G, Bruns TD, Read DJ (2004) Changing partners in the dark: isotopic and molecular evidence of ectomycorrhizal liaisons between forest orchids and trees. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 271:1799-1806

Bidartondo MI, Kretzer AM, Pine EM, Bruns TD (2000) High root concentration and uneven ectomycorrhizal diversity near *Sarcodes sanguinea* (Ericaceae): A cheater that stimulates its victims? *American Journal of Botany* 87:1783-1788

Bidartondo MI, Redecker D, Hijri I, Wiemken A, Bruns TD, Dominguez L, Sersic A, Leake JR, Read DJ (2002) Epiparasitic plants specialized on arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature* 419:389-392

Bonfantefasolo P, Gianinazzipearson V (1979) Ultrastructural Aspects of Endomycorrhiza in the Ericaceae .1. Naturally Infected Hair Roots of *Calluna-Vulgaris* l Hull. *New Phytologist* 83:739-744

Bonfantefasolo P (1980) Occurrence of a basidiomycete in living cells of mycorrhizal hair roots of *Calluna vulgaris*. *Transactions British Mycological Society* 75: 330-325

Bougoure DS, Parkin PI, Cairney JWG, Alexander IJ, Anderson IC (2007) Diversity of fungi in hair roots of Ericaceae varies along a vegetation gradient. *Molecular Ecology* 16:4624-4636

- Brand F, Gronbach E, Taylor AFS (1992) *Piceirhiza bicolorata*. In: Agerer R (eds) *Color atlas of ectomycorrhizae*. München: Einhorn Verlag.
- Brundrett MC (2002) Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. *New Phytologist* 154:275-304
- Bruns TD, Bidartondo MI, Taylor DL (2002) Host specificity in ectomycorrhizal communities: What do the exceptions tell us? *Integrative and Comparative Biology* 42:352-359
- Cairney JWG (2000) Evolution of mycorrhiza systems. *Naturwissenschaften* 87:467-475
- Cairney JWG, Meharg AA (2003) Ericoid mycorrhiza: a partnership that exploits harsh edaphic conditions. *European Journal of Soil Science* 54:735-740
- Cazares E, Trappe JM, Jumpponen A (2005) Mycorrhiza-plant colonization patterns on a subalpine glacier forefront as a model system of primary succession. *Mycorrhiza* 15:405-416
- Chambers SM, Curlevski NJA, Cairney JWG (2008) Ericoid mycorrhizal fungi are common root inhabitants of non-Ericaceae plants in a south-eastern Australian sclerophyll forest. *Fems Microbiology Ecology* 65:263-270
- Chambers SM, Williams PG, Seppelt RD, Cairney JWG (1999) Molecular identification of *Hymenoscyphus* sp. From rhizoids of the leafy liverwort *Cephaloziella exiliflora* in Australia and Antarctica. *Mycological Research* 103:286-288
- Cullings KW (1996) Single phylogenetic origin of ericoid mycorrhizae within the Ericaceae. *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne de Botanique* 74:1896-1909
- Currah RS, Tsuneda A, Murakami S (1993) Morphology and Ecology of *Phialocephala-Fortinii* in Roots of *Rhododendron Brachycarpum*. *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne de Botanique* 71:1639-1644
- Dalpe Y (1986) Axenic Synthesis of Ericoid Mycorrhiza in *Vaccinium-Angustifolium* Ait by *Oidiodendron* Species. *New Phytologist* 103:391-396
- Dickie IA, FitzJohn RG (2007) Using terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) to identify mycorrhizal fungi: a methods review. *Mycorrhiza* 17:259-270
- Duckett JG, Read DJ (1995) Ericoid Mycorrhizas and Rhizoid-Ascomycete Associations in Liverworts Share the Same Mycobiont - Isolation of the Partners and Resynthesis of the Associations In-Vitro. *New Phytologist* 129:439-477
- Fendrych M (2006) Interagují spolu ektomykorhizní a erikoidně mykorhizní hostitelské rostliny prostřednictvím ektomykorhizních, erikoidně mykorhizních a pseudomykorhizních hub? Prague: Faculty of Science, Charles University in Prague.
- Gardes M, Bruns TD (1993) Its Primers with Enhanced Specificity for Basidiomycetes - Application to the Identification of Mycorrhizae and Rusts. *Molecular Ecology* 2:113-118
- Gilbert D, Amblard C, Bourdier G, Francez AJ (1998) Short-term effect of nitrogen enrichment on the microbial communities of a peatland. *Hydrobiologia* 374:111-119

- Grunig CR, Duo A, Sieber TN, Holdenrieder O (2008) Assignment of species rank to six reproductively isolated cryptic species of the *Phialocephala fortinii* s.l.-*Acephala applanata* species complex. *Mycologia* 100:47-67
- Gryndler M, Baláž M, Hršelová H, Jansa J, Vosátka M (2004) *Mykorrhizní symbióza, O soužití hub s kořeny rostlin*. Prague: Academia Publishing House of the Academy of Sciences of the Czech Republic.
- Hambleton S, Sigler L (2005) *Meliniomyces*, a new anamorph genus for root-associated fungi with phylogenetic affinities to *Rhizoscyphus ericae* (*Hymenoscyphus ericae*), *Leotiomyces*. *Studies in Mycology* 1-27
- Haselwandter K, Read DJ (1980) Fungal Associations of Roots of Dominant and Sub-Dominant Plants in High-Alpine Vegetation Systems with Special Reference to Mycorrhiza. *Oecologia* 45:57-62
- Haselwandter K, Read DJ (1982) The Significance of A Root-Fungus Association in 2 *Carex* Species of High-Alpine Plant-Communities. *Oecologia* 53:352-354
- Hobbie EA, Macko SA, Shugart HH (1999) Insights into nitrogen and carbon dynamics of ectomycorrhizal and saprotrophic fungi from isotopic evidence. *Oecologia* 118:353-360
- Horton TR, Cazares E, Bruns TD (1998) Ectomycorrhizal, vesicular-arbuscular and dark septate fungal colonization of bishop pine (*Pinus muricata*) seedlings in the first 5 months of growth after wildfire. *Mycorrhiza* 8:11-18
- Jumpponen A (2001) Dark septate endophytes - are they mycorrhizal? *Mycorrhiza* 11:207-211
- Jumpponen A, Mattson KG, Trappe JM (1998) Mycorrhizal functioning of *Phialocephala fortinii* with *Pinus contorta* on glacier forefront soil: interactions with soil nitrogen and organic matter. *Mycorrhiza* 7:261-265
- Jumpponen A, Trappe JM (1998) Dark septate endophytes: a review of facultative biotrophic root-colonizing fungi. *New Phytologist* 140:295-310
- Kai W, Zhao ZW (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
- Kerley SJ, Read DJ (1995) The Biology of Mycorrhiza in the Ericaceae .18. Chitin Degradation by *Hymenoscyphus-Ericae* and Transfer of Chitin-Nitrogen to the Host-Plant. *New Phytologist* 131:369-375
- Kerley SJ, Read DJ (1998) The biology of mycorrhiza in the Ericaceae XX. Plant and mycorrhizal necromass as nitrogenous substrates for the ericoid mycorrhizal fungus *Hymenoscyphus ericae* and its host. *New Phytologist* 139:353-360
- Klironomos JN, Hart MM (2001) Food-web dynamics - Animal nitrogen swap for plant carbon. *Nature* 410:651-652

- Kottke I, Haug I, Setaro S, Suarez JP, Weiss M, Preussing M, Nebel M, Oberwinkler F (2008) Guilds of mycorrhizal fungi and their relation to trees, ericads, orchids and liverworts in a neotropical mountain rain forest. *Basic and Applied Ecology* 9:13-23
- Laursen GA, Treu R, Seppelt RD, Stephenson SL (1997) Mycorrhizal assessment of vascular plants from subantarctic Macquarie Island. *Arctic and Alpine Research* 29:483-491
- Leake JR (1994) The Biology of Myco-Heterotrophic (Saprophytic) Plants. *New Phytologist* 127:171-216
- Leake JR, Miles W (1996) Phosphodiesterases as mycorrhizal P sources .1. Phosphodiesterase production and the utilization of DNA as a phosphorus source by the ericoid mycorrhizal fungus *Hymenoscyphus ericae*. *New Phytologist* 132:435-443
- Leake JR, Read DJ (1989a) The Biology of Mycorrhiza in the Ericaceae .13. Some Characteristics of the Extracellular Proteinase Activity of the Ericoid Endophyte *Hymenoscyphus-Ericae*. *New Phytologist* 112:69-76
- Leake JR, Read DJ (1989b) The Biology of Mycorrhiza in the Ericaceae .15. the Effect of Mycorrhizal Infection on Calcium-Uptake by *Calluna-Vulgaris* (L) Hull. *New Phytologist* 113:535-544
- Leake JR, Read DJ (1990) Chitin As A Nitrogen-Source for Mycorrhizal Fungi. *Mycological Research* 94:993-995
- Lerat S, Gauci R, Catford JG, Vierheilig H, Piche Y, Lapointe L (2002) C-14 transfer between the spring ephemeral *Erythronium americanum* and sugar maple saplings via arbuscular mycorrhizal fungi in natural stands. *Oecologia* 132:181-187
- Lindahl BD, Ihrmark K, Boberg J, Trumbore SE, Hogberg P, Stenlid J, Finlay RD (2007) Spatial separation of litter decomposition and mycorrhizal nitrogen uptake in a boreal forest. *New Phytologist* 173:611-620
- Mandyam K, Jumpponen A (2005) Seeking the elusive function of the root-colonising dark septate endophytic fungi. *Studies in Mycology* 173-189
- McGuire KL (2007) Common ectomycorrhizal networks may maintain monodominance in a tropical rain forest. *Ecology* 88:567-574
- Monreal M, Berch SM, Berbee M (1999) Molecular diversity of ericoid mycorrhizal fungi. *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne de Botanique* 77:1580-1594
- Muyzer G (1999) DGGE/TGGE a method for identifying genes from natural ecosystems. *Current Opinion in Microbiology* 2:317-322
- Myers MD, Leake JR (1996) Phosphodiesterases as mycorrhizal P sources .2. Ericoid mycorrhiza and the utilization of nuclei as a phosphorus and nitrogen source by *Vaccinium macrocarpon*. *New Phytologist* 132:445-451
- Odell TE, Massicotte HB, Trappe JM (1993) Root Colonization of *Lupinus-Latifolius* Agardh and *Pinus-Contorta* Dougl by *Phialocephala-Fortinii* Wang and Wilcox. *New Phytologist* 124:93-100

- Pearson V, Read DJ (1973) Biology of Mycorrhiza in Ericaceae .1. Isolation of Endophyte and Synthesis of Mycorrhizas in Aseptic Culture. *New Phytologist* 72:371-&
- Perotto S, Girlanda M, Martino E (2002) Ericoid mycorrhizal fungi: some new perspectives on old acquaintances. *Plant and Soil* 244:41-53
- Peterson RL, Massicotte HB (2004) Exploring structural definitions of mycorrhizas, with emphasis on nutrient-exchange interfaces. *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne de Botanique* 82:1074-1088
- Peterson RL, Wagg C, Pautler M (2008) Associations between microfungi endophytes and roots: do structural features indicate function? *Botany-Botanique* 86:445-456
- Piercey MM, Thormann MN, Currah RS (2002) Saprobic characteristics of three fungal taxa from ericalean roots and their association with the roots of *Rhododendron groenlandicum* and *Picea mariana* in culture. *Mycorrhiza* 12:175-180
- Porras-Alfaro A, Herrera J, Sinsabaugh RL, Odenbach KJ, Lowrey T, Natvig DO (2008) Novel root fungal consortium associated with a dominant desert grass. *Applied and Environmental Microbiology* 74:2805-2813
- Read DJ, Duckett JG, Francis R, Ligrone R, Russell A (2000) Symbiotic fungal associations in 'lower' land plants. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 355:815-830
- Read DJ, Haselwandter K (1981) Observations on the Mycorrhizal Status of Some Alpine Plant-Communities. *New Phytologist* 88:341-352
- Redecker D, Kodner R, Graham LE (2000) Glomalean fungi from the Ordovician. *Science* 289:1920-1921
- Ruotsalainen AL, Vare H, Vestberg M (2002) Seasonality of root fungal colonization in low-alpine herbs. *Mycorrhiza* 12:29-36
- Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, Scharf SJ, Higuchi R, Horn GT, Mullis KB, Erlich HA (1988) Primer-Directed Enzymatic Amplification of Dna with A Thermostable Dna-Polymerase. *Science* 239:487-491
- Schild DE, Kennedy A, Stuart MR (1988) Isolation of Symbiont and Associated Fungi from Ectomycorrhizas of Sitka Spruce. *European Journal of Forest Pathology* 18:51-61
- Schneider K, Renker C, Maraun M (2005) Oribatid mite (Acari, Oribatida) feeding on ectomycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 16:67-72
- Schussler A, Schwarzott D, Walker C (2001) A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological Research* 105:1413-1421
- Selosse MA, Le Tacon F (1998) The land flora: a phototroph-fungus partnership? *Trends in Ecology & Evolution* 13:15-20
- Selosse MA, Setaro S, Glatard F, Richard F, Urcelay C, Weiss M (2007) Sebaciniales are common mycorrhizal associates of Ericaceae. *New Phytologist* 174:864-878

- Setaro S, Weiss M, Oberwinkler F, Kottke I (2006) Sebacinale form ectendomycorrhizas with *Cavendishia nobilis*, a member of the Andean clade of Ericaceae, in the mountain rain forest of southern Ecuador. *New Phytologist* 169:355-365
- Simard SW, Perry DA, Jones MD, Myrold DD, Durall DM, Molina R (1997) Net transfer of carbon between ectomycorrhizal tree species in the field. *Nature* 388:579-582
- Smith SA, Read DJ (1997) *Mycorrhizal symbiosis*. San Diego: Academic Press
- Stoyke G, Currah RS (1993) Resynthesis in Pure Culture of A Common Sub-Alpine Fungus-Root Association Using *Phialocephala-Fortinii* and *Menziesia-Ferruginea* (Ericaceae). *Arctic and Alpine Research* 25:189-193
- Summerbell RC (1989) Microfungi Associated with the Mycorrhizal Mantle and Adjacent Microhabitats Within the Rhizosphere of Black Spruce. *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne de Botanique* 67:1085-1095
- Taylor DL, Bruns TD (1997) Independent, specialized invasions of ectomycorrhizal mutualism by two nonphotosynthetic orchids. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 94:4510-4515
- Tedersoo L, Pellet P, Koljalg U, Selosse MA (2007) Parallel evolutionary paths to mycoheterotrophy in understorey Ericaceae and Orchidaceae: ecological evidence for mixotrophy in Pyroleae. *Oecologia* 151:206-217
- Upton R, Read DJ, Newsham KK (2007) Widespread association between the ericoid mycorrhizal fungus *Rhizoscyphus ericae* and a leafy liverwort in the maritime and sub-Antarctic. *New Phytologist* 176:460-471
- Urcelay C (2002) Co-occurrence of three fungal root symbionts in *Gaultheria poeppigii* DC in Central Argentina. *Mycorrhiza* 12:89-92
- van der Heijden MGA, Klironomos JN, Ursic M, Moutoglis P, Streitwolf-Engel R, Boller T, Wiemken A, Sanders IR (1998) Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature* 396:69-72
- Villarreal-Ruiz L, Anderson IC, Alexander IJ (2004) Interaction between an isolate from the *Hymenoscyphus ericae* aggregate and roots of *Pinus* and *Vaccinium*. *New Phytologist* 164:183-192
- Vohnik M, Albrechtova J, Vosatka M (2005) The inoculation with *Oidiodendron maius* and *Phialocephala fortinii* alters phosphorus and nitrogen uptake, foliar C : N ratio and root biomass distribution in *Rhododendron* cv. *Azurro*. *Symbiosis* 40:87-96
- Vohnik M, Fendrych M, Albrechtova J, Vosatka M (2007) Intracellular colonization of *Rhododendron* and *Vaccinium* roots by *Cenococcum geophilum*, *Geomyces pannorum* and *Meliniomyces variabilis*. *Folia Microbiologica* 52:407-414
- Vohnik M, Burdikova Z, Albrechtova J, Vosatka M (2005) Testate Amoebae vs. Ericoid Mycorrhizal and DSE Fungi: A Possible Novel Interaction in the Mycorrhizosphere of Ericaceous Plants? *Microbial Ecology* DOI 10.1007/s00248-008-9402-y



- Vralstad T, Fossheim T, Schumacher T (2000) *Piceirhiza bicolorata* - the ectomycorrhizal expression of the *Hymenoscyphus ericae* aggregate? *New Phytologist* 145:549-563
- Vralstad T, Myhre E, Schumacher T (2002a) Molecular diversity and phylogenetic affinities of symbiotic root-associated ascomycetes of the Helotiales in burnt and metal polluted habitats. *New Phytologist* 155:131-148
- Vralstad T, Schumacher T, Taylor AFS (2002b) Mycorrhizal synthesis between fungal strains of the *Hymenoscyphus ericae* aggregate and potential ectomycorrhizal and ericoid hosts. *New Phytologist* 153:143-152
- Wagg C, Pautler M, Massicotte HB, Peterson RL (2008) The co-occurrence of ectomycorrhizal, arbuscular mycorrhizal, and dark septate fungi in seedlings of four members of the Pinaceae. *Mycorrhiza* 18:103-110
- Wang CJK, Wilcox HE (1985) New Species of Ectendomycorrhizal and Pseudomycorrhizal Fungi - *Phialophora-Finlandia*, *Chloridium-Paucisporum*, and *Phialocephala-Fortinii*. *Mycologia* 77:951-958
- Weiss M, Selosse MA, Rexer KH, Urban A, Oberwinkler F (2004) Sebaciniales: a hitherto overlooked cosm of heterobasidiomycetes with a broad mycorrhizal potential. *Mycological Research* 108:1003-1010
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (eds) *PCR Protocols: a Guide to Methods and Applications*: 315-322. New York: Academic Press
- Wilcox HE, Wang CJK (1987) Ectomycorrhizal and Ectendomycorrhizal Associations of *Phialophora-Finlandia* with *Pinus-Resinosa*, *Picea-Rubens*, and *Betula-Alleghaniensis*. *Canadian Journal of Forest Research-Revue Canadienne de Recherche Forestiere* 17:976-990
- Wu LQ, Guo SX (2008) Interaction between an isolate of dark-septate fungi and its host plant *Saussurea involucreata*. *Mycorrhiza* 18:79-85
- Xiao GP, Berch SM (1999) Organic nitrogen use by salal ericoid mycorrhizal fungi from northern Vancouver Island and impacts on growth in vitro of *Gaultheria shallon*. *Mycorrhiza* 9:145-149
- Yu T, Nassuth A, Peterson RL (2001a) Characterization of the interaction between the dark septate fungus *Phialocephala fortinii* and *Asparagus officinalis* roots. *Canadian Journal of Microbiology* 47:741-753
- Yu T, Egger KN, Peterson RL (2001b) Ectendomycorrhizal associations - characteristics and functions. *Mycorrhiza* 11:167-177
- Zijlstra JD, Van't Hof P, Baar J, Verkley GJM, Summerbell RC, Paradi I, Braakhekke WG, Berendse F (2005) Diversity of symbiotic root endophytes of the Helotiales in ericaceous plants and the grass, *Deschampsia flexuosa*. *Studies in Mycology* 147-162