

# Ekologie hub

## 3. Výživa, transport a fruktifikace



Čím je teorie evidentnější, tím hůř se dokazuje.

(Murphyho zákon)

# Metabolizmus

**Primární metabolizmus** – zajišťuje růst

**Sekundární metabolizmus** – doprovází rozmnožování, fruktifikaci a sporulaci, reakci na nevhodné podmínky, kompetici, komunikaci, interakci s organizmy, reakci na stress, detoxifikaci, ...

# Přenos do hyf

- pouze **nízkomolární látky** přes:

**buněčnou stěnu** – porézní, hlavně strukturální funkce (ovlivňuje některé proteiny a sama může vázat např. ionty)

**membránu** – selektivní příjem, transport

- obdobné jako u ostatních organizmů, u hub studováno u modelových druhů (*Saccharomyces cerevisiae*, *Trichoderma viride*, *Aspergillus nidulans* a *Penicillium chrysogenum*)

## Transport

*Pasivní difúze* – velmi pomalá, na základě rozdílných koncentrací

*Usnadněná difúze* – přes proteinový kanál, nebo přenašeč, rychlejší

*Aktivní transport* – za spoluúčasti ATP, specifické přenašeče

# Přenos do hyf

- pouze **nízkomolární látky**

= mono- a disacharidy, aminokyseliny, organické kyseliny, steroly, vitamíny, ionty

## **Co s ostatními látkami?**

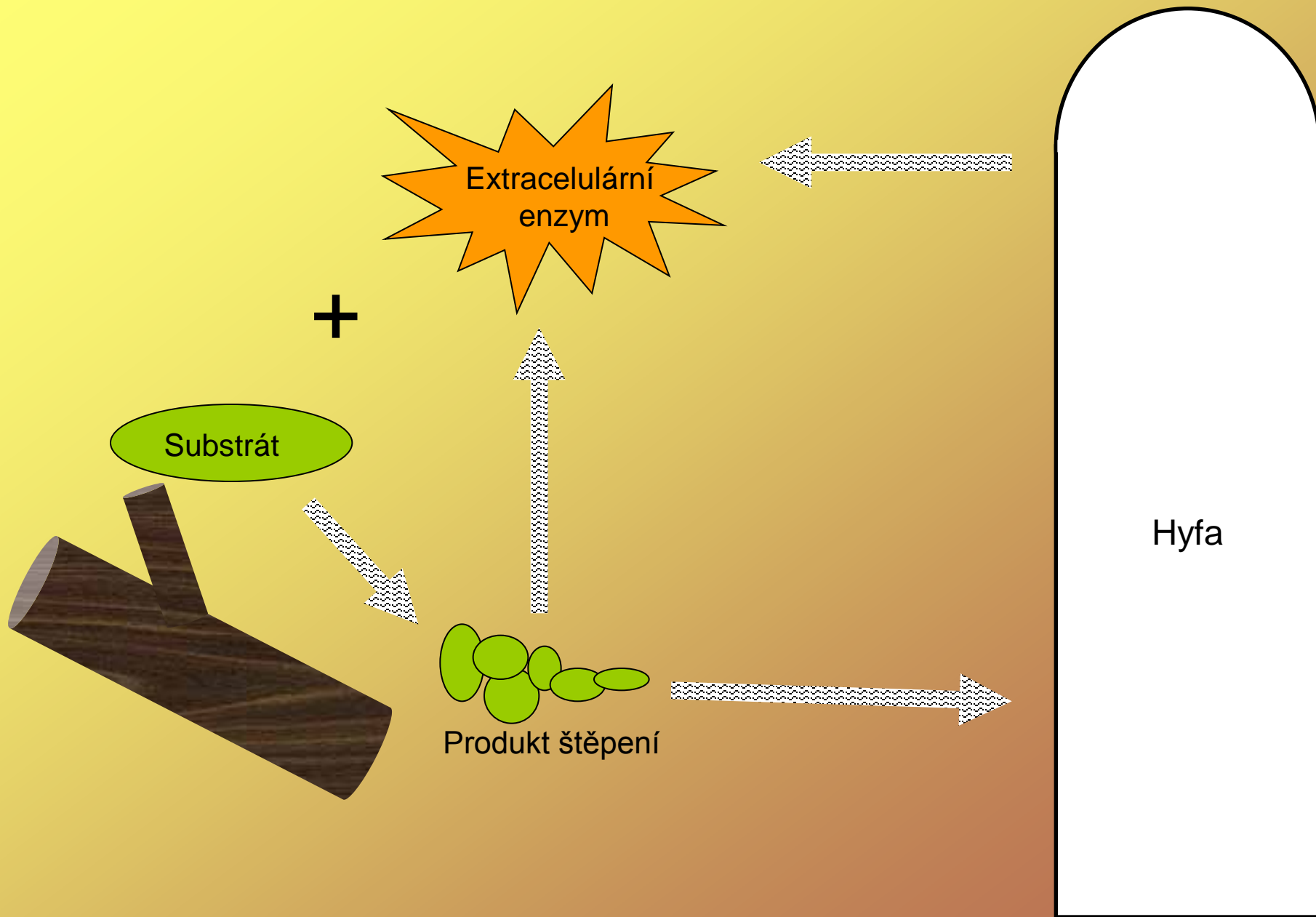
- naštěpit mimo hyfu, **extracelulární enzymy**

= proces ztrátový, náročný na výrobu enzymů

= nutnost optimálně vyvážit kolonizaci substrátu a příjem živin

= v okolí hyf jiné prostředí, tzv. **hyfosféra**

# Extracelulární enzymy



# Extracelulární enzymy

Substrát	Enzym
škrob	$\alpha$ -amyláza
pektin	pektinesteráza, polymethyl galakturonáza
$\beta$ -1,4-D-xylan	Endo $\beta$ -1,4-D-xylanáza, Exo $\beta$ -1,4-D-xylanáza
$\beta$ -1,4-D-manan	Endo $\beta$ -1,4-D-mananáza
celulóza	endoceluláza, exoceluláza, $\beta$ -glukozidáza
celobióza	celobiózo oxidáza, celobiózo dehydrogenáza
proteiny	exopeptidázy ( $\alpha$ -aminoacylpeptidáza), endopeptidázy (serin proteináza)
lignin	Mn peroxidáza, lignin peroxidáza, lakáza
...	...

- často jde o **hydrolytické enzymy**

# Intracelulární enzymy

Uvnitř hyf úprava přijatých látek a jejich začlenění do metabolismu.

Většina hub **prototrofní** pro vitamíny a steroidní látky (tj. syntetizují si je samy)  
- někdy dočasně **auxotrofními** v případě extrémních podmínek (*Achlya* – riboflavin).

= např. thiamin přidáván do média



***Achlya* sp.**

[http://www.life.uiuc.edu/ib/471/lectures/371\\_day13/  
Lecture13\\_gallery/pages/Achlya\\_sex1A.htm](http://www.life.uiuc.edu/ib/471/lectures/371_day13/Lecture13_gallery/pages/Achlya_sex1A.htm)



# Výživa - uhlík

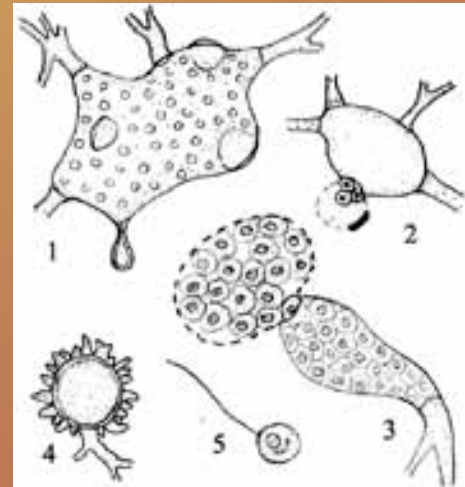
## Zdroje C:

- cukry (specifický přenašeč pro každý typ cukru, v myceliu ihned na glu-6P)
- **celulóza**, **hemicelulóza**, pektin
- **lignin** (je to skutečně zdroj C?)
- **chitin** (*Mortierella*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Verticillium*, *Humicola*, ...)

Chytridiomycota - *Chytrium* spp.,

*Karlingiomyces asterocystis* obligátní chitinofil

- **chitosan** u Mucorales (*Rhizopus*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Chaetomium*)
- agaróza (*Physarum polycephalum* !myxom., *Aspergillus nidulans*)
- organické kyseliny (mléčná, octová, jablečná, ...)
- lipidy (*Candida albicans*, patogenní druhy, entomofágní druhy)
- aminokyseliny a proteiny (současně jako zdroj N)



*Karlingiomyces asterocystis*

<http://bama.ua.edu/~chytrid/taxkey/karlingiokey/platea.htm>

# Výživa - uhlík

## Netradiční zdroje C:

- alkoholy (glycerol, ethanol, methanol)
- uhlovodíky (*Amorphotheca resinae*, *Aspergillus fumigatus* mohou růst v nádržích s kerosinem)



<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/>

*Aspergillus fumigatus*



# Výživa - uhlík

## Chitin jako zdroj uhlíku

- růst na špičce díky rozvolnění chitinových filament, aktivita i **chitinázy**

**Jakto, že se hyfa chitinolytické houby sama nepoškodí chitinázou?**

### Review

## Self versus non-self: fungal cell wall degradation in *Trichoderma*

Sabine Gruber and Verena Seidl-Seiboth

# Výživa - uhlík

## Chitin jako zdroj uhlíku

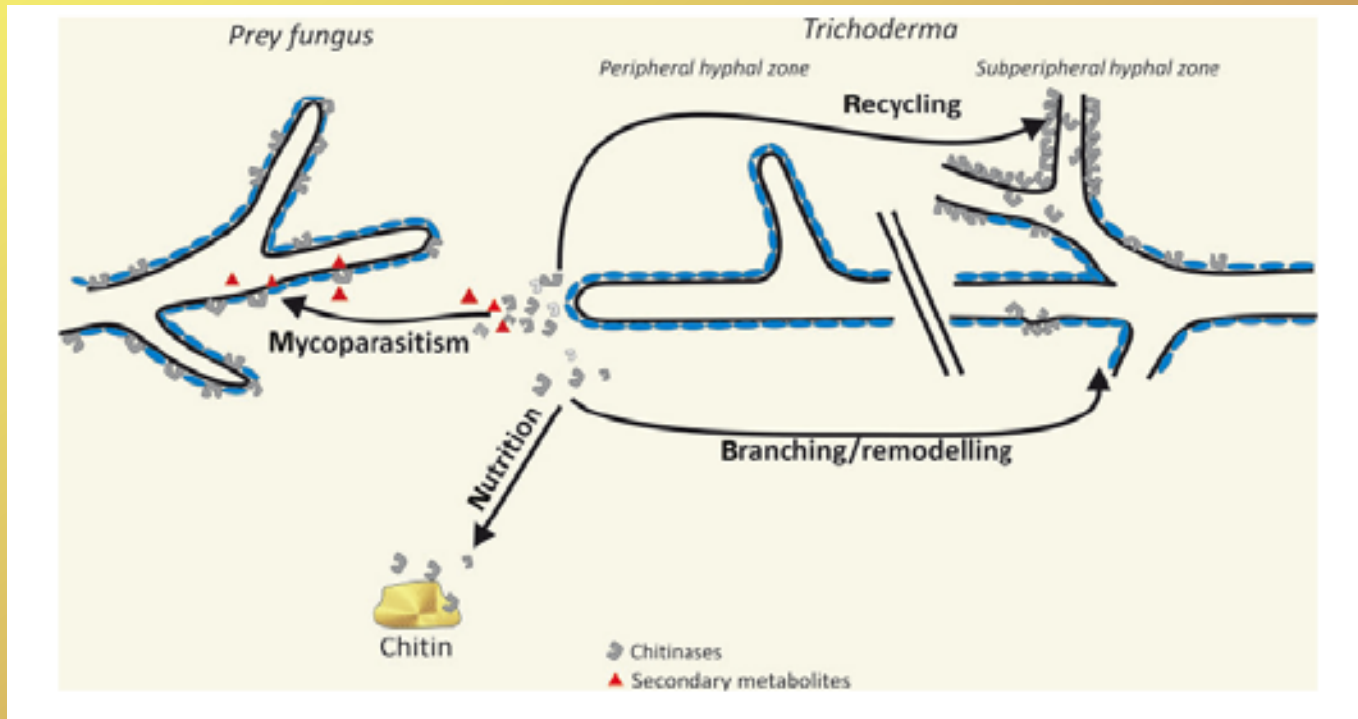
- hyfy pokryté ochrannými proteiny

= nejprve enzymatické (hydrolytické proteázy) a neenzymatické (sekund. metabolity) štěpení této vrstvy

= vlastní hyfa chráněna hydrofobními proteiny a glykoproteiny

- po zrušení proteinové vrstvy teprve účinek chitináz (až 36 různých typů) na chitin



- vlastní hyfa chráněna, protože chitin je nedostupný



# Výživa - dusík

Zdroje N:

**Fixace N<sub>2</sub> nikdy!!! V minulosti metodické nedokonalosti.**

- **aminokyseliny a proteiny** 
- **NO<sub>2</sub>** v půdě (hnojivo, oxidace NH<sub>4</sub> amonnými bakteriemi)
- **NH<sub>4</sub>** v půdě, vznik při rozkladu štěpení např. proteinů jako zdroj energie, uvolňování při nadbytku N (bakterie, houby)
- puriny při rozkladu DNA
- močovina (toxická ve velkém množství)
- **chitin** 

**rovněž  
zdroje uhlíku**

# Výživa - dusík

## Netradiční zdroje dusíku:

- keratin (*Chytridiomycota*, askomycety z řádu *Onygenales*)

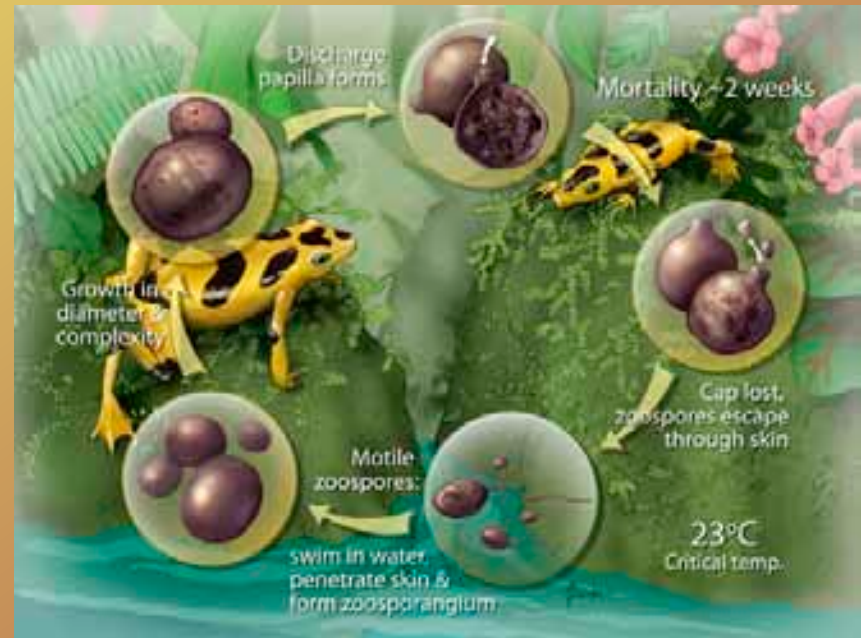
## *Batrachochytrium dendrobatidis*

- **keratinofilní** obligátní parazit obojživelníků



© Joel Sartore (IUSA)

<http://www.habitatadvocate.com.au/?tag=batrachochytrium-dendrobatidis>





# Výživa - dusík

## Netradiční zdroje dusíku:

- keratin (Chytridiomycota, **askomycety z řádu Onygenales**)

*Onygena equina*

- **keratinofilní** saprotrof

- a další rody **parazitické** na zvířatech,  
vč. člověka (kůže a kožní deriváty, *Trichophyton*,  
*Chrysosporium*, ...)



*T. ajelloi*

<http://www.mycology.adelaide.edu.au/virtual/2011/ID2-May11.html>



*T. rubrum*



# Výživa - S, P

## Zdroje S:

- $\text{SO}_4^{2-}$ , choline-O-sulfát z rostlin, tyrosin-O-sulfát (syntéza cysteinu a methioninu)

## Zdroje P:

- transport  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  (polyfosfát jako zásobní látka)
- objeveny **fosfonáty**

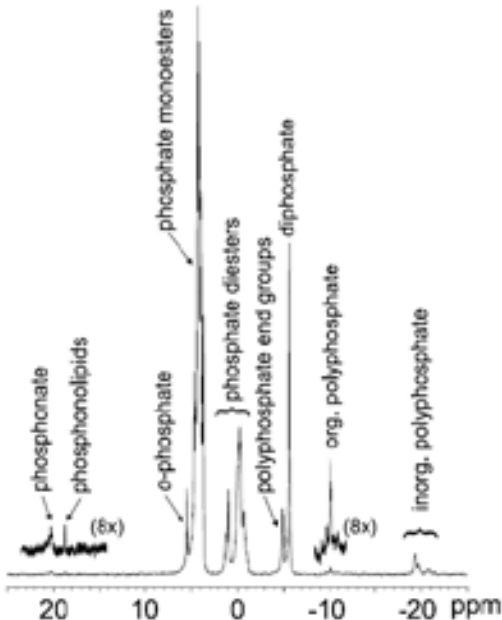


Fig. 1.  $^{31}\text{P}$  NMR spectrum of *X. badius* sporocarp extract. Areas on inserted charts are magnified vertically by 8.

Chem. Listy 100, 596 – 597 (2006)

## DETERMINATION OF P-ORG SPECIES IN FUNGUS *XEROCOMUS BADIUS* BY $^{31}\text{P}$ NMR SPECTROSCOPY

FRANTIŠEK NOVÁK<sup>a</sup>, ONDŘEJ KOUKOL<sup>b</sup>, RICHARD HRABAL<sup>c</sup>, IVANA BARTOŠOVÁ<sup>c</sup>, JIŘÍ KALČÍK<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Biological Centre AS CR, Inst. Soil Biology, Na Sádkách 7, 370 05 České Budějovice, Czech Republic, novakf@upb.cas.cz

<sup>b</sup>Institute of Botany, AS CR, 252 43 Příhonice, Czech Republic

<sup>c</sup>NMR laboratory, ICT Prague, Technická 1905, 166 28 Prague



Soil Biology & Biochemistry 38 (2006) 3372–3379

Soil Biology & Biochemistry

www.elsevier.com/locate/SBIB

## Saprotrophic fungi transform organic phosphorus from spruce needle litter

Ondřej Koukol<sup>a,\*</sup>, František Novák<sup>b</sup>, Richard Hrabal<sup>c</sup>, Miroslav Vesátka<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Department of Mycorrhizal Symbiosis, Institute of Botany AS CR, Trávníček 252 41, Czech Republic

<sup>b</sup>Institute of Soil Biology AS CR, CZ 370 03 České Budějovice, Czech Republic

<sup>c</sup>Institute of Chemical Technology, Prague 6, CZ 166 28, Czech Republic

Received 14 February 2006; revised in revised form 3 May 2006; accepted 10 May 2006

Available online 27 June 2006

# Výživa - halogeny

- v přírodě **2600 organických látek** s atomem **halogenu** (nejčastěji chlór)
- $\text{CH}_3\text{Cl}$  nejběžnějším plynným halogenderivátem v atmosféře
- přirozená produkce 5 mil. tun ročně (2,5 mil. z dekompozice pektinu a ligninu)
- známo asi **70 druhů hub** produkujících cca **200 typů halogenderivátů**  
= hlavně saprotrofní bazidiomycety
  - x *Mollisia* sp. (Helotiales) – molekula s více atomy Cl než C



# Výživa - halogeny

## K čemu je houby potřebují?

- donor metylové skupiny

= klíčová role při **rozkladu ligninu** (syntéza veratryl alkoholu, produkce  $H_2O_2$ )

- látky s **antibiotickým, cytotoxickým** a dalším **alelopatickým** účinkem

např. ochratoxin A (*Aspergillus niger*) s Cl je silnější než ochratoxin B

- strobilurin, oudemansin u *Strobilurus* a *Oudemansiella*

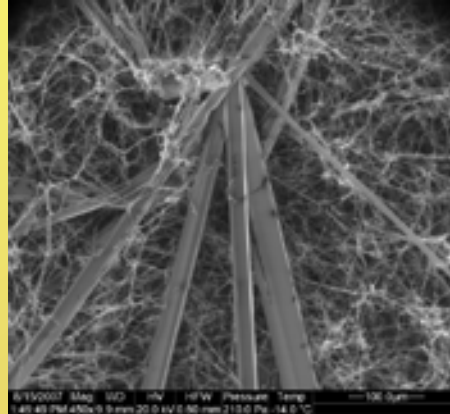
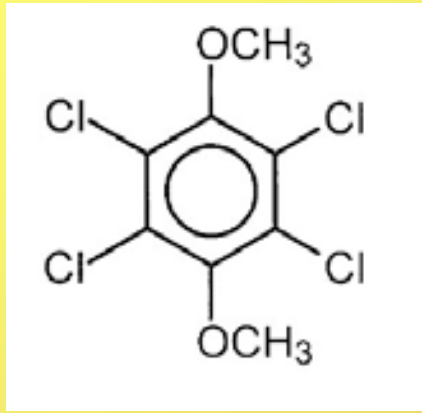
- rozklad chloraromátů (DDT, Orange Agent, ...)



# Výživa - halogeny

*Marasmius androsaceus*

- v čisté kultuře produkuje **drosophilin A methyl ether**



<http://www.commanster.eu/commanster/Mushrooms/Agaric/SuAgaric/Marasmius.androsaceus.jpg>

# Krystaly

*Chalara microspora*

- žluté shluky krystalků
- **sulochrin**
- z literatury známy i cytochalasiny u *C. microspora*



NK258

- dosud neurčený druh z opadu *P. sylvestris*
- **asterriquinone**



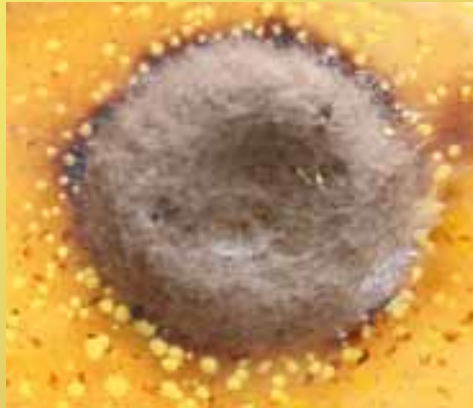
# Krystaly

BDJ (*Venturiaceae*)

- bílé jehlicovité krystaly
- **struvit**  $\text{NH}_4\text{MgPO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

NK251

- dosud neurčený druh z opadu *P. sylvestris*
- ?



NK183

- *Strasseria geniculata*
- bílé krystaly ve slizu obalujícím konidie
- **disacharid s acetylovanými kyslíky**

Ondřej Koukol

## Proč houby tvoří krystaly?

Netradiční otázka v názvu článku přímo vybízí k pochybám o překlepu nebo autorově omylu. Houby tvoří ledacos – od mikroskopického vegetativního mycelia přes okem viditelné specializované myceliální útvary až po plodnice, plodnicím podobné útvary a ložiska (u rzí). Kromě toho mohou na povrchu mycelia nebo plodnic vylučovat organické i anorganické sloučeniny, které za určitých podmínek krystalizují. To je skutečnost málo známá, ačkoli byla poprvé pozorována před více než 130 lety. V r. 1878 zaznamenal francouzský botanik a mykolog Philippe E. L. Van Tieghem drobné krystaly na myceliu spájkivých hub (*Zygomycota*) v kultuře. Autor se sice stanovení jejich chemického složení dále nevěnoval, hodnotný je ale i samotný popis tohoto jevu. V r. 1887 pozoroval německý mykolog Heinrich A. de Bary bílé krystaly štávelanu vápenatého na povrchu mycelia pečárky polní (*Agaricus campestris*). Tato dvě pozorování stála na počátku mnoha studií, které odhalily fenomén, jenž ukazuje mimo jiné šíří spektra metabolitů produkovaných houbami.



# Zdroje živin – jak je studovat?

- relativně specifické **barevné reakce na myceliu**  
= specifické substráty pro enzymy, barevné změny  
(...-azure, oxidační reakce)  
**x pouze semikvantitativní**



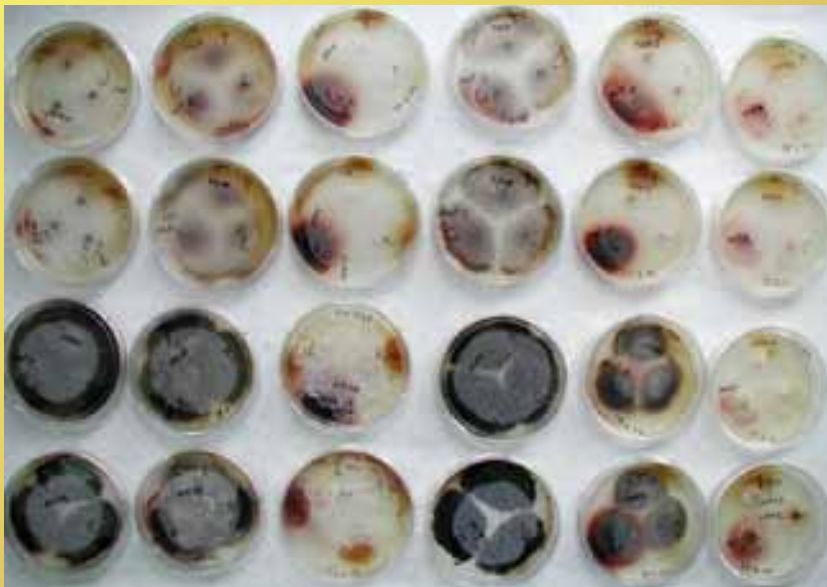
Fig. 1 Keratin azure test tubes following 14 days incubation. Left, *Aspergillus niger* (ATCC 9842) showing negative reaction; right, *Monosporium canis* (Gamma-Dynacore Medical Laboratories GDM1 9718b) showing positive reaction induced by azure dye when into basal medium.

Medical Mycology June 2004, 42, 239–246

Taylor & Francis  
healthsciences

## Determination of keratin degradation by fungi using keratin azure

J. A. SCOTT\* & W. A. UNTEREINER‡



Mycol. Res. 102 (3): 67–72 (1998) Printed in the United Kingdom

67

## Spot tests for oxidative enzymes in ectomycorrhizal, wood-, and litter decaying fungi

G. GRAMSS, TH. GÜNTHER AND W. FRITSCHÉ

Institute of Microbiology, Friedrich-Schiller-University of Jena, Philosophenweg 12, D-07743 Jena, Germany

# Zdroje živin – jak je studovat?

- **fluorescenčně značené substráty** 4-methylumbelliferon (MUF) a 7-amido-4-methylkumarin (AMC)

= specifické substráty pro enzymy, barevné změny

- lze stanovit kvantitativně na fluoresc. readeru





# Zdroje živin – jak je studovat?

- fluorescenčně značené substráty 4-methylumbelliferon (MUF) a 7-amido-4-methylkumarin (AMC)

= specifické substráty pro enzymy, barevné změny

- lze stanovit kvantitativně na fluoresc. readeru

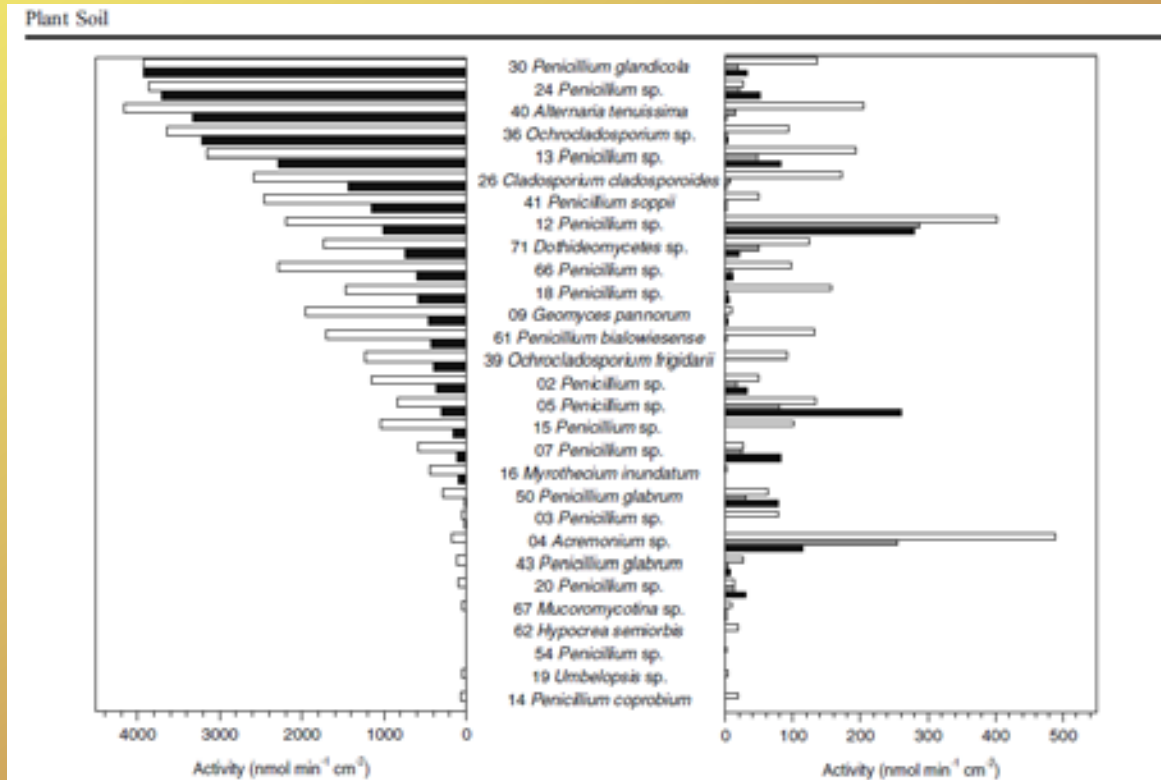


Fig. 1 Activity of cellulolytic and chitinolytic enzymes of fungal isolates in 7-day-old mycelia on MEA medium. Left panel: activity of  $\beta$ -glucosidase (open bars) and cellobiohydrolase (black bars); right panel: activity of N-acetylglucosaminidase

(open bars), chitinobiosidase (gray bars), and endochitinase (black bars). These data represent the means of three replicates. Standard errors (less than 30%) were omitted for clarity

# Zdroje živin – jak je studovat?

Enzym	<i>Sympodiella acicola</i>	<i>Fusicladium cordae</i>	<i>Desmazierella acicola</i>	<i>Slimacomyces monosporus</i>	<i>Strasseria geniculata</i>	<i>Chalara recta</i>
<i><math>\alpha</math>-glucosidase</i>	0,0	0,0	162,1	0,0	31,8	0,0
<i>cellobiohydrolase</i>	0,4	0,0	9012,0	1,0	26,6	0,0
<i><math>\beta</math>-glucosidase</i>	155,6	0,0	6899,9	177,0	602,2	4,7
<i>chitinase</i>	17,2	0,0	7857,7	0,0	17,4	0,0
<i>acid phosphatase</i>	0,0	16,5	1100,5	0,0	19,5	66,9
<i>phosphodiesterase</i>	0,0	0,0	27,0	0,0	54,8	0,0
<i>arylsulfatase</i>	0,0	0,0	401,3	0,0	4,4	0,0
<i><math>\beta</math>-xylosidase</i>	0,0	0,0	1866,9	0,0	130,6	0,0



# Zdroje živin – jak je studovat?

## - BIOLOG

= specifické substráty pro zdroje (C, N, ...), intenzita růstu mycelia  
 - vyhodnocování kvalitativně i kvantitativně

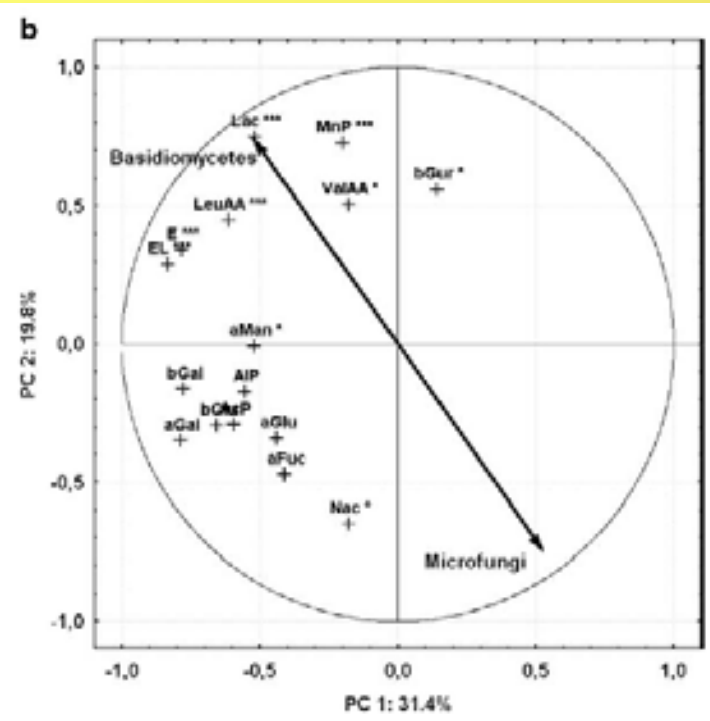
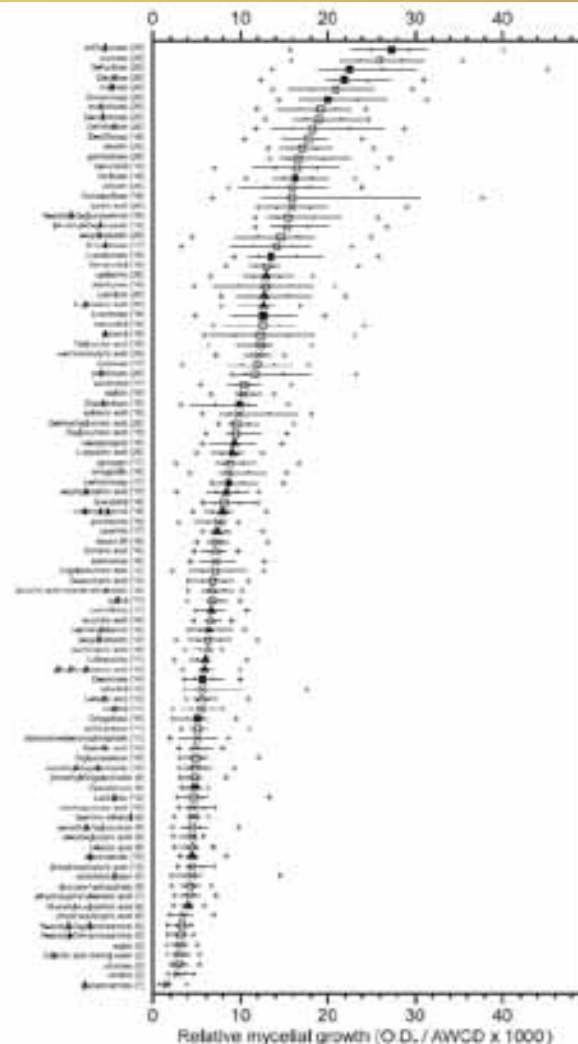


Fig. 2 Carbon source utilization by fungal isolates based on absorbance data (turbidity) at 750 nm following incubation of the BIOLOG FF Microplates at 23°C for 72 h. Turbidity data measure mycelial growth, indicative of substrate utilization. The data are based on the mean absorbance after growth on individual carbon substrates relative to average well color development (AWCD). Symbols are represented by large symbols that indicate substrate type (All squares: monosaccharides; open squares: oligosaccharides or saccharide derivatives; All triangles: amino-acids or derivatives; open triangles: simple organic acids; o-symbols: other compounds). Interquartile ranges are represented by horizontal lines and  $Q_{10}$  and  $Q_{90}$  by small crosses. Number in parentheses for each substrate indicate how many strains ( $n=20$ ) were able to grow significantly on the substrate; absorbance increase at least 1.2-fold higher than that in water.



# Výživa – kovy

## Fe

- přenos Fe nejčastěji pomocí **siderophorů** (v nadbytku pasivně difúzí)  
(vypuštěn ven z buňky → naváže kovový iont → přenašečem dovnitř)

## Cu, Mn, Mo, Zn, Ni

- esenciální stopové kovové prvky
  - Mn**-dependentní peroxidáza
  - Cu** v lakáze
- většina toxická ve vyšších koncentracích (hlavně Cu)
- kovy jsou absorbovány na buněčnou stěnu, navzájem se vytlačují (valence, Mr)

Neesenciální těžké kovy: **Cr, Cd, Pb, Hg**

# „Výživa“ – kovy

## Měď

- nutná ve stopovém množství (koenzym), ale toxická ve vyšších koncentracích
- $\text{CuSO}_4 + \text{Ca}(\text{OH})_2$  prvním **fungicidem**



**Pierre Alexis Millardet** (1838-1902)  
- francouzský mykolog



<http://botany.upol.cz/atlas/system/nazvy/plasmopara-viticola.html>

# Výživa – kovy

**Au, Ag,**

- **akumulace** z prostředí, koncentrace až 1000 násobná
- „těžba“ ekonomicky nevýhodná (na 1g zlata cca tuna sušiny)

**Au**

- nejvíce v žampiónech a pýchavkách

**Ag**

- nejvíce u mochomůrka  
(na 1g stříbra „pouze“ několik kg sušiny)



**Český rozhlas 31. 10. 2009 - Meteor**

<http://www.rozhlas.cz/default/default/rnp-player.php?id=01025226&br=128&s=1>

# „Výživa“ – těžké kovy

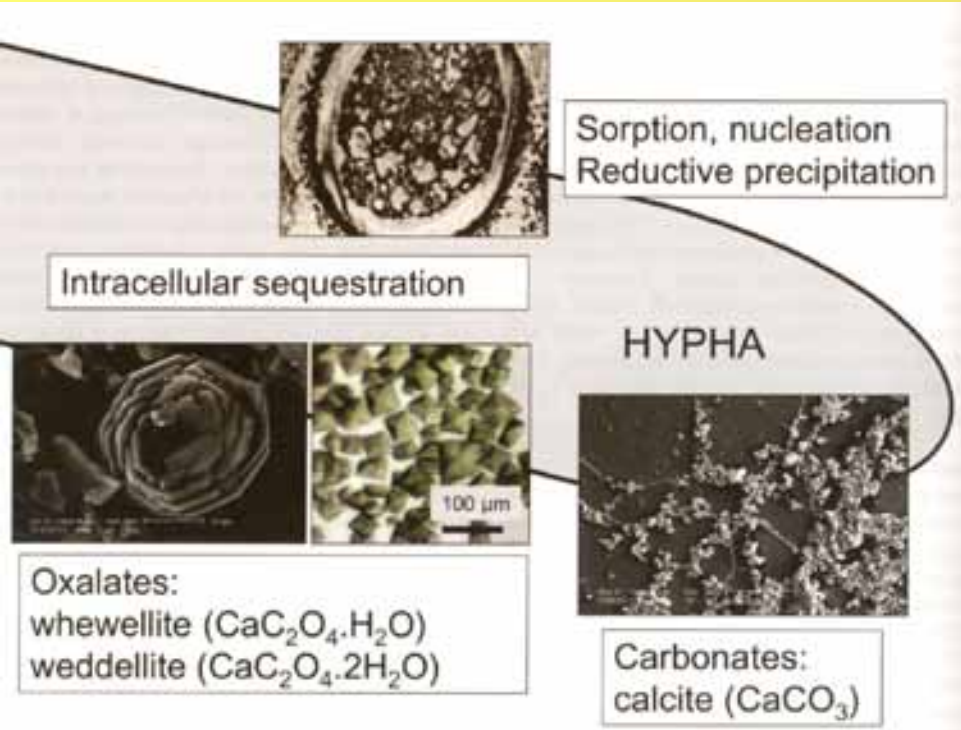
## Akumulace těžkých kovů Cd, Hg, Pb, Al

- často transport přenašečem na jiný prvek (Cd+Ca, Cu+Ca, Sr+Ca)
- nejjednodušejí příjem z tekutého prostředí (srážky, půda, experimenty v roztoku)
- negativní vliv na enzymy, fruktifikaci, propustnost membrán, ...
  
- každý druh akumuluje něco jiného (preference vůči kovu)
  
- snaha vyvarovat se příjmu:
  - 1) **vysrážení kovů v okolí** mycelia kys. šťavelovou (šťavelany kovu)
  - 2) **absorpce melaniny** (rhizomorfy akumulují až 100x vyšší konc. kovu než v okolní půdě, brání to pak rozkladu a lytic. enzymům)
  
- snaha vyvarovat se účinku uvnitř mycelia:  
**fytochelatiny a metalothioneiny** (peptidy)

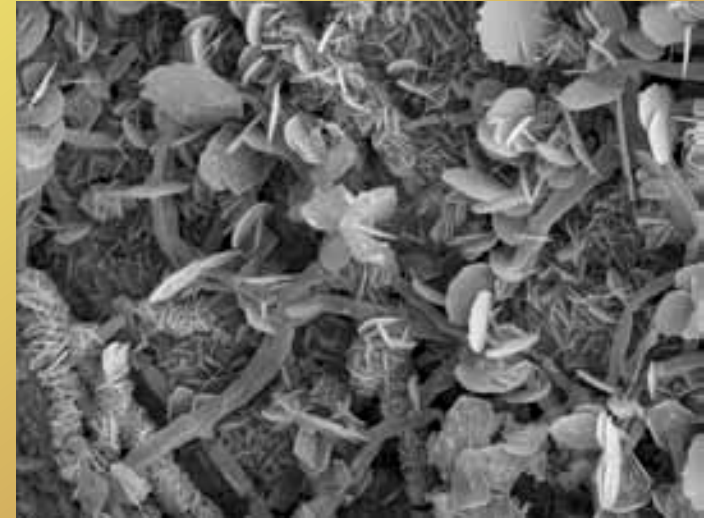


# „Výživa“ – těžké kovy

## 1) vysrážení kovů v okolí mycelia kys. šťavelovou (šťavelany kovu)



Gadd (2004)



## 2) absorpce melaniny na povrchu

- rhizomorfy akumulují až 100x vyšší konc. kovu než v okolní půdě
- brání to rozkladu lytickými enzymy, před napadením mykofágními organizmy

*Armillaria* spp.





# „Výživa“ – těžké kovy

## **Mykorhizní houby a těžké kovy**

- kmeny AM hub se adaptují na těžké kovy

x mimo kontaminovanou půdu ztrácejí své schopnosti (růst, tvorba symbiózy)

- za vysokých koncentrací mohou AM houby **snižovat** obsah Cd v listech

x za nižších konc. naopak **akumulují** v rostlině

- ECM a ErM houby váží těžké kovy na povrch mycelia a tím je imobilizují a brání jejich vstupu do rostliny

- mykorhizní houby zásobeny C od rostliny = investice energie do detoxifikace

- stále se zkoumá, často protichůdné výsledky, potenciál v **biotechnologiích**

# „Výživa“ – radioaktivita

## Radioaktivní izotopy

- lišejníky, plodnice bazidiomycetů akumulují přirozeně se vyskytující radioaktivní prvky
- $^{137}\text{Cs}$  po atomových pokusech v 70. a 80. letech

## Ochuzený uran

- $^{238}\text{U}$  v protitankových střelách
- po válce v Iráku a na Balkáně



[http://en.wikipedia.org/wiki/Atomic\\_bomb](http://en.wikipedia.org/wiki/Atomic_bomb)



# „Výživa“ – radioaktivita

**BBC NEWS**

## Fungi to fight 'toxic war zones'

Fungi could help clean up toxic war zones, scientists at a Scottish university have discovered.

Dundee University researchers have found evidence that fungi can “lock” depleted uranium into a mineral form.

This would make it more difficult for the heavy metal - used in armour-piercing shells - to find its way into plants, animals or the water supply.

The fungal-produced minerals are capable of long-term uranium retention, the scientists say.

Prof Geoffrey Gadd, from the university's College of Life Sciences, said: “This work provides yet another example of the incredible properties of micro-organisms in effecting transformations of metals and minerals in the natural environment.

*Fomina & Gadd (2008)*

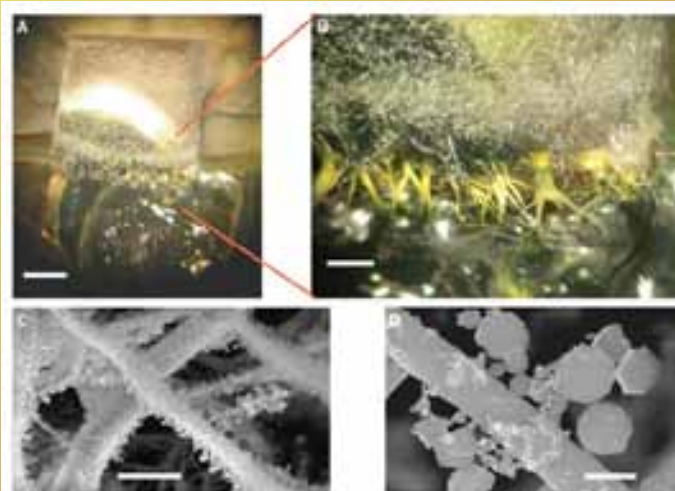


Figure 1. DU colonization and transformation by *Hymeroscyphus ericae*. (A,B) Interactors of cord-like aggregated hyphae with black DU decomposition products. (C,D) Cryo-scanning electron microscopy (SEM) images of fungal mycelium taken from an area of the colony furthest away from the DU coupon, showing encrustation of hyphae with tabular uranium precipitates associated with phosphorus. Scale bars are (A) 2 mm, (B) 500 μm, (C) 20 μm, (D) 1 μm.

**Current Biology Vol 18 No 9 R376**

## Role of fungi in the biogeochemical fate of depleted uranium

Marina Fomina<sup>1</sup>, John M. Charnock<sup>2</sup>, Stephen Hillier<sup>3</sup>, Rebeca Alvarez<sup>4</sup>, Francis Livens<sup>4</sup> and Geoffrey M. Gadd<sup>1,\*</sup>

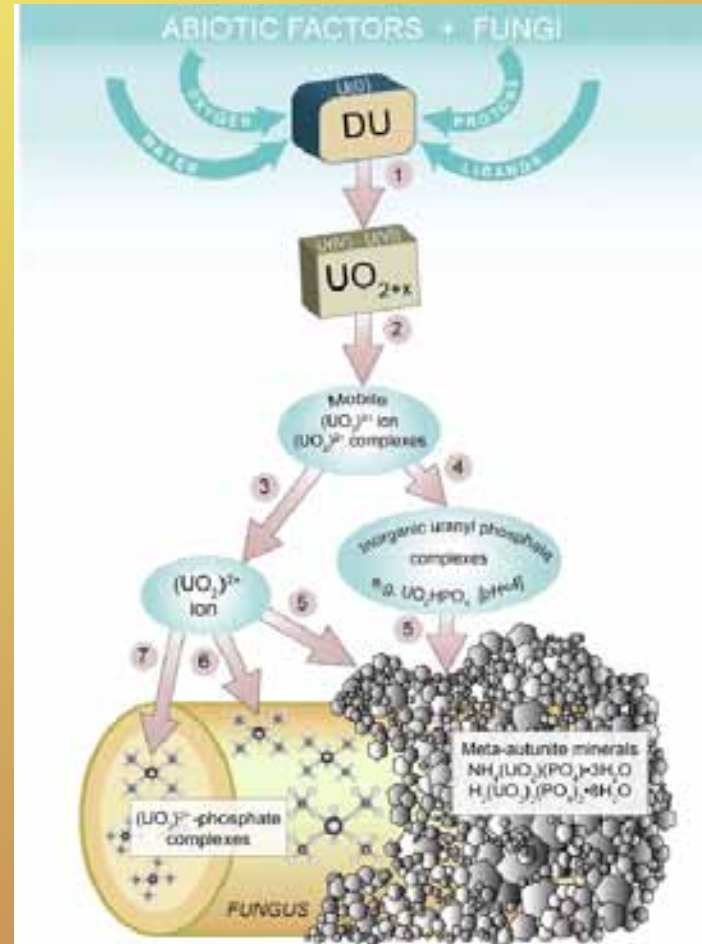


Figure 2. Proposed model of DU transformations by fungi. (1) Oxidation of thermodynamically unstable DU in a corrosive aerobic environment which includes oxygen, water and fungi growing as hydrophilic biofilms and excreting protons and ligands. Black to yellow mixtures of uranium oxides ( $UO_{2-x}$ ) are formed. (2) Uranium mobilization and leaching from DU and uranium oxides as uranyl ions or mobile uranyl complexes with fungal-derived ligands. (3) Uranyl ion ( $UO_2^{2+}$ ) is the most biologically available form of uranium which can be readily accumulated by biological systems. (4) Inorganic uranyl phosphate complexes are readily formed with available phosphate ligands, including those released from organic sources by the activity of fungal acid phosphatases. (5) Fungal accumulation of inorganic uranyl phosphate complexes leads to extensive biomineralization with crystalline meta-autunite minerals uranophane ( $NH_4(UO_2)_2(PO_4)_2 \cdot 3H_2O$ ) and/or chernikovite ( $H_2(UO_2)_2(PO_4)_2 \cdot 8H_2O$ ) with hyphal surfaces serving as nucleation centres. (6) Extracellular and (7) possible intracellular uranyl uptake by fungi may also lead to the formation of organic complexes with fungal ligands (phosphate, carboxylates), with a clear prevalence of uranyl coordination to phosphate.

# „Výživa“ – izotopy

- odlišný příjem  $\delta^{15}\text{N}$  a  $\delta^{13}\text{C}$  různými houbami (ECM vs. saprotrofní)
- = různý tok a fixace v rostlinách
- odlišný obsah v rostlinách mykorrhizních, nemykorrhizních a v půdě (saprotrofní)

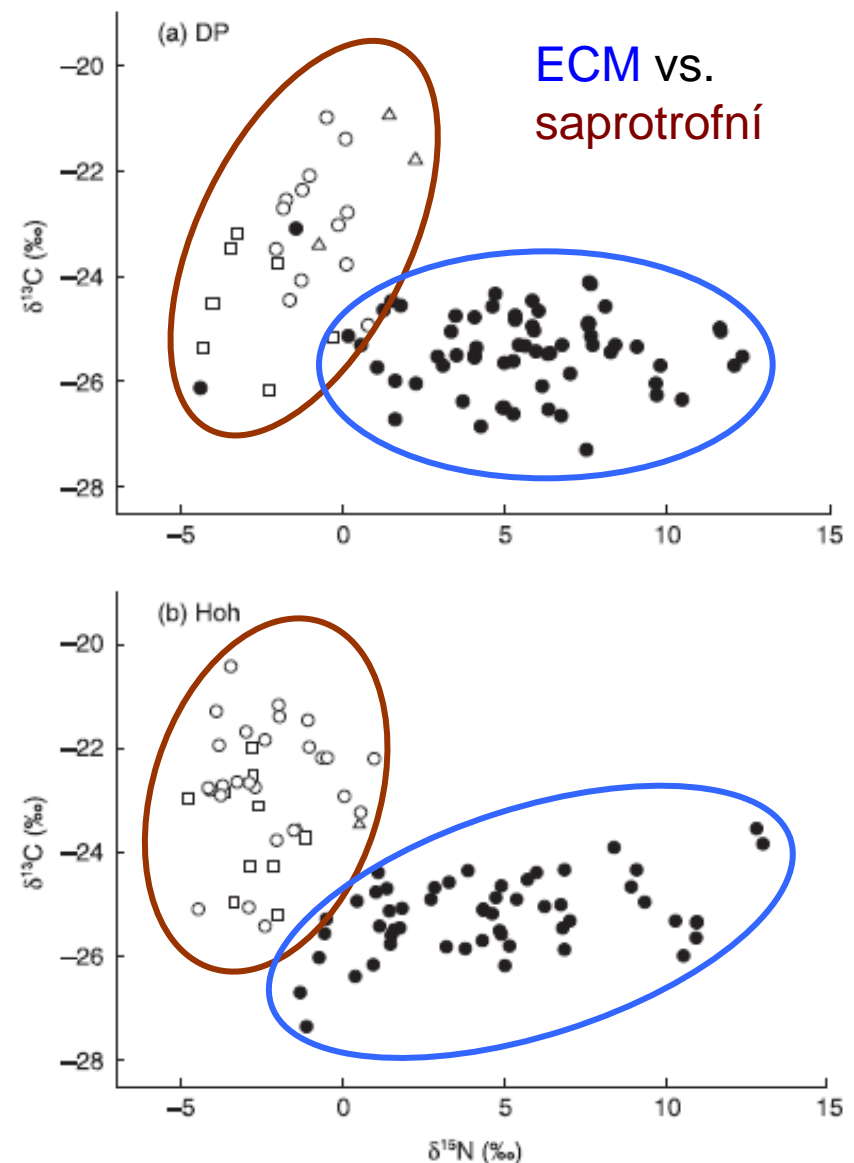
## Species level patterns in $^{13}\text{C}$ and $^{15}\text{N}$ abundance of ectomycorrhizal and saprotrophic fungal sporocarps

Andy E. S. Taylor<sup>1</sup>, Petra M. Fransson<sup>1</sup>, Peter Högborg<sup>2</sup>, Mona N. Högborg<sup>2</sup> and Agneta H. Plamböck<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Forest Mycology and Pathology, Swedish University of Agricultural Sciences, PO Box 7026, SE-750 07 Uppsala, Sweden; <sup>2</sup>Section of Soil Science, Department of Forest Ecology, Swedish University of Agricultural Sciences, S-901 83 Umeå, Sweden; <sup>3</sup>Center for Stable Isotope Biogeochemistry, Department of Integrative Biology, University of California, Berkeley, CA 94720, USA.

© *New Phytologist* (2003) 159: 757–774 www.newphytologist.com

Trudell & al. (2004)

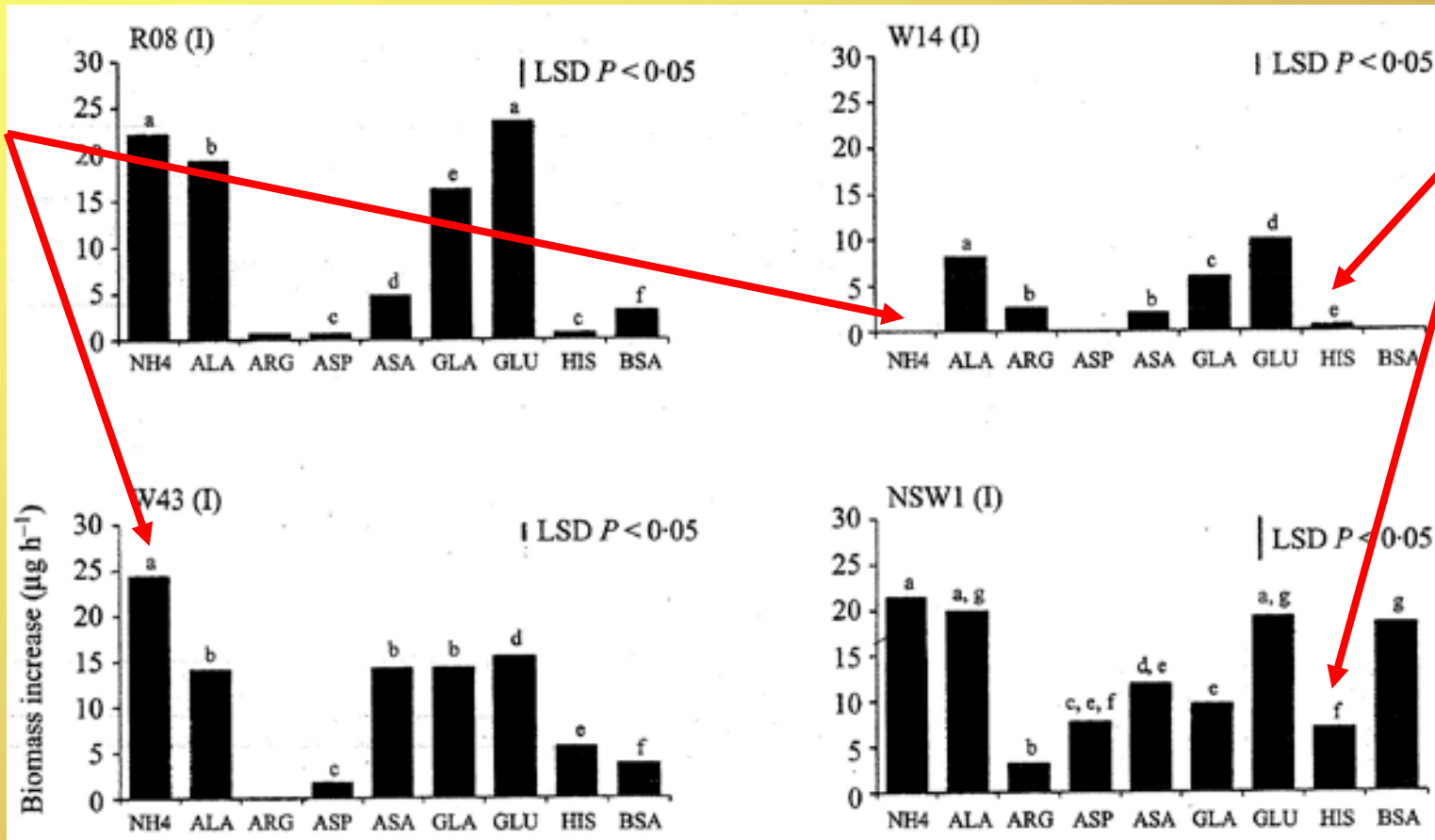


**Fig. 1** Nitrogen and carbon stable isotope values for sporocarps of ectomycorrhizal and saprotrophic macrofungi collected at (a) lower Deer Park Road (DP) and (b) Hoh River Valley (Hoh), Olympic National Park, Washington, USA. Data points represent species means. Filled circles, ectomycorrhizal fungi; open triangles, saprotrophic fungi on soil ('humus'); open squares, saprotrophic fungi on plant litter; open circles, saprotrophic fungi on wood.

# Využití substrátu, kombinace faktorů, ...

Faktory se kombinují.

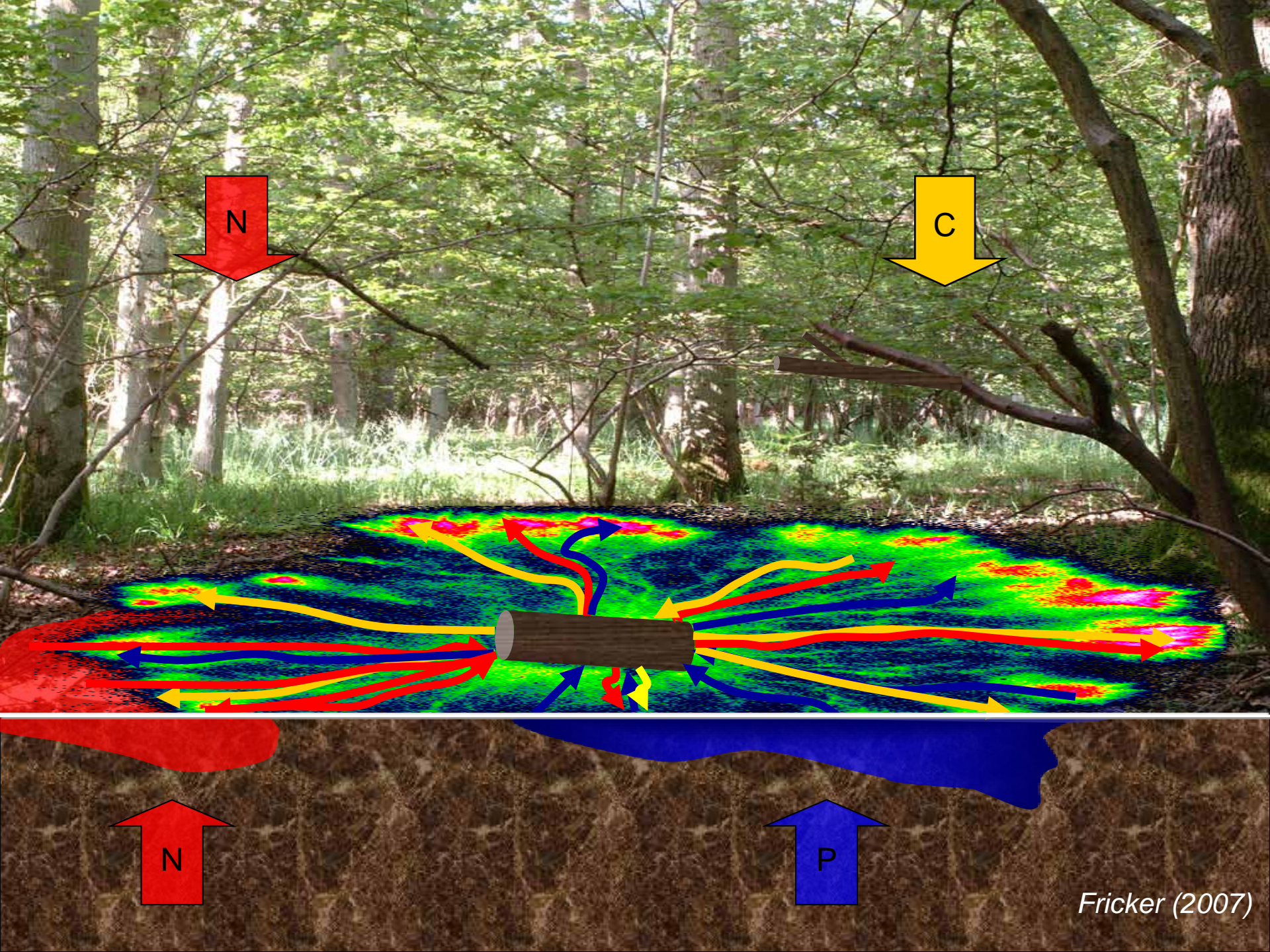
Tolerance, optimum, maxima jsou odlišná pro různé kmeny jednoho druhu!  
např. rozdílná odolnost vůči těžkým kovům, využití zdrojů, ...



růst různých izolátů ECM houby *Pisolithus* sp. na různých zdrojích N

# Transport v myceliu





Fricker (2007)

# Transport v myceliu



$\mu\text{m}$



mm



cm



dm



m



km?

*Fricker (2007)*



# Transport v myceliu

## ***Co, kam a proč?***

- **trehalóza** směrem ke špičce hyfy, generuje **turgor**, umožňuje růst hyfy i při nízké dostupnosti vody
- transport N (P) u **dřevokazných hub** z místa kde je ho dostatek/nadbytek ke dřevu, kde je ho málo
- u hub **rozkládajících opad** transport z hlubších horizontů s **nižším C:N** do vrchních vrstev s **vyšším C:N**

Baz.: myceliální provazce, rhizomorfy, rychlejší, větší vzdálenosti

## ***P i N pro mycelium životně důležité a často limitní***

= mycelium houby se samo P ani N dobrovolně nevzdá

= **translokace, recyklace, kompetice**

# Transport v myceliu

Nejčastěji tzv. ***hromadný tok*** (*bulk flow*) myceliem

- poháněn **transpirací** vzdušného mycelia (substrátové nasává vodu, méně časté)

- častěji **hydrostatickým tlakem** generovaným při příjmu živin

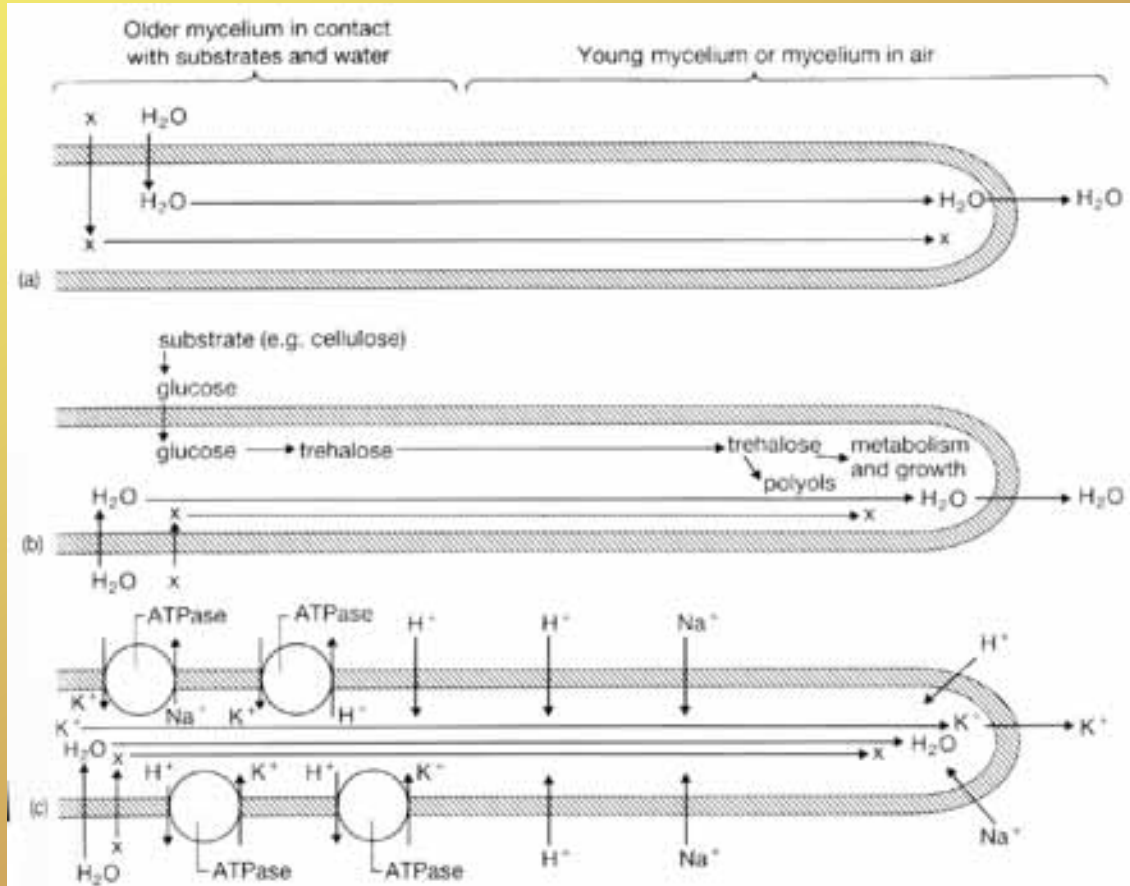
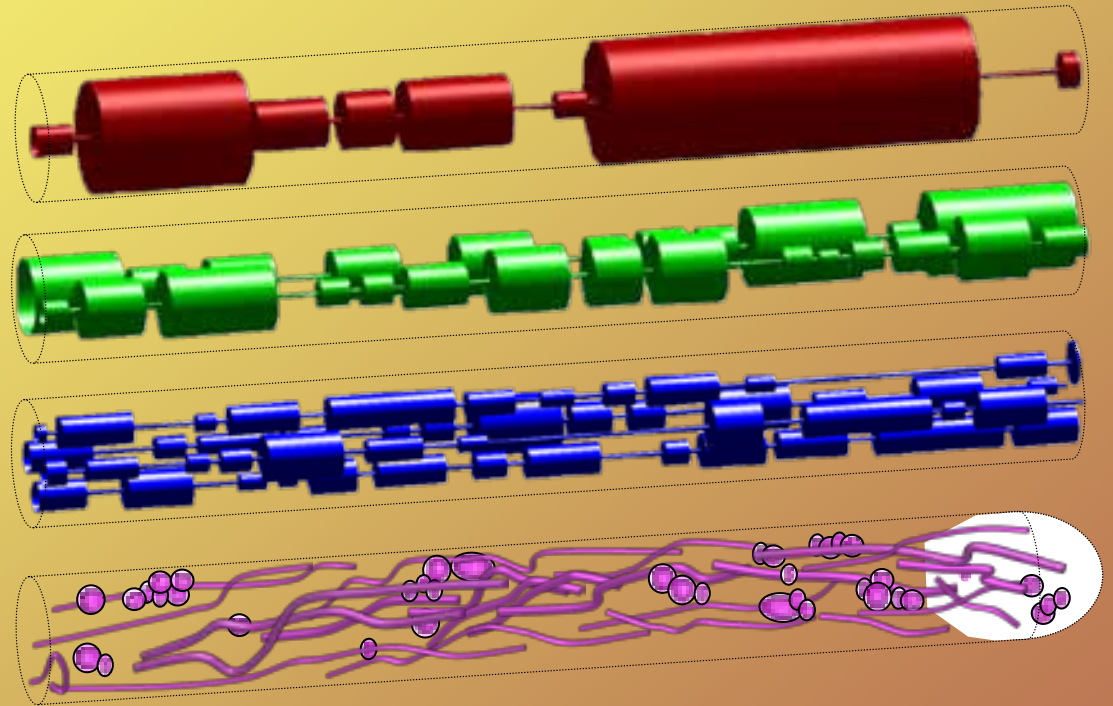
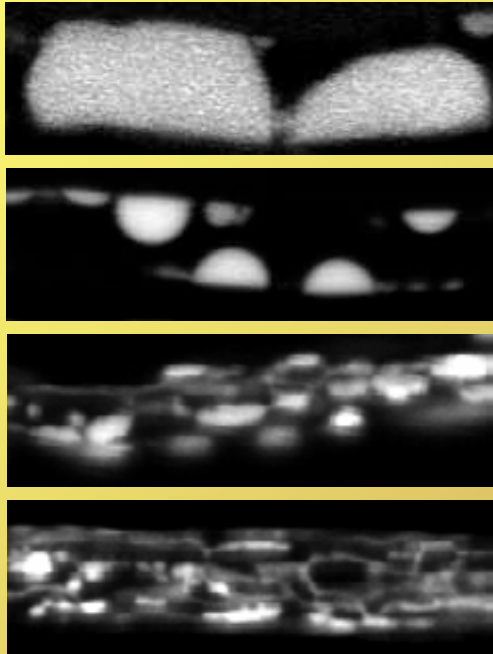


Fig. 2.11 Possible mechanisms for translocation of a nutrient (x) along a hypha. [a] Driven by evaporation of water. [b] Driven by a hydrostatic pressure source–sink system. Both systems involve bulk flow of solution. [c] Driven by a concentration gradient of K<sup>+</sup> created by ATPase activity present only in older parts of the mycelium. In all three cases water enters the hypha and moves along the water potential gradient accompanied by the nutrient in solution [from Jennings, 1979, 1984a; Lysek, 1984, © Cambridge University Press].

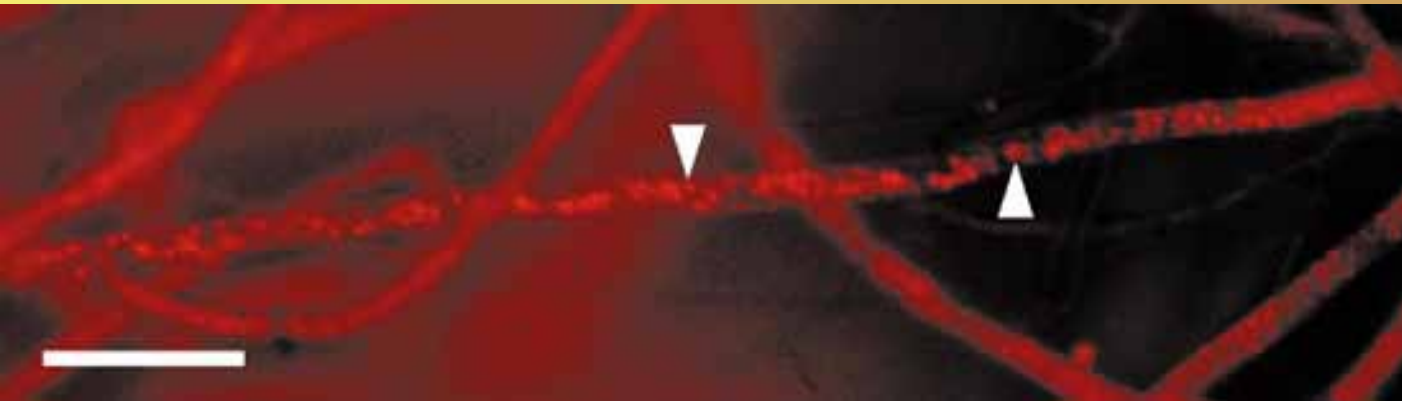
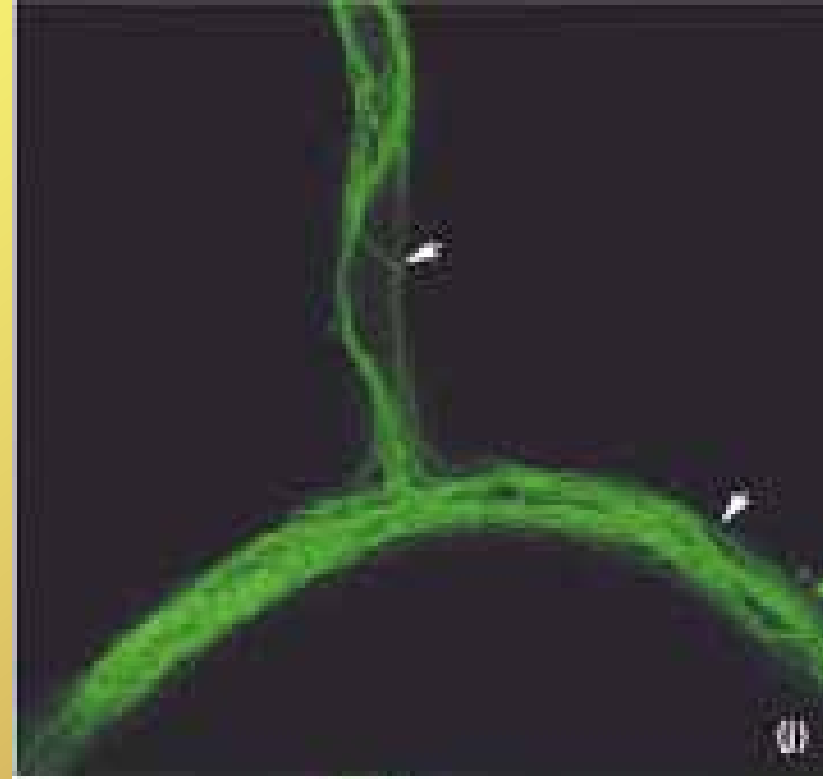
# Transport v myceliu

- rozdílné typy vakuol slouží k transportu uvnitř mycelia



# Transport fosforu

***Extensive tubular vacuoles***  
*Uetake & al. (2002)*

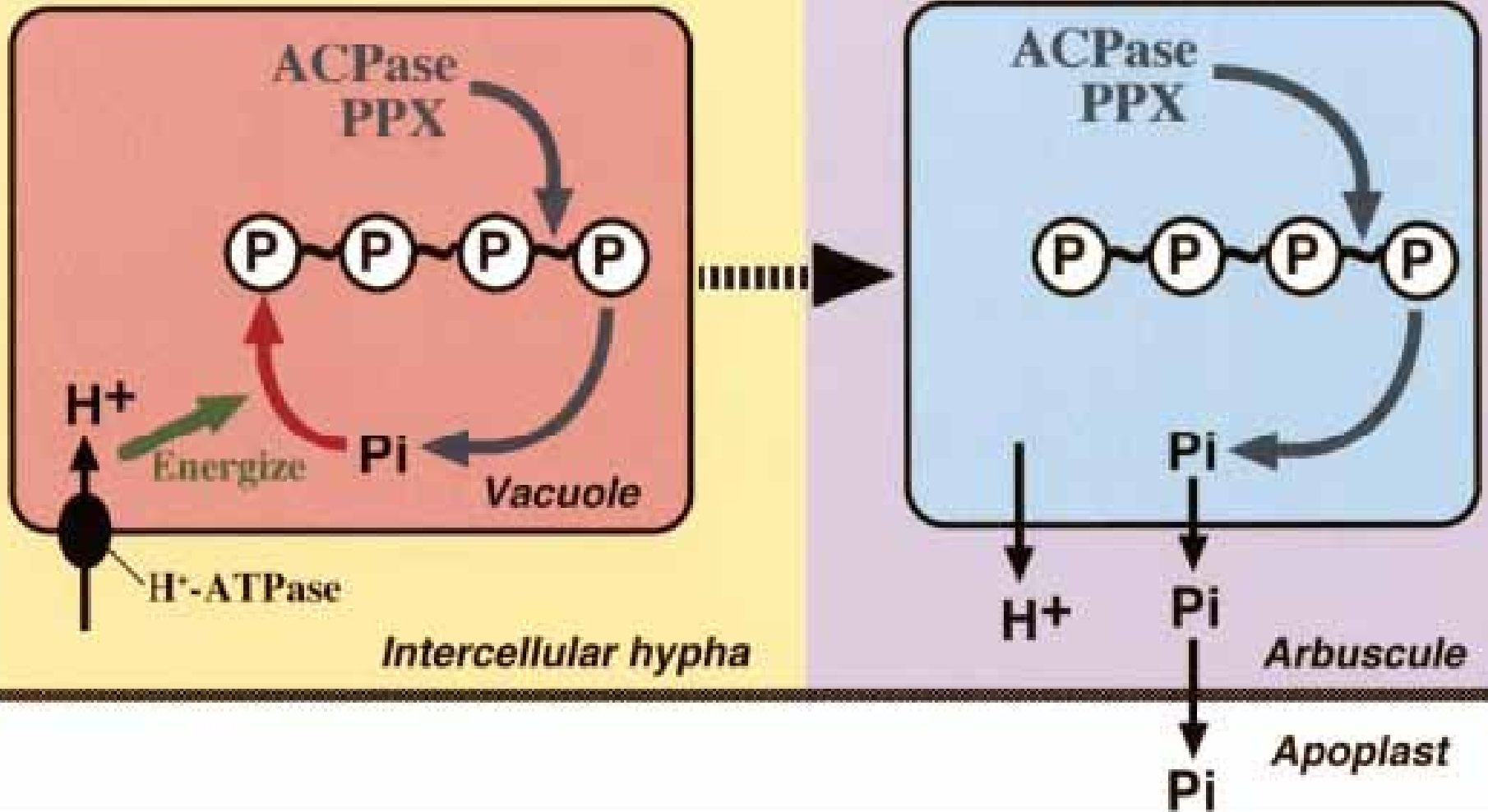


***Fluorescent vacuoles of Glomus coronatum. Arrow heads indicate vacuoles.***

*Ezawa & al. (2001)*

# Transport fosforu

*Model of polyphosphate metabolism in the intraradical hyphae of AM*



# Transport fosforu

- transport P mezi substrátem přes ECM mycelium až do hostitelské rostliny + zisk P při kompetici mezi houbami

*New Phytol.* (1999), **144**, 183–193

---

Translocation of  $^{32}\text{P}$  between interacting mycelia of a wood-decomposing fungus and ectomycorrhizal fungi in microcosm systems

---

BJÖRN LINDAHL<sup>1</sup>\*, JAN STENLID<sup>1</sup>, STEFAN OLSSON<sup>2</sup> AND ROGER FINLAY<sup>1</sup>

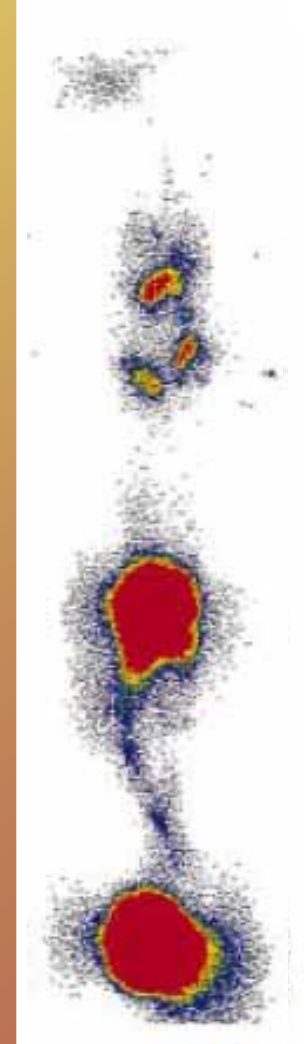
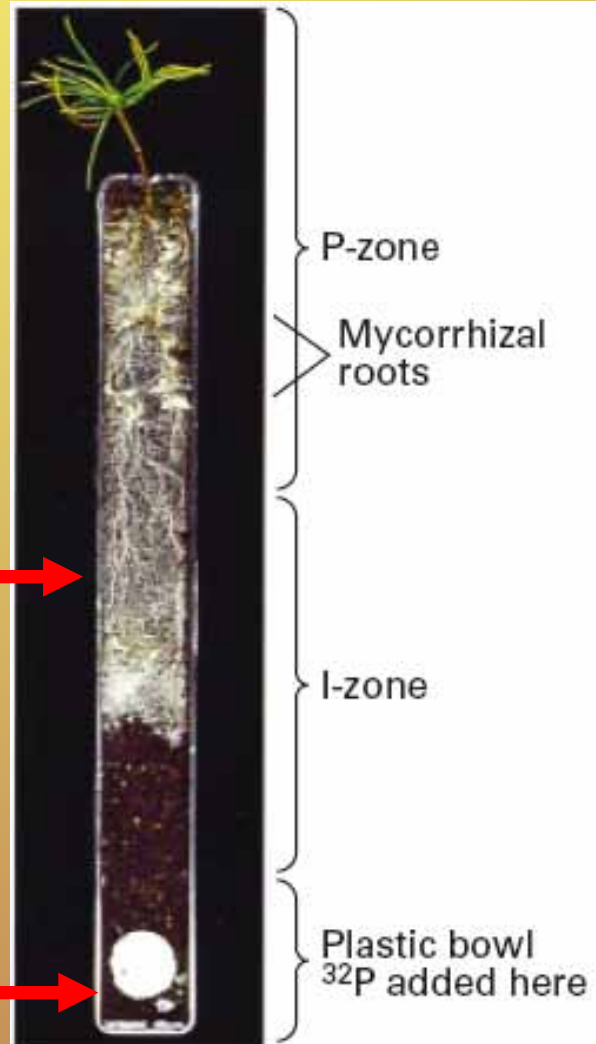
<sup>1</sup> Department of Forest Mycology and Pathology, SLU, Box 7026, S-750 07 Uppsala, Sweden

<sup>2</sup> Department of Ecology and Molecular Biology, KVL, Thorvaldsensvej 40, 1871 Fredriksberg C, Denmark

*Suillus variegatus* →

- sledování transportu  $^{32}\text{P}$

*Hypholoma fasciculare* →



# Transport fosforu

*New Phytol.* (1999), **144**, 183–192

Translocation of  $^{32}\text{P}$  between interacting mycelia of a wood-decomposing fungus and ectomycorrhizal fungi in microcosm systems

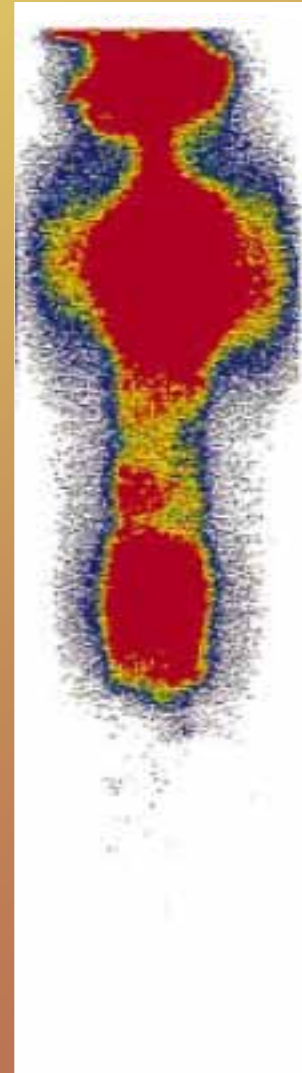
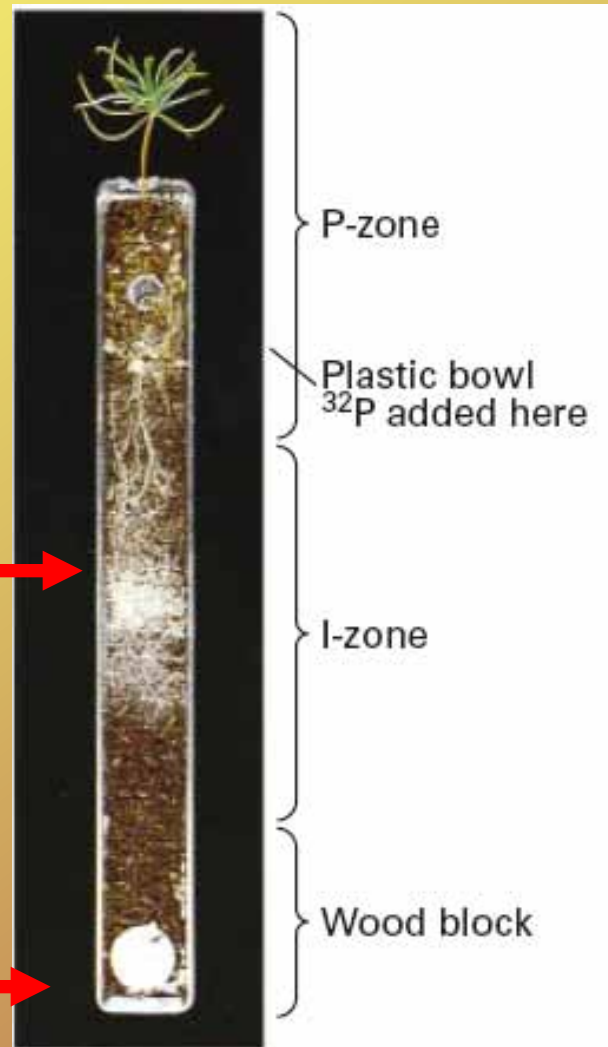
BJÖRN LINDAHL<sup>1</sup>\*, JAN STENLID<sup>1</sup>, STEFAN OLSSON<sup>2</sup> AND ROGER FINLAY<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Forest Mycology and Pathology, SLU, Box 7026, S-750 07 Uppsala, Sweden

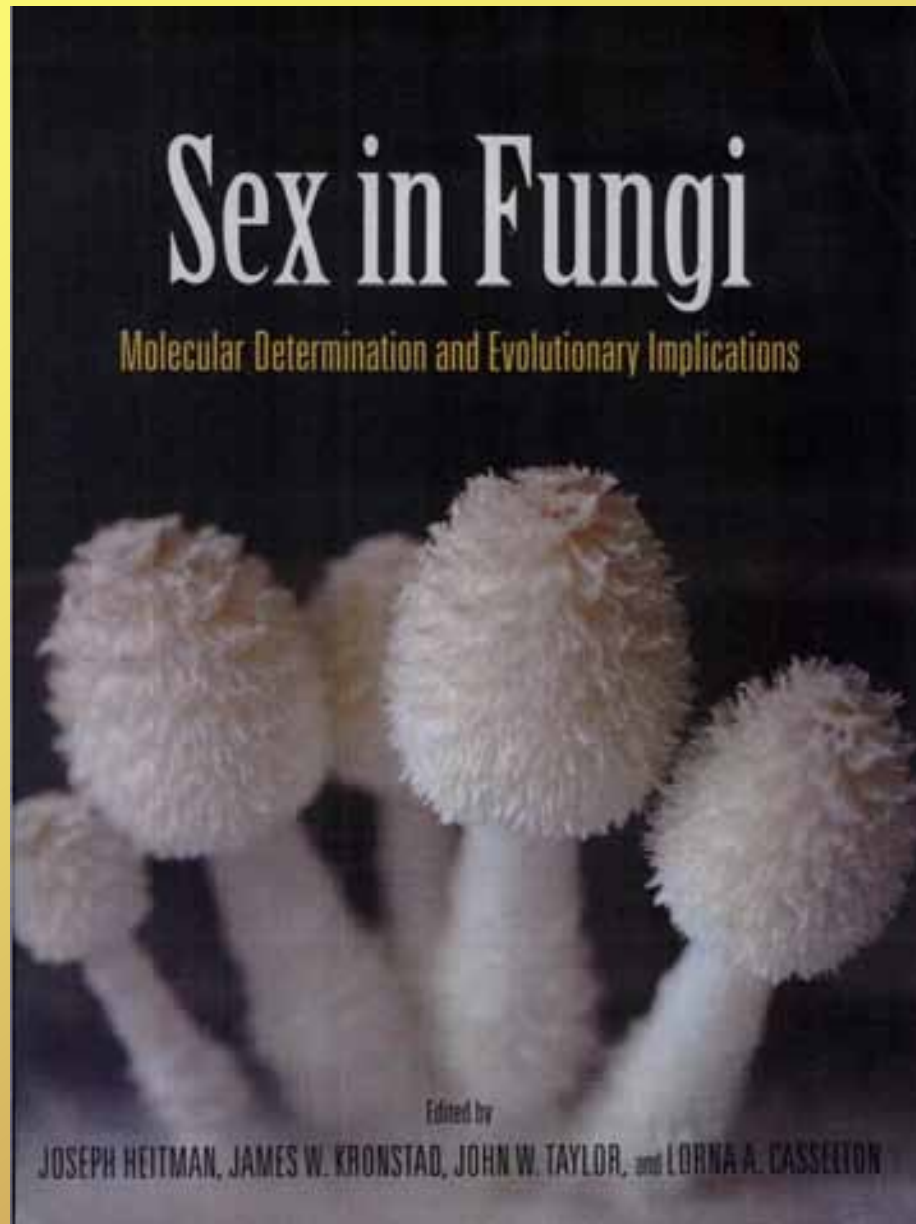
<sup>2</sup> Department of Ecology and Molecular Biology, KVL, Thorvaldsensvej 40, 1871 Fredriksberg C, Denmark

*Suillus variegatus* →

→ *Hypholoma fasciculare*



# Pohlavní rozmnožování, fruktifikace





# Fruktifikace

## Regulace a vliv řady faktorů

- homothalizmus/heterothalizmus
- párovací typy
- feromony
- podmínky prostředí

## Homothalické druhy

= sex. proces u geneticky identických hyf

## Heterothalické druhy

= nutnost geneticky odlišných hyf, odlišné **párovací typy**

# Párovací typy

- kompatibilita alel 1-více genů **MAT** (*mating type*), dalších 200 - 400 genů pomocných
- musí se setkat pouze ta mycelia, která mají **odlišnou** kombinaci alel

## **Bipolární**

- pouze jeden gen, ale mnoho alel (askomycety)

## **Tetrapolární**

- dva geny, mohou nabývat mnoha typů alel (bazidiomycety)

Mating among the haploid progeny from the fruiting body of a Basidiomycete with tetrapolar incompatibility. The basidium nuclei have the mating genotype  $A_1A_2, B_1B_2$ . Meiosis gives rise to haploid progeny with four possible mating type genotypes –  $A_1B_1, A_1B_2, A_2B_1, A_2B_2$ . Mating is only completed successfully if encounters are between mycelia that differ with respect to both mating type factors. The chequerboard shows that only 25% of the possible encounters satisfy this condition. The inbreeding potential is thus 25%.

	$A_1B_1$	$A_1B_2$	$A_2B_1$	$A_2B_2$
$A_1B_1$	-	-	-	+
$A_1B_2$	-	-	+	-
$A_2B_1$	-	+	-	-
$A_2B_2$	+	-	-	-

# Feromony

Studovány převážně u oomycetů, chytridiomycetů a zygomycetů

Oo: *Achlya ambisexualis* – samičí mycelium vylučuje hormon **antheridiol** (steroid), který indukuje tvorbu anteridiálních větví a jejich růst směrem k oogoniu; antheridia produkují hormon **oogoniol** stimulující oogonia k produkci oospor

Ch: *Allomyces* – samčí zoospory jsou přitahovány k samičím zoosporám feromonem **L-sirenin** (sesquiterpendiol)

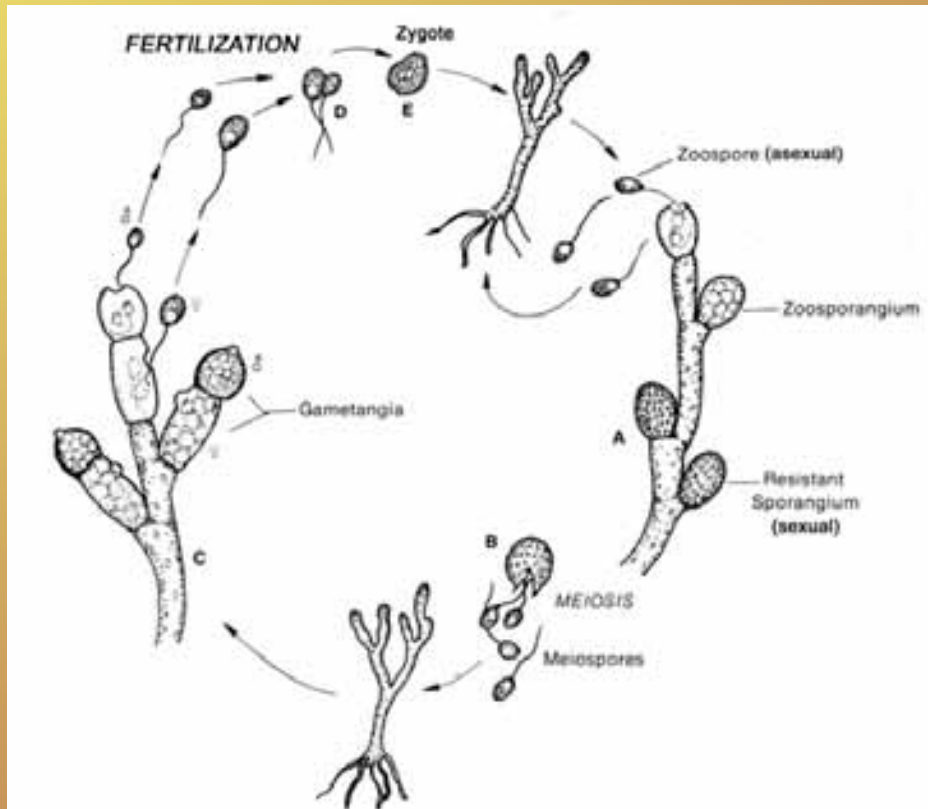
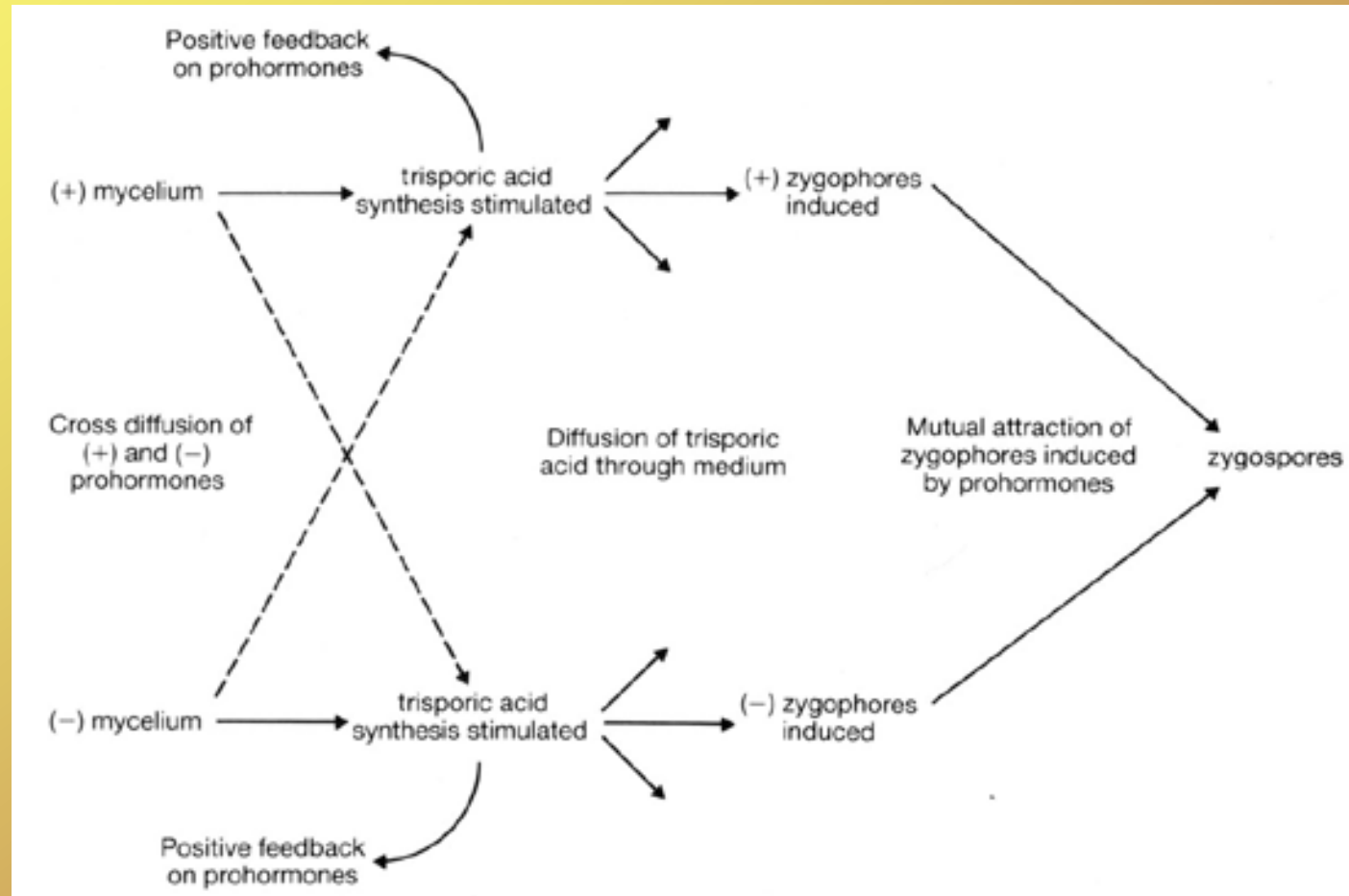


Figure 11-3 Life history of *Allomyces*. A, Sporophyte plants with mitosporangia and meiosporangia (resistant sporangia). B, meiosporangium producing meiospores. C, Gametophyte plant. D, Syngamy. E, Zygote (Modified from Emerson, R. An Experimental Study of the Life Cycles and Taxonomy of *Allomyces*. *Lloydia* 4:77-144, 1941).

# Ferromony

Z: *Blakeslea trispora*, *Mucor mucedo*, *Phycomyces blakesleanus* – vyměňují si prekurzory („prohormone“) kys. trisporové a spouští kaskádu reakcí vedoucích k tvorbě gametangií a jejich splnutí



Cooke & Whipps (1993)

Fig. 5.2 Sequence of events during zygospore development in heterothallic Mucorales.

# Feromony

A: *Ascobolus stercorarius*, *Nectria haematococca*, *Neurospora crassa*  
– trichogyn má směřovaný růst k antheridiu

B: obdobné mechanismy pro růst hyf, splývání a dikaryotizaci

EUKARYOTIC CELL, June 2010, p. 847–859  
1535-9778/10/\$12.00 doi:10.1128/EC.00319-09

Vol. 9, No. 6

Copyright © 2010, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

## Basidiomycete Mating Type Genes and Pheromone Signaling<sup>¶</sup>

Marjatta Raudaskoski<sup>1</sup> and Erika Kothe<sup>2\*</sup>

*Department of Biochemistry and Food Chemistry, Plant Physiology and Molecular Biology, University of Turku, FI-20014 Turku, Finland,<sup>1</sup> and Institute of Microbiology, Friedrich Schiller University, D-07743 Jena, Germany<sup>2</sup>*

# Fruktifikace a sporulace

Signály pro spuštění fruktifikaci obdobné jako pro jiné procesy (myceliální provazce, sklerocia, ...)

- vyčerpání živin (C, N, P)
- změna poměru C:N
- některé sek. metabolity mohou být hormony
- + specifické požadavky

Obdobné pro **sporulaci**

Table 5.2 Examples of nutrients required for reproduction.

Nutrients	Species	References
<i>Organic</i>		
Arginine	<i>Sordaria macrospora</i>	Bahn & Hock, 1973
Aspartate and phenylalanine	<i>Mucor miehei</i> , at 50°C but not at 35°C	Mehrotra & Mehrotra, 1980
Phosphoglycerate	<i>Chaetomium globosum</i>	Buston & Khan, 1956
Phospholipids	<i>Phytophthora cactorum</i>	Ko, 1985
Sterols	Some Peronosporales	Elliott, 1977
Vitamins: (biotin and thiamin)	<i>Aspergillus nidulans</i> , only in microaerobic conditions	Adler <i>et al.</i> , 1981
	<i>Chaetomium convolutum</i>	Lilly & Barnett, 1949
	<i>Ophiostoma</i> spp.	Turian, 1978
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , aerobic and anaerobic conditions	Adler <i>et al.</i> , 1981
	<i>Sordaria fimicola</i>	Barnett & Lilly, 1947
	<i>Sordaria macrospora</i>	Hock <i>et al.</i> , 1978
<i>Inorganic</i>		
B	<i>Sordaria</i> spp.	Turian, 1955
Ca <sup>2+</sup>	<i>Achlya</i> , <i>Lagenidium</i> , <i>Phytophthora</i> and <i>Pythium</i> spp.	Elliott, 1986; Kerwin & Washino, 1986
	<i>Chaetomium globosum</i>	Turian, 1978
	<i>Penicillium notatum</i>	Pitt & Mosley, 1985
	<i>Phytophthora parasitica</i> , required with NO <sub>3</sub> but not with L-asparagine as N source	Elliott, 1989
	<i>Rhodosporidium toruloides</i>	Miyakawa <i>et al.</i> , 1986
Mn <sup>2+</sup>	<i>Aspergillus nidulans</i>	Zonneveld, 1975
NH <sup>4+</sup> or glycine	<i>Trichoderma viride</i> , essential to light-induced rhythmic sporulation	Ellison <i>et al.</i> , 1981
Zn <sup>2+</sup>	<i>Neurospora</i> spp.	Turian, 1955

# Podmínky prostředí

**CO<sub>2</sub>** – vysoká koncentrace inhibuje fruktifikaci u bazidiomycetů  
x může indukovat fruktifikaci a sporulaci u askomycetů

**Vlhkost** – příliš vysoká vlhkost způsobuje deformaci plodnic (*Polyporus brumalis*), sucho může být signálem k nastartování fruktifikace (vysoušení > stres > sekundární metabolismus > fruktifikace)

**Voda a vlhkost** – řada druhů nedokáže sporulovat v submerzní kultuře (někt. *Penicillium*)  
x pro chytridiomycety, oomycety je potřeba zavodnění na zoospory

**Teplota** – obvykle nižší než růstové optimum, může měnit typ konidiogeneze (makro- vs. mikrokonidie) i konidiogeneze vs. pohl. rozmn.

**Požár** – fruktifikace ektomykorhizních askomycetů  
*co to znamená?*

***Wilcoxina sp.***

<http://web.unbc.ca/forestry/Hugues/Images/>



# Fruktifikace a sporulace

## Vliv viditelného záření, UV, střídání světelné a temnostní fáze.

**Table 5.3** Examples of irradiance wavelengths stimulatory to reproduction [from Tan, 1978, © Edward Arnold].

Ultraviolet (200–320 nm)	Near ultraviolet and blue (330–500 nm)	Yellow/red/far-red (550–675 nm)
<b>Conidiation</b> <i>Alternaria chrysanthemi</i> <i>Helminthosporium oryzae</i> <i>Stemphylium botryosum</i> <i>Pyricularia oryzae</i> <i>Botrytis cinerea</i>	<b>Sporangium initiation</b> <i>Phycomyces blakesleeana</i>  <b>Conidiation</b> <i>Aspergillus ornatu</i> <i>Penicillium isartiforme</i> <i>Trichoderma viride</i>	<b>Ascospore formation</b> <i>Saccharomyces carlsbergensis</i> <i>Leptosphaeria avenaria</i>
<b>Pycnidium formation</b> <i>Ascochyta pisi</i> <i>Septoria nodorum</i>	<b>Circadian rhythm of conidiation</b> <i>Neurospora crassa</i>	
<b>Perithecium formation</b> <i>Pleospora herbarum</i> <i>Leptosphaerulina trifolii</i>	<b>Coremium formation</b> <i>Penicillium claviforme</i>	
<b>Ascospore formation</b> <i>Leptosphaerulina</i> spp.	<b>Perithecium formation</b> <i>Gaeumannomyces graminis</i> <i>Nectria haematococca</i>	
	<b>Ascospore formation</b> <i>Saccharomyces carlsbergensis</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	
	<b>Fruitbody initiation</b> <i>Favolus arcularius</i> <i>Schizophyllum commune</i> <i>Sphaerobolus stellatus</i>	
	<b>Sclerotium initiation</b> <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> <i>Sclerotium rolfsii</i>	

Cooke & Whipps (1993)



# Chorie

**Chorie s. l. – rozšiřování semen, plodů, spor, propagulí, ...**

– typy stejné jako u rostlin

**Anemochorie** – rozšiřování větrem (většina typů spor)

**Hydrochorie** – tekoucí vodou (vodní askomycety) vodními kapkami při dešti  
(rostlinní parazité, některé Gasteromycety)

**Zoochorie** – rozšiřování činností živočichů na povrchu (srst savců, chloupky a výběžky bezobratlých) nebo uvnitř  
(spory koprofilních hub v trávicím traktu), často symbiotické vazby

**Autochorie** – samotným přičiněním (*Pilobolus*),  
zoospory



# Dormance

- není dána nepříznivými podmínkami k vyklíčení, tj. stres.
- **vnitřní faktory** (inhibitory enzymů), brání předčasnému klíčení, následně vyprchají nebo difundují do roztoku
- absence **vnějšího stimulu**
- jiná stavba mitochondrií, neaktivní enzymy, není energetický metabolismus

## Zásobní látky

- lipidy, trehalóza (zároveň i chrání před vysycháním, zmrznutím, enzymy)

## Vnější ochrana

- melanin, sporopolenin (*Neurospora*, *Mucor mucedo*, *Phycomyces*), slizový obal (ochrana proti požeru, UV, vyschnutí)

## Mykostáze

- efekt nesterilní půdy na spory hub, zabraňuje klíčení, ale nesnižuje životaschopnost - někdy může být výhodné (vyčerpání živin + produkce inhibičních látek)
- za snížené teploty a vlhkosti v lab. podmínkách vydrží spory i desítky let (*Schizophyllum commune* 52 let, *Hemitrichia clavata* 75 let!!)

# Vliv faktorů na klíčení spor

## **Životaschopnost vs. Klíčivost**

- schopnost vyklíčit v přírodě v neomezeném čase a za přispění všech stimulů okolí vs. to, co potřebujeme stanovit nějakým metodickým postupem

## **Iniciace klíčení**

- je specifická druhově a může zahrnovat **kombinaci** stimulů
- voda, roztok cukrů, aminokyselin (kořenové exudáty), přítomnost mycelia stejného druhu (Agaricales), kontakt s pevným objektem (vodní hyfomycety), delší pokles či nárůst teplot, přemrznutí, proběhnutí teplé/chladné periody u psychrofilních druhů, průchod zažívacím traktem u koprofilních druhů, teplo z požáru, ...
- **co je pro jeden druh stimulem, může být pro jiný inhibítorem**
- načasování z hlediska denní doby - letální pro klíčící hyfu je např. UV záření (rostl. patogeni musí vyklíčit v noci, nebo pokud je zataženo)

# Klíčení

## Tropismy klíčící hyfy:

### pozitivní / negativní autotropizmus

(bazidiomycety – anastomózy / vícebuněčné konidie)

**pozitivní aerotropizmus** (směrem ke vzduchu, kyslíku)

**pozitivní chemotropizmus** (parazité ke kořenům, dřevní ke dřevu)

**negativní fototropizmus** (*Botrytis cinerea* při parazitování, některé rzi)

**tigmotropizmus** (*Puccinia hordei*, rostou

tak, aby co nejdřív k průduchu, podobně zde působí i orientace směrem ke zdroji výparu vodní páry v místě průduchu)

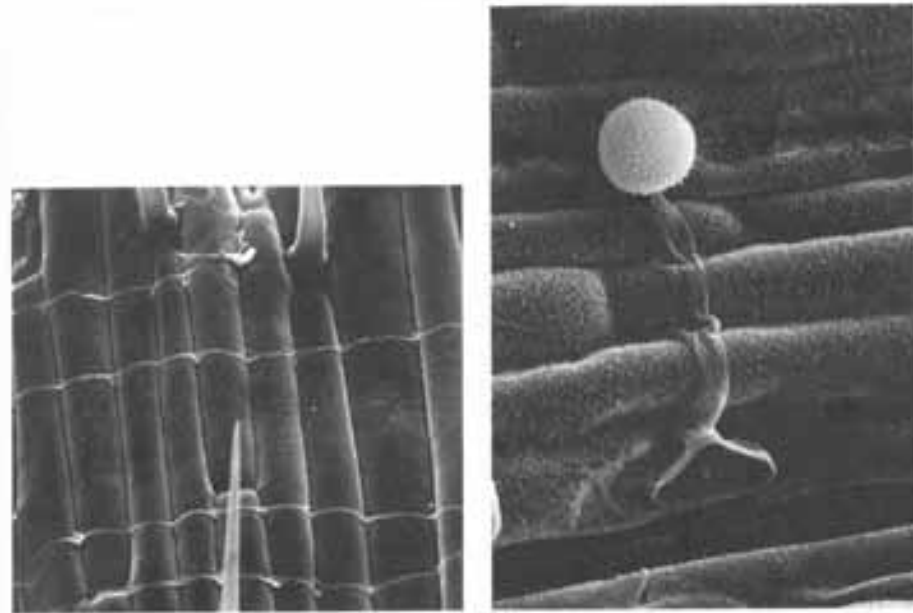


Fig. 9.2 Directional growth of uredinospore germ tubes. (a) *Puccinia graminis tritici*, four germ tubes growing across a wheat leaf at right angles to the long axis of the leaf [from Lewis & Day, 1972, © British Mycological Society], (b) *Puccinia sorghii*, uredinospore on a maize leaf with the germ tube extending at right angles to the long axis of the epidermal cells. A terminal appressorium has formed over a stoma [photograph by W.K. Wynn, by courtesy of V.A. Wilmot].