

Arbuskulární mykorrhiza v kořenech

Pomůcky: Kořeny mykotrofních rostlin (kukuřice, jetel, mochna, různé druhy trav, ...), čajové sítko, voda z kohoutku, kuchyňský ocet zředěný na 5% roztok kyseliny octové, voda, 10% KOH, kyselina mléčná, inkoust (modrý nebo), pinzety, nůžky, kádinky, Erlenmayerova baňka (100 – 200 ml), krycí a podložní sklíčka, kapátko.

Postup: Kořeny jemně operte pod tekoucí vodou v čajovém sítku, aby nebyly poškozeny jemné kořínky a přitom byly zbaveny všech půdních částic. Jemné kořeny nastříhejte na úseky 2-3 cm dlouhé a povařte po dobu 3-5 min. v 10% KOH, aby byly zbaveny pigmentů. Po převaření slijte kořeny opět přes čajové sítko a promyjte pod vodou, aby byly zbavené všeho KOH. Kořeny povařte po dobu 3 min. v 5% roztoku inkoustu ve zředěném octu. Přebytné barvivo z kořenů vymyjte proplachováním pod tekoucí vodou, nebo třepáním ve vodě s několika kapkami octa v Erlenmayerově baňce, dokud nejsou kořeny opět odbarveny (barvivo by mělo zůstat zachyceno pouze na myceliu), cca 20 min. Kořeny vložte do kapky kyseliny mléčné, přiklopte krycím sklíčkem a pozorujte v mikroskopu.

Úkol 1:

Schematicky zakreslete kořenové buňky a houbové struktury a přiřaďte k nim tyto termíny – arbuskul, vezikul (nemusí být vždy přítomny), vnitrokořenové mycelium a mimokořenové mycelium.

Doplňující otázky:

Charakteristickou strukturou arbuskulární mykorrhizní symbiózy jsou arbuskule. K čemu je tato struktura určena a jak je k této funkci uzpůsobena?

Dochází u kořenů kolonizovaných arbuskulárně mykorrhizní houbou k nějakým morfologickým změnám oproti nekolonizovaným kořenům? Jak se odlišuje morfologie kořene kolonizovaného ektomykorrhizní houbou od nekolonizovaného?

Které látky získává rostlina od houby a které jí na oplátku poskytuje?

Můžeme najít arbuskulárně mykorrhizní houby i volně rostoucí v půdě bez hostitelské rostliny? A proč?

Arbuskulární mykorrhiza v kořenech

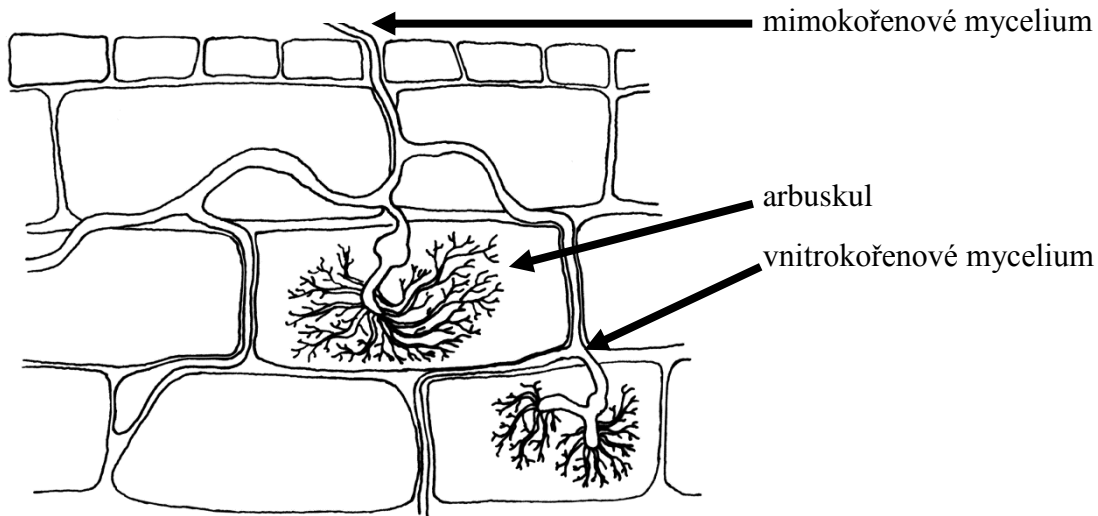
Níže uvedený postup je převzatý z práce: Vierheilig, H., Coughlan, A. P., Wyss, U., & Piché, Y. (1998). Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi. Applied and environmental microbiology, 64(12), 5004-5007 a je určen primárně pro rozvojové státy a běžnou výuku vzhledem k tomu, že příprava nezahrnuje toxické látky. V běžné výzkumné praxi se totiž barvení kořenů provádí trypanovou modří, což je toxická a potenciálně karcinogenní látka. Pokud budete pracovat s takto obarvenými kořeny získanými z některého z vědeckých pracovišť, je nutné připravovat studentům preparáty a po pozorování je i umýt v rukavicích; studenti by se neměli dostat do kontaktu s trypanovou modří. Podobně by měl učitel také centrálně vařit kořeny (např. v kádince, nebo jiné nádobě nad plynovým kahanem), aby studenti nepracovali s otevřeným ohněm. Hodně závisí na výběru inkoustu a vyplatí se investovat do lahvičky dražšího inkoustu, viz doporučené značky.

Pomůcky: Kořeny mykotrofních rostlin (kukuřice, jetel, mochna, různé druhy trav, ...), čajové sítko, kuchyňský ocet zředěný na 5% roztok kyseliny octové, voda, 10% KOH, kyselina mléčná, inkoust (modrý nebo černý Pelikan, Schaefer, Cross), pinzety, nůžky, kádinky, Erlenmayerova baňka (100 – 200 ml), krycí a podložní sklička, kapátko.

Postup: Kořeny jemně operte pod tekoucí vodou v čajovém sítku, aby nebyly poškozeny jemné kořínky a přitom byly zbaveny všech půdních částic. Jemné kořeny nastříhejte na úseky 2-3 cm dlouhé a povařte po dobu 3-5 min. v 10% KOH. KOH zbaví kořeny pigmentů, aby bylo možné pozorovat obarvené houbové struktury. Po převaření slijte kořeny opět přes čajové sítko a promyjte pod vodou, aby byly zbavené všeho KOH. Kořeny povařte po dobu 3 min. v 5% roztoku inkoustu ve zředěném octu. Přebytné barvivo z kořenů vymyjte proplachováním pod tekoucí vodou, nebo třepáním ve vodě s několika kapkami octa v Erlenmayerově baňce, dokud nejsou kořeny opět odbarveny (barvivo by mělo zůstat zachyceno pouze na myceliu), cca 20 min. Kořeny vložte do kapky kyseliny mléčné, přiklopte krycím skličkem a pozorujte v mikroskopu.

Úkol 1:

Schematicky zakreslete kořenové buňky a houbové struktury a přiřaďte k nim tyto termíny – arbuskul, vezikul (nemusí být vždy přítomny), vnitrokořenové mycelium a mimokořenové mycelium.



Doplňující otázky:

Charakteristickou strukturou arbuskulární mykorhizní symbiózy jsou arbuskule. K čemu je tato struktura určena a jak je k této funkci uzpůsobena?

k výměně látek mezi houbou a rostlinou, opakované větvení výrazně zvětšuje povrch a zefektivňuje přenos látek.

Dochází u kořenů kolonizovaných arbuskulárně mykorhizní houbou k nějakým morfologickým změnám oproti nekolonizovaným kořenům? Jak se odlišuje morfologie kořene kolonizovaného ektomykorhizní houbou od nekolonizovaného?

arbuskulárně mykorhizní houby nemění morfologii kořene, zůstávají zachovány i kořenové vlásky; u ektomykorhizních kořenů dochází k jejich tupému zakončení, často dichotomického větvení a ztrátě kořenových vlásků; tvar a barva takto modifikovaných kořenů bývá charakteristická pro konkrétní druh dřeviny a symbiotické houby

Které látky získává rostlina od houby a které jí na oplátku poskytuje?

rostlina získává od houby především fosfor, dusík, zinek a další stopové prvky a zlepšuje příjem vody výměnou za asimiláty, tj. cukry

Můžeme najít arbuskulárně mykorhizní houby i volně rostoucí v půdě bez hostitelské rostliny? A proč?

nemůžeme, arbuskulárně mykorhizní houby jsou striktně závislé na své hostitelské rostlině, ztratily saprotrofní schopnosti a nejsou schopny samostatného růstu v půdě a saprotrofní výživy