

Využití SEM ve studiu rodu *Aspergillus*

ALENA KUBÁTOVÁ, VÍT HUBKA

Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Benátská 2, 128 01 Praha 2

kubatova@natur.cuni.cz, hubka@biomed.cas.cz

Skenovací elektronová mikroskopie (SEM, scanning electron microscopy) je tradičně využívána jako základní metoda studia mikroskopických houbových struktur již zhruba 50 let. Nejčastěji se používá pro vizualizaci povrchové struktury spor, stavby mikroskopických plodnic, ale např. i při studiu houbových interakcí, či růstu hub na různých substrátech.

Pro rod *Aspergillus* je tato technika velmi cenná a je využívána pro znázornění povrchové ornamentace konidií, askospor a konidioforů, ale i při studiu interakcí s jinými mikroorganismy, nebo mechanismů tvorby biofilmu.

Jemné houbové struktury však vyžadují poměrně zdlouhavou přípravu vzorků v závislosti na typu houby a částech její stélky. Tyto kroky, zahrnující především fixaci a vysušení vzorku, vedou často ke kolabování hyf a spor.

V uplynulých letech jsme v rámci studia rodu *Aspergillus* vyzkoušeli méně náročný způsob zpracování vzorků, kdy jsou vzorky (malé části mycelia) nalepeny na hliníkové disky a fixovány po dobu několika dní v chladu v parách OsO₄. Po odvětrání vzorků následuje již jen pokovení zlatem a pozorování v elektronovém mikroskopu. Odpadá tedy odvodnění (většinou prováděné ve vzestupné alkoholové řadě) a sušení metodou kritického bodu, tedy kroky, které mají vliv na destrukci vzorků.

Pokud jde o rod *Aspergillus*, zjistili jsme, že metoda fixace v parách OsO₄ je vhodná spíše pro rigidnější struktury, jako jsou např. askospory, případně konidie některých osmofilních druhů se silnější buněčnou stěnou (např. ze sekce *Aspergillus*). Konidie druhů, jejichž stěna je subtilnější (např. ze sekce *Candidi*), však vykazovaly deformace. Pro tuto skupinu a také pro pozorování celých konidioforů jsou zřejmě nejvhodnější metody využívající fixaci ve vodném roztoku OsO₄ nebo glutaraldehydu a zkrácené odvodnění v 2-methoxyethanolu (MOE) nebo 2,2-dimethoxypropanu (DMP).