

# 5. ČESKO-SLOVENSKÁ MYKOLOGICKÁ KONFERENCE BRNO 28.–30. 8. 2017 ABSTRAKTY POSTERŮ

## **Akumulace kovů, polokovů a chlóru v ektomykorhizách z oblasti postižené činností kovohutě**

JAN BOROVIČKA<sup>1,2\*</sup>, JAROSLAVA KUBROVÁ<sup>1</sup>, MILAN GRYNDLER<sup>3</sup>, IVA SYNKOVÁ<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ústav jaderné fyziky AV ČR, v.v.i., Hlavní 130, 250 68 Husinec-Řež

<sup>2</sup> Geologický ústav AV ČR, v.v.i., Rozvojová 269, 165 00 Praha 6

<sup>3</sup> Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i., Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4

\*bore.bor@email.cz

Ektomykorhizní houby přispívají k lepšímu růstu hostitelských dřevin na kontaminovaných stanovištích díky tomu, že snižují příjem toxických kovů do kořenů. O koncentracích kovů v mykorhizách je toho známo velmi málo. Přinášíme data o koncentracích Ag, As, Cd, Cl, Cu, Sb, V a Zn v ektomykorhizách smrku z Příbramska, oblasti kontaminované činností kovohutě, a tato data srovnáváme s jemnými nemykorhizními kořeny, půdami a půdními výluhy. Druhy hub tvořící ektomykorhizy byly identifikovány pomocí sekvenace DNA (ITS).

Nejvyšší akumulace byla zjištěna v případě Ag, Cl, Cd a Zn, přičemž nejvyšší schopnost akumulovat prvky v ektomykorhizách měl hřib hnědý (*Imleria badia*). V ektomykorhizách muchomůrky červené (*Amanita muscaria*) byly výrazně zvýšené koncentrace vanadu, což odpovídá tomu, co je u tohoto druhu známo z plodnic. Podíl mycelia v ektomykorhizách byl studován u hříbu hnědého a muchomůrky červené pomocí qRT-PCR se specifickými primery. U obou druhů byla hodnota mediánu přibližně 5 hmotnostních procent, zbytek tvořila rostlinná biomasa. To nám umožnilo semikvantifikovat koncentrace vybraných prvků v houbovém myceliu. U hříbu hnědého činily vypočtené koncentrace Ag, Cd, Zn a Cl přibližně 1 680, 1 510, 2 670 a 37 100 mg/kg v sušině. Tyto výsledky svědčí o vysoké kapacitě mycelia ektomykorhizních hub akumulovat kovy a o jejich aktivní roli v systému půda-houba-rostlina na kontaminovaných stanovištích.

## **Fakta a zajímavosti ze Sbírký kultur hub (CCF)**

IVANA BOROVIČKOVÁ\*, ADÉLA KOVAŘÍČKOVÁ, ALENA KUBÁTOVÁ

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

\*ivana.kelnarova@natur.cuni.cz

Sbírka kultur hub (CCF) funguje na katedře botaniky PřF UK v Praze již 52 let. Od počátku založení jí prošlo 5762 izolátů, z nichž je aktuálně uchováváno 4356. Většina kmenů je uložena ve formě lyofilizátů (84 %) a v živém stavu na agarových mediích (61 %). Doplňkově je také využíváno uchovávání pod minerálním olejem, v alginátových peletách a kryoprezervace při  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  a v tekutém dusíku. Na základě postupné digitalizace všech údajů o našich kmenech přinášíme komplexní pohled na sbírku a její vývoj v čase: které kmeny jsou nejstarší, jak se mění jejich morfologie s věkem, odkud pocházejí a z čeho byly izolovány. Vyhodnoceny byly údaje o tom, kdo u nás houby ukládá, kdo je využívá, a které druhy jsou nejvíce žádané. Diskutovány jsou také výhody a nevýhody metod uchovávání a jejich vhodnost pro různé druhy hub.

# 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 OsO<sub>4</sub>. 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 OsO<sub>4</sub> 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 OsO<sub>4</sub> nebo glutaraldehydu a zkrácené odvodnění v 2-methoxyethanolu (MOE) nebo 2,2-dimethoxypropanu (DMP).

## Příručka pro identifikaci klinicky významných dermatofytů

LENKA MACHOVÁ, ALENA PLEVOVÁ, ŠTĚPÁNKA ŽÁROVÁ

Katedra botaniky, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy, Benátská 2, 128 01 Praha 2  
lenka.machovka@seznam.cz, plevovaalenamaria@gmail.com, stepanka.zarova@natur.cuni.cz

Skupina hub z řádu Onygenales, kterým říkáme dermatofyty, zahrnuje také druhy způsobující onemocnění kůže a kožních derivátů lidí i zvířat. Pro správně zacílenou léčbu je nutná správná druhová identifikace těchto patogenů prováděná klinickými pracovníky pomocí příruček. Taxonomie této skupiny ale prošla v minulých letech velkými změnami, které starší příručky nereflektují. Pro potřeby vytvoření nové příručky budou molekulárními metodami identifikované kmeny dermatofytů (cca. 25 druhů) charakterizovány pomocí morfologických a fyziologických metod i porovnáním hmotnostních spekter (MALDI-TOF). Vzhled kultur i mikromorfologické znaky budou hodnoceny pomocí kultivace na třech mikrobiologických mediích. Dalšími zkoumanými charakteristikami budou například rychlost růstu, perforace vlasů nebo utilizace vybraných substrátů. Výsledkem bude publikace zahrnující nejen v Evropě běžné klinicky významné druhy, ale i druhy v klinickém materiálu vzácné a mimoevropské. Díky širokému záběru metod zvýší nově vzniklá příručka pravděpodobnost správné diagnózy vedoucí ke včasné a cílené léčbě. Zdravotním pracovníkům, studentům a díky rozšíření o druhy napadající zvířata také

veterinárním lékařům bude nově vzniklá příručka sloužit nejen k rychlé identifikaci těchto patogenů, ale také přehledné orientaci v různých ekologických skupinách dermatofyt.

Tento projekt byl podpořen granty AZV 17-31269A a GAUK 600217.

## **Houby rodů *Aspergillus* a *Penicillium* – výskyt v zrně obilovin**

TEREZA NEUBAUEROVÁ\*, DAVID NOVOTNÝ, JANA BROŽOVÁ

Ekologie a diagnostika houbových patogenů, Výzkumný ústav rostlinné výroby v.v.i.,  
Drnovská 507/73, 161 06 Praha 6 – Ruzyně

\*neubauerova@vurv.cz

Mikroskopické vláknité houby rodů *Aspergillus* a *Penicillium* patří k nejrozšířenějším a k nejznámějším producentům různých mykotoxinů nejen v České republice. Byly odebrány vzorky zrna obilovin původem z různých lokalit v České Republice. Zrna byla povrchově ošetřena, inkubována na Petriho miskách s 2% malt extrakt agarem a následně odočkovány vyrostlé druhy z rodů *Penicillium* a *Aspergillus*. Pozornost byla věnována především vzorkům, u nichž byla při paralelní analýze zjištěna přítomnost mykotoxinů ochratoxinu a citrininu.

Identifikace hub z rodu *Penicillium* a *Aspergillus* na úrovni druhu byla provedena pomocí molekulárních metod. Celková DNA byla z kultury izolována pomocí kombinace mechanické homogenizace a různých komerčních izolačních kitů. Dle literatury vybrány specifické primery, díky nimž byly amplifikovány variabilní úseky genů, především  $\beta$ -tubulin. Na základě porovnání sekvencí s databází byly jednotlivé kmeny *Aspergillus* a *Penicillium* identifikovány na druhovou úroveň.

Tento projekt je podpořen grantem MZe NAZV QJ1510204.

## **Vliv vybraných rostlinných esencí na ochranu vybrané zeleniny před vybranými druhy fytopatogenních hub v polních podmínkách**

DAVID NOVOTNÝ<sup>1\*</sup>, IVANA STRÍŽKOVÁ<sup>1</sup>, PAVLA RŮŽIČKOVÁ<sup>1</sup>, ONDŘEJ DOUDA<sup>1</sup>,  
MILOSLAV ZOUHAR<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Výzkumný ústav rostlinné výroby, Drnovská 507, 161 06 Praha 6 – Ruzyně

<sup>2</sup> Česká zemědělská univerzita v Praze, Kamýcká 129, 165 00 Praha 6 – Suchbátka

\*novotny@vurv.cz

Při ochraně zemědělsky významných rostlin jsou v dnešní době ve velké míře využívány syntetické přípravky. Protože masivní používání těchto přípravků negativně působí na různé složky životního prostředí, je celosvětová snaha omezit používání těchto přípravků. Jednou z cest je využití látek, které se přirozeně vyskytují v různých druzích rostlin (tzv. rostlinné esence) a které se rychle rozkládají a nezatěžují životní prostředí. V rámci prezentované práce byl hodnocen vliv vybraných rostlinných esencí na míru napadení brambor druhem *Phytophthora infestans*, cibule druhem *Peronospora destructor*, zelí a mrkve houbami z rodu *Alternaria* při maloparcelkových pokusech.

Podpořeno projektem MZe QJ1310226.

# Citlivost entomopatogenních hub na pesticidy

ELIŠKA ONDRÁČKOVÁ

AGRITEC, výzkum, šlechtění a služby, s.r.o., Zemědělská 16, 787 01 Šumperk  
ondrackova@agritec.cz

Entomopatogenní houby se běžně vyskytují v půdě a mohou parazitovat na zástupcích všech řádů hmyzu. V biologické ochraně proti hmyzím škůdcům jsou nejčastěji využívány rody *Beauveria*, *Isaria*, *Metarhizium* nebo *Lecanicillium*. V rámci integrované ochrany rostlin se využívá jak chemických, tak i nechemických prostředků na ochranu rostlin. Při využití kombinované chemické a biologické ochrany proti škůdcům je důležité znát citlivost užitečných entomopatogenních hub na pesticidy.

V této práci byla testována citlivost entomopatogenních hub *Lecanicillium*, *Isaria*, *Beauveria* a *Purpureocillium* na vybrané fungicidní (Acrobat MZ WG, Ridomil Gold MZ Pepite, Kuprikol, Vitavax, Maxim XL 035 FS), insekticidní (Mavrik 2 F, Pirimor, Spin Tor) a herbicidní (Stomp, Somero, Comand 36 CS, Lentipur 500 FW, Escort Nový) přípravky. Systemické fungicidní přípravky Acrobat a Ridomil výrazně inhibovaly růst entomopatogenních hub. Fungicidní přípravek Kuprikol a testované insekticidní přípravky příliš neovlivňovaly růst těchto hub, dokonce růst některých kmenů mírně stimulovaly. Většina testovaných herbicidních přípravků, které se běžně aplikují preemergentně, a dostávají se tak do půdy, významně inhibovala růst užitečných půdních entomopatogenních hub. Nejvíce inhibovaly růst kolonií přípravky Somero a Escort Nový. Nejcitlivější z testovaných kmenů hub na pesticidní přípravky byl kmen houby *Beauveria bassiana*.

## Taxonomie osmofilních aspergilů ze sekce *Restricti*

FRANTIŠEK SKLENÁŘ<sup>1,2\*</sup>, VÍT HUBKA<sup>1,2</sup>, MIROSLAV KOLAŘÍK<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Katedra botaniky, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Benátská 2, 128 01 Praha 2

<sup>2</sup> Mikrobiologický ústav AV ČR, Praha, Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4

\*fandasklenar@seznam.cz

Sekce *Restricti* je jednou z posledních sekcí klinicky a ekonomicky významného rodu *Aspergillus*, která dosud nebyla revidována pomocí moderních taxonomických metod. Společně se sesterskou sekcí *Aspergillus* tvoří podrod *Aspergillus*. Obě sekce zahrnují výhradně osmofilní druhy, které tolerují nízkou vodní aktivitu substrátu. Tyto druhy způsobují škody na uskladněných potravinách, ničí umělecká díla (zejména obrazy), participují na problémech s kvalitou ovzduší v budovách (sick building syndrom, alergické reakce) a někdy též způsobují oportunní infekce. Molekulárně fylogenetická analýza 193 izolátů náležejících do sekce *Restricti* byla založena na částečných sekvencích 3 protein kódujících genů ( $\beta$ -tubulin, kalmodulin a RPB2) a sekvenci ITS a LSU oblasti rDNA. Pro nalezení druhových hranic byly použity moderní fylogenetické metody, založené na modelu mnohodruhové koalescence společně s analýzou fenotypu. Ta zahrnovala klasickou makro- i mikromorfologii (včetně skenovací elektronové mikroskopie) a také testování osmotolerance. Zástupci jednotlivých druhů byly kultivováni na médiích s několika koncentracemi různých osmoticky aktivních látek (NaCl, sacharóza, glycerol) a při různých teplotách. Tímto kombinovaným přístupem byl počet podpořených druhů v sekci rozšířen ze 7 na 21. V rámci této studie byla také podpořena monofylie sekce v rámci podrodu *Aspergillus*.

# Biodiverzita a variabilita rodu *Phytophthora* na jahodníku v České republice

IVANA STRÍŽKOVÁ

Výzkumný ústav rostlinné výroby v.v.i., Drnovská 507/73, 161 06 Praha 6 – Ruzyně  
strizkova@vurv.cz

Druhy rodu *Phytophthora* způsobují pěstitelům jahodníku významné ekonomické ztráty nejen v ČR, ale i jinde ve světě. Po zavlečení těchto patogenů na pěstební plochy dochází na mnoho let ke znehodnocení půdy pro pěstování tohoto ovoce. Největší škody u jahodníku způsobují především druhy *Phytophthora cactorum* a *Phytophthora fragariae*. V rámci *Phytophthora cactorum* byly zjištěny různé genetické linie, které mají různou citlivost k určitým fungicidním látkám. Lze předpokládat, že v České republice jahodník poškozuje více druhů patogenů z rodu *Phytophthora* a také více genetických linií *Phytophthora cactorum*. Identifikace jednotlivých izolátů získaných z českých zemědělských podniků pěstujících jahodník bude prováděna molekulárními metodami (druhá identifikace pomocí ITS a zjišťování genetických linií metodou Double-digest RAD sequencing), díky čemuž bude možné vytvořit mapu výskytu patogenů z rodu *Phytophthora* a genetických linií *Phytophthora cactorum*. Na základě výsledků bude možné zefektivnit ochranu a zmapovat cesty šíření zkoumaných patogenů.

## Vliv nových chemických preparátů na bázi nanočástic na vybrané dřevokazné houby napadající dřevěné konstrukce

KAREL ŠVEC

Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i., Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4  
karel.svec@biomed.cas.cz

Práce se zabývá fyziologií dřevokazných hub s důrazem na možnosti potlačení jejich růstu pomocí nově vyvíjených preparátů obsahujících nanočástice kovů. Byly studovány vybrané kmeny ze sbírek (*Coniophora puteana*, *Fibroporia vaillantii*, *Gloeophyllum sepiarium*) i aktuálně izolované z napadených objektů (*Serpula lacrymans*), testován byl vliv na růst, kolonizaci a degradaci substrátu a aktivita extracelulárních enzymů, odpovědných za degradaci dřevní hmoty.

## Populační struktura holubinky hlínožluté (*Russula ochroleuca*) v horských smrčínách Krkonoš

PETRA VESELÁ\*, MARTINA VAŠUTOVÁ, PAVEL CUDLÍN

Ústav výzkumu globální změny AV ČR v. v. i., Bělidla 4a, 603 00 Brno  
\*vesela.p@czechglobe.cz

*Russula ochroleuca* (Pers.) Fr. je jedním z dominantních ektomykorhizních druhů hospodářských smrčín střední Evropy. V horských smrčínách Krkonoš začal převládat pravděpodobně v souvislosti se znečištěním ovzduší v 70. letech. Protože o struktuře populací holubinek se ve střední Evropě nic neví, chtěli jsme zjistit, jak velké jsou genety tohoto druhu a zda se šíří vegetativně či pomocí spor.

Plodnice hub byly sbírány na dvou lokalitách o rozloze 2 ha (Alžbětinka – západní Krkonoše; Modrý důl – východní Krkonoše) vzdálených 20 km v srpnu a září 2016. Vybírány byly plodnice vzdálené od sebe min. 1,5 m, pokud se nacházely v četnějších skupinách, byly posbírány středové a

periferní. Pozice plodnic a pozice nejbližších stromů byly zaznamenány pomocí GPS. Celkem bylo posbíráno 62 plodnic na lokalitě Modrý důl a 80 na lokalitě Alžbětinka. Z plodnic byla extrahována DNA a genety byly identifikovány pomocí AFLP markerového systému.

Z předběžných výsledků vyplývá, že holubinka hlínožlutá se v Krkonoších šíří převážně sporami, neboť většina genet byla reprezentovaná pouze jednou plodnicí. Mezi oběma lokalitami byla detekovaná překvapivě nízká genetická variabilita, výjimku tvořila část vzorků posbíraná v září, která byla jednoznačně separovaná do samostatného genetického shluku.