



Vykrajované šupiny šišky smrku sitka (*Picea sitchensis*)



Smrk lesklý (*P. torano*), detail větvíčky s jehličkami a pupeny



Smrk Brewerův (*P. breweriana*), detail převislých větvíček. Snímky J. Blabníka

Druhy smrků v Průhonickém parku

V rámci své práce jsem v parku určil a ověřil celkem 15 druhů smrků: smrk ztepilý (*Picea abies*), s. štětinatý (*P. asperata*), s. Brewerův (*P. breweriana*), s. Engelmannův (*P. engelmannii*), s. sivý (*P. glauca*), s. ajanský (*P. jezoensis*), s. Koyamův (*P. koyamae*), s. černý (*P. mariana*), s. sibiřský (*P. obovata*), s. Meyerův (*P. meyeri*), s. omorika (*P. omorika*), s. východní (*P. orientalis*), s. pichlavý (*P. pungens*), s. sitka (*P. sitchensis*) a smrk lesklý (*P. torano*). U dalších pěti předpokládaných druhů — smrk Glehnův (*P. glehnii*), s. li-tiangský (*P. likiangensis*), s. Maximovičův (*P. maximowiczii*), s. nachový (*P. purpurea*), s. Schrenkův (*P. schrenkiana*) — nebylo možno spolehlivě určit druh z důvodu nedostupnosti vhodného určovacího materiálu.

Nejlépe dostupný materiál vhodný ke studiu a určování byl u dále zmíněných

druhů. Za jeden z nejkrásnějších jedinců smrků v Průhonickém parku považují smrk sitka. Tento druh je jako jeden z mála v Průhonickém parku zastoupen i jedním soliterním jedincem, zavětveným až téměř k zemi. Má podobně šedobílé jehlice ze spodní strany jako např. smrk omorika, liší se však výrazně mimo jiné tvarem šupin šišky, které jsou vykrajované (viz obr.), zatímco u smrků omoriky nehtovité.

Mým nejoblíbenějším stromem v parku je smrk Brewerův u Podzámeckého rybníka (viz obr.). Pro tento druh jsou charakteristické svislé větvěky druhého řádu (viz obr.). Nejtužší jehlice mezi různými druhy smrků má smrk lesklý. Charakterizují ho velké pupeny (viz obr.), a jak již z jeho jména vyplývá, také lesklé jehlice, které jsou ostře pichlavé.

Pro zajímavost jsem změřil obvody kmenů smrků a u jedinců prokazatelně totožných srovnal výsledky s obvody uvedených

mi v r. 1966. Největší rozdíl v obvodu kmene činil 120 cm, a to u smrků Brewerův z oddělení 138 ve druhé části parku. Největší obvod kmene smrků, který jsem naměřil, byl u smrků ztepilých v oddělení 50 v první části parku, a to 317 cm.

Další logicky následující etapou by měla být nová celková evidence a přeúčtování všech jedinců rodu *Picea* v Průhonickém parku. Výsledky takové práce mohou sloužit jako pomůcka při případném využívání uvedených druhů např. při plánování výsadeb nebo k jiným lesnickým či okrasným účelům. Mohou také posloužit k upřesnění údajů v současné evidenci rostlin a k úpravě projektů péče o dřeviny v Průhonickém parku.

První autor je studentem gymnázia v Říčanech; studiu smrků se věnoval v Průhonickém parku Botanického ústavu Akademie věd ČR, v. v. i.

Kam na houby? Do bachoru!

Tereza Šimonovská, Kateřina Fliegerová

Práce vznikla v rámci projektu *Otevřená věda*

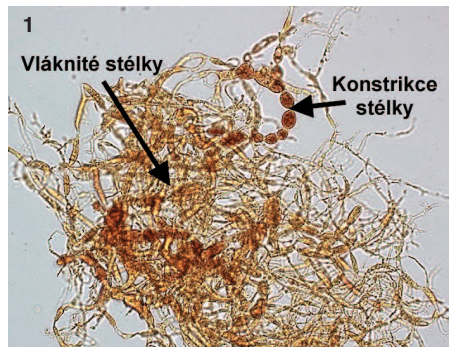


Rostliny budují svá těla z celulózy, která je nejrozšířenějším přírodním polymerem na Zemi. Tento polysacharid je však pro živočichy nestravitelný. S trochou nadsázky by se tedy dalo říci, že i když je rostlin všude hojně, tento zdroj uhlíku je pro zvířata včetně savců uzamčen na 7 západů. Jednoduché cukry — stavební částí celulózy — se totiž v rostlinných buňkách spojují do řetězců prostřednictvím beta-glykozidické vazby. Ta představuje pro enzymatický trávicí systém zvířat i člověka nezdolatelnou překážku bránící uvolnění kyslíčného energetického zdroje. Cennou energii uloženou v těchto polysacharidech však dokáží získávat a uvolnit mikrobi, kteří žijí v symbiotickém vztahu s některými zvířaty.

Nejdokonalejší symbiotický vztah mezi savcem a mikroorganismy se vyvinul u přežvýkavců. Početná a pestrá populace bakterií, prvoků a hub osidluje největší část jejich předžaludku — bachoru. V něm mikroorganismy pomocí svých účinných hydrolytických enzymů rozkládají polysacharidy, dusíkaté látky a lipidy obsažené v rostlinné potravě až na konečné metabolické produkty, které dokáže jejich hostitel (např. kráva, koza, ovce, jelen, antilopa či bizon) využít ve svůj prospěch. Těmito lát-

kami jsou anionty těkavých mastných kyselin s krátkým řetězcem, zejména kyseliny octové, propionové a butyrové, které se stávají zdrojem uhlíku a energie pro tkáňový metabolismus přežvýkavců.

Bachor lze obrazně přirovnat k mikrobiologickému fermentoru, který do jisté míry řídí samotné zvíře, alespoň pokud jde o příjem potravy, úpravu její hodnoty pH i pohyb bachorové stěny. Fyzikálně-chemické podmínky v bachoru jsou relativně stálé. Teplota se pohybuje okolo 39 °C



Obr. 1 Mycelium polycentrické (bližší v textu) anaerobní houby rodu *Anaeromyces* pozorované ve světelném mikroskopu (zvětšeno 200x)

a hodnoty pH mezi 6,2 a 6,8. Nejpohodnější na bachorovém prostředí je však to, že funguje za anaerobních podmínek, tedy bez přítomnosti kyslíku. Mikroorganismy při fermentaci (kvašení) rostlinné biomasy produkují oxid uhličitý, vodík a metan, a tak je vytvořen zcela výjimečný anaerobní ekosystém, bez něhož se přežvýkavci neobejdou. Unikátní je také výskyt hub v této části trávicího traktu. Jde o jediné dosud popsané výhradně anaerobní houby, které jsou pozoruhodné nejen svými fermentačními schopnostmi, ale i morfologickými vlastnostmi.

Účast anaerobních hub na metabolických pochodech v předžaludku přežvýkavců popsal teprve v r. 1975 britský vědec C. G. Orpin, který v bičíkatých mikroorga-

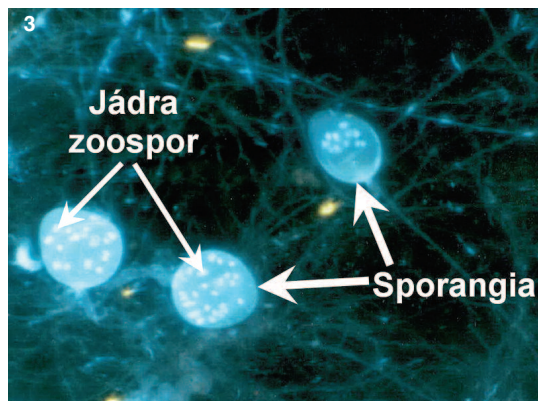
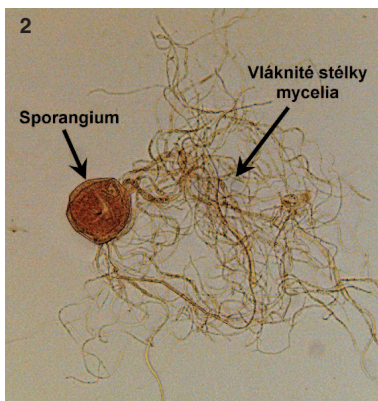
nismech z bachorové tekutiny, mylně klasifikovaných jako prvoci, rozpoznal pohyblivé bičíkaté spory — zoospory hub. Tentýž autor také vzápětí prokázal přítomnost pro houby charakteristického chitinu v buněčné stěně těchto mikroorganismů a popsal jejich dvoufázový životní cyklus. V něm se střídá zoospora s přisedlým rhizomyceliem s rhizoidy — nepravé mycelium s útvary podobnými kořínkům. Tímto objevem bylo popřeno tzv. mykologické dogma, v němž v r. 1949 J. W. Foster vyjádřil přesvědčení, že nemohou existovat žádné anaerobní houby.

Následné studium anaerobních hub přineslo pozoruhodné výsledky a prokázalo jejich nezastupitelnou roli při trávení potravy přežvýkavců. Anaerobní houby jsou v jejich trávicím traktu prvními mikroorganismy, které obsazují rostlinnou biomasu. Svými rhizoidy nejdříve mechanicky naruší vrstvu kutikuly a zpřístupní rostlinná pletiva působení hydrolytických (štěpících) enzymů. Díky kombinaci mechanického působení a účinného enzymatického systému mohou anaerobní houby kolonizovat i velmi odolná rostlinná pletiva, jako je sklerenchym či cévní systém.

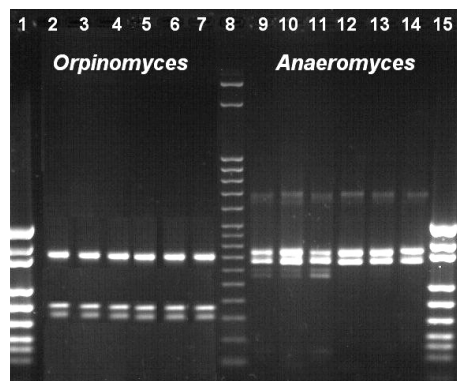
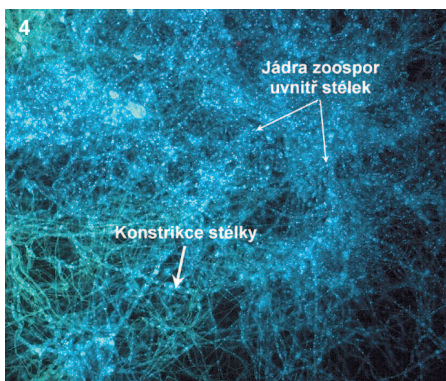
Dosud bylo popsáno 6 rodů anaerobních hub: tři polycentrické — *Orpinomyces*, *Anaeromyces* (obr. 1) a *Cyllamyces*, a tři monocentrické — *Neocallimastix* (obr. 2), *Piromyces* a *Caecomyces*. U monocentrických rodů se na stélce tvoří pouze jedno sporangium, zatímco u polycentrických několik. Liší se i způsobem vývoje zoospor, které u monocentrických rodů dozrávají uvnitř sporangia, zatímco u polycentrických uvnitř stélek. Tyto rozdíly lze dobře pozorovat ve světelném mikroskopu po obarvení jader (obr. 3 a 4). Lze tak dobře rozlišit monocentrické a polycentrické typy hub, avšak jednotlivé rody uvnitř těchto dvou skupin se identifikují velmi těžko. Někteří autoři dokonce považují např. rody *Anaeromyces* a *Orpinomyces* za nerozlišitelné při použití klasických morfologických metod. Anaerobní houby osidlují předžaludek domácích i divoce žijících přežvýkavců, kromě toho byly objeveny také v zažívacím traktu nepřezvýkavých býložravců, konkrétně ve slepém střevě koně a slona.

Taxonomické zařazení výše uvedených rodů a jejich příbuzenské vztahy v rámci říše hub prošly a stále ještě procházejí složitým vývojem daným morfologickými zvláštnostmi anaerobních hub. Jsou to zejména tři znaky, jimiž se vymykají všem pravidlům: již zmíněný striktně anaerobní způsob života (kyslík je pro ně vysoce toxický), dále absence mitochondrií, a tudíž i mitochondriální DNA, a také mimořádně nízké procentuální zastoupení guanozinu a cytozinu v jaderné DNA — dokonce nižší, jaké kdy bylo u mikroorganismů zjištěno. Místo mitochondrií se v anaerobních houbách nacházejí organely zvané hydrogenezomy, což jsou energetická centra, kde se z jednoduchých cukrů získává energie za současného uvolňování vodíku (odtud název organely).

Systematikům však přišla na pomoc molekulární biologie. Analýza velmi konzervativního úseku jaderné DNA, konkrétně pořadí bází v genu malé ribozomální podjednotky, vedla k současnému taxonomickému zařazení anaerobních hub do třídy *Chytridiomycetes*, řádu *Neocallimastigales* a čeledi *Neocallimasticeae*.



Obr. 2 Mycelium monocentrické anaerobní houby rodu *Neocallimastix* pozorované ve světelném mikroskopu (zvětšeno 400×) ♦ Obr. 3 Mycelium rodu *Neocallimastix* ve světelném mikroskopu po obarvení jader fluorescenčním činidlem (zvětšeno 400×)



Obr. 4 Mycelium monocentrické anaerobní houby rodu *Anaeromyces* pozorované ve světelném mikroskopu po obarvení jader fluorescenčním činidlem (zvětšeno 200×)

Tím však není všem taxonomickým trápením konec. Problémem stále zůstává důvěryhodná charakterizace jednotlivých rodů a druhů. Rhizomycelium těchto hub se totiž dokáže k nepoznání proměňovat v závislosti na kultivačním prostředí, a tak morfologické znaky, jako jsou tvar rhizomycelia a sporangii či tvar a větvení rhizoidů, jsou nejednoznačné, a proto nespolehlivé. Naděje anaerobních „houbařů“ se tedy opět upínají k molekulárně-biologickým metodám a k jaderné DNA, která se nemění, ať už se houba snaží vypadat jakkoli, protože DNA je nezávislá na morfologických projevech. Pro účely rozlišení do druhů je vhodné zvolit oblast v genomu, která je dostatečně variabilní, aby dokázala rozlišit geneticky úzce příbuzné houby. Takovou částí je úsek ITS (z angl. Internal Transcribed Spacer) na ribozomální DNA, který spojuje geny pro RNA malé a velké ribozomální podjednotky. Porovnáním sekvencí bází tohoto úseku je možno přiřadit studovanou houbu k danému druhu.

A právě v této oblasti jsme přispěli svou trochou do mlýna. Podarilo se nám spolehlivě rozlišit dva rody polycentrických chytridií *Orpinomyces* a *Anaeromyces*, které mnozí autoři považují při srovnání morfologie stélek za nerozlišitelné. Na obr. 5 je vidět, že zmíněný úsek ITS se při enzymatickém štěpení restrikčními endonukleázami rozlomí na několik částí, jejichž počet a velikost se liší podle rodu. Tyto úseky se elektroforetický rozdělí v agarózovém gelu podle velikosti. Dostáváme tak tři fragmenty pro rod *Orpinomyces* a dva fragmenty pro rod *Anaeromyces*. Tyto restrikční pro-

Obr. 5 Restrikční analýza fragmentu ITS 4 rodů *Orpinomyces* a *Anaeromyces* štěpeného enzymem *Hinf*I. Fragmenty jsou rozděleny elektroforetický v agarózovém gelu. V jamkách 1, 8 a 15 jsou naneseny standardy pro určení velikosti fragmentů. Pro tuto analýzu byly použity houby izolované z bachorové tekutiny krav (jamky 2 až 6), z trusu bizonů (9 a 10), z trusu jelena (11) a lamy (12), z trusu zubrů (13 a 14). Podrobnosti o metodě jsou uvedeny v textu. Snímky K. Fliegerové, fotoarchiv ÚŽFG AV ČR, v. v. i.

filie jsou pro dané rody charakteristické a nezáleží na tom, z jakého hostitelského zvířete houba pochází či odkud je zvířete samotné.

Hlavním záměrem tohoto článku bylo upozornit na výjimečné mikroorganismy, které ač striktně anaerobní, žijí v naší poměrně blízkosti a nepřímo ovlivňují kvalitu naší stravy, tedy hovězího či skopového masa a mléčných produktů. Také z evolučního hlediska je příběh anaerobních hub velmi zajímavý. Chytridie jsou považovány za jedny z nejstarších mikroorganismů a stále není jasné, zda anaerobní druhy předcházely aerobním či naopak. Cesta, kterou si zvolily anaerobní houby, by snad mohla osvětlit počáteční křížovatky, na nichž se ostatní členové pestré říše hub vydali jinou cestou a přes všechnu svou rozmanitost zůstali věrni způsobu života závislému na kyslíku.

První autorka je studentkou gymnázia Na Vítězné pláni v Praze; v Ústavu živočišné fyziologie a genetiky Akademie věd ČR, v. v. i. se zapojila do projektu *Hloubková fylogeneze anaerobních hub, který je součástí výzkumného záměru ÚŽFG AV ČR č. AVOZ 50450515 a je podporován Grantovou agenturou ČR (č. projektu 523/05/2555).*