

## Endofyty – všudypřítomní kolonizátoři rostlinných pletiv

Rostliny se svými orgány a pletivy představují důležité prostředí kolonizované velkým množstvím hub. Parazitické druhy hub, jež mohou napadat kterýkoli rostlinný orgán, a mykorhizní druhy hub, které naproti tomu osídlují pouze kořeny rostlin (také v článku na str. 233–240 tohoto čísla *Živy*), často rozeznáme už pouhým okem. Pokud ne samotné houby, tak alespoň morfologické změny, které na rostlině způsobily. Vedle parazitických a mykorhizních ale existují ještě houby nevyvolávající žádné vnější známky své přítomnosti, i když se vyskytují v podstatě v kterékoli části rostliny. Tyto houby se nazývají endofytní (termín endofyt má širší význam a označují se jím i jiné organismy žijící uvnitř rostlin, např. bakterie) a byly nalezeny v každém typu pletiva u všech dosud studovaných rostlin. Když vidíte např. krásně zelený, nepoškozený list stromu, plod nebo bylinnou lodyhu, pravděpodobně vás nenapadne, že se díváte na více či méně bohaté společenstvo různých druhů endofytních hub. Ač studován již více než dvě století, tento fenomén nepřestává dodnes fascinovat mykology, a to z různých důvodů.

### Trochu historie a metodiky

Prvním, kdo použil termín endofyt, byl německý mykolog Anton de Bary, který ve své knize *Morfologie a fyziologie hub, lišejníků a hlenek z r. 1866* popsal endofytní houby jako parazitické druhy žijící uvnitř rostlinných pletiv. Odlišil je od epifytních parazitů, kteří kolonizují povrch rostlinných orgánů. Od dob de Baryho ale došlo k výraznému posunu ve významu tohoto termínu a v současnosti označuje pouze druhy, které po celý svůj životní cyklus nebo jen některou jeho fázi kolonizují rostlinná pletiva bez projevu jakýchkoli známek napadení (symptomů). Endofytismus není protikladem k parazitismu, protože houbí parazitizují často nenápadně prorůstají rostlinná pletiva před vlastním projevem onemocnění, ale zároveň zahrnuje i velké množství hub nacházejících se uvnitř rostlinných pletiv, aniž by v budoucnu onemocnění způsobily. Některé endofytní houby žijí s rostlinou dokonce v oboustranně výhodné mutualistické symbióze.

Nenajdeme pravděpodobně rostlinu (a to včetně kapradorostů a mechorostů), jež by v sobě neskrývala nějakou endofytní houbu. Tyto houby byly dokonce nalezeny ve stélkách lišejníků. Endofytismus představuje fenomén ještě častější, než je mykorhiza, tedy jiný typ symbiózy rostlin a hub.

Dosavadní výsledky studia endofytních hub jsou v řadě aspektů stále jen útržkovité a nedaří se např. postihnout celé spektrum v různých částech rostliny najednou, natož pak ve více sezonách. Důvodem jsou hlavně metodické limity studia endofytů. Výzkum jejich diverzity v jednotlivých rostlinných orgánech a pletivech byl od počátku studia endofytních hub v 70. letech 20. stol. založen na izolaci na pevné agarové živné půdě a v této podobě se nejčastěji využívá dosud. Jak taková izolace probíhá? Odebrané vzorky (dřevěné štěpinky, větvičky, listy, jehlice nebo jejich části apod.) se nejprve musejí povrchově sterilizovat, aby se zamezilo růstu hub přítomných na povrchu, a to buď v podobě

rostoucího mycelia (epifytní čili fyloplánní houby), nebo jen jako spory. Následně se rozdělí na části dostatečně malé, aby se vešly na Petriho misku s agarovou živnou půdou, takže z původně odebraného kusu dřeva, větvičky, listu nebo jehlice se nakonec izolují endofyty pouze z několika úlomků řádově milimetrové až centimetrové velikosti. Na agarové půdě z nich vyrůstají po několika dnech až týdnech mycelia, často bývají sterilní a velmi podobná (obr. 1). Záleží na zkušenosti vědce, jestli vzhledově podobná mycelia endofytních hub bude považovat za identické druhy, nebo ne, a bude se tudíž snažit určit do druhu pouze vybrané zástupce s unikátním vzhledem (pokud několik mycelií vypadá stejně, vybere jedno reprezentující všechna ostatní), nebo každé jednotlivé vyrůstající mycelium. Fáze určování je nejdélejší a nejsložitější, protože nikdy není předem jasné, zástupci kterých skupin hub vyrostou. Vedle určování podle morfologie se uplatňují především molekulární data – sekvence DNA vybraných úseků, které po přečtení a srovnání s veřejnou databází mohou okamžitě vést k určení do druhu (v ideálním případě, pokud je od daného druhu již sekvence v databázi dostupná), častěji ale jen do rodu nebo okruhu rodů.

Kultivační přístup má tu výhodu, že endofytní houby získáme v podobě čisté kultury a můžeme je následně studovat např. z hlediska produkce bioaktivních látek (viz dále). Na druhou stranu ale tento přístup zatěžuje řada metodických problémů. Už jen ten první, tedy že přítomnost endofytů není patrná, znamená, že odeberáme vzorky z rostlin a z nich vybíráme na izolaci náhodně. Velké množství izolovaných částí (až desítky procent v případě např. dřeva) tak bývá sterilní, protože jsme zrovna vybrali nekolonizovaný kousek. I povrchová sterilizace má svá rizika. Nejčastěji se používá oplach v etanolu (většinou 96%), chlornanu sodném (5% a méně koncentrovaném, což přibližně odpovídá prostředku Savo nebo jeho naředěnému roztoku) či peroxidu vodíku (30%) po dobu několika desítek sekund. Většinou jde o kombinaci těchto látek zakončenou omytím ve sterilní vodě. Riziko spočívá především ve stanovení nevhodné koncentrace prostředků a délky oplachu, protože pokud je sterilizace příliš silná, prostoupí prostředek dovnitř pletiv a zahubí i endofytní houby. V opačném případě máme výsledky zkreslené o růst epifytních hub. Odebrat větší množství vzorků, které by umožnilo srovnat endofytní společenstvo např. v několika desítkách výhonů současně, není reálné, zahrnovalo by stovky až tisíce finálních kousků a tudíž i Petriho misek a mycelií. V případě určování podle DNA by bylo navíc příliš finančně náročné. Posledním a velmi podstatným omezením této metody je skutečnost, že mnoho hub na agarových živných půdách neroste vůbec (jsou nekultivovatelné), nebo rostou tak pomalu, že je ostatní druhy přerostou a znemožní jejich určení, takže výsledky studia diverzity endofytních hub založené na kultivaci získáme z principu podhodnocené.



1 Kolonie endofytních hub vyrůstající z povrchově sterilizovaných jehlic borovice lesní (*Pinus sylvestris*)

## Není endofyt jako endofyt

Ačkoli se běžně hovoří o endofytních houbách, nejde v pravém slova smyslu o vyhraněnou ekologickou skupinu (jako např. dřevokazné nebo koprofilní houby), představují naopak velmi heterogenní směs druhů s různými způsoby života a navíc z různých taxonomických skupin (výjimkou jsou tzv. travní endofyty, viz dále). Jediné, co je spojuje, je přítomnost endofytní fáze v hostitelské rostlině, čili určité etapy v jejich životním cyklu. Další fáze jejich životního cyklu mohou probíhat na zcela jiném substrátu, než je rostlina, ve které se daný druh nachází jako endofyt. Z taxonomického hlediska jsou to v drtivé většině houby vřecokvýtrusné (*Ascomycota*), v menší míře houby stopkovýtrusné (*Basidiomycota*) a minimálně houby spájkivé (*Mucoromycota*, dřívější *Zygomycota*). Mezi houbami vřecokvýtrusnými jsou zastoupeny hlavně řady voskovičkotvaré (*Helotiales*), dřevnatkotvaré (*Xylariales*), hnojenkotvaré (*Sordariales*) a vředovcotvaré (*Dothideales*).

Zda se bude houba v rostlinných pletivech chovat jako endofyt, závisí na mnoha faktorech. Spíše než jako neutrální soužití houby a rostliny (které by se dalo očekávat, když na rostlině nejsou patrné žádné známky houbové kolonizace) se endofytismus popisuje jako vyvážený antagonismus. Je to z toho důvodu, že i endofyt musí použít enzymy k překonání překážek při růstu rostlinnými pletivy a rostlina na tyto signály náležitě odpovídá svými obrannými prostředky, podobně jako by reagovala na patogen a jeho virulenní faktory. Jak je ale tato křehká rovnováha regulována, zůstává stále otázkou.

## Travní endofyty

Pro jednoduchost si můžeme rozdělit endofyty na dvě skupiny lišící se vazbou na hostitele, taxonomickou příslušností hostitelské rostliny, způsobem šíření, účinkem na rostlinu a také tím, do které taxonomické skupiny hub náležejí. Do první skupiny řadíme endofyty trav, někdy označované jako ustálené endofyty, do té druhé patří všechny ostatní, které bývají označovány jako vyvolané endofyty a budou dále nazývány „netravní“. Toto rozlišení rozhodně není intuitivní, nicméně naprosto odpovídá významným odlišnostem mezi oběma skupinami.

Endofyty trav představují co do počtu druhů poměrně malou, avšak evolučně významnou skupinu vřecokvýtrusných hub z okruhu druhů rodu *Epichloë* (řád masenkotvaré – *Hypocreales*). Přestože není zcela jasné, proč se v evoluci právě tyto houby vyčlenily jako endofytní kolonizátoři trav, jejich vzájemný vztah se upevnil do podoby stabilní mutualistické symbiózy. Předpokládá se, že původní strategií těchto hub bylo parazitovat na býložravém (herbivorním) hmyzu (především molicích a červicích). V průběhu evoluce se pravděpodobně přes sací ústrojí dostaly do pletiv některých druhů trav a „naučily se“ kolonizovat celé jejich nadzemní části. Aby si travní endofytní houby pojistily, že se dostanou do svého hostitele, využívají tzv. vertikálního šíření. Kolonizují kromě vegetativních částí i semena trav, takže klíčící rostliny obsahují už tyto endofytní houby



ve svých pletivech. V travách se sice vyskytují ještě endofytní houby z jiných taxonomických skupin, nicméně zástupce rodu *Epichloë* v jiných skupinách rostlin nejdeme.

Podstata symbiózy u endofytů trav a jejich hostitelských rostlin je poměrně dobře prostudovaná. Houby „výměnou“ za možnost kolonizovat rostlinná pletiva a získávat od rostliny část asimilátů produkují řadu mírně jedovatých chemických látek (alkaloidů), které rostlinu chrání před okusem herbivory, především hmyzu a savců. Jak taková ochrana funguje, si ukážeme na příkladu lolitremu, jednoho z nejčastěji produkovaných alkaloidů, v travách rodu jílek (*Lolium*, obr. 2) a kostřava (*Festuca*, obr. 3), které jsou nejčastějšími hostiteli endofytních hub. Tato heterocyklická sloučenina s indolovým jádrem způsobuje v malých dávkách křeče svalstva, ve větších dávkách ovlivňuje i srdeční a nervovou činnost. Symptomy bývají pozorovány u dobytka, který spásá trávu kolonizovanou endofytními houbami. Při vysokých příjmech lolitremu může dojít i k úmrtí, většinou z důvodu pádu a vážného zranění po ztrátě rovnováhy. Tyto otravy endofytními alkaloidy jsou běžné zejména u převážně pasených krav, jako např. v Severní Americe, Austrálii a na Novém Zélandu (kde jsou současně nejintenzivněji studovány). Stopy lolitremu byly prokázány i v kravském mléce (Finch a kol. 2013), ale v tak nízkých koncentracích, že jeho konzumace člověkem nepředstavuje žádné riziko. Ochrana před jejich konzumací se stala téměř nemožnou. Jediným ze způsobů prevence je vhodné načasování pastvy – aby neprobíhala ve chvíli kvetení trav, protože v květenství obsahují největší množství lolitremu.

## „Netravní“ endofyty

Pomineme-li několik vysoce specializovaných druhů mimo řád masenkotvaré s úzkou vazbou na konkrétní jeden druh rostliny, u nichž byla také zjištěna kolonizace celých rostlin, patří většina endofytních hub mezi druhy napadající různé rostlinné orgány s výskytem omezeným na několik málo buněk v určitém pletivu, tj.

2 a 3 Jílek vytrvalý (*Lolium perenne*, obr. 2) a kostřava červená (*Festuca rubra*, 3) obsahují ve svých pletivech alkaloid lolitrem, který si ale nesyntetizují samy, produkují ho jejich endofytní houby. Foto L. Hrouda (obr. 2 a 3)

4 Nepohlavní stadium štětinatky jehlicové (*Desmazierella acicola*). Konidiofor je na vrcholu větvený a zakončený štíhlými buňkami, na nichž vznikají konidie.

5 Apotecia klihatky černé (*Bulgaria inquinans*) na čerstvě padlém kmenu buku lesního (*Fagus sylvatica*)

6 Bokem přirostlé, kopytovité plodnice troudnatce kopytovitého (*Fomes fomentarius*) na kmeni břízy. Tento druh patří mezi typické chorošovitě houby způsobující bílou hnilobu dřeva. Snímky O. Koukola, pokud není uvedeno jinak

s bodovou kolonizací. Jejich druhová diverzita v konkrétní rostlině je proto několikanásobně vyšší než u trav. Rostliny tento typ endofytů získávají v průběhu svého života tzv. horizontální kolonizací. Houby do nich vstupují po překonání vnějších bariér přes různé vstupní brány. Jednak to jsou přirozené otvory pletiv charakteristické pro daný druh rostliny (např. popraskaná borka, čočinky neboli lenticely v kůře, průduchy na listech) a jednak jde o otvory po mechanickém narušení (ulomená větvička, poškrábání kůry apod.). Množství endofytních hub v daném pletivu tak závisí na druhu orgánu a jeho stáří. Např. mladé, čerstvě vyrašené listy opadavých dřevin endofyty v podstatě neobsahují, ale v průběhu sezony se jejich kolonizace zvyšuje. Nejvíce endofytů mají v sobě na podzim, před opadem. Podobně narůstá množství druhů endofytů i v jehlicích jehličnatých dřevin, které obvykle drží na stromě několik let. U výhonů, větví a kmene (platí pro dřevo i lýko) už tak jednoznačnou závislost množství endofytních hub na čase nenajdeme. Důvodem je především větší mechanická odolnost těchto pletiv, nižší obsah kyslíku a živin v nich a také borka, která poskytuje mnohem lepší bariéru chránící od vnějšího prostředí.





Ačkoli „netravní“ endofyty nemají silné vazby na hostitele, určité preference lze pozorovat na vyšších taxonomických úrovních. Typickým příkladem je převaha hub z řádu voskovičkotvaré na nahosemenných stromech a řádu čárovkotvaré (Diaporthales) na krytosemenných. Odlišení preferencí těchto skupin endofytů tak pravděpodobně šlo ruku v ruce s oddělením nahosemenných a krytosemenných rostlin v pozdním karbonu (před 305–300 miliony let). Podobně můžeme pozorovat i geografický trend, kdy směrem k pólům přibývá endofytů z řádu voskovičkotvaré na úkor ostatních skupin, zatímco směrem k rovníku přibývají zástupci dřevnatkotvarých.

### Různé ekologie

Z ekologického hlediska převažují mezi „netravními“ endofyty paraziti nebo saprotrofové, kteří těží z toho, že jsou přítomni uvnitř svého hostitele ještě před jeho oslabením, resp. odumřením. Oslabení hostitelské rostliny např. z důvodu napadení jiným parazitem nebo stresem z nevhodných klimatických podmínek vede k tomu, že se neškodný endofyt rázem stane škod-

livým parazitem. Na druhé straně přirozené odumření části hostitele (např. listu a jeho opad na podzim) představuje signál pro saprotrofní druhy čekající v endofytární fázi v listu, že mohou začít list intenzivně kolonizovat a rozkládat.

Výše uvedené vztahy k hostiteli jsou velmi zjednodušené a soustředěný výzkum v poslední době přinesl řadu nečekávaných zjištění a souvislostí. Jedním z nejčastějších překvapení bylo, které všechny druhy hub byly nalezeny jako endofyty v určité rostlině. Mezi endofytními houbami tak byly kromě rostlinných parazitů a saprotrofů, s jasnou vazbou na hostitele z důvodu budoucího zdroje živin, zaznamenány i druhy běžně se vyskytující pouze na trusu (koprofilní houby) nebo hmyzí paraziti (entomofágní houby), u nichž už není zřejmý důvod kolonizace rostlinných pletiv. Poměrně často také bývá zachycen v určité rostlině endofytní druh, který patří mezi rostlinné parazity nebo saprotrofy, ale na zcela jiném druhu rostlin. Např. při studiu endofytních hub v listech rojovníku bahenního (*Rhododendron tomentosum*, dřívě *Ledum palustre*) jsme zjistili jako velmi častý druh štětinatku jehlicovou

(*Desmazierella acicola*) z řádu kustřebkotvaré (Pezizales, houby vrčkovýtrusné, obr. 4). Nikdy přítomna nebyla nalezena na listech rojovníku jako parazit nebo později v opadu jako saprotrof, protože ji lze najít pouze na jehlicích borovic v opadu. Podobně neočekávané bylo izolování klišatky černé (*Bulgaria inquinans*) z řádu voskovičkotvaré také z listů rojovníku. Plodnice tohoto druhu se totiž nacházejí převážně na padlých kmenech dubů a buků (obr. 5). Velmi překvapivá byla rovněž izolace troudatce kopytovitého (*Fomes fomentarius*, obr. 6) z řádu chorošotvaré (Polyporales, houby stopkovýtrusné) z jehlic smrku ztepilého (*Picea abies*). Nejenže tato dřevokazná houba neroste na jehličnanech, ale i kdyby šlo o její náhodný výskyt na smrku, bude růst v jeho kmeni a ne v jehlicích.

### Výskyt a četnost

Nejčastějším výstupem ze studií zabývajících se diverzitou „netravních“ endofytních hub v určitých rostlinných pletivech je relativně podobné zastoupení druhů a jejich četností. Ačkoli se konkrétní druhy hub liší (a to i v případech, že srovnáváme dvě studie prováděné na stejné hostitelské rostlině, ale na odlišném území), jejich poměry bývají podobné. Pouze několik málo druhů (většinou méně než 10) bývá přítomno ve více než 10 % vzorků a z nich výrazně převládá jeden až dva. Následuje většina druhů (podle klimatického pásu, druhu dřeviny a typu pletiva několik desítek až přes 100) zastoupených v několika vzorcích, často ale pouze v jediné kolonii. Tímto se odlišují od travních endofytů, které jsou nacházeny rovnoměrně v celé rostlině, ale jejich diverzita je velmi nízká.

Tento trend ukazuje na velký vliv prvku náhody dané způsobem kolonizace pletiv – v rostlině budou zastoupeny spíše druhy, které se vyskytují v okolí a jejich spory jsou přítomny v prostředí a mohou se do rostliny dostat. Dominantním pak bude pravděpodobně druh, který v blízkosti rostliny tvoří množství spor, a to mu umožňuje i největší rozšíření. Proti prvku náhody a nepředvídatelnosti stojí těsný vztah hostitelské rostliny a některých





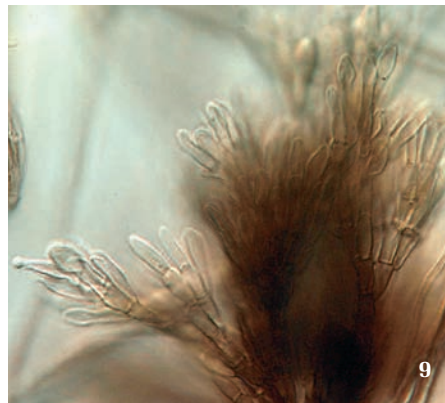


„jejích“ endofytních hub. Je např. pravděpodobnější, že pokud některý endofytní druh ze smrkových jehlic posléze roste jako saprotrof na jehlicích v opadu, budou mít jeho spory opět nejbliž k živým jehlicím na stromě a po vyklíčení je budou kolonizovat jako endofyty. Pro příklad uvedme chlupečku jehlicovou (*Cistella acuum*) z řádu voskovičkotvaré – častý endofyt v jehlicích smrku. Po odumření jehlic a jejich opadu se stává saprotrofem, jenž vytváří na jehlicích plodnice (obr. 7 a 8). Nebo se určitý druh typický pro jehlice borovic podaří najít v endofytní fázi na jiné rostlině, která ale roste v borovém lese, jako u výše zmíněné štětinatky jehlicové izolované z listů rojovníku bahenního.

Pravidelný výskyt konkrétních druhů endofytních hub v určitých rostlinách je dán i chemismem rostliny, především pak množstvím sekundárních metabolitů. Ty mívají většinou ochrannou funkci před houbovými a jinými parazity. Pouze houby, které dokážou tyto látky u dané rostliny tolerovat, se mohou stát endofytními.

### Endofyty pomáhající rostlině

O ochraně před herbivory, kterou zprostředkovávají travní endofyty, už byla řeč. Mají ale i „netravní“ endofytní houby pozitivní vliv na svého hostitele, i když u nich nenacházíme tak silnou vazbu na druh hostitelské rostliny? Mezi nejzajímavější objevy ve studiu těchto hub skutečně patří prokázané pozitivní působení endofytní kolonizace na fitness rostliny (Arnold a kol. 2003). Často jde o přímé účinky proti herbivornímu hmyzu (insekticidní) a proti parazitickým houbám (antifungální), které ohrožují hostitelskou rostlinu, nebo o nepřímé navození rostlinné obrany či vyrovnávání abiotických stresů (sucho, těžké kovy v půdě apod.). Taková zjištění navíc mohou mít praktické výstupy v podobě využití endofytů v biologických prostředcích ochrany rostlin, především hospodářsky významných dřevin, před parazity a herbivory. Např. druh *Phialocephala scopiformis* (obr. 9) z řádu voskovičkotvaré, který je velmi častým endofytem jehlic smrku pichlavého (*P. glauca*) v Severní Americe, produkuje látku rugulosin, toxickou pro housenky motýlů obalečů rodu *Choristoneura*. Tento účinek byl pozorován i při umělé inokulaci jehlic na stromě suspenzí spor a otevřel možnost komerčního využití houby v ochraně před



obaleči. Oproti ochraně jehlic chemickými prostředky má spousta výhod – inokulace probíhá druhem houby běžně přítomným v daném prostředí, a po úspěšné endofytní kolonizaci vydrží v jehlicích i několik sezon bez nutnosti dalšího zásahu.

Musí se však vzít v úvahu, že pro rostlinu není tento pozitivní vliv zadarmo a často za to platí svými živinami, které jí mohou chybět při ochraně proti jiným stresům z prostředí. Míra osídlení endofyty (stejně jako výsledek této symbiózy) se tak může lišit i v závislosti na míře a druhu ohrožení na konkrétním stanovišti.

### Jako zdroj bioaktivních sloučenin

Studium endofytních hub přineslo v nedávné minulosti řadu objevů nových chemických sloučenin s potenciálním využitím v medicíně. Kromě antibakteriálních a antifungálních účinků vykazaly v laboratorních testech i cytotoxický vliv na buňky rakovinného bujení a další aktivity. Tyto metabolity patří do různých strukturních skupin a některé dokonce obsahují zcela nové strukturní skupiny. Vzhledem k velké přísným a dlouhým procedurám vedoucím k zavedení nového léčiva však zatím jen pouhý zlomek z nich našel využití v lidské nebo veterinární medicíně. Mezi ty, jež tvoří základ v současnosti volně prodávaných léčiv, patří např. sloučenina pojmenovaná emodepsid, která byla poprvé získána z houbové kultury izolované jako endofyt listu čajovníku v Japonsku. Tato houba v kultuře nikdy nesporulovala, ani netvořila plodnice, takže nebyla nikdy určena do druhu, pouze o několik let později byla podle DNA zařazena do rodu prsnatka (*Rosellinia*, dřevnatkotvaré), tedy rodu, který zahrnuje saprotrofní mikro-

**7 a 8** Dvě „tváře“ chlupečky jehlicové (*Cistella acuum*) – plodnice (apotecia) na opadu smrku ztepilého (*Picea abies*, obr. 7) a řetězky konidií produkovaných v kultuře po izolaci jako endofyt z jehlic téže dřeviny (8). Foto: L. Janošik (obr. 7) a Z. Haňáčková (8)

**9** Konidie druhu *Phialocephala scopiformis* vznikají na charakteristických přeslenech konidiogenních buněk. Tento zástupce řádu voskovičkotvaré (Helotiales) se často vyskytuje jako endofyt jehlic smrku v Severní Americe, ale můžeme ho najít i v jehlicích smrku ztepilého v Evropě. Foto Z. Haňáčková

skopické houby často se vyskytující na dřevních substrátech. Emodepsid slouží ve veterinární praxi jako prostředek proti parazitickým červům (helmintům) u domácích zvířat. Druhým příkladem je nodulisporová kyselina, poprvé nalezená v houbově rodu *Nodulisporium*, což je nepohlavní stadium rodu *Hypoxylon* opět z řádu dřevnatkotvaré. Tato kyselina pro změnu odpuzuje krevsající hmyz a používá se u domácích zvířat k ochraně před klíšťaty.

Uvážíme-li, že tyto látky produkují houby izolované jako endofyty z rostlin, nabízí se otázka, k čemu jim slouží? Některé je chrání před obranou hostitelské rostliny, jiné chrání rostlinu před jinými houbami, bakteriemi, hmyzími škůdci a herbivory, s nimiž endofyt soutěží o prostor a živiny, nebo mají úplně jinou funkci, např. jako odpadní produkt metabolismu. Sekundární metabolity tak pravděpodobně udržují v rovnováze mnohostrannou symbiózu, což rostlině možná přináší další výhody. Nesmíme také zapomenout, že tyto látky mohou houbám prospět i mimo endofytní fázi, která ovšem u daných druhů nemusí být zatím známa.

Na závěr můžeme zmínit i případ dokládající komplikovanost symbiotické povahy mezi endofytní houbou a její rostlinou. V medicíně široce využívaná látka pojmenovaná paclitaxel (někdy uváděná pod obchodním názvem taxol), která inhibuje buněčné dělení (mitózu) a hojně se uplatňuje při léčbě některých karcinomů, byla poprvé izolována z kůry tisu západoamerického (*Taxus brevifolia*). Následně byla detekována i v kultuře endofytní houby izolované z kůry tisu a pojmenované *Taxomyces andreanae* (nejasně postavení v rámci hub vřeckovýtusných). Kmen této houby byl



patentován s vidinou budoucí masivní produkce léčiva, což spustilo velkou lavinu studií endofytních hub z tisů a dalších jehličnanů a hledání jejich produkčního potenciálu paclitaxelu. Z důvodu nepřesnosti při měření pak byl paclitaxel detekován i v kultuře několika jiných druhů hub izolovaných z tisů a dalších jehličnanů a byla vznesena i teorie o horizontálním přenosu genů pro tvorbu paclitaxelu z tisů na houby. V nedávné době se prokázalo, že *T. andreanae* a další testované druhy hub nemají ve svém genomu geny nutné k syntéze paclitaxelu a že jeho detekce v médiu v čerstvých izolátech byla způsobena buď zjištěním jiných, strukturně podobných látek, nebo skutečnou přítomností pacli-

taxelu, ale jen absorbovaného na povrchu mycelia čerstvě izolované kultury. Následně ale byly tyto geny nalezeny v genomu štětičkovce *Penicillium aurantiogriseum* (řád plesnivkotvaré – Eurotiales) izolovaného jako endofyt z ořechů lísky obecné (*Corylus avellana*), což opět otevřelo diskuzi o schopnosti hub produkovat paclitaxel. Zároveň bylo zjištěno, že produkce této látky v tisu vychází ze současného přispění metabolických drah rostliny i endofytní houby, a to vzájemnou stimulací. Vzhledem k tomu, že paclitaxel má také antifungální efekt, slouží tato společná produkce jak při ochraně rostliny před patogenními houbami, tak endofytní houbě jako ochrana před konkurenčními druhy.

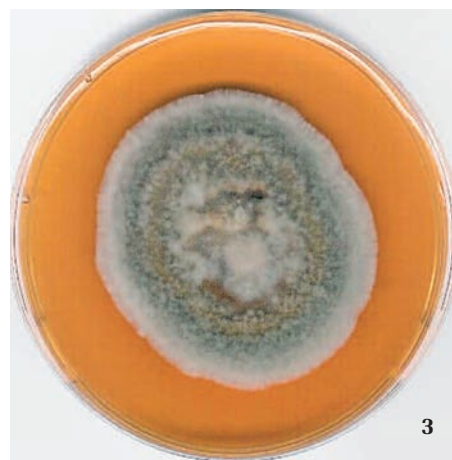
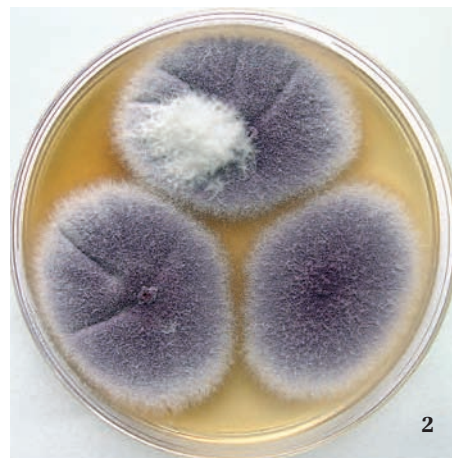
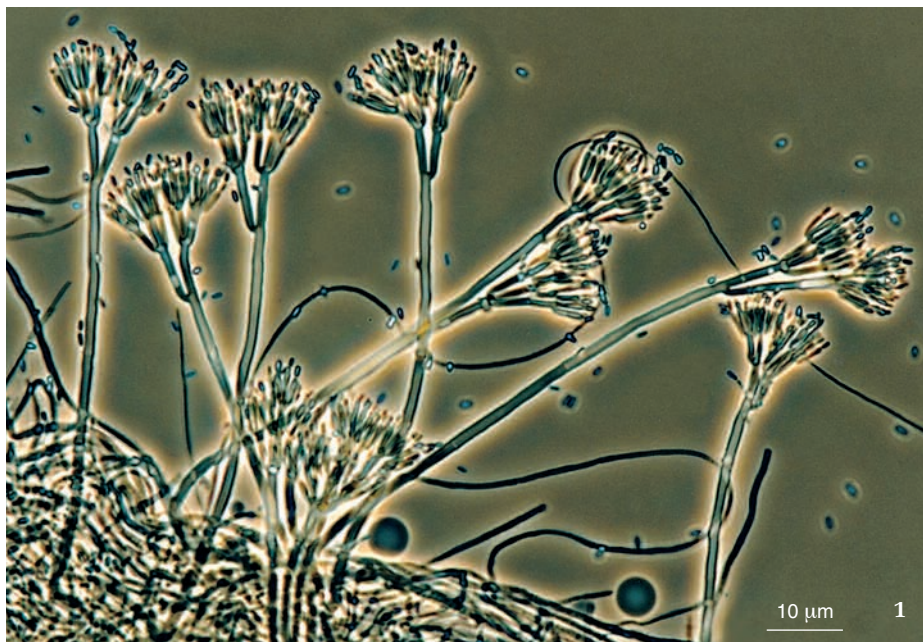
Endofytní houby jsou i po několika desetítkách let studia stále předmětem intenzivních výzkumů. Tyto výzkumy probíhají na rostlinách ze všech suchozemských ekosystémů, ale je zřejmé, že největší bohatství v sobě skrývají tropy – díky vysoké diverzitě rostlin. Pomineme-li objevy nových druhů hub, jež byly popsány mezi endofyty, je největší motivací k jejich dalšímu výzkumu nález nových bioaktivních sloučenin, které se možná v budoucnu stanou účinnou látkou nového léčiva.

Seznam použité literatury uvádíme na webové stránce Živa.

Alena Kubátová

## Zajímavosti ze Sbírkky kultur hub (CCF) v Praze

Jako botanici budují herbářové sbírky, tak i mykologové udržují sbírky hub – v podobě vysušených herbářových položek nebo živých kultur mikroskopických hub. Jsou uchovávány jako dokladový materiál výzkumné činnosti, a tvoří nedílnou součást vědeckovýzkumných institucí. Přesto bývají někdy vnímány spíše jako finanční zátěž. Nicméně představují velmi významné genetické zdroje, hojně využívané ve výuce, ale i jako snadno dostupný srovnávací materiál v taxonomických pracích i ve studiu ekologických preferencí a fyziologických a biochemických vlastností. Mikroskopické houby (mikromycety) totiž produkují řadu metabolitů (např. enzymy, antibiotika, pigmenty), které mohou být a jsou využívány v potravinářství a farmacii, používají se v biologických formách ochrany proti škůdcům v zemědělství a lesnictví, ale i v dalších oborech. Mnohé specifické vlastnosti mikromycetů však ve sbírkách kultur stále čekají na odhalení. Více v článku na str. CXXV kulérové přílohy tohoto čísla.



**1** Houby rodu *Geosmithia* jsou ekologicky vázané na lýkožravý hmyz. Konidiofory připomínají svým štětcovitým vzhledem rod štětičkovce (*Penicillium*). Zvětšení 400×, fázový kontrast

**2** Druh *Geosmithia lavendera* (CCF 3654 – unikátní kód houbového izolátu, pod kterým je uložen ve Sbírkce kultur hub) je jednou z mála hub zbarvených světle fialově. Produkuje antrachinony, které reagují na pH – v kyselějším prostředí se zbarvení jeho kolonií mění do červená.

**3** Rod *Biatrispora* nacházíme v přírodě vzácně, často ve spojení se dřevem. Nově popsáný druh *B. antibiotica* (CCF 4378) tvoří nenápadné šedavé kolonie a na agarovém médiu nesporuluje. Přes zdánlivou obyčejnost je ale schopen produkovat silná antibiotika.