Alena Nováková

Půdní houby

Půda je přírodní útvar vyvinutý z povrchových zvětralin zemské kůry a organických zbytků působením klimatu a živých organismů. Představuje komplexní a stále se vyvíjející systém s množstvím abiotických a biotických složek, heterogenní prostředí se spoustou mikrohabitatů lišících se chemickými a fyzikálními vlastnostmi. Tato mikrostanoviště jsou osídlena edafonem – půdními organismy, včetně mikrobioty a podzemních částí rostlin. Půdní mikrobiota (archea, bakterie, protista, houby a v povrchových vrstvách i řasy a cyanobakterie, dříve sinice) tvoří důležitou a nedílnou složku půd, a právě půdní houby představují vzhledem k jejich biomase a fyziologické aktivitě nejvýznamnější skupinu, zatímco nejpočetnější jsou bakterie.

Klasifikace půdních hub

Půdní houby *sensu lato* (v širokém slova smyslu) představují všechny druhy hub žijící v půdě a jejich bohaté spektrum zahrnuje několik ekologických skupin. První z nich jsou parazitické houby – obligátní i fakultativní paraziti rostlin, živočichů včetně člověka, ale také jiných hub (mykoparaziti). Mohou se vyskytovat v půdě pouze ve formě spor a čekat na vhodného hostitele, ale některé parazitické druhy jsou schopné růstu po určitou část životního cyklu i saprotrofně. Do této skupiny můžeme přiřadit oportunní houby – tedy druhy běžně saprotrofní (využívají mrtvou organickou hmotu rostlinného, živočišného nebo mikrobiálního původu jako zdroj energie a živin pro svůj růst), ale za určitých podmínek mohou přejít k parazitování. V půdě se dále vyskytují houby rhizosférní, žijící v blízkosti kořenů rostlin, a rhizoplánní, přímo na povrchu kořenů. Druhové složení těchto skupin je odlišné od hub ve volné půdě vzhledem k přítomnosti specifických látek produkovaných kořeny rostlin (kořenových výměšků). Zástupci mykorhizních hub žijí v půdě v mutualistické symbióze s kořeny rostlin, ve stavu výhodném pro obě strany. Podle toho, zda kořeny obrůstají a vytvářejí na jejich povrchu spleť myceliálních vláken (myceliální plášť) a pronikají do kořenů jen pomocí speciálních hyf, nebo výrazně prorůstají do kořenů rostlin a vytvářejí uvnitř jejich buněk zvláštní útvary, rozeznáváme ektomykorhizní a endomykorhizní houby (více o druhé skupině viz články na str. 233–240 této Živy). Nesmírně zajímavou skupinou půdních hub jsou houby-predátoři. Specializují se na odchyt různých půdních živočichů, např. hlístic háďátek, a vytvářejí za tímto účelem různé útvary – síťky, oka apod., do nichž živočichy chytají. Dále zmíníme koprofilní houby, tedy druhy rostoucí na exkrementech živočichů. Exkrementy ve formě trusu savců, ptáků atd. se nacházejí hlavně na povrchu půdy, ale v půdě je přítomno i značné množství na první pohled neviditelných fekálních peletek půdních bezobratlých, poskytujících houbám živiny. Fekální peletky obsahují určité látky, jimiž je organický materiál obohacen při průchodu střevním traktem, a které se ve volné půdě nevyskytují (např. guaninové granulky bohaté na dusík).

1 Půdní profil podzolu v horském smrkovém lese na Mumlavské hoře v Krkonoších. Zřetelně jsou vidět půdní horizonty – humusový, vybělený (eluviální) a obohacený železitými a hlinitými sloučeninami (iluviální). Foto F. Novák

2 Přirozeně odhalený půdní profil v lesním porostu u Mikulova na Moravě

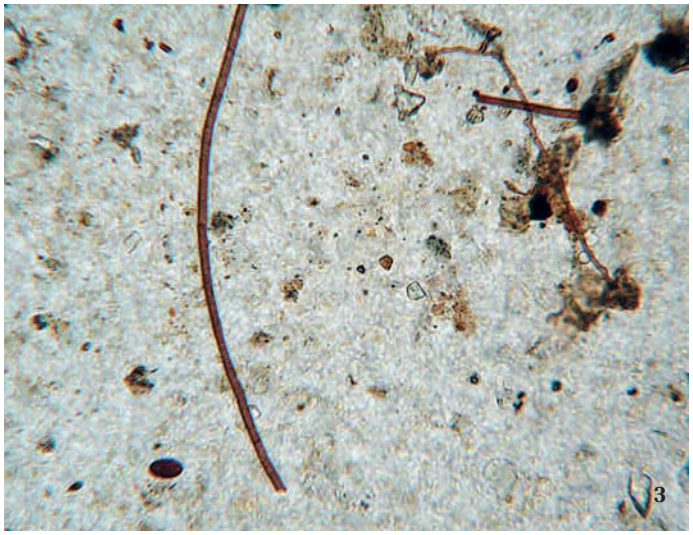
3 a 4 Pro stanovení celkového počtu a biomasy hub pomocí mikroskopických preparátů se využívají filtrace přes membránové nebo karbonátové filtry a různá barviva. Mikroskopický preparát obarvený anilinovou modří s hnědě obarvenými fragmenty mycelia a sporami hub (obr. 3). V preparátu s fluorescenčním barvivem kalkofluorem mycelium v ultrafialovém záření modře fluoreskuje (4).

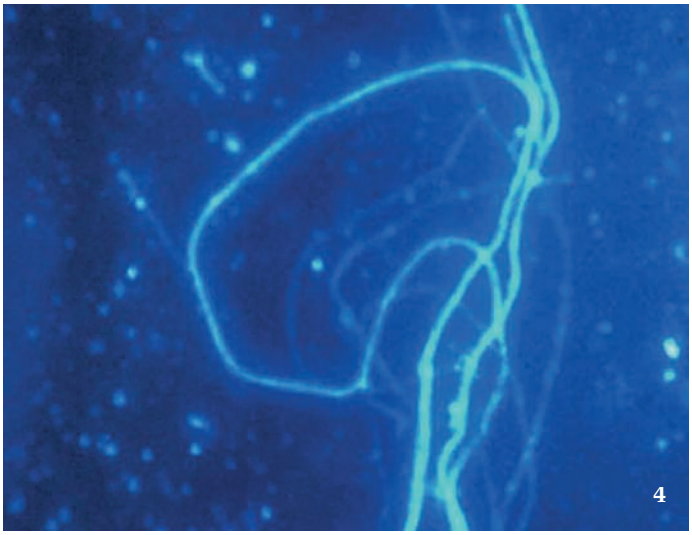
5 až 7 Izolace mikroskopických hub z půdních vzorků pomocí zřeďovací metody probíhá pro zvýšení míry záchytu současně na několika izolačních médiích. Sedmidenní kolonie na sladinovém agaru (obr. 5) a na médiu DRBC (agar s dichloranem, chloramfenikolem a bengálskou červení, 6 a 7)

8 až 10 Sedmidenní kolonie různých druhů rodu štětičkovec (*Penicillium*), které se liší zbarvením, rýhováním kolonií, produkcí sekundárních metabolitů (dochází k zabarvení agarového média nebo vytváření exudátu – roztoků sekundárních metabolitů na povrchu kolonií).

Poslední skupinu tvoří pravé půdní houby (nebo také půdní houby *sensu stricto*), saprotrofní mikroskopické vláknité houby, kvasinky a bazidiomycety. A právě tyto houby se spolu s půdními bakteriemi účastní procesu dekompozice organické hmoty. Během ní dochází k tvorbě půdního humusu a huminových i fulvinových kyselin a k postupnému rozkladu organických látek různého původu. V rámci těchto půdních mikromycetů rozlišujeme např. primární a sekundární cukerné, celulolytické a keratinofilní druhy hub, tedy podle toho, které látky jsou schopné svým enzymatickým aparátem využít. Všechny uvedené druhy soutěží s ostatními zástupci saprotrofní půdní mikrobioty (bakteriemi a aktinobakteriemi) o substrát a účastní se sukcese při rozkladu mrtvé organické hmoty. Mikroskopické saprotrofní houby hrají v rozkladných procesech velkou roli právě díky myceliu, jež produkuje mnohem více enzymů než buňky bakterií, dokáže svým růstem překonat nevhodné prostředí a které má i výrazně větší absorp-

© Nakladatelství Academia, SSČ AV ČR, v. v. i., 2017. Přetisk článků včetně obrázků se výslovně zapovídá. Veškerá práva včetně práva reprodukce jsou vyhrazena.


3

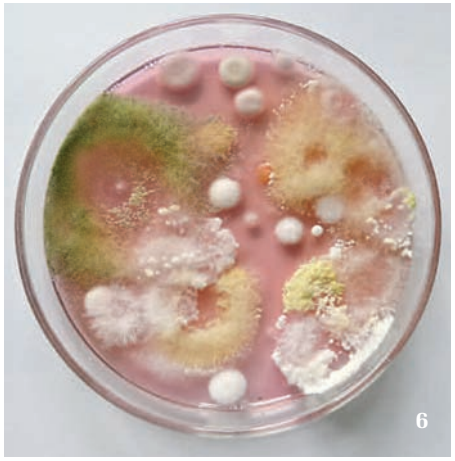

4

ční schopnost – obecně platí, že mikroskopické houby při rozkladu látek transportují do mycelia více než 50 % rozložených látek, zatímco u bakterií jde pouze o 20 %. Tvorba humusu a mineralizace organických látek je primární funkcí mikroskopických hub v půdě. Jejich neméně významná aktivita spočívá v produkci různých sloučenin, sekundárních metabolitů, jež se uplatňují v kompetičním boji o substrát (různé mykotoxiny a antibiotika). Samozřejmě obdobné látky s antibiotickými vlastnostmi produkují i bakterie, které se tím snaží zamezit houbám v jejich činnosti v půdě a mohou vyvolávat přítomností těchto látek v půdě jak exogenní dormanci (nemožnost spor klíčit), tak fungistázi (zamezení růstu mycelia). Půdní mikroskopické houby také využívá jako potravu řada půdních bezobratlých, někteří z nich i napomáhají šíření hub za-chycením spor na povrchu těla. Spory jsou aktivovány právě po průchodu střevním traktem těchto živočichů. V neposlední řadě se mikromycety podílejí na tvorbě mikrostruktury půdy, kdy tvorbou hyf splétají mikročástice, ale mohou rovněž ovlivnit vsakování vody a vodoodpudivé vlastnosti půdy produkcí hydrofobních bílkovin. Tyto proteiny, někdy nazývané také glomaliny podle prvního nálezu v myceliu arbuskulárně mykorhizních hub rodu *Glomus*, mohou představovat až jednotky procent celkové půdní organické hmoty.

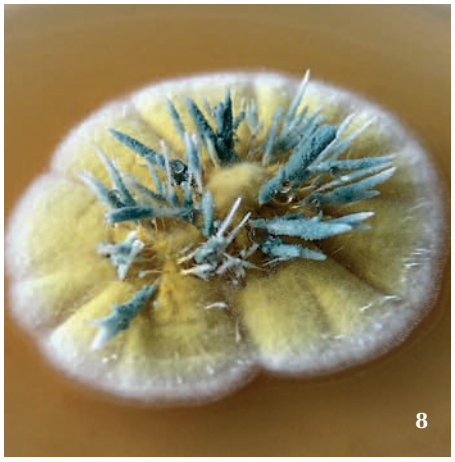
Metody studia půdních hub

První izolace půdních hub a získání jejich kultur byla provedena v r. 1886 německým badatelem Leopoldem Adametzem. V té době však byla půda ještě považována jen za rezervoár spor hub, a tento pohled se udržel až do začátku 20. stol. Teprve zdokonalením izolačních a kultivačních metod mohlo začít důkladné studium půdní mikrobioty včetně hub. Bylo zkoumáno nejen druhové zastoupení hub v různých typech půd a v půdním profilu, ale i působení rostlinného pokryvu, klimatických vlivů atd. na přítomnost hub v půdách. Zdokonalováním metod se měnil i názor na půdní houby – získané výsledky řady studií ukázaly, že se v půdě nevyskytují pouze ve formě spor, ale vytvářejí bohatá mycelia, účastnící se různých rozkladných procesů. Prvním přístupem, který prokázal přítomnost mycelia v půdě, se stala Rossi-Cholodného otisková metoda. Na obarvených sklíčkách bylo možné pozorovat shluky bakterií, spory a vlákna hub, ale i vlákna aktinobakterií (dříve aktinomycety).

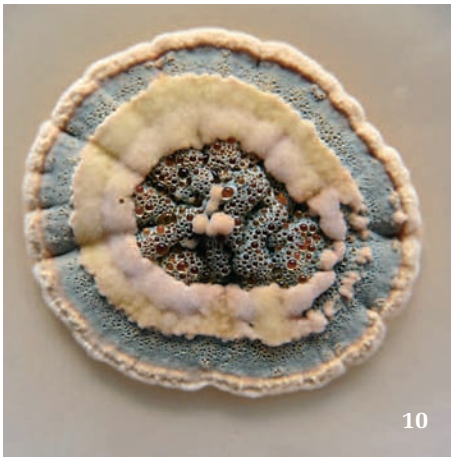
5


6

7

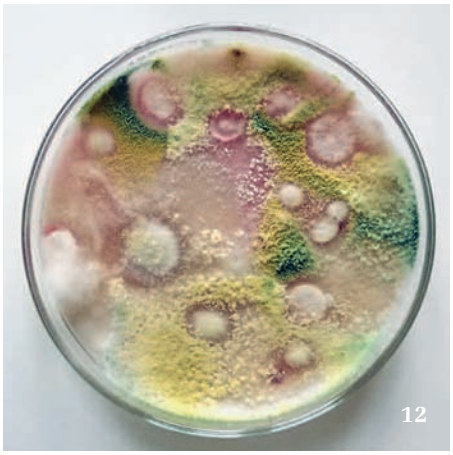

8

9

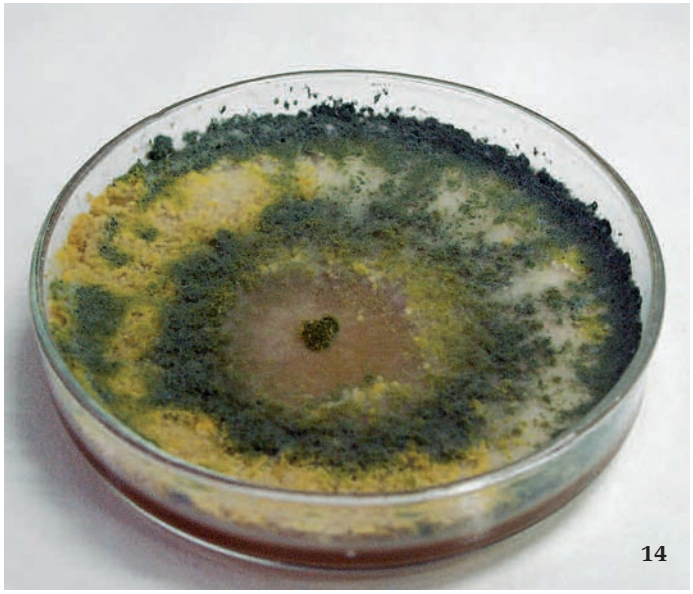

10

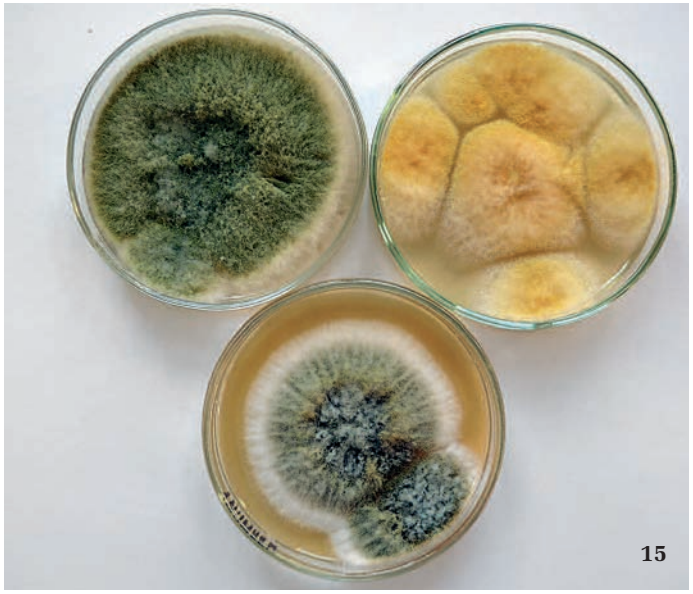
© Nakladatelství Academia, SSČ AV ČR, v. v. i., 2017. Přetisk článků včetně obrázků se výslovně zapovídá. Veškerá práva včetně práva reprodukce jsou vyhrazena.

11


12

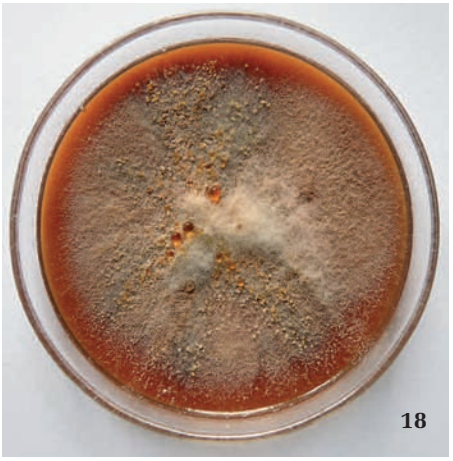
13


14


15

16

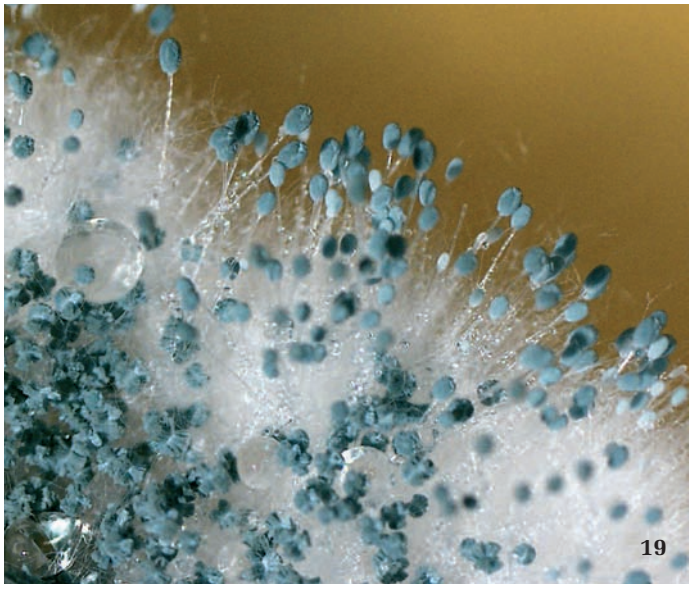
17


18

Snaha o vyjádření kvantitativního zastoupení jednotlivých skupin organismů přinesla vznik dalších metod založených na různých technikách barvení a způsobu zachycení půdní mikrobioty a pozorování ve světelném mikroskopu. Výsledkem byly nejen celkové počty mikroorganismů, ale také vypočtené hodnoty biomasy. Tyto metody zahrnují techniku agarových filmů Jonese a Mollisona a membránovou filtraci včetně následného barvení a proměřování mikroskopického preparátu ve světelném nebo fluorescenčním mikroskopu (obr. 3 a 4). Všechny uvedené postupy jsou značně časově náročné a přitom ve srovnání se studiem půdních bakterií nedosahují tak přesných výsledků. To je způsobeno specifikem hub – na rozdíl od bakterií, u kterých za jedince považujeme každou buňku, v případě hub je těžké jedince vůbec definovat. Houby mohou být v půdě přítomné ve formě jedno- až mnohobuněčných spor, vytvářejí ale zároveň mnohobuněčné a mohutně větvené mycelium (při přípravě preparátu dost často dochází k segmentaci mycelia), sklerotia, chlamydospory, některé dokonce i plodnice, a to je příčinou problémů pro stanovení jak celkového počtu houbových částic na jednotku půdy, tak biomasy. Samozřejmě při dlouhodobém standardním používání určitých metod získáme porovnatelné výsledky z různých půd, ale na rozdíl od bakteriologů víme, že jsou zatíženy mnohem větší chybou a ke skutečným hodnotám mají daleko. Proto byly vedle přímých mikroskopických metod využívány pro stanovení biomasy např. metody založené na stanovení obsahu glukosaminů, jež tvoří základní součást buněčné stěny hub, a ergosterolů, představujících typické houbové složky v membránách. Na základě jejich množství lze odvodit biomasu hub ve vzorku půdy.

Pomocí různých izolačních metod – od klasické zřeďovací metody (kterou je více než 90 % izolovaných druhů získáno ze spor), kdy se půdní suspenze pipetuje a roztírá na povrch agarových ploten v kultivačních Petriho miskách, a jejích modifikací (Warcupova metoda „soil plate“, zalévání půdní suspenze agarovým médiem apod.), přímé izolace přenesením malého množství půdy na povrch agarové plotny,

© Nakladatelství Academia, SSČ AV ČR, v. v. i., 2017. Přetisk článků včetně obrázků se výslovně zapovídá. Veškerá práva včetně práva reprodukce jsou vyhrazena.

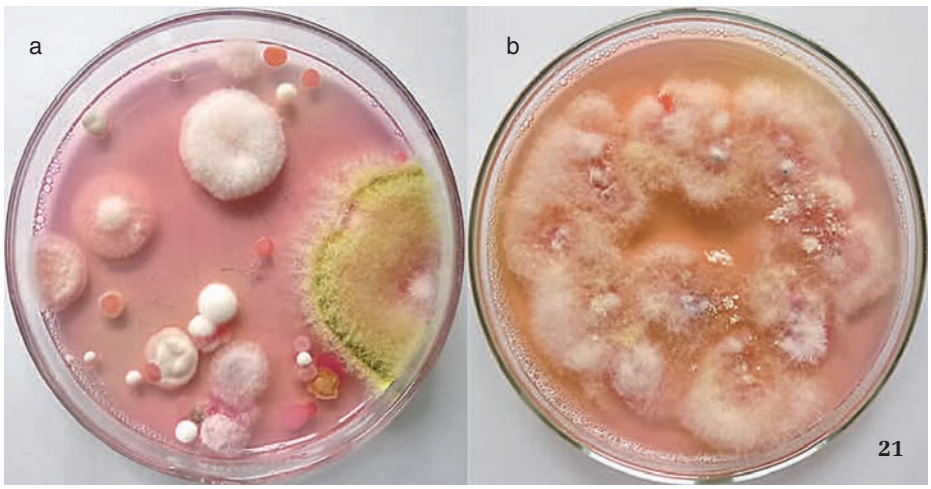


11 *Trichothecium roseum* – čtrnáctidenní růžové kolonie na sladinovém agaru. *T. roseum* patří k celosvětově rozšířeným druhům, typickým znakem jsou konidie v řetízku s klikatým uspořádáním.
12 až 14 Často izolovanými druhy půdních mikromycetů jsou zástupci rodu *Trichoderma*. Rod zahrnuje jak celulolytické houby, tak oportunistické (fakultativní) symbionty rostlin a známé antagonisty mnoha houbových onemocnění. Převažující kolonie *Trichoderma* sp. na Petriho misce při izolaci zřeďovací (obr. 12) a promývací metodou (13); sedmidenní kolonie *T. viride* na sladinovém agaru (14)
15 Sedmidenní kolonie kropidláku *Aspergillus parasiticus* rostoucí na různých médiích (CYA – Czapkův agar s kvasničným extraktem, MEA – agar se sladovým extraktem, YES – agar s kvasničným extraktem). Různé zabarvení a vzhled kolonií jsou způsobeny přítomností různých živin v kultivačním médiu.
16 *Aspergillus stella-maris*, sedmidenní kolonie na sladinovém agaru
17 Tmavě pigmentované sterilní mycelium *A. stella-maris* – tmavé zbarvení způsobuje produkce melaninu.
18 *Fusarium* sp. – sedmidenní kolonie na sladinovém agaru s typickým uvolňováním červeného pigmentu i do média
19 Okraj kolonie *A. clavatus* s viditelnými konidiofory
20 Tmavě pigmentované jednobuněčné konidie zástupce rodu *Harknessia* s průhlednými (hyalinními) přívěsky jsou vytvářeny ve sporodochiích (stromatický útvar, na jehož povrchu se tvoří konidiofory) nejen na rostlinném opadu, ale i při kultivaci.
21 Izolací mikroskopických hub pomocí zřeďovací metody (a) a promývací metody (b) je ze stejného vzorku půdy (výsypka po těžbě černého uhlí, Illinois, USA) získáno zcela odlišné spektrum hub – v případě zřeďovací metody je izolované spektrum zastoupeno koloniemi rodů *Clonostachys*, *Penicillium*, *Verticillium* aj., včetně jedné kolonie rodu *Trichoderma*, zatímco promývací metodou byly získány převážně různé kmeny rodu *Trichoderma*. Snímky A. Novákové, pokud není uvedeno jinak

izolace pomocí záchytných metod (na specifický substrát – např. vlas pro záchyt keratinofilních druhů nebo kousky filtračního papíru pro záchyt celulolytických hub) či částečné sterilizace půdních vzorků případně filtrace, až po promývací metodu, naopak umožňující zachytit z půdy druhy ve formě mycelia – a dále nezbytnou kombinací různých izolačních médií, se ukázalo, že v půdách najdeme skutečně široké spektrum mikromycetů. Zahrnuje zástupce oddělení spájivých hub (Mucoromycota), vřeckovýtrusných (Ascomycota) i nepohlavní zástupce stopkovýtrusných hub (Basidiomycota). Mezi nejčastěji izolované druhy saprotrofních mikromycetů patří zástupci rodů štětičkovec (*Penicillium*, na obr. 8–10), *Talaromyces*, *Trichoderma* (viz obr. 12–14), *Fusarium* (obr. 18), *Absidia*, *Mucor* (včetně dříve samostatného rodu *Zygorhynchus*), *Mortierella*, *Clonostachys*, *Cladosporium* a v teplejších oblastech kropidlák (*Aspergillus*, viz obr. 15–17 a 19).

Různé typy půd, půdy s odlišným vegetačním krytem nebo jednotlivé půdní horizonty se liší kvantitativním i druhovým zastoupením půdních mikromycetů. Izolace mikroskopických hub včetně získání čistých kultur a determinace izolovaných druhů je dlouhodobý náročný proces. Přesto se ani kombinací izolačních metod a médií nepodaří nikdy izolovat všechny druhy mikromycetů, které se v půdě nacházejí – nezachytíme např. druhy ve stavu dormance, případně fungistáze. Půda také představuje skutečně velice heterogenní systém plný množství mikrohabitatů lišících se podmínkami i osídlením, a z tohoto důvodu by pro zvýšení míry záchytu bylo potřeba současně izolovat z většího množství vzorků odebraných na jedné lokalitě a pravidelné izolace opakovat v průběhu několika let. Vzhledem ke geometrické řadě počtu Petriho misek, na nichž postupně izolace probíhá, to ale není většinou možné uskutečnit, zvláště při současném zpracování několika lokalit. Dlouhodobé studium půdních mikromycetů v lesních půdách ve Wisconsinu (USA) např. ukázalo, že i po 30 letech jsou při následných izolacích nalézány stále nové druhy, které dříve na stejných plochách zjištěny nebyly.

Díky použití molekulárních metod víme, že v půdě existuje celá řada hub, které se dosud vůbec nepodařilo izolovat, a naopak pravidelně izolované druhy tvoří jen malou část půdní mykobioty. Molekulární metody spolu se skenovací mikroskopií a chemickou analýzou sekundárních metabolitů se staly nedílnou součástí identifikace mikromycetů a přispívají k přesné a rychlé determinaci. Přesto patří půdní mikroskopické houby k poměrně málo probádaným skupinám a zaslouží si další studium týkající se nejen jejich kvantitativního zastoupení, druhového složení a stanovení dominantních druhů, ale také interakcí s ostatními půdními organismy a produkce sekundárních metabolitů.



© Nakladatelství Academia, SSČ AV ČR, v. v. i., 2017. Přetisk článků včetně obrázků se výslovně zapovídá. Veškerá práva včetně práva reprodukce jsou vyhrazena.