

Zajímavosti ze Sbírkky kultur hub (CCF) v Praze

Na katedře botaniky Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy, v areálu zdejší Botanické zahrady UK, sídlí již přes 50 let nenápadná sbírka živých kultur hub s názvem Sbírkka kultur hub (Culture Collection of Fungi, CCF). Nejde však o laboratoř s baňkami plnými hříbků nebo křemenáčů, jak by si někdo mohl představovat. Je zaměřená na mikroskopické kultivovatelné druhy, tedy saprotrofní, případně příležitostně patogenní houby. Zaměření sbírky bylo víceméně předurčeno specializací její zakladatelky Olgy Fassatiové na saprotrofní vláknité mikroskopické houby – podrobnější údaje o významu sbírek živých kultur mikroorganismů a jejich historii se můžete dočíst v článku O. Fassatiové v *Živě* (1998, 5: LXVI–LXVII).

Sbírkka obsahuje hlavně houby vřecovýtrusné (Ascomycota), spájkivé (Mucoromycota) a pouze výjimečně houby stopkovýtrusné (Basidiomycota) nebo houbám podobné organismy (Peronosporomycota). V současné době uchovává přes 4 000 kmenů hub. Za posledních 20 let se objem více než zdvojnásobil (v r. 1997 uchovávala kolem 1 800 kultur). Nyní je největší sbírkou saprotrofních vláknitých mikromycetů u nás. Více než polovina těchto kultur pochází přímo z území České republiky. Velmi cennou částí sbírky jsou typové kultury, tedy izoláty, které slouží jako důležitý vědecký doklad a srovnávací materiál pro jiné studie. V tab. 1 jsou uvedeny doplňující informace o Sbírcce kultur hub a některé ilustrační fotografie zde zmiňovaných zajímavých druhů najdete na str. 231–232 tohoto čísla.

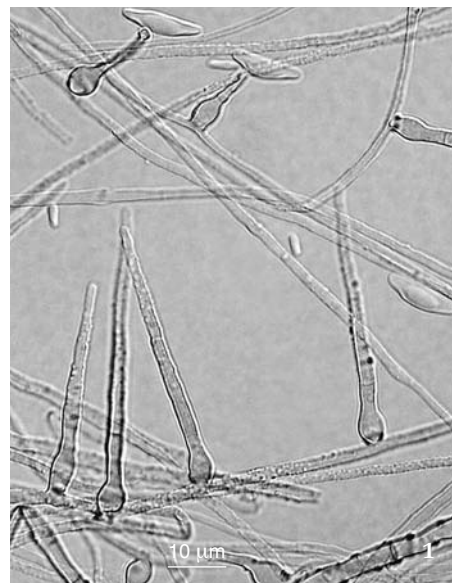
Metody uchovávání hub v CCF

Dramatické změny v množství hub, ale i v jejich druhovém spektru si vyžádaly zavedení různých metod uchovávání. Zatímco v počátcích existence sbírky se hou-

bové kmeny uchovávaly pouze na agarových živných médiích ve zkumavkách v chladničce, případně ve zkumavkách pod minerálním olejem, od konce 80. let byla zavedena účinnější metoda dlouhodobé konzervace, a to lyofilizace (sušení mrazem). Od r. 2010 jsou některé houby uchovávány také v alginátových peletách a od r. 2016 je v omezeném rozsahu využíváno i zmrazení při -20 °C či kryoprezervace v tekutém dusíku při teplotě -196 °C. Tyto metody se v CCF používají hlavně pro typové kultury. Podrobnější údaje o metodách konzervace mikromycetů se dozvíte v článku na str. CXXXV.

Zajímavé izoláty

Sbírkka CCF během své půlstoleté existence shromáždila mikroskopické houby z různých substrátů (obr. 2). Nejvíce jich pochází z půdy, která je základním životním prostředím velkého množství mikromycetů a také bankou, v níž odpočívají jejich spory. Další početnou skupinou, o kterou se CCF rozšířila až v posledních letech, jsou klinicky významné houby. Patří mezi ně zvláště dermatofyty způsobující onemocnění kůže, nehtů a vlasů, ale i původci mykóz vnitřních orgánů člověka. Významnou skupinu představují mikromycety způsobující kažení (degradaci) potravin a krmiv a všeobecně mikroskopické houby, které se vyskytují v prostředí budov (indoor fungi). Mnohdy jsou navíc schopné do napadeného substrátu produkovat různé mykotoxiny, což v případě potravin samozřejmě není vítané (blíže v článku na str. CXXXIII). Početnou skupinou jsou entomopatogenní houby, houby v asociaci s brouky a dřevinami, houby endofytní nebo rozkládající rostlinný opad. V souvislosti s posledními výzkumnými projekty se rozšířila i sbírka chladnomilných hub žijících v podzemních prostorech či druhů přizpůsobených extrémním



1 Houba *Esteya vermicola* (CCF 3115, číslo označuje tento konkrétní izolát ve sbírce) tvoří dva typy konidioforů a konidií. Větší konidie měsíčkovitěho (lunátního) tvaru slouží k infekci hádáttek. Zvětšení 1 000×

podmínkám kyselých a zasolených půd. Ve všech těchto skupinách najdeme řadu pozoruhodných druhů, které žijí skrytě v naší přírodě. Několik si jich představíme v následujícím textu.

Zajímavé bylo např. studium vztahů mikroskopických hub a lýkožravého brouka bělokaza dubového (*Scolytus intricatus*), který napadá naše duby. Zjistili jsme, že bělokaz na svém těle přenáší řadu hub. Byla mezi nimi i neznámá houba s charakteristickými měsíčkovitými (lunátními) konidii (obr. 1). Teprve v době našeho studia ji popsali vědci z Tchaj-wanu pod názvem *Esteya vermicola*. Zjistili, že je nematofágní, napadá nebezpečná hádátka borová (*Bursaphelenchus xylophilus*), která na Tchaj-wanu způsobovala vadnutí větví borovic a jejich odumírání. U nás ve středních Čechách jsme na dubech našli jiné hádátka (*B. eremus*), které využívá bělokaz k pasivnímu šíření (forezi). A v propleteném systému dub – bělokaz – foretické hádátka – *Esteya* našla tedy své místo k životu i zmíněná houba. Její měsíčkovité konidie přilnou k povrchu hádátka, proniknou jeho kutikulou a houba prorůstá tělem. Podle J. Y. Liou a kol. (1999) je schopna usmrtit hádátka během 8–10 dní. Protože ji lze poměrně dobře kultivovat, má i vysoký biotechnologický potenciál. Pokud jde o její systematické zařazení, překvapením bylo později zjištění, že patří do řádu Ophiostomatales (houby vřecovýtrusné), tedy do blízkosti jiných známých obyvatel dřevin.

Velmi často jsme se při studiu mikroskopických hub šířených na těle bělokazů setkali s vřecovýtrusnými houbami rodu *Geosmithia* (pojmenovanými na počest britského mykologa George Smitha), a tak jsou nyní ve Sbírcce kultur hub hojně zastoupeny (viz článek na str. 201). Většina z nich tvoří na dřevě (často v chodbičkách lýkožravých brouků) porosty konidioforů, které svým větvením připomínají štětíčkovec (*Penicillium*, obr. 1 na str. 231).

Tab. 1 Několik souhrnných údajů i kuriozit ze Sbírkky kultur hub (CCF)

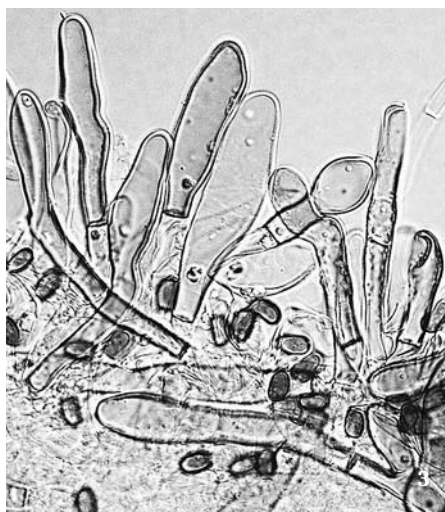
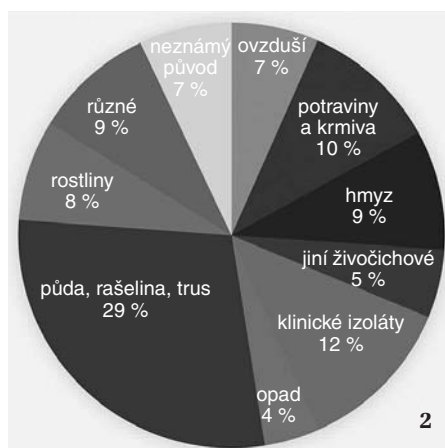
Nejpočetnější rody	<i>Aspergillus</i> (1 087 izolátů) <i>Penicillium</i> (636 izolátů) <i>Geosmithia</i> (287 izolátů)
Nejpočetnější druhy	<i>Pseudogymnoascus destructans</i> (73 izolátů) – chladnomilná houba, patogen zimujících netopýrů <i>Aspergillus flavus</i> (60 izolátů) – toxinogenní houba, vyskytuje se v potravinách a krmivech <i>Microsporum persicolor</i> (39 izolátů) – dermatofyt, způsobuje onemocnění pokožky
Nejčastější substrát	Půda a podobné substráty (rašelina, exkrementy) – základní prostředí pro aktivní život hub i přečkávání nepříznivých období
Typové kultury	380 typových kultur, především druhy rodu <i>Penicillium</i> (163) a <i>Aspergillus</i> (101)
Nejstarší houby (izolované r. 1904 a drženy v zajetí zkumavek 113 let)	<i>Aspergillus penicillioides</i> CCF 5496 – původce kožních onemocnění, Brazílie <i>Penicillium commune</i> CCF 2061 – izolované ze sýru, USA <i>Penicillium camemberti</i> CCF 2254 – rovněž ze sýru, USA
Cestovatel	<i>Penicillium citrinum</i> CCF 2024 – při studiu různými badateli a při stěhování sbírek cestoval v letech 1920–86 z USA do Prahy (Sbírkka prof. F. Krále), Belgie, zpět do USA, z Prahy do Vídně, Anglie, Holandska, Španělska a zpět do Prahy (CCF)

Proto byly také první nalezené druhy řazené do tohoto rodu (řád plesnivkotvaré – Eurotiales). Avšak fylogenetické studium naše představy zcela změnilo; *Geosmithia* patří poněkud překvapivě do řádu masenkovitvaré (Hypocreales) společně např. se známým rodem *Fusarium*. Na rozdíl od zelených štětičkovců druhy rodu *Geosmithia* tvoří bělavé či nažloutlé porosty, ale zvláště ve Středozeří najdeme i červeno-fialově zbarvené druhy (obr. 2 na str. 231). Jejich úloha není ještě zcela objasněna, ale byly mezi nimi již nalezeny druhy patřící mezi ambróziové houby (Živa 2004, 2: 73–75) a naopak i druh patogenní pro ořešáky (*G. morbida*). Zajímavé jsou metabolity těchto hub – některé izoláty mohou produkovat antibiotika působící proti trypanozomám rodu *Leishmania*, různé antimikrobiální metabolity nebo ceratoulmin (působící jako významný faktor při chřadnutí dřevin) podobně jako houby řádu Ophiostomatales.

Během studia diverzity endofytních hub jilmů jsme izolovali tmavou nenápadnou, pomalu rostoucí houbu. Při náhodné kontaminaci rychle rostoucí ohnivkou domácí (*Pyronema domesticum*) však u ní byly pozorovány silné antifungální schopnosti (tedy podobná situace, jako když Alexander Fleming na svých Petriho miskách pozoroval *Penicillium* potlačující růst stafylokoků). Naše houba netvořila žádné spory, bylo jí tedy možné identifikovat pouze pomocí molekulárních metod. Šlo o málo známý rod *Biatrispora* (vřeckovýtusné, třída Dothideomycetes) nalezený dosud hlavně v prostředí mangrovů. Naš izolát se však neshodoval se žádným dosud známým druhem, byl tedy popsán jako nový druh *B. antibiotica* (obr. 3 na str. 231) a stal se typovou kulturou. Biochemici Mikrobiologického ústavu AV ČR u této houby odhalili tak široké spektrum sekundárních metabolitů, že je možno řadit ji mezi produkční rekordmany. Šlo o naftochinony (ascomycon A a B, 6-deoxyfusarubin, 6-deoxyanhydrofusarubin, herbarin, balticol A, 6-deoxybostrycoidin, pleorubrin A, B, C, D) s výraznou biologickou aktivitou, takže houba má velký biotechnologický potenciál.

Mezi endofyty našich listnatých dřevin jsme také objevili houbu s pyknidami (obsahují konidiofory s nepohlavně vzniklými konidii), které v době zralosti nepravidelně praskaly. Nazvali jsme ji pracovním rozpukec (obr. 4 a 5 na str. 232). Výsledky analýz molekulárních dat prokázaly, že jde o neznámý rod, který jsme popsali jako *Liberomyces* se dvěma novými druhy (Pažoutová a kol. 2012). Ukázalo se, že rod má blízké vztahy k řádu masenkovitvaré (vřeckovýtusné, třída Sordariomycetes), kam patří i mnohé další endofytní houby. Jakou konkrétní úlohu plní tato houba uvnitř stromu, jako je vrba, dub, olše a jilm, však zatím nevíme.

Zcela náhodný byl nález na housenkách obalece jablčného (*Cydia pomonella*), které byly napadeny bílou entomopatogenní vřeckovýtusnou houbou *Lecanicillium muscarium*. Na Petriho misce však vyrostla ještě jedna bíle zbarvená houba. Mikroskopické struktury (obr. 7 na str. 232) odpovídaly rodu *Filobasidiella*, dnes *Cryptococcus*. Naštěstí to nebyl *C. neoformans*,



2 Původ izolátů v pražské Sběrce kultur hub (CCF). Orig. A. Kubátová
3 a 4 Hnojník domácí (*Coprinellus domesticus*). Lupeny naspodu klobouku nesou kromě bazidií s hnědými bazidiosporami také kyjovité cystidy (obr. 3). Zvětšení 1 000×. Druh je schopen vytvořit plodnice i na agarovém médiu (obr. 4, CCF 3733). Snímky A. Kubátové

známý patogen člověka (způsobuje kryptokokovou meningitidu), ale příbuzný druh *C. depauperatus*. I když se tato houba vyskytovala na housence, není entomopatogenní, ale je hyperparazitem houby *L. muscarium*; jde o fungikolní druh. Ze systematického hlediska je rovněž zajímavá – patří mezi stopkovýtusné houby řádu rosolovkotvaré (Tremellales). Takových případů, kdy bazidiomycet parazituje na askomycetu, není mnoho. V našich podmínkách se setkáme spíše s opačným jevem, kdy vřeckovýtusná houba parazituje na plodnicích stopkovýtusných hub,

příkladem může být známý nedohub zlatovýtusný (*Sepedonium chrysospermum*) napadající různé hříby.

Ve Sběrce kultur hub (CCF) je uchováno v současné době také velké množství klinicky významných druhů získaných z povrchu pokožky, ale i z vnitřních orgánů člověka. Jde o oportunní (příležitostné) patogeny schopné růst při 37 °C a využívat oslabení svého hostitele. Do této skupiny kupodivu patří i hnojník domácí (*Coprinellus domesticus*, viz obr. 6 na str. 232), v přírodě běžný na pařezech nebo ležícím dřevě. Je však schopen růstu i při 37 °C a může se stát zákeřným patogenem člověka. Patří k menší části stopkovýtusných hub, které rostou na agarovém médiu a dokonce na něm vytvářejí i kloboukaté plodnice. Naš izolát (obr. 3 a 4) pochází z bronchoalveolární laváže (výplachu průdušek a plicních sklípků) čtyřleté pacientky s leukémií, u které způsobil plicní infekci (mykotickou pneumonií). Naštěstí k podobným případům infekce dochází jen zřídka.

Oportunním patogenem člověka je také vřeckovýtusná houba *Talaromyces marneffeii* (dříve *Penicillium marneffeii*). Tento vnitrobuněčný parazit napadá makrofyty v krvi a je tedy opět schopen růst při teplotě lidského těla. K rozvoji onemocnění může dojít pouhým vdechnutím spor, ale pouze u lidí se sníženou imunitou, kteří trpí dalším závažným onemocněním. Pokud pak neproběhne odpovídající léčba (např. antimykotikem flukonazolem), může končit i smrtí. Tento exotický druh byl u nás naštěstí zaznamenán pouze jednou, a to u pacienta s AIDS pocházejícího z Asie. Houba je rozšířená právě v jihovýchodní Asii, kde žije ve vnitřních orgánech místních volně žijících krys (v plicích, játrech, slezině apod.), aniž by jim však způsobovala nějaké onemocnění. Při kultivaci krevního vzorku při 25 °C na agaru na sebe tato houba upozorní tvorbou nápadného červeného pigmentu (obr. 8–10 na str. 232). Na rozdíl od předchozího případu je napadení *T. marneffeii* častější, zvláště u pacientů s HIV nebo již AIDS. Patří do nebezpečnější rizikové skupiny, a to BSL-3 (BSL – biosafety level) jako např. i původce tuberkulózy *Mycobacterium tuberculosis*.

Kromě běžných dermatofytů, jimiž trpí naše populace, jako např. *Trichophyton rubrum* nebo *T. benhamiae*, je ve Sběrce kultur hub uchovávána příbuzná houba, kterou teprve nedávno popsali naši mykologové, a to *Auxarthron ostraviense* (vřeckovýtusné, řád kazirohotvaré – Onygenales). Ve sbírce je tedy jako doklad uchovávána typová kultura tohoto organismu. Houba vyvolala u muže trpícího zároveň lupénkou (psoriázou) onemocnění nehtů na obou rukách. Jde o poměrně pomalu rostoucí houbu, jejíž teplotní maximum pro růst je 32 °C (na rozdíl od výše uvedených druhů). Její mikromorfologické znaky jsou charakteristické – tvoří oranžové plodnice obsahující vřečka s askosporami (obr. 11 a 12 na str. 232). Je citlivá na antimykotika terbinafin a klotrimazol.

Podobných zajímavých druhů obsahuje Sběrka kultur hub celou řadu a mnohé stále čekají na odhalení svých skrytých schopností a vztahů s jinými organismy.

Použitá literatura na webu Živy.