

Entomopatogenní mikroskopické houby



Alena Kubátová

Sbírka kultur hub (CCF), Katedra botaniky,
Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova Praha

Připraveno s podporou "Národního programu genetických zdrojů mikroorganismů"
Ministerstva zemědělství

2019

Úvod

Houby žijící s hmyzem v jakémkoliv typu vztahu se obecně nazývají **entomogenní**. Mnohé tyto houby se po dlouhou dobu vyvíjely zároveň se svými hostiteli a vyvinuli se z nich **komezálové** nebo **mutualisti**, z jiných naopak **obligátní** nebo **fakultativní patogeni**, kteří se nejčastěji označují jako **entomopatogenní houby**.

Fosilie entomopatogenních hub

Nejstarším fosilním nálezem entomopatogenní houby je *Paleoophiocordyceps coccophagus* (prapředeck dnešní housenice) zachovaný v jantaru z období křídly (druhoohory). Je starý cca 100 milionů let.

Nejstarší zprávy

o entomopatogenních houbách

Pravděpodobně nejstarší zprávy o onemocnění hmyzu zaznamenané člověkem se týkají pěstování bource morušového v Japonsku kolem roku 900 n. l. Předpokládá se, že šlo o napadení bource houbou *Beauveria bassiana*.

Jak entomopatogenní houby infikují hmyz?

K infekci dochází nejčastěji **prostřednictvím houbových spor**, které se v prostředí šíří různými způsoby: vodou, vzduchem či na tělech drobných živočichů. Pokud jsou spory pozřeny, infekce začíná **v trávicím traktu**. Avšak mnohé entomopatogenní houby působí jako **kontaktní insekticidy**, vstupují do hostitele kutikulou pomocí enzymů **lipáz, proteáz a chitináz** (de Carolina Sánchez-Pérez 2014). Tyto enzymy jsou také považovány za indikátory virulence. Pro překonání voděodolné epikutikuly houba využívá lipázy. Poté jsou produkovány proteázy, rozkládající bílkovinné látky a chitinázy, degradující chitinový exoskelet. Po vstupu houby do hostitele se patogen rozrůstá v jeho těle a produkuje i různé sekundární metabolity, např. depsiptydy, které působí toxicky. Infikovaný hmyz pak jeví různé symptomy napadení: pohybuje se nekoordinovaně, přestává přijímat potravu a nakonec dochází k paralýze a úhynu.

Souboj mezi hmyzem a houbami závisí na řadě faktorů, jako je virulence patogena a citlivost hostitele, schopnost klíčení infekčních propagulí, která je ovlivněna hlavně teplotou a vlhkostí, i velikost populace hostitele i patogena. Někteří zástupci hmyzu mají vyvinuté různé obranné mechanismy, např. hledají teplejší místa nebo dokonce zvýší svou teplotu, aby houbu usmrtili. Je to však energeticky velmi náročný proces. Jiný hmyz může začít produkovat látky, které inhibují enzymy patogenní houby, např. ebelacton B, inhibující lipolytickou aktivitu patogena (de Carolina Sánchez-Pérez 2014), takže výsledná mortalita nemusí být tak vysoká. Jakmile však dojde k infekci, houba po kratší či delší době vyhrává.

Diverzita entomopatogenních hub v jednotlivých odděleních říše Fungi (upraveno podle Araújo a Hughes 2016)

Oddělení	Rody entomopatogenních hub (příklady)
Cryptomycota	-
Microsporidiomycota	<i>Amblyospora, Bacillidium, Campanulospora, Culicosporella, Episeptum, Flabelliforma, Geusia, Hazardia, Heterovesicula, Microsporidium, Nosema, Orthosomella, Perezia, Pilosporella, Pulsispora, Resiomeria, Sphaerospora, Striatospora, Tardivesicula, Toxoglugea, Vairimorpha, Vavraia, Weiseria</i>
Chytridiomycota	<i>Myiophagus, Myrmicinosporidium</i>
Blastocladiomycota	<i>Coelomomyces, Coelomycidium</i>
Zoopagomycota	<i>Ancylistes, Ballocephala, Basidiobolus, Batkoa, Conidiobolus, Entomophthora, Entomophaga, Erynia, Eryniopsis, Neozygites, Pandora, Tarichium, Thaxterosporium</i>
Mucoromycota	<i>Sporodiniella</i>
Ascomycota	<i>Ascosphaera, Cordyceps (anamorfy: Beauveria, Isaria, Lecanicillium, Simplicillium), Culicinomyces, Elaphocordyceps (anamorfa: Tolypocladium), Hypocrella (anamorfa: Aschersonia), Metacordyceps (anamorfy: Pochonia, Metarhizium), Moelleriella, Nectria, Ophiocordyceps (anamorfy: Hirsutella, Hymenostilbe), Samuelsia, Torubiella</i>
Basidiomycota	<i>Septobasidium, Uredinella</i>

Pozn. Modře jsou zvýrazněny nejvýznamnější skupiny entomopatogenních hub.

Diverzita entomopatogenních hub: je známo více než 700 druhů. Nejvíce jsou tyto houby zastoupeny mezi **mikrosporidii** a v odděleních **Zoopagomycota** a **Ascomycota** (houby vřeckovýtrusné). Řád Hypocreales (Ascomycota) obsahuje nejpočetnější skupinu entomopatogenních hub. Pokud jde o **hmyz**, největší diverzita entomopatogenních hub je spojena zvláště s řády **Hemiptera** (polokřídílí) a **Diptera** (dvoukřídílí).

Poznámka: K entomopatogenním houbám mají blízko i ektoparaziti hmyzu z řádu Laboulbeniales (Laboulbeniomycetes, Ascomycota). Tyto houby žijí na povrchu různých zástupců hmyzu. Dovnitř svého hostitele sice pronikají haustorii, ale většinou ho nijak neohrožují na životě. Naopak zástupci trichomycetů (Kickxelomycotina, Zoopagomycota) žijí uvnitř těla svých hostitelů (hmyzu i jiných členovců), a to ve střevě. Avšak chovají se většinou (až na výjimky) jako neškodní komenzálové.

Význam entomopatogenních hub pro člověka

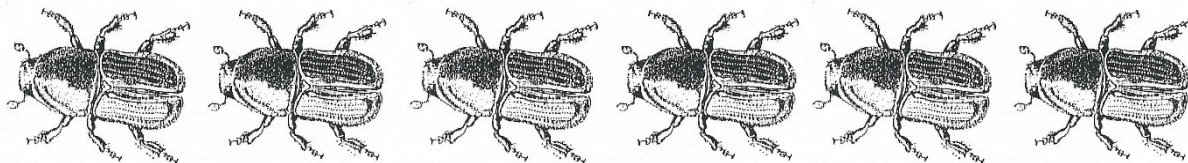
Léčebné účinky

Housenice čínská (*Ophiocordyceps sinensis*), je patrně nejstarší entomopatogenní houbou využívanou pro léčebné účinky (Antonín a kol. 2013). V tradiční čínské medicíně figuruje již 2000 let a je velice ceněna pro její všestranné využití (podpora dlouhověkosti, léčba chorob plic, srdce, ledvin, pohlavních orgánů apod.). Stromata této houby i s mumifikovanými housenkami jsou sbírána ve vysokohorských oblastech (např. Tibet) a téměř vyvažována zlatem. Současné výzkumy objevily v droze přítomnost biologicky aktivních látek (kordycepin aj.) a potvrdily některé pozitivní účinky; nicméně jistý skepticismus zde zůstává, možná také proto, že droga je často falšována.

Entomopatogenní houba ***Tolyocladium inflatum*** (Ascomycota, Hypocreales, teleomorfa *Cordyceps subsessilis*) žije často v půdách chladnějších oblastí (i u nás), ale napadá i hmyz. V 70. letech bylo zjištěno, že tato houba produkuje **cyklosporin A**, látku s **imunopresivními účinky**. Ta způsobila obrovský převrat v oblasti transplantací; je využívána k potlačení imunitní reakce pacienta.

Mykoinsekticidy v zemědělství a lesnictví

Těžiště využití entomopatogenních hub však leží v oblasti zemědělství a lesnictví, kde se jako **mykoinsekticidy (případně mykoakaricidy)** využívají ke kontrole škodlivého hmyzu. De Faria a Wraight (2007) uvádějí, že takto bylo ve světě vyvinuto více než 170 produktů, z toho 43 % v Jižní Americe. Kupodivu je však z mnoha entomopatogenních hub využíváno jen několik málo druhů (zvláště ty, které lze dobře kultivovat na umělých médiích): ***Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Isaria fumosorosea* a *B. brongniartii***. U nás dříve se používaly přípravky Boverol a Boverosil, vyvinuté našimi pracovníky a založené na houbě *B. bassiana*. I v nedávné minulosti (2007) byla tato houba experimentálně použita v boji proti kůrovci smrkovému (*Ips typographus*) na Šumavě (Landa a kol. 2007). Účinnost všech těchto biologických prostředků ochrany je však kolísavá, závisí na mnoha přírodních faktorech a ekologických vztazích, které mnohdy nejsou dostatečně prozkoumané.



Příklady entomopatogenních hub z České republiky

Akanthomyces muscarius (Petch) Spatafora, Kepler & B.

Shrestha (syn. *Lecanicillium muscarium*)

Ascomycota, Hypocreales

Popis

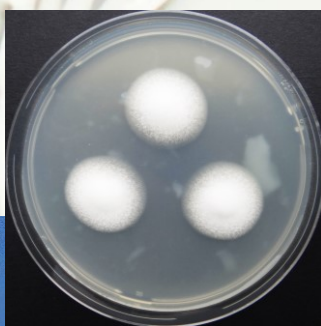
Kolonie: Nepříliš rychle rostoucí, bílé, lanózní.

Mikroskopické znaky: Tvoří přeslenitě větvené poléhavé konidiofory. Fialidy 20-35 μm dlouhé. Konidie 1-buněčné, hyalinní, dosti variabilní velikosti, 2,5-5,5 x 1-1,5 μm , v kulovitých shlucích.

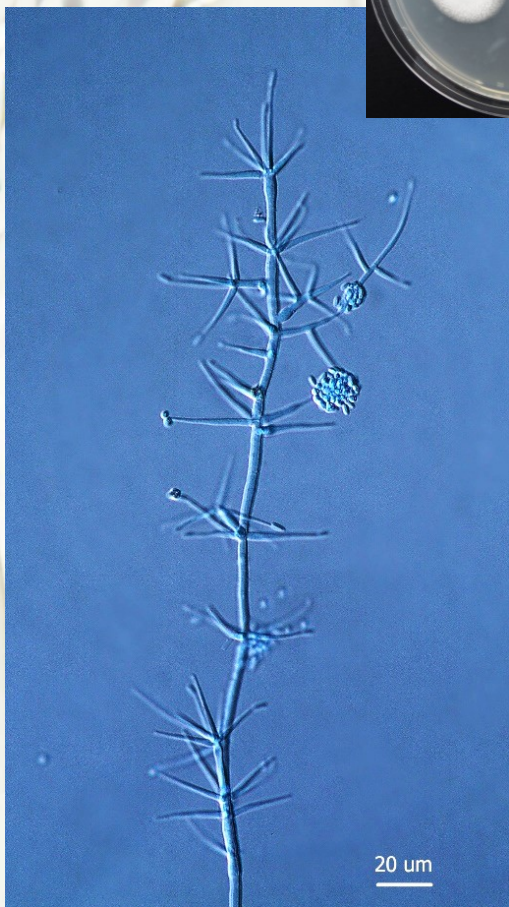
Výskyt: Houba parazitující na hmyzu, příležitostně izolovaná i z půdy. Vyskytuje se hlavně v mírném pásu.

Význam: Významná entomofágní houba.

Přeslenitě větvené
konidiofory



Kolonie na
bramboromrkvovém
agaru, 10 dní



Příklady entomopatogenních hub z České republiky

Ascosphaera apis (Maasen ex Claussen) L.S. Olive & Spiltoir
Ascomycota, Ascosphaerales

Popis

Kolonie: Rychle rostoucí, bělavé. Brzy je pozorovatelná tvorba tmavých plodnic (pouze v případě přítomnosti odlišných párovacích typů mycelia – heterothalický druh).

Mikroskopické znaky: Plodnice (cysty se sporami) kulovité, 45-120 μm v průměru, na povrchu s šedohnědou membránou. Vřevka („spore balls“, synasky) kulovitá, s mnoha askosporami, 7-18 μm v průměru. Askospory oválné, hyalinní, hladké, 1-2 x 2-3,5 μm .

Výskyt: Včelíny, larvy včel a jiného blanokřídlého hmyzu.

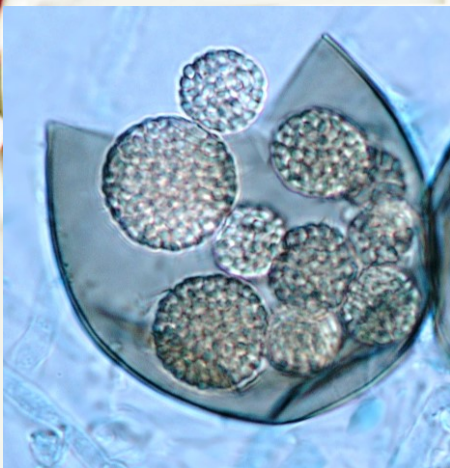
Význam: Původce onemocnění larev včel zvaného „zvápenatění“. Na povrchu mrtvých larev se tvoří tmavé plodnice. Onemocnění se vyskytuje v Evropě, od roku 1971 se šíří i v USA. Projevuje se hlavně v chladných a vlhkých letech.



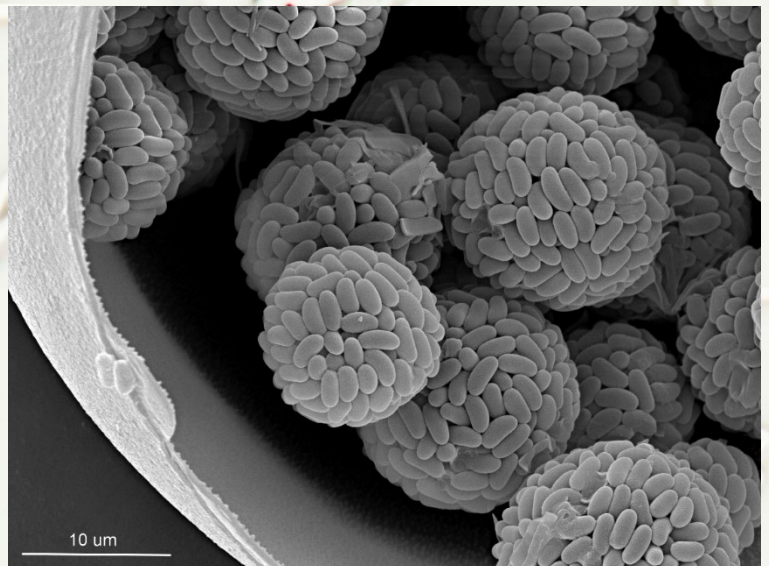
Napadené larvy včel



Kolonie na malt-extrakt agar, 21 dní



Plodnice s mnohasporovými synasky v optickém a elektronovém mikroskopu (SEM)



Příklady entomopatogenních hub z České republiky

Beauveria bassiana (Bals.–Criv.) Vuill.

Ascomycota, Hypocreales

Popis

Kolonie: Pomalu rostoucí, bělavé, lanozní, později nažloutlé.

Mikroskopické znaky: Konidiogenní buňky vyrůstají nejčastěji ve shlucích, mají charakteristicky zduřelou bázi cca 3-6 x 2,5-3,5 μm a tenký "cik-cak" krček (rachis) dlouhý až 25 μm . Konidie hyalinní, téměř kulovité, hladké, 2-3 μm v průměru. U starších kultur se fialidy stávají protáhlejší a vyrůstají častěji i jednotlivě.

Výskyt: Častý druh, celosvětově rozšířený. Izolovaný zvláště z hmyzu a z půdy.

Význam: Významná entomofágní houba.

Blízký druh *B. brongniartii* má protáhlejší konidie, druh *B. pseudobassiana* lze odlišit molekulárními metodami.

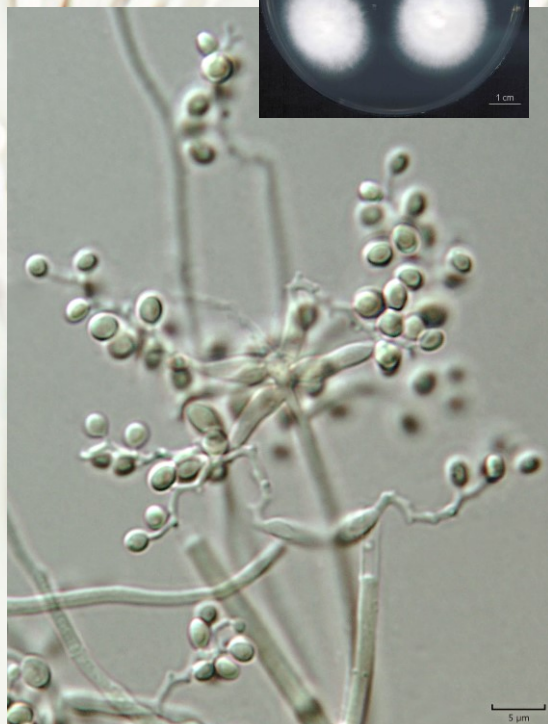
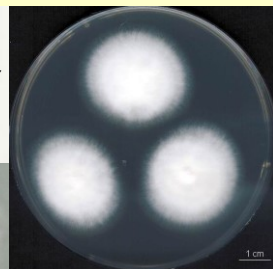


Napadený klikoroh



Napadená vosa

Kolonie na
PCA, 10 dní



Shluk konidiogenních buněk, na jejichž konci se střídavě tvoří drobné konidie

Příklady entomopatogenních hub z České republiky

Cordyceps sp.

Ascomycota, Hypocreales

Popis

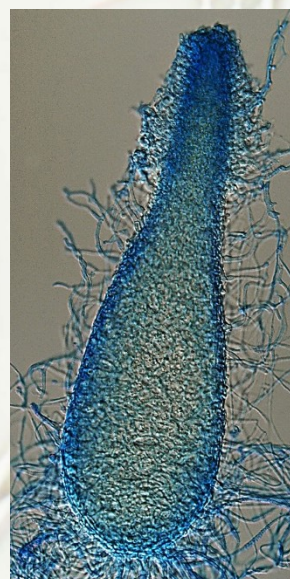
Kolonie: Dosti pomalu rostoucí, bílé.

Mikroskopické znaky: Po několika měsících v nízké teplotě se mohou vytvořit plodnice (perithecia) s dlouhými cylindrickými vřecky, která obsahují nitřovité askospory.

Výskyt: Častý na mūrách přezimujících v podzemních štolách.



Napadená píd'alka jeskynní – ve vrcholové části synnemat jsou shluky drobných plodnic (perithecií)



Mladé lahvicovité perithecium vyrostlé v kultuře po 6 měsících při 15 °C



Z vrcholové části zralého perithecia se uvolňují nitřovitá vřecky



kolonie se synnematy a perithecií na agaru po 10 měsících při 15 °C

Příklady entomopatogenních hub z České republiky

Entomophthora destruens Weiser & A. Batko

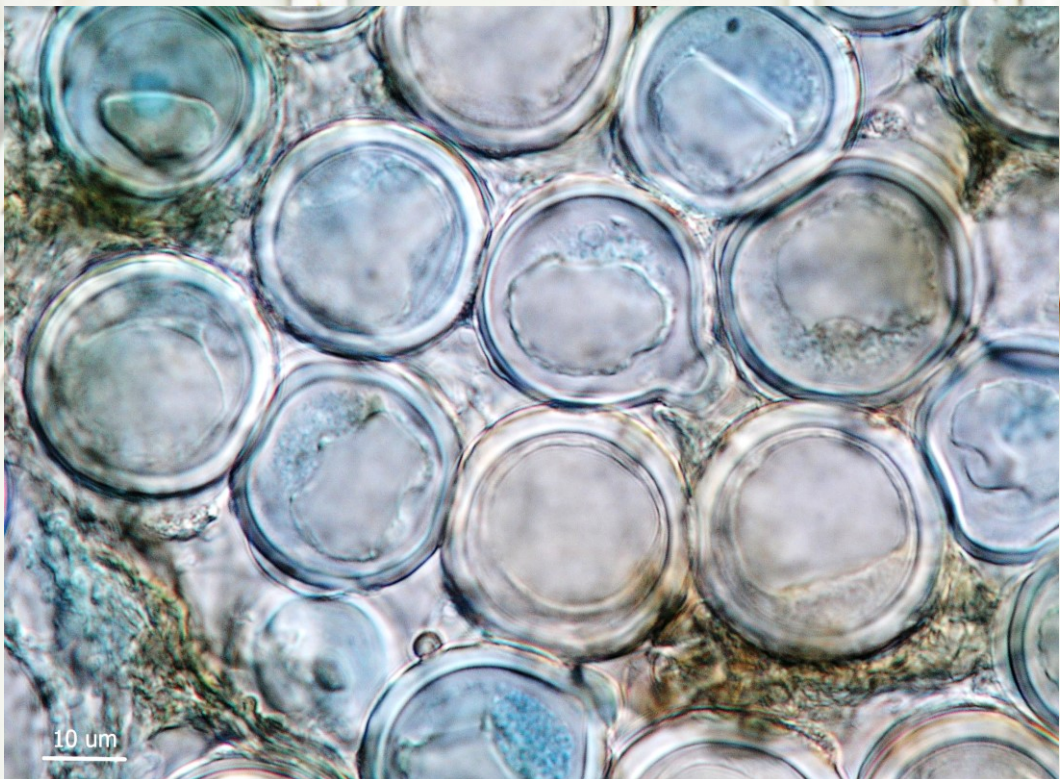
Zoopagomycota, Entomophthorales

Mikroskopické znaky: Na uhynulých tělech komárů lze nalézt odpočívající hladké spory se silnou stěnou, opatřené papilou, velké 24-33 μm .

Výskyt: Na komárech přezimujících v podzemních štolách, jeskyních i vinných sklípcích.

Pozn. Houba byla popsána r. 1982 naším parazitologem J. Weiserem z nálezů na komárech (*Culex pipiens*) na jižní Moravě.

Umělá kultivace je velmi obtížná.



odpočívající spory z povrchu těla napadeného komára

Příklady entomopatogenních hub z České republiky

Isaria farinosa (Holmsk.) Fr.

Ascomycota, Hypocreales

Popis

Kolonie: Nepříliš rychle rostoucí, bílé až žlutooranžové, lanózní, čerstvé izoláty později tvoří synnemata.

Mikroskopické znaky: Konidiofory vzpřímené, 100-300 μm dlouhé, nesoucí několik přeslenů metul s fialidami. Fialidy lahvicovité, se štíhlým krčkem. Konidie hyalinní, hladké, elipsoidní až fusiformní, drobné, 2-3 x 1-1,8 μm .

Výskyt: Velmi hojná (ubikvitní) po celém světě. Parazituje na širokém spektru hmyzu. Je často izolována též z půdy.

Význam: Entomofágní houba využívaná v biologické ochraně plodin.

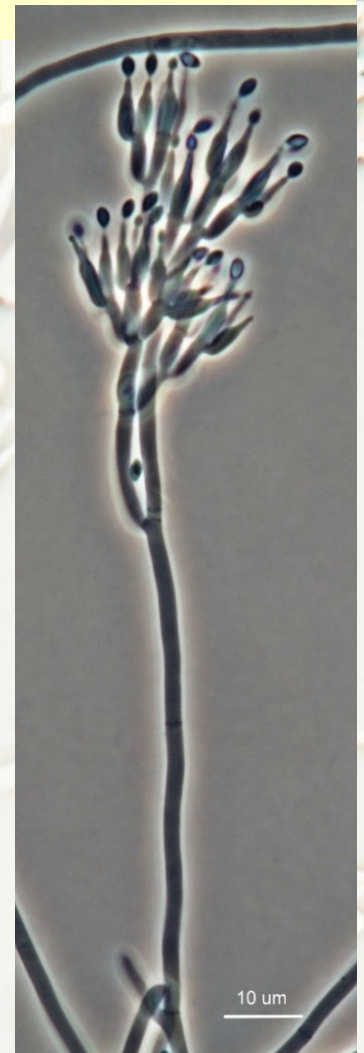
Blízký druh *Cordyceps fumosorosea* se liší šedorůžovým zbarvením synnemat a většími konidiiemi.



synnemata na kukle přezimujícího martináče hrušňového



synnemata na agarovém médiu



Příklady entomopatogenních hub z České republiky

Metarhizium anisopliae (Metschn.) Sorokin

Ascomycota, Hypocreales

Popis

Kolonie: Dosti pomalu rostoucí, šedo-zelené.

Mikroskopické znaky: Konidiofory bohatě větvené, na konci s fialidami produkujícími řetězky konidií, které lpějí u sebe ve formě sloupců a na některých médiích mohou tvořit souvislejší krustu. Konidie cylindrické, hladké, 5-8 x 2,5-3,5 μm .

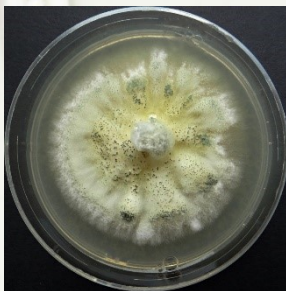
Výskyt: Celosvětově rozšířený druh. Parazituje především na broucích z čeledi kovaříkovitých (Elateridae) a nosatcovitých (Curculionidae). Izolován i z půdy a dalších substrátů.

Význam: Jedna z nejvýznamnějších entomopatogenních hub. Využití v biologické ochraně rostlin.

Od **podobného druhu** *Paramyrothecium roridum* se liší suchými konidii vyrůstajícími v dlouhých řetězcích.



Napadený šváb syčivý z domácího chovu



Kolonie na sladínovém agaru, 16 dní



Konidiofory s konidii

Příklady entomopatogenních hub z České republiky

Tolypocladium inflatum W. Gams

Ascomycota, Hypocreales

Popis

Kolonie: Dosti pomalu rostoucí, bílé, jemně lanózní.

Mikroskopické znaky: Konidiogenní buňky (fialidy) vyrůstají na hyfách v hustých shlucích i jednotlivě. Fialidy nápadně zduřelé v bazální části, 2,5-3,5 x 2-2,5, s tenkým dlouhým krčkem 2,5-4 x 0,3-0,5 μm . Konidie téměř kulovité, hyalinní, hladké, 2-2,5 x 1,4-2 μm velké.

Výskyt: Vyskytuje se především v půdách. Hmyzím hostitelem jsou zvláště brouci, na nichž bylo nalezeno pohlavní stádium houby (*Cordyceps subsessilis*).

Význam: Saprotrofní půdní houba.

Blízký druh *T. geodes* nemá zduřelé fialidy, *T. cylindrosporum* má válcovité konidie.

Kolonie na bramboromrkvovém agaru, 7 dní



Fialidy s nafouklou bází a dlouhým krčkem a konidie (vpravo ve fázovém kontrastu)

Použitá a doporučená literatura

- Antonín V., Jablonský I., Šašek V., Vančuríková Z. (2013): Houby jako lék. Ottovo nakladatelství, Praha.
- Araújo J.P.M., Hughes D.P. (2016). Chapter One - Diversity of entomopathogenic fungi: Which groups conquered the insect body? In: Lovett B., Leger R. St. (eds.), Genetics and Molecular Biology of Entomopathogenic Fungi, p. 1-39, Academic Press.
- de Carolina Sánchez-Pérez L., Barranco-Florido J.E., Rodríguez-Navarro S., Cervantes-Mayagoitia J.F., Ramos-López M.Á. (2014). Enzymes of entomopathogenic fungi. *Advances in Enzyme Research* 2: 65-76.
- Fan Y., Liu X., Keyhani N.O., Tang G., Pei Y., Zhang W., Tong S. (2017). Regulatory cascade and biological activity of *Beauveria bassiana* oosporein that limits bacterial growth after host death. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 114(9): E1578-E1586.
- de Faria M.R., Wraight S.P. (2007). Mycoinsecticides and mycoacaricides: A comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. *Biological Control* 43: 237-256.
- Kubátová A. (2006): Atlas mikroskopických saprotrofních hub (Ascomycota). <https://www.natur.cuni.cz/biologie/botanika/veda-a-vyzkum/atlas-mikroskopickyh-saprotrofnich-hub-ascomycota> [Staženo 19. 12. 2019]
- Kubátová A. (2017): Entomopatogenní houby – nerovný souboj. – *Živa* 65(5): 250-254.
- Landa Z., Křenová Z., Vojtěch O. (2007). Využití houby *Beauveria bassiana* v ochraně proti lýkožroutu smrkovému. *Lesnická Práce* 86(10).
- Samson R.A., Evans H.C., Latgé J.-P. (1988). Atlas of Entomopathogenic Fungi. Springer –Verlag.
- Sung G.-H., Poinar G.O.Jr., Spatafora J.W. (2008). The oldest fossil evidence of animal parasitism by fungi supports a Cretaceous diversification of fungal–arthropod symbioses. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 49(2): 495–502.
- Tzean S.S., Hsieh L.S., Wu W.J. (1997). Atlas of Entomopathogenic Fungi from Taiwan. Council of Agriculture, Executive Yuan.