

Mykologické listy – Abstrakty / Abstracts Číslo 123 / Volume 123

Tejklová T. a Kramoliš J. Vzácné a zajímavé pavučince ČR *Cortinarius croceocaeruleus* – pavučinec modrošafránový

V článku jsou zveřejněny dosud známé nálezy pavučince modrošafránového – *Cortinarius croceocaeruleus* na území České republiky, a to včetně vlastního nálezu autorů. Je publikován podrobný makroskopický i mikroskopický popis druhu podle nálezu autorů, včetně fotografií. Součástí článku je i mapka dosud známého rozšíření. Autoři navrhnou zařazení druhu do příštího vydání Červeného seznamu makromycetů České republiky v kategorii EN.

Tejklová T. and Kramoliš J.: Rare and interesting *Cortinarius* species in the Czech Republic. *Cortinarius croceocaeruleus* (*Cortinariaceae*, *Phlegmacium*)

The so far known finds of *Cortinarius croceocaeruleus* from the Czech Republic are published in this article. Its detailed macro- and microscopic description according to authors own finding, including photos and a distribution map, is given. Authors propose to include this fungus to the next edition of Red list of fungi (macromycetes) of the Czech Republic in the category of endangered species.

* * *

Kotlaba F.: Druhý nález velmi vzácné lupenaté houby *Leucopaxillus rhodoleucus* v Čechách

Je uveřejněn druhý nález velmi vzácné lupenaté houby *Leucopaxillus rhodoleucus* v Čechách s podrobným popisem plodnic. Lokalita leží ve středních Čechách v Polabí severně od Sadské, kde houba vyrůstala z tlející vrstvy listí trnovníku akátu: 23.XI.2012 tam bylo nalezeno celkem 12 plodnic, z nichž 10 je uloženo v herbáři mykologického oddělení Národního muzea v Praze-Horních Počernicích (PRM). Poprvé u nás jsou uveřejněny barevné fotografie této velmi vzácné houby a je navrženo její nové české jméno.

Kotlaba F.: Second find of the very rare agaric *Leucopaxillus rhodoleucus* in Bohemia

Second find of the very rare agaric *Leucopaxillus rhodoleucus* (Romell) Kühner in Bohemia together with detailed description is published. Carpophores have white cap as well as stem and rose gills; spores have irregular, strong amyloid ornamentation. The new locality lies north of Sadská SW of Nymburk, 180 m alt., Polabí region, Central Bohemia (Czech Republic). The agaric has there grown up from a putrified layer of old false acacia (*Robinia pseudacacia*) leaves. On November 23, 2012 were there collected 10 carpophores, which are deposited in herbarium of the Mycological Department of the National Museum, Praha-Horní Počernice (PRM 919909). The first published locality of *Leucopaxillus rhodoleucus* in Czech Republic (Antonín et Vágnér 1997) is known from SE Moravia: Dubňany (Hodonín distr.), c. 200 m alt., 22.IX.1995 leg. K. Kos, det. V. Antonín (BRNM 603688), whereas the first known Bohemian locality, which was published by Borovička (2007), lies near Kostomlaty nad Labem SW of Nymburk in Central Bohemia: mixed wood in right bank of Labe river, 26.XI.2006 leg. K. Houdek, det. J. Borovička (PRM 846566).

According to literature, *Leucopaxillus rhodoleucus* is known in Europe from Norway, Sweeden, Denmark, Great Britain, Belgium, France, Spain, Germany, Czechia, Slovakia, Hungary, Ukraine, Switzerland, Austria, Italy, Croatia, and in NW Afica from Algeria; in many of them it occurs mostly rather rare.

* * *

Zíbarová L.: Šedesát let Anny Lepšové CSc.

Zíbarová L.: Anna Lepšová sexagenarian

* * *

Kout J.: Šedesát pět let mykologa docenta RNDr. Josefa Vlasáka, CSc.

Kout J.: Sixty five years of mycologist Josef Vlasák

Josef Vlasák, born on June 27, 1948 in Southbohemian town of Hluboká nad Vltavou near České Budějovice, is molecular biologist by profession with a passion for mycology, a unique skill set that he applied to studying polypore fungi. In the field, he discovered many rare or even new species not only for Czech Republic and Slovakia but also for the USA, his favourite destination, e.g. *Antrodia crassa*, *Antrodiella citrinella*, *Donkioporia albidofusca*, *Hapalopilus croceus*, *Sarcoporia polyspora*, *Skeletocutis odora*, and *S. stellae*. As a new species he described (together with other authors) *Antrodiella niemelaei*, *Antrodia serialiformis*, *Rigidoporus pouzarii*, *Fuscoporia palomari*, *Antrodia madronae*, *Ceriporiopsis pseudoplacenta*, *Skeletocutis subodora* and *Gloeophyllum taiwanense*.

* * *

ABSTRAKTY PŘÍSPĚVKŮ PREZENTOVANÉ NA WORKSHOPU MICROMYCO 2012

Alena Nováková (ed.)

Ústav půdní biologie, BC AV ČR, v.v.i., Na Sádkách 7, 370 05 České Budějovice

Čtvrtý ročník workshopu MICROMYCO 2012 se již tradičně uskutečnil začátkem září (11.–12. 9. 2012) v prostorách budovy Na Sádkách BC AV ČR, v.v.i. v Českých Budějovicích pod patronací Ústavu půdní biologie BC AV ČR, v.v.i. a Sekce pro studium mikroskopických hub ČVSM, o.s. Z celkového počtu 35 účastníků (31 účastníků z České republiky, 3 ze Slovenska a 1 účastník z Rakouska) bylo prezentováno 17 přednášek a 14 posterů z různých oblastí studia mikroskopických hub. Součástí workshopu byl i společenský večer, který se uskutečnil vzhledem k přetrvávajícímu pěknému počasí ve venkovním areálu Na Sádkách.

* * *

Mykobiota rhizosféry *Pelargonium peltatum* utvářející se v pěstebním rašelinovém substrátu – identifikace aktivních složek společenstva
Mycobiota of *Pelargonium peltatum* rhizosphere formed in peat-based potting substrate – identification of active community components

Petra Bukovská et Milan Gryndler

Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i, Vídeňská 1083, 142 20, Praha 4

Rozbor diverzity hub a identifikace organismů s potenciálem významně působit v rhizosféře cílových rostlin je nezbytným základem jakýchkoli snah o optimalizaci mikrobiálních vlastností pěstebních substrátů. Zrealizovali jsme proto experiment, jehož cílem bylo charakterizovat mykobiotu rašelinového substrátu pro pěstování okrasných rostlin a zjistit, které z jejích složek osídlují rhizosféru muškátu (*Pelargonium peltatum* (L.) L'Hér. ex Ait), jako modelové cílové rostliny, a aktivně zde působí. Po 3 měsíce jsme kultivovali rostliny v pěstebním substrátu 3 různých šarží a následně jsme odebrali vzorky rhizosféry a kontrolního substrátu k analýze nukleových kyselin. Diverzita hub byla vyhodnocována pomocí next generation-454 sekvenování oblasti ITS kazety rDNA a jí odpovídající části pre-rRNA. Pre-rRNA byla sekvenována jako cDNA po reverzní transkripci. Díky paralelnímu zpracování DNA a cDNA vzorků bylo možné odlišit metabolicky aktivní složky společenstva.

Výsledky studie ukazují, že rašelinový substrát hostí společenstvo hub vysoké druhové bohatosti (na 97% hladině sekvenční podobnosti bylo rozlišeno celkem 535 OTU), se skladbou značně rozdílnou v různých šaržích materiálu. Z porovnání sekvencí vzorků DNA a cDNA vyplývá, že většina diverzity zachycené ve vzorcích DNA pochází z metabolicky neaktivních stádií a že z hlediska aktivity v substrátu jsou významné zejména kvasinky rodů *Galactomyces*, *Candida*, *Trichosporon* a *Rhodotorula*. Společenstvo formující se v rhizosféře se svou strukturou zřetelně odlišovalo od společenstva kontrolních vzorků substrátu. Hlavní kolonizátory rhizosféry reprezentovaly především OTU blízké druhu *Galactomyces geotrichum*.

Considering optimization of potting substrate properties, the analysis of fungal diversity and identification of potentially important rhizosphere colonizers is indispensable. By conducting a laboratory experiment we investigated diversity of fungal community in peat-based substrate for ornamental plant cultivation and tried to identify the species colonizing the rhizosphere of *Pelargonium peltatum* (L.) L'Hér. ex Ait as a model target plant. The plants were grown for 3 month in 3 different lots of the potting substrate. Rhizosphere and control substrate were then sampled and the fungal diversity was analysed by means of next generation-454 sequencing of the ITS region of rDNA cassette and of the corresponding part of pre-rRNA. Pre-rRNA was sequenced as cDNA after reverse transcription. Parallel analysis of DNA and cDNA samples enabled us to distinguish metabolically active fungal community components.

Our data indicate that the substrate was inhabited by a fungal community of high species richness (in total 535 OTUs were obtained using sequence clustering at 97% similarity threshold) and communities in different substrate lots differed substantially in species composition. Comparison of sequences from DNA and cDNA samples revealed that metabolically inactive forms produced the major part of the molecular diversity detected. The substrate community of active microorganisms was dominated by the yeast genera *Galactomyces*, *Candida*, *Trichosporon* and

Rhodotorula. The fungal community established in the pelargonium rhizosphere displayed distinctly different structure when compared to the community of control samples. The most prevailing OTUs of the rhizosphere samples were taxonomically related to the *Galactomyces geotrichum* species.

* * *

***Phytophthora alni* v roce 2012** ***Phytophthora alni* in 2012**

Karel Černý a Veronika Strnadová

Výzkumný ústav Silva Taroucy pro krajinu a okrasné zahradnictví, v.v.i., Květnové nám. 391, 252 43 Průhonice

Příspěvek shrnuje vybrané současné poznatky o taxonomii, rozšíření, ekologii *Phytophthora alni* a o fytoftorovém onemocnění olší, které způsobuje. Patogen se dělí do tří taxonů, přičemž *P. alni alni* (*Paa*) je produktem hybridizace *P. alni uniformis* (*Pau*) a *P. alni multififormis* (*Pam*). V ČR se vyskytují pouze taxony *Paa* a *Pau*, přičemž první tvoří cca 4/5 populace. Rozšíření obou taxonů se zčásti liší, *Paa* je více rozšířen na širších tocích v nižších polohách, kdežto *Pau* se vyskytuje pouze ostrůvkovitě obvykle na drobných tocích a ve vyšších polohách. *Paa* je pravděpodobně invazní a nahrazuje *Pau*. V ČR je patogen rozšířen na velké části území, přičemž nejvíce je postiženo povodí Vltavy a Ohře. Patogen způsobuje významné škody v břehových porostech – škody lze vyčíslit podle různých metodik na 30 – 500 mil. Kč na 10 tis. odumřelých olší. Nejvíce jsou ohroženy mokřadní olšiny a jasan-olšové luhy. Rozvoj choroby a její dopad závisí mj. na poddruhu patogenu, vodním stresu, průběhu teplot a dalších faktorech.

The contribution summarizes the recent knowledge of taxonomy, distribution and ecology of *Phytophthora alni* and phytophthora alder disease. The pathogen has been divided into three taxa: *P. alni uniformis* (*Pau*), *P. alni multififormis* (*Pam*) and the product of their hybridisation *P. alni alni* (*Paa*). In the Czech Republic, *Paa* and *Pau* are only presented and *Paa* highly outnumbers the other taxon (80 % of population is created by *Paa*). The distribution of both taxa partially differs – *Paa* is characteristically distributed in broad rivers in lower elevations, whereas the distribution of the second taxon is of insular pattern in small watercourses in higher elevations. *Paa* is probably invasive and replaces *Pau*. The pathogen is distributed in great part of the area and Vltava and Ohře River basins belong to the most affected regions. The pathogen causes important economical losses in riparian stands – the losses can reach 30 – 500 mil. Kč per 10,000 of dead alder trees according to the calculation method. Alder carrs and ash-alder mixed forests belong to the most affected communities. The disease development and its importance can be affected by identity of the pathogen, water stress, temperature development and by other factors.

* * *

Nový, klinicky významný druh rodu *Trichophyton*, izolovaný z případu onychomykózy
New clinical important species of the genus *Trichophyton* isolated from onychomycosis

Adéla Čmoková¹, Vít Hubka^{1,2}, Magdaléna Skořepová³, Miroslav Kolařík^{1,2} a Peter Mikula⁴

¹ Katedra botaniky, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Benátská 2, 128 01 Praha 2

² Laboratoř genetiky a metabolismu hub, Mikrobiologický ústav, Akademie věd České republiky, v. v. i., Vídeňská 1083, 14220 Praha 4

³ Dermatovenerologická klinika, 1. lékařská fakulta, Univerzita Karlova v Praze a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze, Karlovo náměstí 32, 128 00 Praha

⁴ Katedra zoologie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Viničná 7, 128 43 Praha 2

Během jednoleté studie mapující druhovou diverzitu non-*Trichophyton rubrum* dermatofyt v ČR pomocí molekulárních metod (ITS rDNA, PCR-fingerprinting) byl izolován neobvyklý dermatofyt, který na základě molekulárních a morfologických znaků neodpovídal žádnému dosud popsanému druhu. Podle fylogenetické analýzy se jedná pravděpodobně o geofilní druh rodu *Trichophyton*. Izolát byl k analýze zaslán ze Všeobecné fakultní nemocnice v Praze a byl izolován z případu recidivující subungvální onychomykózy jinak zdravého 33letého pacienta. Izolát CCF 4259 (= CBS 132920) je charakterizován pozitivním ureázovým testem, neschopností perforovat vlasy a růst při 37 °C. Kolonie jsou bílé s nádechem do okrova/žluta, spodní strana kolonie na SGA je oranžovočervená, červená na PCA a žlutá na MEA. Konidiofory jsou spoře větvené a nesou drobné kapkovité až cylindrické mikrokondie, makrokondie nebyly pozorovány. Vegetativní hyfy jsou příležitostně ukončeny spirálními vlákny.

An unusual dermatophyte was isolated during one-year study investigating diversity of Czech clinical isolates of non-*Trichophyton rubrum* dermatophytes using molecular methods (ITS rDNA, PCR-fingerprinting). The isolate did not correspond to any previously described species on the basis of molecular and morphological characters. In phylogenetic analysis based on ITS region of rDNA the species clusters with geophylic species of the genus *Trichophyton*. The isolate CCF 4259 (= CBS 132920) was received for analysis from General University Hospital in Prague and was isolated from a case of recurrent subungual onychomycosis in an otherwise healthy 33-year-old patient. The species is characterized by a positive urease test, negative hair perforation test and inability to grow at 37 °C. The colonies are nearly white, reverse is orange-red coloured on SGA, red on PCA and yellow on MEA. The micromorphology is characterized by sparsely branched conidophores, smooth, pyriform to cylindrical microconidia with a truncate base, macroconidia absent, spirally coiled hyphae are sometimes present.

* * *

Metody stanovení rezistence pšenice ke sněti zakrslé Methods of determination of wheat to dwarf bunt

Veronika Dumalasová a Pavel Bartoš

Výzkumný ústav rostlinné výroby v.v.i., Drnovská 507, 161 06, Praha – Ruzyně;
dumalasova@vurv.cz

Sněť zakrslá, *Tilletia controversa* Kühn je celosvětově jedním z nejzávažnějších patogenů pšenice. Využití rezistence ke snížení ztrát má význam především v ekologickém zemědělství.

Využitelnost metod detekce mazlavých snětí v pletivech mladých rostlin pro šlechtění na rezistenci je omezená, neboť výsledky často neodpovídají skutečným počtům napadených klasů.

Prováděli jsme proto polní testy rezistence s umělou infekcí. Byly vysévány 1m dlouhé řádky vždy nejméně 8-10 opakování. Poté byly teliospory rovnoměrně nanášeny na povrch půdy.

Nedostatečnou sněhovou pokrývkou lze nahradit přikrytím pokusných parcel slámou nebo bílou netkanou textilií. Pozitivní efekt přikrytí slámou však v našich pokusech nebyl zjevný.

Vysoká účinnost byla při testech na standardním diferenačním souboru odrůd zaznamenána u genů rezistence Bt11, Bt12 a Bt13. Napadení odrůd tritikale snětí zakrslou bylo v našich pokusech nízké, u nejvíce napadené odrůdy Agrano dosáhlo pouze 10% klasů, zatímco u náchylné kontroly, ozimé pšenice odrůdy Batis bylo 70% snětivých klasů.

Pro testování patotypů nebo množení izolátů je nutná laboratorní inokulace, která zabrání případné kontaminaci teliosporami pocházejícími z půdy. Rutinně je pro klíčení teliospor používána inkubace při 3-8°C a stimulace světlem. Izoláty se liší dobou požadovanou pro vyklíčení, některé klíčí stejnoměrně, jiné nepravidelně. Za účelem optimalizace laboratorních inokulačních metod byl proto v našich pokusech sledován vliv mrazu a absence světla na klíčení spor sněti zakrslé.

Dwarf bunt, *Tilletia controversa* Kühn is one of the most dangerous wheat pathogens worldwide. Use of resistant wheat cultivars may reduce the losses due to dwarf bunt especially in organic farming.

The applicability of methods for early recognition of the development of bunt fungi in the plant tissues in resistance testing is limited, as the amount of hyphae established in young seedlings doesn't always correspond with the real number of infected spikes.

Therefore the field resistance tests with an artificial infection were performed. Rows 1m long with at least 8-10 replications were sown. Teliospores were evenly spread on the soil surface after sowing. An insufficient snow cover may be substituted by covering of the plots with straw or white nonwoven fabric. Anyway, the positive effect of straw cover was not obvious in our trials.

High effectiveness of resistance genes Bt11, Bt12 and Bt13 was determined on a standard set of winter wheat differentials.

Triticale varieties showed a low response to dwarf bunt infection in our trials. There was only 10% dwarf bunt incidence level in cultivar Agrano, while in a susceptible control, winter wheat cultivar Batis, 70% of spikes were bunted.

For pathogenic race studies or for increasing isolates, laboratory inoculation is required to prevent potential contamination from teliospores that may be present in the soil. Incubation at 3-8°C and stimulation by light is routinely used for teliospore germination.

The isolates differ in the time required for germination. Some isolates germinate uniformly, whereas others irregularly. To optimize laboratory inoculation methods the influence of frost and absence of light on germination of dwarf bunt teliospores was studied in our experiments.

* * *

Invaze *Chalara fraxinea* v CHKO Lužické hory – předběžné výsledky výzkumu The research on *Chalara fraxinea* invasion in Lužické hory landscape protected area - preliminary results

Ludmila Havrdová^{1,2} a Karel Černý^{1,2}

¹ Výzkumný ústav Silva Taroucy pro krajinu a okrasné zahradnictví, v.v.i., Květnové nám. 391, 252 43 Průhonice, havrdova@vukoz.cz, cerny@vukoz.cz

² Česká zemědělská univerzita v Praze, katedra ochrany lesa a myslivosti, Kamýcká 129, 165 21 Praha 6 – Suchbátka, havrdova@fld.czu.cz, cerny@fld.czu.cz

Šíření invazního patogenu *Hymenoscyphus pseudoalbidus* v České republice způsobuje vážné ekonomické ztráty a škody v dalších oblastech lidské činnosti. V CHKO Lužické hory byla v létě 2011 provedena studie sledující šíření a význam choroby v různých typech porostů s jasanem. Prozkoumáno bylo 80 ploch rozdělených do pěti kategorií (soliterní výskyt, roztroušený výskyt, břehový porost, jasanová olšina a lesní porost). Přítomnost choroby byla potvrzena v 94 % všech sledovaných ploch. Bylo zjištěno, že poškození porostů v průměru dosahuje 10,30 %, po přepočtu tak prosychání korun převyšuje 4 100 m³/ha. Mimoto se význam choroby liší v souvislosti s typem vegetace: soliterní výskyt, roztroušená výsadba a lesní porost byly v porovnání s břehovým porostem a jasanovou olšinou průkazně méně poškozené.

Klíčová slova: *Hymenoscyphus pseudoalbidus*, *Fraxinus excelsior*, jasan ztepilý, nekróza jasanu, vegetace.

The spread of the invasive pathogen *Hymenoscyphus pseudoalbidus* in the Czech Republic resulted in important economical and other losses in different areas of human activity. The study of the disease distribution and importance in different vegetation types was performed in Lužické hory protected landscape area in summer of 2011. There were investigated 80 plots divided into 5 categories according to the type of vegetation (the solitary trees, scattered plantings and alleys, riparian stands, ash-alder alluvial forests and forest stands). The presence of the disease was confirmed in 94% of the investigated plots. It was found out, that the damage of the investigated plots reached 10.3% in average and the crown defoliation exceeded 4,100 m³/ha after recalculation. Moreover, the impact of the pathogen differed according to the type of vegetation: the solitaires, scattered plantings and forest stands were less damaged compared to the riparian stands and ash-alder alluvial forests.

Key words: *Hymenoscyphus pseudoalbidus*; *Fraxinus excelsior*; common ash; ash dieback; vegetation.

* * *

Studium vybraných vlastností mikroskopické houby *Geomyces destructans* Study of selected features of microscopic fungus *Geomyces destructans*

Karolína Horáková

¹katedra botaniky, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Benátská 2,
128 01, Praha 2

²Laboratoř genetiky, fyziologie a bioinženýrství hub, Mikrobiologický ústav AV ČR,
v.v.i, Vídeňská 1083, 142 20, Praha 4

Mikroskopická psychrofilní houba *Geomyces destructans* způsobuje nemoc hibernujících netopýrů, zvanou syndrom bílého nosu (WNS – white-nose syndrome, geomykóza). Onemocnění se poprvé objevilo v USA, kde způsobilo velký úhyn netopýrů. V Evropě je houba také rozšířena, ale bez projevu úhynů netopýrů.

Cílem práce je prostudovat unikátní ekologii houby *Geomyces destructans*, tj. zjistit odlišnosti od ostatních jeskynních nepatogenních hub. Zkoumána je asimilace různých zdrojů uhlíku, dusíku, fosforu a síry a reakce na nepříznivé přírodní podmínky (UVA, UVA + B, 25 °C, 30 °C, 37 °C, suché vlhkostní podmínky). Dalším cílem je vyvinout selektivní izolační medium pro *Geomyces destructans*, které by usnadnilo detekci této houby v prostředí.

Reakce spor na nepříznivé podmínky je zjišťována fluorescenční barvou propidium jodid (PI) prostřednictvím průtokové cytometrie. Spory *Geomyces destructans* a dalších tří jeskynních hub ztratily životaschopnost po 3 týdnech uchování při 37 °C. Ostatní podmínky nezpůsobily výrazný pokles životaschopnosti spor nebo byly citlivé jen některé druhy hub.

Selektivní medium je vytvářeno prostřednictvím destiček Biolog pro testování asimilace zdrojů uhlíku, dusíku, fosforu a síry, a dále testování citlivosti na některá antibiotika. Glukóza (zdroj uhlíku) a močovina (zdroj dusíku) jsou základem pro medium. Různé varianty médií jsou testovány kultivací při 10 °C.

The psychrophilic microscopic fungus *Geomyces destructans* causes an illness known as white-nose syndrome (WNS, geomycosis) on hibernating bats. The fungus was registered the first time in the USA, where causes big mortality of bats. In Europe the fungus also occurs, but without distinct lethal effect.

The aim of work is to discover a unique ecology of fungus *Geomyces destructans*, i.e. to find differences from other cave non-pathogenic fungi. The assimilation of various sources of carbon, nitrogen, phosphorus and sulphur and effect of different environment conditions (UVA, UVA + B, 25 °C, 30 °C, 37 °C and dryness) are studied. The other aim is to develop a selective isolation medium for easier detection of this fungus in environment.

Reaction of spores on different environment conditions is investigated with fluorescent stain propidium iodide (PI) by flow cytometry. The spores of *Geomyces destructans* and three other cave fungi were not viable after 3 weeks at 37 °C. Other conditions did not cause distinct decreasing of viability or caused decreasing of viability only in some strains of fungi.

A selective medium is developed through Biolog MicroPlate for testing of assimilation carbon, nitrogen, phosphorus and sulphur, together with testing of sensitivity to some antifungal agents and antibiotics. Glucose (source of carbon) and urea (source of nitrogen) are basis for medium. Different variations of media are tested by cultivation at 10 °C.

* * *

Molekulárně-epidemiologická studie non-*Trichophyton rubrum* dermatofyt v ČR: výsledky po prvním roce
A molecular epidemiological study of non-*Trichophyton rubrum* dermatophytes in Czech Republic: results after the first year

Vít Hubka^{1,2}

¹ katedra botaniky, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Benátská 2, 128 01, Praha 2

² Laboratoř genetiky, fyziologie a bioinženýrství hub, Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i, Vídeňská 1083, 142 20, Praha 4

Za první rok molekulárně-epidemiologické studie non-*Trichophyton rubrum* dermatofyt v ČR bylo nashromážděno 338 izolátů, které byly získány za spolupráce s šesti pracovišti napříč ČR zaměřenými na lékařskou mykologii. Izoláty byly určovány pomocí sekvencí oblasti ITS regionu a PCR-fingerprintové metody s použitím primeru M13-core. *Trichophyton interdigitale* byl nejčastěji izolovaným druhem (36 %) následovaný *Arthroderma benhamiae* (29 %) a *Microsporum canis* (21 %). Ostatní druhy tvořily 14 % izolátů. Přibližně 8 % izolátů identifikovaných morfologicky jako *T. interdigitale* bylo přeurčeno jako *M. persicolor* za použití molekulárních metod. *Microsporum fulvum* připomínající *M. gypseum* byl další kryptický druh, který tvořil přibližně čtvrtinu izolátů identifikovaných morfologicky jako *M. gypseum*. Kompletní seznam identifikovaných druhů zahrnoval ještě *T. tonsurans*, *Epidermophyton floccosum*, *T. terrestre*, *T. verrucosum* a *T. erinacei*. Nepopsaný druh rodu *Trichophyton* blízce příbuzný *T. thuringiense* byl izolován v případě onychomykózy 33letého muže. V nedávné době proběhly v taxonomii dermatofyt rozsáhlé změny podložené především molekulárními metodami a křížícími experimenty, které měly za následek významné změny v druhovém konceptu dermatofyt. Tyto změny často nemají korelaci v morfologických znacích a správná identifikace některých druhů jen na základě morfologie je velmi obtížná. Molekulární metody významně napomáhají identifikaci dermatofyt podle nového konceptu a umožňují nám odhalit i druhy kryptické, které jsou morfologicky lehce zaměnitelné za jiné druhy.

A large aggregate of clinical isolates of non-*Trichophyton rubrum* dermatophytes involving 338 isolates was collected during a first year of study. The isolates were obtained from clinical specimens provided by the six regional institutions across Czech Republic. To determine the species, isolates were subjected to comparative sequence analysis by use of the ITS region of rDNA and PCR-fingerprinting method with primer M13-core. *Trichophyton interdigitale* was the most abundantly recovered (36%) species followed by *Trichophyton* sp. anamorph of *A. benhamiae* (29%) and *Microsporum canis* (21%). All other species comprised 14% of isolates. Approximately 8% of isolates identified as *T. interdigitale* by morphology was re-determined as *M. persicolor* using molecular approach. *Microsporum fulvum* masquerading as *M. gypseum* was another discovered cryptic species which comprised one fourth of isolates originally identified as *M. gypseum* by morphology. In addition, complete list of determined species involved *T. tonsurans*, *Epidermophyton floccosum*, *T. terrestre*, *T. verrucosum* and *T. erinacei*. An undescribed *Trichophyton* species closely related to *T. thuringiense* was associated with a case of onychomycosis in 33-year-old male. Extensive changes have been done

recently in concept of numerous taxa using molecular data and mating experiments. Nevertheless, appropriate reclassification supported by phenetic data was not published. In conclusion, molecular methods are increasingly being used to assist in identification of dermatophyte species according to new species concept and allow us to determine cryptic species that are easily miss-identified by morphological methods.

* * *

Taxonomická revize rodu *Eurotium* (*Aspergillus* section *Aspergillus*) Taxonomic revision of the genus *Eurotium* (*Aspergillus* section *Aspergillus*)

Vít Hubka^{1,2}, Miroslav Kolařík^{1,2}, Alena Kubátová¹ a Stephen W. Peterson³

¹ katedra botaniky, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Benátská 2, 128 01, Praha 2

² Laboratoř genetiky, fyziologie a bioinženýrství hub, Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i, Vídeňská 1083, 142 20, Praha 4

³ Bacterial foodborne pathogens and mycology research unit, National center for agricultural utilization research, United States department of agriculture, Agricultural research service, 61604, Peoria, Illinois

Sekce *Aspergillus* zahrnuje ekonomicky významné, xerofilní druhy, které jsou široce rozšířené v přírodě a na řadě substrátů spojených s lidskou činností. Tyto druhy jsou známé pro svou schopnost růst na substrátech vykazujících nízkou vodní aktivitu. Vysoká fenoplastičita a častý výskyt atypických izolátů se v minulosti podílely na nadměrném popisování nových druhů v sekci *Aspergillus*. Druhy byly podrobeny revizi za použití přístupu kombinujícího sekvenční data ze čtyř nezávislých lokusů, PCR-fingerprinting, mikro- a makromorfologická data a fyziologii. Za použití tohoto přístupu byl celkový počet druhů redukován na sedmnáct. Popis *A. proliferans* byl doplněn o popis jeho teleomorfy a tento druh se zdá být relativně běžně rozšířeným a často zaměňovaným za *A. glaucus*. Zeleně sporující kmeny *A. niveoglaucus* izolované z potravin a dalších substrátů jsou morfologicky nerozlišitelné od *A. glaucus* a jsou s ním pravděpodobně také často zaměňovány. V reakci na aktuální změny v botanickém kódu jsme převedli všechny druhy *Eurotium* do rodu *Aspergillus* a navrhli jediné platné jméno pro každý druh. Neotyp byl nově označen pro některé revidované druhy.

Section *Aspergillus* contains economically important, xerophilic species widely distributed in nature and the human environment that are known for their ability to grow on substrates with low water activity. The high level of phenoplasticity and frequent occurrence of isolates with atypical morphology contributed to excessive description of new species within section *Aspergillus*. The taxa were subjected to revision using the sequence data from four loci, PCR-fingerprinting, micro- and macromorphology and physiology. Using this approach, the number of species was reduced to seventeen. The original description of *A. proliferans* was supplemented by description of its teleomorph. *Aspergillus proliferans* seems to be a relatively common species which was often confused with *A. glaucus*. Green sporulating strains of *A. niveoglaucus* isolated from food and several other substrates are indistinguishable in phenotype from *A. glaucus* and are also confused with it. In response to recent changes in the botanical code, we transferred the *Eurotium*

species to *Aspergillus* and propose one name for each species. A neotype was designated for some revised taxa.

* * *

Skrývají extrémně kyselé substráty specifické společenstvo mikroskopických hub?

Do the extremely acidic sites harbour the specific acidophilic fungal community?

Martina Hujšlová^{1,2,3}, Alena Kubátová¹ a Miroslav Kolařík^{1,2}

¹ katedra botaniky, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Benátská 2, 128 01, Praha 2

² Laboratoř genetiky, fyziologie a bioinženýrství hub, Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i, Vídeňská 1083, 142 20, Praha 4

³ Výzkumný ústav rostlinné výroby, Drnovská 507, 161 06 Praha 6 – Ruzyně

Byla studována diverzita mikroskopických hub v silně kyselých půdách (pH > 3). V případě dominantních druhů byla formou růstových testů studována jejich tolerance vůči pH. Ze čtyř lokalit v ČR a ze dvou lokalit na Islandu bylo odebráno a zpracováno celkem 20 půdních vzorků. Pomocí dvou izolačních metod (přímá inokulace, promývací metoda), tří kultivačních medií (SL2, MEA-pH2 a SEA-pH2) a tří inkubačních teplot (5, 24 a 37°C) bylo izolováno celkem 417 kmenů hub. Na základě morfologických a molekulárních znaků bylo identifikováno celkem 52 taxonů. Ukázalo se, že houbové společenstvo silně kyselých půd je druhově velmi chudé a odlišné od společenstev nalézáných v méně kyselých substrátech. Převážná většina izolovaných hub představuje nové a substrátově specifické druhy (příp. rody). Všechny zmíněné druhy osidlují geograficky izolované lokality a prokázaly vysoký stupeň adaptace na extrémní podmínky studovaného substrátu, lze je tedy považovat za přirozené obyvatele silně kyselých habitatů (pH > 3).

The diversity of soil culturable filamentous microfungi in highly acidic soils (pH < 3) in the Czech Republic and Iceland was studied and the growth response of the dominant species to different pH values was determined. Altogether 20 soil samples from six sampling sites were processed using two methods, three types of isolation media and three incubation temperatures. In total, 52 fungal taxa were identified using morphological and molecular markers. Mycobiota that we found in extremely acidic soils is different from less acidic habitats and is dominated by a small number of fungal species. Majority of these species represent new and substrate specific taxa. All of these fungi occupy geographically distant sites and show high adaptability to extreme pH values; thus, they may be regarded as indigenous inhabitants of extremely acidic habitats.

* * *

Hodnotenie mikroskopických húb na gaštane jedlom (*Castanea sativa* Mill.) The determination of microscopic fungi from chestnut (*Castanea sativa* Mill.)

Miriam Kádasi Horáková¹, Miroslava Kačániová² a Vladimíra Kňazovická²

¹ Ústav ekológie lesa SAV Zvolen, Pobočka biológie drevín Nitra, Akademická 2, 949 01 Nitra, Slovenská republika; kadasi@savzv.sk

² Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Katedra mikrobiológie, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Tr. A. Hlinku 2, 949 01 Nitra, Slovenská republika

V štyroch slovenských regiónoch sme študovali vzťahy medzi rastlinou a mikroorganizmami s ohľadom na stanovenie mykoflóry u *Castanea sativa* Mill. (orechy, kôra, listy a peľ) a ich vplyv na hostiteľský organizmus. V experimentoch bolo izolovaných 7 rodov a 10 druhov mikroskopických húb z orechov, kôry a listov. Zistili sme, že izoláty z peľu *Castanea sativa* Mill. boli zastupené 8 rodmi a 11 druhmi mikroskopických húb. U izolátov orechov, listov a kôry sa najčastejšie vyskytovali rody *Alternaria*, *Cladosporium*, *Mucor* a *Rhizopus*. Rody *Acremonium*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium* a *Trichoderma* sú najčastejšie sa vyskytujúcimi mikroskopickými hubami v peľi. Na základe ďalších taxonomických určení z rodu *Aspergillus* boli izolovaný a identifikovaný zástupcovia druhov *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. ochraceus*, *A. terreus* a *A. versicolor*. Z rodu *Fusarium* bol izolovaný druh *F. oxysporum* a z rodu *Penicillium* boli izolované druhy *P. crustosum* a *P. glabrum*. Je potrebné zdôrazniť, že izolované rody *Aspergillus*, *Fusarium* a *Penicillium* sú považované za najvýznamnejších producentov mykotoxínov.

The plant-microbial interactive relations with respect to determination of the mycoflora of the *Castanea sativa* Mill. nuts, crust, leaves and pollen and their effect on the host organism in four Slovak regions were studied. In the experiments were isolated 7 genera and 10 species of microscopic fungi from the nut, crust and leaves. It was found, that isolates from the *Castanea sativa* Mill. pollen were represented by 8 genera and 11 species of microscopic fungi. *Alternaria*, *Cladosporium*, *Mucor* and *Rhizopus* appeared to be the most frequently occurring genera of nuts, leaves and crust. *Acremonium*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium* and *Trichoderma* are the most frequently fungi of pollen. On the base of further taxonomic determination from the genera *Aspergillus* were isolated and identified representatives of species *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. ochraceus*, *A. terreus* and *A. versicolor*. From the genera *Fusarium* was isolated *F. oxysporum* and from *Penicillium* genera were isolated *P. crustosum* and *P. glabrum*. It is necessary to underline that the isolated genera *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* are considered as the most important producers of mycotoxins.

* * *

Rizika použítí ribozomální RNA v taxonomii a odhaděch diverzity, problém paralogů a pseudogenů

The risk of ribosomal RNA sequences application in taxonomy studies and diversity estimations, problem of paralogues and pseudogenes.

Miroslav Kolařík

¹ katedra botaniky, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Benátská 2, 128 01, Praha 2

² Laboratoř genetiky, fyziologie a bioinženýrství hub, Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i, Vídeňská 1083, 142 20, Praha 4

DNA usek kódující ribozomální RNA je hojně využívaný marker k identifikaci hub a ke zjištění jejich příbuznosti. Vnitřní přepisované mezerníky ITS1 a ITS2 a gen pro

5,8 S ribozomální podjednotku jsou označovány jako ITS oblast a v genomu se nacházejí v počtu repetit 45-200. Podle publikovaných prací je ITS oblast schopna rozlišit 73 % studovaných hub a je dobře získatelná pomocí univerzálních primerů. To jsou také důvody, proč je ITS oblast používána jako barcode pro houby a při studiu diverzity environmentálních vzorků. V databázi GenBank je přibližně 172 000 sekvencí hub tohoto úseku, ze kterých je 56 % přiřazeno k některému z 15 500 sekvenovaných druhů hub. Hlavní slabinou ITS oblasti je její vnitrojaderná variabilita. V jenom jádře se nachází více kopií, které se typicky liší v 0-3 % bp, výjimečně pak až ve více než 5 % bazí. Tuto variabilitu lze odhalit za použití metod, které studují jednotlivé kopie (sekvence naklonované ve vektoru nebo získané při masivním paralelním sekvenování) a nikoliv jejich konsenzus jako je to při klasickém přímém sekvenování. Přítomnost velmi odlišných kopií (ITS paralogů) může zásadně ovlivnit odhady diverzity hub z environmentálních vzorků. Ty pracují s operačně taxonomickými jednotkami, které jsou definovány jako skupina sekvencí o podobnosti 97 % a více a měly by přibližně odpovídat houbovým druhům. Kromě funkčních ITS kopií jsou známy i rDNA pseudogeny, které svoji funkčnost pozbyly. U hub jsou velmi nedostatečně doloženy a patrně se vyskytují např. u rodu *Geosmithia* (Ascomycota: Hypocreales). rDNA pseudogeny lze odhalit porovnáním sekvencí příbuzných druhů hub, kdy má pseudogen typicky velmi odlišnou sekvenci (sled bazí a délku), menší obsah bazí GC a nestandardní sekundární strukturu. Pseudogeny mají evoluční historii odlišnou od funkční rDNA a jejich vmísení do analýzy vede ke špatnému odhadu fylogenetické příbuznosti.

DNA region coding the ribosomal RNA is widely used for identification and phylogenetic studies of fungi. Internal transcribed spacers ITS1 and ITS2 and gene for 5.8 S ribosomal subunit are generally named as ITS region and occur in 45-200 copies in a single genome. According to the published results, the ITS region is able to distinguish 73% of fungal species studied and is easily accessible using universal primers. There are more than 17,200 fungal sequences of ITS region in the GenBank, from which 56% are linked with one of the 15,500 sequenced fungal species. The most significant drawback of the ITS region is its intragenomic variability. There are several different copies in a single nucleus, typically with sequence variability up to 3% but also exceeding 5% in some documented cases. This variability is studied using methods determining sequence of the particular copy (sequencing of PCR clones or massive parallel sequencing) instead of methods generating a consensus sequence from all copies (direct Sanger sequencing without cloning). The presence of more different ITS copies (ITS paralogues) can significantly affect fungal diversity estimations from environmental samples. Such methods work with operational taxonomic units, mostly defined using a 97% similarity threshold, which corresponds to the majority of known species. In addition to the presence of paralogues, there are known deeply divergent and non-functional pseudogenes, which were little documented in fungi (probably occur e.g. in the genus *Geosmithia* - Ascomycota: Hypocreales). rDNA pseudogenes typically have very unrelated sequence, uncommon length and smaller GC content, when compared with related taxa, and non-standard secondary structure. Pseudogenes have different evolutionary history and their inclusion into the dataset leads to wrong results.

* * *

Společenstva hub kolonizujících prázdné schránky druhu *Cepaea hortensis* ve čtyřech různých typech opadu
Communities of fungi colonizing empty shells of *Cepaea hortensis* in four different litter types

Ondřej Koukol¹ a Dagmar Říhová²

¹ katedra botaniky, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Benátská 2, 128 01, Praha 2

² Katedra zoologie, UK v Praze, PŘF, Viničná 7, Praha 2, 128 43

Schránky suchozemských plžů jsou tvořeny z vysoce odolného proteinového materiálu (konchiolin) a anorganického uhličitanu vápenatého. Kolonizace schránek houbami byla dosud nicméně přehlížena. V naší studii jsme se zaměřili na společenstvo mikroskopických hub, které kolonizovaly prázdné schránky běžného suchozemského plže *Cepaea hortensis*. Schránky byly kultivovány na povrchu opadu ze čtyř různých typů lesa (podmáčená olšina, dubohabřina, smrkový rašelinný a suťový les) za konstantních podmínek a houby byly zaznamenávány čtyřikrát ve tříměsíčních intervalech. Zaznamenali jsme minimálně 35 druhů hub a zástupce jednoho rodu vláknité bakterie, které kolonizovali schránky. Nejčastější druhy hub byly chitinolytické a celulolytické, nikoliv keratinolytické. Mnohorozměrná analýza ukázala, že nejdůležitějším faktorem, který ovlivňoval společenstvo hub, byl typ opadu. Nejpravděpodobněji, vlhkost a pH na lokalitě jsou mnohem důležitější, než proteinový materiál ve schránce. V neposlední řadě byl popsán nový rod mikroskopických hub tvořící staurokonidie na základě mnoha kolonií nalezených na ulitách kultivovaných na opadu z podmáčené olšiny.

Shells of terrestrial gastropods are formed by combination of highly resilient proteinaceous compounds (conchiolin) and inorganic calcium carbonate. Nevertheless, their colonisation by fungi has been hitherto overlooked. In our study, we aimed at communities of fungi colonizing empty shells of a common terrestrial gastropod *Cepaea hortensis*. Shells were cultivated on surface of litter from four different forest types (alder alluvial, oak-hornbeam, peat-bog pine and scree forest) at constant conditions and fungi were surveyed and identified in four 3-months intervals. We found at minimum 35 fungal species and one genus of filamentous bacterium that colonized the shells. The most frequent fungi were chitinolytic or cellulolytic species, rather than keratinolytic ones. Multivariate analysis revealed that the most important factor affecting the fungal community was litter type. Most probably, humidity and pH at the locality are more important factors than the proteinaceous material of the shell. Last, but not least, a new genus of microfungi with staurosporous conidia was described based on numerous colonies found on shells cultivated on the alder alluvial forest.

* * *

Produkcia ochratoxínu A aspergilmi a penicíliami za rovnakých kultivačných podmienok (*in vitro*)
Ochratoxin A production by aspergilli and penicillia under the same cultivation conditions (*in vitro*)

Romer Labs Division Holding GmbH, Technopark 1, 3430 Tulln, Austria

Ochratoxín A (OTA) je najdôležitejším metabolitom zo skupiny ochratoxínov, ktorých štruktúra je tvorená 3,4-dihydro-3metylizokumarínom spojeným cez 7-karboxylovú skupinu s L-β-fenylalanínom peptidickou väzbou. OTA je považovaný za chronický nefrotoxín poškodzujúci činnosť obličiek a spôsobujúci poškodenie rôznych typov obličkových tkanív. Má aj imunopresívne, teratogénne a genotoxické účinky. OTA bol klasifikovaný ako možný ľudský karcinogén (Skupina 2B). Výskyt OTA v potravinách a jeho negatívny dopad na zdravie ľudí je predovšetkým spojený s kontamináciou rôznych druhov orechov, kávy a hrozna špecifickými druhmi rodu *Aspergillus* (tropické a subtropické oblasti). Naopak, v oblastiach mierneho pásma sa jeho výskyt viaže na obilniny kontaminované druhom *Penicillium verrucosum*. Doposiaľ bolo zistených 20 druhov z rodu *Aspergillus* (podrod *Circumdati*) a 2 druhy z rodu *Penicillium* (*P. verrucosum* a *P. nordicum*) preukázateľne schopné produkovať tento mykotoxín. Na schopnosť produkcie OTA v *in vitro* podmienkach (na ryži a agare s kvasničným extraktom, pri 25- 28°C, po 14 a 28 dňoch, v tme) bolo v tejto štúdii testovaných 18 kmeňov z rodu *Aspergillus*, konkrétne *Petromyces albertensis* (1), *Aspergillus alliaceus* (4), *A. carbonarius* (3), *A. sclerotioniger* (1), *A. westerdijkiae* (5), *A. steynii* (4) a 4 kmene huby *P. nordicum*. Produkcia OTA, v závislosti od kmeňa a použitého média, kolísala v rozsahu od 0.2 do 1000 mg.kg⁻¹ (na agare s kvasničným extraktom) a od 3.8 do 3980 mg. kg⁻¹ (ryža). Najproduktívnejší kmeň bol zistený v rámci druhu *Aspergillus steynii*.

Kľúčové slová: *Aspergillus*, *Penicillium*, OTA, nefrotoxín, karcinogén

Ochratoxin A (OTA) is a main member of the ochratoxins which are composed of a 3,4-dihydro-3methylisocoumarin linked via 7-carboxy group to L-β-phenylalanine by an amide bound. OTA is a chronic nephrotoxin, effecting kidney function, causing damage to a variety of kidney tissues. It has also immunosuppressive, teratogenic and genotoxic effects in animals and possibly humans, and being classified as a possible human carcinogen (Group 2B). Occurrence of OTA in foods and its negative effects on humans is linked mostly with specific *Aspergillus* contamination of nuts, coffee grains and grapes (tropical and subtropical regions), while temperate regions suffer mainly with contamination of cereals by *Penicillium verrucosum*. So far 20 species of the genus *Aspergillus* (subgenus *Circumdati* only) have been proved to produce OTA. In genus *Penicillium*, *P. verrucosum* and *P. nordicum* are considered as the only OTA producers. To check the production ability of the potentially ochratoxigenic species/strains within the genus *Aspergillus*, namely *Petromyces albertensis* (1), *Aspergillus alliaceus* (4), *A. carbonarius* (3), *A. sclerotioniger* (1), *A. westerdijkiae* (5) and *A. steynii* (4), and within the genus *Penicillium*, *P. nordicum* (4) strains, a general screening and production ability under the same cultivation conditions (rice and yeast extract agar - as cultivation/screening media, at 25-28°C, 14 and 28 days, darkness) was carried out in this study. Production of OTA ranged from 0.2 to 1000 mg.kg⁻¹ screened on the agar plates, and from 3.8 to 3980 mg. kg⁻¹ on rice. The best producer of OTA was found within the *Aspergillus steynii* strains.

Key words: *Aspergillus*, *Penicillium*, OTA, nephrotoxin, carcinogen

Výsledky dlouhodobého výzkumu plísně okurky (*Pseudoperonospora cubensis*) v České republice
Results of long-lasting research of cucurbit downy mildew (*Pseudoperonospora cubensis*) in the Czech Republic

Aleš Lebeda, Jana Pavelková, Božena Sedláková a Jiří Urban

Katedra botaniky, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci,
Šlechtitelů 11, 783 71 Olomouc-Holice, ales.lebeda@upol.cz;
bozena.sedlakova@upol.cz

Populační dynamika plísně okurky (*Pseudoperonospora cubensis*) v České republice (ČR) je od roku 2001 dlouhodobě intenzivně studována týmem fytopatologické laboratoře Katedry botaniky Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci. Výsledky tohoto výzkumu ukázaly, že české populace *P. cubensis* jsou vysoce variabilní z hlediska hostitelské a rasové specifičnosti, virulence a rezistence k fungicidům. Většina monitorovaných porostů okurky seté (*Cucumis sativus*) v ČR byla plísní okurky napadena (66-100% porostů) a převážně se jednalo o silné až velmi silné napadení (stupeň 3-4). Od roku 2009 bylo napadení *P. cubensis* pozorováno také na nových hostitelských rostlinách z čeledi Cucurbitaceae (*Cucumis melo*, *Cucurbita* spp., *Citrullus lanatus*, *Lagenaria siceraria*). České populace *P. cubensis* byly ve sledovaném období (2001-2010) rovněž vysoce variabilní ve virulenci, celkem bylo detegováno 67 různých patotypů, přičemž se převážně jednalo o středně a vysoce virulentní kmeny. Výsledky sledování účinnosti fungicidů, resp. jejich účinných látek (propamocarbu, fosetylu-Al, metalaxylu, metalaxylu-M, cymoxanilu a dimethomorphu) ukázaly, že populace *P. cubensis* v ČR byly variabilní v reakci k těmto účinným látkám.

Tento výzkum byl podpořen následujícími granty: QH 71229, MSM 6198959215, PrF_2012_001.

Population dynamics of cucurbit downy mildew (*Pseudoperonospora cubensis*) in the Czech Republic (CR) has been intensively studied by Plant Pathology Laboratory of Department of Botany, Palacky University in Olomouc, since the year 2001. Results of this research showed that Czech *P. cubensis* populations are highly variable from the viewpoint of host- and race-specificity, virulence and resistance to fungicides. Majority of monitored cucumber plants (*Cucumis sativus*) in the CR were infected by cucurbit downy mildew (disease prevalence ranged from 66 to 100%) and the high to very high disease severity prevailed (infection degree 3-4). Since the year 2009, new host from the family Cucurbitaceae (*Cucumis melo*, *Cucurbita* spp., *Citrullus lanatus*, *Lagenaria siceraria*) were infected by *P. cubensis*. Czech *P. cubensis* populations were also highly variable in their virulence. 67 different pathotypes were detected, medium and highly virulent strains prevailed. Results of fungicide (active ingredient) resistance screening showed that *P. cubensis* populations in CR were variable in reaction to these active ingredients.

This research was supported by grants QH 71229, MSM 6198959215, PrF_2012_001.

* * *

**Sbírka fytopatogenních oomycetů VÚKOZ, v.v.i.
Collection of phytopathogenic oomycetes at RILOG, publ. res. inst.**

Marcela Mrázková, Karel Černý, Šárka Gabrielová a Markéta Hejná

Výzkumný ústav Silva Taroucy pro krajinu a okrasné zahradnictví, v.v.i., Květnové nám. 391, 252 43 Průhonice

Sbírka fytopatogenních oomycetů byla založena v roce 2005 v rámci výzkumného záměru VÚKOZ, v.v.i., je umístěna na odboru Biologických rizik a v roce 2012 byla přijata do Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů mikroorganismů. Celkem je ve sbírce uloženo více než 200 kmenů cca 20 taxonů r. *Phytophthora*. Každý kmen je uchovávan ve 4 zkumavkách na OA pod parafínovým olejem při 12 °C. Databáze je vedena v Microsoft Access 2002. Mezi vedené údaje patří: přírůstkové číslo, lokalita, hostitel, poškození, datum a jméno pracovníka, který patogen izoloval, metoda určení a jméno determinátora atd. U některých kmenů jsou dále uchovávány sekvence ITS regionů, fotodokumentace, determinační protokol atp. Mezi cíle sbírky patří celkové podchycení biodiverzity fytopatogenních oomycetů (*Pythiales*) a zvláště pak uchování nebezpečných invazních, cizích a ekonomicky významných patogenů (*P. alni*, *P. plurivora*, *P. cambivora*, *P. ramorum*, *P. cinnamomi* aj.). Sbírkové kmeny mohou být využity v testech rezistence, šlechtění, biotechnologii, tvorbě krajiny a ochrany přírody, ve vědě a výzkumu, vzdělávání, v rámci spolupráce se SRS atp.

The collection of phytopathogenic oomycetes was established in the frame of research intention of the Institute in 2005. The collection is located at Department of Biological Risks. In total, there are maintained more than 200 strains belonging to approx. 20 taxa of the genus *Phytophthora*. The strains are deposited in 4 tubes on OA under mineral oil at 12 °C in the dark. The data base is administrated in Microsoft Access 2002 and the followed information are deposited: access no, the location and its coordinates, the host, the disease and attacked organ, date and name of the isolator, the method and date of detection, name of the determinator, etc. The sequences of ITS regions, photodocumentation, determination protocol and other information are also available for some important strains. The collection has been accepted into the Czech National Programme on Conservation and Utilization of Microbial Genetic Resources in 2012. The main topic of the collection is the maintenance of phytopathogenic *Pythiales* – especially of dangerous, invasive, alien and economically important pathogens belonging to the genus *Phytophthora* (*P. alni*, *P. plurivora*, *P. cambivora*, *P. ramorum*, *P. cinnamomi*, etc.). The deposited strains can be utilised in tests of resistance, plant breeding, biotechnologies, landscaping and nature conservation, in science and research, education, cooperation with State Phytosanitary and other institutions, etc.

* * *

**Společenstvo mikroskopických hub jeskyně Movile, Rumunsko – předběžné
výsledky
Preliminary results on microfungus community of Movile Cave, Romania**

Alena Nováková¹, Vít Hubka^{2,3} a Alexandra Maria Hillebrand–Voiculescu⁴

¹ Ústav půdní biologie, BC AV ČR, v.v.i., Na Sádkách 7, 370 05 České Budějovice

² katedra botaniky, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Benátská 2,
128 01, Praha 2

³ Laboratoř genetiky, fyziologie a bioinženýrství hub, Mikrobiologický ústav AV ČR,
v.v.i, Vídeňská 1083, 142 20, Praha 4

⁴ Institutul de Speleologie „Emil Racovitza“, Calea 13 Septembrie, nr. 13, Bucharest,
Romania

Rumunská jeskyně Movile, objevená v roce 1986, je unikátní chemoautotrofní jeskyní s výskytem specifické vodní a terestrické fauny včetně 24 endemických druhů. Doposud byl výzkum zaměřen pouze na chemotrofní společenstvo bakterií a mikroskopickým houbám nebyla, stejně tak jako v jiných chemoautotrofních jeskyních, věnována pozornost.

Mikroskopické houby byly izolovány převážně z horní suché části jeskyně z jeskynního ovzduší, sedimentů, zvětralého povrchu stěn a z exkrementů isopodů. Pro srovnání byly mikromycety izolovány z půdy a ovzduší nad jeskyní. Výsledky tohoto pilotního výzkumu ukázaly bohaté spektrum mikroskopických hub včetně zástupců rodu *Aspergillus* (např. *A. baeticus*, *A. ustus*, *A. versicolor* group) a *Penicillium* (např. *P. manginii*, *P. chrysogenum*, *P. expansum*) a dále např. *Purpureocillium lilacinum*, *Microsporum gypseum*, *Myriodontium keratinophilum*, *Oidiodendrum griseum*, *Spiniger meineckellus* etc.

Movile Cave, a ground-water ecosystem in southern Romania, was discovered in 1986. This chemoautotrophic cave contains an abundant and diverse fauna with terrestrial and aquatic invertebrate communities including 24 endemic species. In the past, several studies were focused on cave chemoautotrophic bacterial community, nevertheless microfungal community was so far neglected.

Microscopic filamentous microfungi were studied in upper dry level of cave system from cave air, cave sediments, corroded limestone walls, and isopod faeces and cadavers. The gravity settling method for the estimation of air-borne microfungi and the dilution plate method were used as isolation methods. The cave microfungal community was also compared with above environment (outdoor air-borne and soil microfungi). Results of a pilot study show a broad microfungal spectrum in cave air and sediments including several species of the genus *Aspergillus* (e.g., *A. baeticus*, *A. ustus*, *A. versicolor* group) and *Penicillium* (e.g., *P. manginii*, *P. chrysogenum*, *P. expansum*), *Purpureocillium lilacinum*, *Microsporum gypseum*, *Myriodontium keratinophilum*, *Oidiodendrum griseum*, *Spiniger meineckellus* etc.

* * *

Mikroskopické houby rekultivovaných půd v Rolling Hills Wind Plant, Glenrock, Wyoming

Microscopic Fungi in Reclaimed Soils in the Rolling Hills Wind Plant, Glenrock, WY

Alena Nováková¹, Jan Frouz^{1,2} a Vít Hubka^{3,4}

¹ Ústav půdní biologie, BC AV ČR, v.v.i., Na Sádkách 7, 370 05 České Budějovice

² Ústav pro životní prostředí, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Benátská 2, 128 01, Praha 2

³ katedra botaniky, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Benátská 2, 128 01, Praha 2

⁴ Laboratoř genetiky, fyziologie a bioinženýrství hub, Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i, Vídeňská 1083, 142 20, Praha 4

Mikroskopické houby byly studovány v půdách s různým typem rekultivace a různého stáří v areálu Rolling Hills Wind Plant (dříve důl Former Dave Johnson Coal Mine, uzavřený v roce 2002) v blízkosti Glenrocku ve Wyomingu, USA. Vzorky byly odebírány v září 2010 ze 4 míst – 3 z nich byly rekultivovány, jedno s přirozenou sukcesí rostlin. Několik izolačních technik bylo použito pro izolaci mikromycet (zředovací, promývací a metody pro izolaci termorezistentních, keratinofilních, celulólytických a koprofilních mikromycet). Determinace probíhala na základě makro a mikromorfologických vlastností a za použití molekulárních analýz. Byly zjištěny rozdíly v zastoupení mikromycet mezi studovanými plochami i mezi použitými metodami izolace. Bylo izolováno velké množství izolovaných mikromycet z rodu *Aspergillus*, sekce *Fumigati* (*A. lentulus*, *A. viridinutans*, *A. viridinutans/Neosartorya aureola* a *N. udagawae*), termotolerantní lidské patogeny.

Microscopic saprotrophic fungi were studied in soils with different reclamation type and age in the area of the Rolling Hills Wind Plant. Former Dave Johnson Coal Mine, located to the north of Glenrock, WY, closed in 2002 is currently in the process of being reclaimed. Soil samples were collected in September 2010 from four sites (three of them are with various reclamation types and one belongs to natural succession area – all dominated by sagebrush grassland). Several isolation technique were used for microfungi isolation – classical soil dilution plate method, soil washing technique, and isolation of thermotolerant, keratinophilic, cellulolytic, and coprophilous microfungi. Microfungal determination carried out using the macro- and micro-morphological characteristics and using molecular methods (ITS sequences etc.), too. Differences in microfungal diversity were found among studied sites and also among using isolation techniques. A lot of isolated microfungi belong to the genus *Aspergillus* section *Fumigati*, e.g. *A. lentulus*, *A. viridinutans*, *A. viridinutans/Neosartorya aureola*, and *N. udagawae*. There are the first records from soils in USA for the most part of these thermotolerant human pathogens.

* * *

***Trichoderma* - vážný problém při pěstování hlívy ústříčné v ČR** ***Trichoderma* – serious problem of oyster mushroom cultivation in the Czech Republic**

David Novotný¹, Ivan Jablonský² a Lenka Zadrobilová³

¹ Výzkumný ústav rostlinné výroby, Drnovská 507, 161 06 Praha 6 – Ruzyně, novotny@vurv.cz

² Ověnecká, 47/370, 170 00 Praha 7,

³ AOPK ČR, Správa CHKO Jizerské hory a krajské středisko Liberec, U jezu 10, 460 01 Liberec

Houby rodu *Trichoderma* působí v posledních letech vážné problémy při pěstování žampionů a hlívy v pěstírnách v ČR. Byl hodnocen vliv teploty na růst a přežívání *Trichoderma* sp. na 2% sladidlovém agaru a v substrátu pro pěstování hlívy. Byly diskutovány hlavní otázky spojené s problémy způsobené houbami rodu *Trichoderma* sp. při pěstování hlívy.

Finančně podpořeno projektem MZe 000270604.

Some species from genus cause serious problems in cultivation of champignons and oyster mushroom in farms in the Czech Republic. It was evaluated influence of temperature on growth and surviving *Trichoderma* sp. on 2% malt extract agar and in substrate for cultivation of oyster mushroom. The main problems in cultivation of oyster mushroom caused by fungi from genus *Trichoderma* were discussed.

* * *

Výskyt troch druhov rodu *Libertella* na Slovensku The occurrence of three *Libertella* spp. in Slovakia

Emília Ondrušková, Katarína Adamčíková, Marek Kobza a Gabriela Juhásová

Ústav ekológie lesa SAV Zvolen, Pobočka biológie drevín Nitra, Akademická 2, 949 01 Nitra, SR; ondruskova@savzv.sk

Prezentovali sme výskyt druhov rodu *Libertella* na Slovensku. Cieľom štúdie bolo morfológické porovnanie jednotlivých druhov.

Libertella faginea bola nájdená na *Fagus sylvatica*. Konídie s veľkosťou 17 - 26 × 0,5 - 0,7 μm boli jemne nitkovité, oblúkovito zahnuté, bezfarebné, vytekajúce v gélovitú šafránovo- žltú až oranžovú hmotu. Teleomorfným štádiom huby je *Eutypella quaternata*.

Libertella betulina bola odobratá z druhu *Betula pendula*. Konídie s veľkosťou 34,9 - 47,5 × 1,4 - 1,9 μm sú nitkovité, bezfarebné, mierne prehnuté, na oboch koncoch špicaté. Masa konídií je zlatožlto sfarbená. Teleomorfným štádiom huby je *Diatrype stigma*.

Libertella quercina bola identifikovyná na kôre a konároch druhu *Castanea sativa*. Konídie s veľkosťou 23,9 - 41,2 × 0,7 - 0,8 μm boli prehnuté, bezfarebné a tvorili oranžovú hmotu. Teleomorfným štádiom huby je *Diatrypella quercina*.

Vzorky boli uložené do depozitu herbára SAV, každá pod vlastným číslom: SAV F-3142, SAV F-3143 a SAV F-3144.

Príspevok bol podporený projektmi VEGA 2/0149/10 a APVV-0421-07.

We presented data about the occurrence of *Libertella* species in Slovakia. Morphological observations with descriptions of *Libertella* species were compared.

Libertella faginea occurred on *Fagus sylvatica*: conidia were 17 - 26 × 0.5 - 0.7 μm long, delicately filiform-fusoid, curved, hyaline, issuing in gelatinous, coiled and twisted saffron- yellow to orange tendrils. The fungus is anamorph state of *Eutypella quaternata*.

Libertella betulina occurred on *Betula pendula*: conidia were 34.9 – 47.5 × 1.4 - 1.9 μm long, fusoid, faintly curved, and pointed at both ends, hyaline, issuing in golden yellow tendrils. The fungus is the anamorph state of *Diatrype stigma*.

Libertella quercina occurred on *Castanea sativa*, conidia were $23.9 - 41.2 \times 0.7 - 0.8 \mu\text{m}$ long, long curved, hyaline, issuing in orange substance. The fungus is the anamorph state of *Diatrypella quercina*.

Specimens were deposited in Herbarium of Slovak Academy of Science as SAV F-3142, SAV F-3143 and SAV F-3144.

Financial support came from project VEGA 2/0149/10 and to project APVV-0421-07.

* * *

Inaktivace spor mikromycet nízkoteplotním plazmatem v kombinaci s aerosolem H₂O₂

Microfungal spores inactivation by low-temperature plasma in a combination with H₂O₂ aerosol

Miroslav Čeřovský, Josef Khun, Kateřina Rusová, Vladimír Scholtz a Hana Soušková
VŠCHT Praha, FCHI, Ústav fyziky a měřicí techniky, Technická 5, 166 28 Praha 6 – Dejvice

Častým problémem v potravinářství bývají plísňové kontaminace. Hlavní příčinou je jejich praktická všudypřítomnost a značná odolnost jejich spor. Okruh případných preventivních opatření je omezen přísnými požadavky z hlediska bezpečnosti potravin, popř. vlastnostmi potravin. Jednou z možností prevence je použití aerosolu peroxidu vodíku, jehož přítomnost ve velkém množství však může být nežádoucí. Zvýšení účinnosti a tím i omezení množství použitého peroxidu vodíku by mohlo být dosaženo současným působením aerosolu peroxidu vodíku a nízkoteplotního plazmatu. Cílem práce je tedy studium možnosti inaktivace spor mikromycet nízkoteplotním plazmatem v kombinaci s aerosolem H₂O₂.

Za nízkoteplotní plazma se považuje částečně nebo plně ionizovaný plyn, jehož teplota zůstává nezměněna či mírně zvýšena oproti teplotě původní. Převážná většina energie dodaná do plazmatu je zde využita na urychlení elektronů, které narážejí do částic pracovního plynu a jsou tudíž startovacími částicemi pro další plazmochemické reakce. Při těchto reakcích vzniká záření a celá řada aktivních částic, které mohou mít dekontaminační účinky. Jako zdroje nízkoteplotního plazmatu se často používají různé druhy elektrických výbojů v plynech, z nichž zřejmě nejjednodušším je korónový výboj. Vzniká již při napětí několika kV na ostrých hranách nebo hrotech elektrod. Dekontaminační účinky plazmatu se projevují i při relativně nízkých teplotách, při kterých nedochází k poškození ošetřovaných potravin a materiálů. Částice plazmatu nepronikají hluboko do materiálů a mají relativně krátkou dobu života. Z tohoto hlediska se jeví bezpečné pro konzumenta, protože v potravině v době konzumace již nebudou přítomny.

Na našem pracovišti byla vyvinuta aparatura generující atmosféru složenou ze vzduchu a aerosolu peroxidu vodíku, ve které hořel bipolární korónový výboj (proud výbojem $I = 300 \mu\text{A}$, napětí výboje $U = 4 \text{ kV}$). Bezprostředně v blízkosti výboje byla umístěna polotekutá živná půda, jejíž povrch byl kontaminován spory *Talaromyces striatus* a následně ošetřen aktivními částicemi a zářením vzniklými po průchodu pracovního plynu výbojem. Byla zjišťována závislost účinnosti inaktivace těchto spor pro samotný výboj, samotný peroxid vodíku a jejich kombinovaný efekt.

Výsledky ukazují, že po působení na kontaminované povrchy živných půd dochází k inaktivaci spor a vzniku tzv. inhibiční zóny, tj. zóny prosté přežívajících spor. Při použití samotného peroxidu vodíku jsme po 1 minutě působení dosáhli inhibiční zóny o průměru 20 mm. Při působení samotným výbojem jsme dosáhli inhibiční zóny o průměru 30 mm, zatímco při použití kombinace aerosolu peroxidu vodíku s korónovým výbojem byla velikost inhibiční zóny 80 mm. Z výsledků je možné konstatovat, že společné působení peroxidu vodíku a korónového výboje vykazuje synergický účinek a mohlo by být v některých případech vhodnou metodou k ošetřování povrchů.

Studie byla vypracována s podporou grantových projektů MSM ČR 6046137306, MSM ČR 0021620806 and SVV-2012-264506.

Mould contaminations are considered to be a serious problem in food industry due to ubiquity of microfungal spores. The inactivation of microfungal spores using the low-temperature plasma in combination with H₂O₂ aerosol was studied. Active particles and radiation created after bipolar corona discharge were used for the inactivation of *Talaromyces striatus* spores contamination on the nutrient medium surface. Results showed the influence of active particles and bipolar corona discharge on microfungal spores which resulted in spore inactivation and the creation of inhibitory zone without surviving spores. Simultaneous effect of bipolar corona discharge and H₂O₂ aerosol showed a synergic effect – whilst the size of inhibition zone was 20 mm in the case of the H₂O₂ aerosol use alone and 30 mm in case of discharge use only, in the case of combination of both effects the size of inhibition zone was 80 mm. Tested procedure seems to be a suitable method for surfaces treatment.

The study has been founded by MSM ČR 6046137306, MSM ČR 0021620806, and SVV-2012-264506.

* * *

The comparison of the fungicidal properties of corona discharge and of the dielectric barrier discharge

Srovnání fungicidních vlastností korónového výboje a dielektrického bariérového výboje

Hana Soušková, Vladimír Scholtz, Jaroslav Julák, Vítězslav Kříha a Dana Savická

VŠCHT Praha, FCHI, Ústav fyziky a měřicí techniky, Technická 5, 166 28 Praha 6 – Dejvice

Výzkum dekontaminačních vlastností netermálního plazmatu za atmosférického tlaku a potenciální možnost jejich využití v medicíně či potravinářském průmyslu je předmětem intenzivního výzkumu již od roku 1996.

Za plazma se považuje částečně nebo plně ionizovaný plyn složený z iontů, elektronů, elektroneutrálních atomů a molekul. Ke generaci nízkoteplotního plazmatu (NTP) se často používají různé druhy elektrických výbojů v plynech. Korónový výboj (CD) vzniká již při stejnosměrném napětích několika kV na ostrých hranách nebo hrotech elektrod. Dielektrický bariérový výboj (DBD) vzniká mezi dvěma elektrodami napájenými střídavým napětím, mezi kterými se nachází dielektrická vrstva. NTP generované za atmosférického tlaku obsahuje mnoho aktivních mikrobicidních

agens, jejichž složení se liší v závislosti na typu použitého zdroje plazmatu. Tato práce je první studií porovnávající účinnost dvou různých zdrojů netermálního plazmatu na stejné kmeny mikroorganismů

Účinky obou těchto typů nízkoteplotního plazmatu byly studovány a porovnány na sporách čtyř nepatogenních vláknitých hub:

- *Aspergillus oryzae* (Alhburg) E. Cohn 1884 (DBM 4002)
- *Cladosporium sphaerospermum* Penzing 1882 (DBM 4282)
- *Alternaria* sp. Ness 1816:Fr (DBM 4002)
- *Byssosclamyces nivea* Westling 1909 (DBM 4104)

Jedná se o kmeny, jejichž spory se masivně vyskytují v půdě, v ovzduší, ve vodě i uvnitř objektů. Mohou vyvolat alergie, onemocnění některých kulturních plodin a jsou spojovány s kažením potravin. Za použití obou typů netermálního plazmatu (CD a DBD) byly provedeny tyto tři experimenty: a) dekontaminace suspenze spor mikromycet ve vodě, kde nás zajímal úbytek mikroorganismů ve vodní suspenzi v závislosti na době expozice; b) dekontaminace povrchů živného média inokulovaných spory mikromycet, kde nás zajímala velikost inhibičních zón v závislosti na době expozice; c) porovnání dynamiky růstu neexponovaných spor a spor, které byly vystaveny expozici subletální dávce NTP.

Dekontaminační účinky jednotlivých druhů plazmatu se výrazně lišily v působení na vodné suspenze spor a na povrchy živných médií inokulovaných spory mikromycet. Zjistili jsme, že CD vykazuje dobrý průnik aktivních agens do objemu kapalné suspenze, proto je vhodný pro dekontaminaci vodných suspenzí, ale nevhodný k dekontaminaci povrchů. Naproti tomu DBD nemá prokazatelný vliv na vodní suspenzi, působí do šířky a vykazuje velmi dobrou schopnost plošné dekontaminace. Oba typy výbojů mají schopnost oddalovat klíčení spor mikromycet.

Studie byla vypracována s podporou grantových projektů MSM ČR 6046137306, MSM ČR 0021620806, SVV-2012-264506, PRVOUK - P25/LF1/2 a SGS10/266/OHK3/3T/13.

The effects of the decontamination of low-temperature plasma at atmospheric pressure and the potential possibility of their use in medicine or food industry have been the subject of an intense research since the year 1996.

The plasma is considered to be partially or fully ionized gas composed of ions, electrons, atoms and molecules, electroneutral atoms and molecules. Various types of electrical discharges in gases are often used for the generation of low-temperature plasma (LTP). Corona discharge (CD) occurs at DC voltages of several kV on the sharp edges or tips of electrodes. Dielectric barrier discharge (DBD) occurs between two parallel plate electrodes, powered by AC voltage; there is a dielectric layer in between electrodes. Low-temperature plasmas generated at atmospheric pressure consist of a variety of microbicidal active agents, the composition of which varies depending on the type of the plasma source. This work is the first study comparing the effectiveness of the two different sources of low-temperature plasma on the same species of microorganisms.

The effects of both these types of LTP have been studied and compared on the spores of four non-pathogenic micromycetes:

- *Aspergillus oryzae* (Alhburg) E. Cohn 1884 (DBM 4002)
- *Cladosporium sphaerospermum* Penzing 1882 (DBM 4282)
- *Alternaria* sp. Ness 1816:Fr (DBM 4002)
- *Byssosclamyces nivea* Westling 1909 (DBM 4104)

These fungi and their spores occur massively in soil, air, water, and inside objects. They may cause allergies and in certain cultural crops even illnesses and they are associated with the spoilage of food.

These three experiments were carried out using both types of the low-temperature plasmas (CD and DBD): (a) decontamination of water suspensions of micromycete spores, where a loss of microorganisms in the suspension (depending on the time of exposure) was observed; (b) decontamination of surfaces of nutrient media inoculated by micromycete spores, where the changing size of the zones of inhibition depending on the time of exposure was observed; (c) comparison of the dynamics of micromycete growth between untreated spores and spores that have been exposed to a sublethal dose of LTP.

Decontamination effect of plasma species differed in water suspensions and on the surfaces. We found out that the CD demonstrated a good penetration of active agents into the volume of a water suspensions, it is therefore appropriate for the decontamination of water suspensions, but inappropriate for the decontamination of surfaces. In contrast, the DBD has no demonstrable effect on water suspensions, it acts in breadth and thus has a very good ability to decontaminate the surface. Both types of discharges have the ability to delay the germination of the micromycete spores.

The study has been founded by MSM ČR 6046137306, MSM ČR 0021620806, SVV-2012-264506, PRVOUK - P25/LF1/2 and SGS10/266/OHK3/3T/13.

* * *

Genetická variabilita druhu *Fusarium graminearum* v České republice Genetic variability of *Fusarium graminearum* in the Czech Republic

Taťána Sumíková, Martin Žabka, Ladislav Kučera

Výzkumný ústav rostlinné výroby v.v.i., Drnovská 507, 161 06, Praha – Ruzyně

Nejdůležitějším patogenem způsobujícím fuzariózy klasu pšenice je v České republice druh *Fusarium graminearum*, známý svou schopností produkovat trichotheceeny, zejména deoxynivalenol a jeho deriváty. 103 izolátů *F. graminearum* bylo získáno z přirozeně infikovaných pšeničných klasů pocházejících z 20 lokalit v České republice. Genetická variabilita izolátů byla hodnocena metodou AFLP. Populace byla značně heterogenní, jak uvnitř jednotlivých lokalit, tak mezi nimi. Nebyl prokázán statisticky významný vztah mezi AFLP profilem a geografickým původem vzorků.

Klíčová slova: *Fusarium graminearum*, AFLP, pšenice

The most important pathogen causing *Fusarium* head blight of wheat in the Czech Republic is *Fusarium graminearum*. The species is known for its ability of producing trichotheceenes, mainly deoxynivalenol and its derivatives. One hundred and three strains of *F. graminearum* were isolated from naturally infected wheat ears from 20 localities of the Czech Republic. Genetic variability of the isolates was evaluated by AFLP. The population was highly heterogeneous, both within and between the localities. No clear evidence for association between AFLP profile and geographic origin was found out.

Key Words: *Fusarium graminearum*, AFLP, wheat

* * *

Mikroskopické huby na mumifikovaných ľudských pozostatkoch z rodinnej krypty v Sládkovičove (okr. Galanta, Slovensko)
Microscopic fungi on mummified human remains from family crypt in Sládkovičovo (district Galanta, Slovak Republic)

Alexandra Šimonovičová¹, Silvia Bodoriková², Michaela Dörnhöferová², Katarína Chovanová³, Domenico Pangallo³

¹Department of Soil Science, Faculty of Natural Sciences, Comenius University, Mlynská dolina, 842 15 Bratislava, Slovak Republic

²Department of Anthropology, Faculty of Natural Sciences, Comenius University, Mlynská dolina, 842 15 Bratislava, Slovak Republic

³Institut of Molecular biology SAS, Dúbravská cesta 21, 845 51 Bratislava, Slovak Republic

Prezentujeme výskyt mikroskopických húb na mumifikovaných pozostatkoch osôb, ktoré zomreli v rokoch 1924, 1925 a 1932. Telesné pozostatky boli uložené v rodinnej krypte Kuffnerovcov v Sládkovičove. Pozostatky boli mumifikované prírodným spôsobom. Vďaka dobrej mikroklimu a prúdeniu vzduchu v krypte sa mäkké tkanivá dokonale vysušili. Na základe antropologickej a molekulárno-biologickej analýzy bolo zistené, že pozostatky patrili trom nepríbuzným osobám.

Identifikovali sme druhy rodu *Aspergillus* (*A. candidus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. ochraceus*, *A. sydowii*, *A. ustus*, *A. versicolor*), *Penicillium* (*P. crustosum*, *P. chrysogenum*), *Cladosporium*, *Neosartorya fischeri* a *Rhizopus stolonifer* var. *stolonifer*. Dominovali druhy rodu *Aspergillus* (58.3%), z ktorých mnohé majú silnú schopnosť rozkladať proteíny (*A. sydowii*, *A. ochraceus*, *A. candidus*), celulózu (*A. fumigatus*, *A. niger*, *A. ustus*, *A. versicolor*) a lipopolysacharidy (*A. ochraceus*, *A. niger*).

Práca bola podporená grantom UK/90/2012.

Occurrence of microscopic fungi on mummified human remains of individuals dying in 1924, 1925 and 1932 are presented. The remains were found in the Kuffner family crypt in Sládkovičovo village. The remains were naturally mummified. The soft tissues were completely dry to favorable microclimate and air flow in the crypt. The anthropological and molecular-biological analyses showed that remains belonged to three unrelated persons.

The species of genus *Aspergillus* (*A. candidus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. ochraceus*, *A. sydowii*, *A. ustus*, *A. versicolor*), genus *Penicillium* (*P. crustosum*, *P. chrysogenum*), genus *Cladosporium*, *Neosartorya fischeri* and *Rhizopus stolonifer* var. *stolonifer* were identified. Between all microscopic fungi dominated species of genus *Aspergillus* (58.3%). Many of them produce enzymes for degradation of proteins (*A. sydowii*, *A. ochraceus*, *A. candidus*), degradation of cellulose (*A. fumigatus*, *A. niger*, *A. ustus*, *A. versicolor*) and degradation of lipopoly-saccharides (*A. ochraceus*, *A. niger*).

This research was supported by University Comenius Grant UK/90/2012.

* * *

Výsledky výzkumu rozšíření padlí tykvovitých (*Golovinomyces cichoracearum*, *Podosphaera xanthii*) a jejich hyperparazita, *Ampelomyces quisqualis* v České republice

The results of research of distribution of cucurbit powdery mildew species spectrum (*Golovinomyces cichoracearum*, *Podosphaera xanthii*) and their hyperparasite, *Ampelomyces quisqualis* in the Czech Republic

Markéta Vajdová, Božena Sedláková a Aleš Lebeda

Katedra botaniky, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci,
Šlechtitelů 11, 783 71 Olomouc-Holice; Marketka.Vajdova@seznam.cz;
bozena.sedlakova@upol.cz; ales.lebeda@upol.cz

Výzkum rozšíření padlí tykvovitých (*Golovinomyces cichoracearum* (*Gc*), *Podosphaera xanthii* (*Px*)) na území České republiky (ČR) navazuje na předchozí dlouhodobý monitoring těchto patogenů. V letech 2008–2009 bylo analyzováno celkem 229 vzorků listů tykvovitých zelenin se symptomy padlí tykvovitých pocházejících z území ČR. U získaných vzorků byla provedena identifikace příslušného druhu patogenu, příp. detekce směsné infekce (*Gc*, *Px*) a to na základě mikroskopické analýzy morfologických struktur anamorfního stadia. U těchto vzorků byla také zjišťována přítomnost hyperparazita *Ampelomyces quisqualis* Ces. (*AQ*). Ve sledovaném dvouletém období se druhové spektrum padlí tykvovitých na území ČR, a rovněž i výskyt druhu *AQ* měnily. V roce 2008 byla v analyzovaných vzorcích nejčastěji pozorována směsná infekce (*Gc*, *Px*), a to u 54 % vzorků, častý byl rovněž i samostatně se vyskytující druh *Gc* (35 %). Naopak druh *Px*, jako jediný patogen přítomný ve vzorcích, byl detekován pouze u 11 % vzorků. *AQ* se na druhích padlí tykvovitých v roce 2008 vyskytoval vzácně a byl zjištěn jen na třech moravských lokalitách. V roce 2009 bylo druhové spektrum padlí tykvovitých na území ČR, ale i přítomnost *AQ* na padlí tykvovitých, odlišné ve srovnání s rokem předchozím. V roce 2009 v analyzovaných vzorcích převažoval samostatně se vyskytující druh *Gc* (68%), naopak směsná infekce obou patogenů (*Gc+Px*) byla zjištěna jen u 23 % vzorků. Podobně jako v roce 2008 se v roce 2009 druh *Px* samostatně vyskytoval ojediněle a byl přítomen pouze u 9 % vzorků. *AQ* se na rozdíl od roku předchozího na druhích padlí tykvovitých vyskytoval častěji a byl zaznamenán na 27 lokalitách ČR.

Tento výzkum byl podporován těmito granty: QH 71229, MSM 6198959215, PrF _2012_001.

The distribution of cucurbit powdery mildew (CPM) (*Golovinomyces cichoracearum* (*Gc*), *Podosphaera xanthii* (*Px*)) follows the previous long-lasting research in the Czech Republic (CR). In total, it was collected and analyzed 229 samples of leaves of cucurbit vegetables with symptoms of CPM during years 2008 – 2009 in the CR. The identification of pathogens (*Golovinomyces cichoracearum* (*Gc*), *Podosphaera xanthii* (*Px*)) was performed by using microscopic analysis of morphological structures of anamorphic stage. The presence of hyperparasite *Ampelomyces quisqualis* Ces. (*AQ*) was also determined. In both years, the species spectrum of CPM and presence of hyperparasite *AQ* were changing in CR. It was

collected and analyzed 99 samples in 2008. The mixed infection *Gc+Px* was recorded as the most frequent (54% of all samples). The occurrence of *Gc* was also frequent (35%), in contrary, *Px* was detected only in the 11% of all samples. In 2008, the presence of hyperparasite *AQ* was found out very rarely, it was occurred only in 3 locations in Moravia. In 2009, the frequency of occurrence of CPM species and hyperparasite *AQ* differed from the previous year. In 2009, occurrence of *Gc* prevailed (68%), while the mixed infection *Gc+Px* was recorded only in 23% of the samples. As in 2008, the pathogen *Px* as a separate species occurred sporadically (9%) in 2009. The presence of hyperparasite *AQ* occurred more frequent, hyperparasite *AQ* was found out in 27 locations, not only from southern parts of the CR.

This research was supported by grants QH 71229, MSM 6198959215, PrF _2012_001.

* * *

Analýza houbových komunit pomocí sekvenování nové generace: využití genu s jednou kopií

Improved analysis of fungal communities using the next-generation-sequencing analysis of single copy gene

Tomáš Větrovský, Miroslav Kolařík, Lucia Žifčáková, Jana Voříšková, Petr Baldrian

Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i, Vídeňská 1083, 142 20, Praha 4

Poznatky z oblasti ekologie a složení společenstev půdních hub a bakterií se v současné době opírají především o výsledky získané sekvenováním PCR amplikonů pomocí sekvenování nové generace. Běžně je relativní počet jednotlivých zástupců mikrobiálních společenstev odhadnut na základě analýz 16S rRNA oblasti u prokaryot a 18S rRNA oblasti nebo "vnitřních přepisovaných mezerníků" (ITS) u hub a ostatních mikroeukaryot. Analýza ITS oblastí je velmi užitečná pro molekulární systematiku na úrovni druhů, či dokonce v rámci druhů. Avšak kvantitativní informace týkající se výskytu získaná analýzou ITS bývá zkreslena z důvodu přítomnosti mnoha kopií rRNA genu v genomu (počet se pohybuje od 10 do 200) a dále díky možné přítomnosti několika odlišných kopií ITS regionu. Na druhou stranu bylo prokázáno, že určitá skupina genů zahrnující elongační factor-1 alfa (*tef1*), či druhou největší podjednotku RNA polymerázy II (*rpb2*) jsou přítomny pouze v jedné kopii u většiny houbových genomů a tyto oblasti mají dostatečnou variabilitu, aby mohli být použity při taxonomických analýzách či přiřazeních. Použití těchto genů nabízí možnost přímého zjištění počtu houbových genomů a rozšiřuje poznání o relativní četnosti jednotlivých taxonomických skupin hub při procesech probíhajících v daném prostředí. V naší práci ukazujeme, že množství ITS kopií na nanogram DNA vykazuje vysokou variabilitu mezi basidiomycety i jejich blízce příbuznými druhy. Analýza sekvencí odvozených od *rpb2* genu získaných 454-amplikonovou pyrosekvenací z lesních půd ukazuje, že taxonomické pokrytí tohoto markeru je široké a zahrnuje také bazální houbové linie (jako např. Microsporidia, Chytridiomycota a Entomophthorales) často opomíjené jinými používanými markery. Odhady množství jednotlivých taxonů zjištěné použitím tohoto markeru jsou velice odlišné od stanovení množství na základě analýzy pomocí ITS. Přestože fylogenetická diskriminační síla *rpb2* je omezená a přímá identifikace s jeho pomocí je obtížná (z důvodu nízkého za-

stoupení sekvencí v databázi GenBank) dává *rpb2* dobrý vhled do fylogeneze hub a stanovení jejich diverzity.

Current exploration of the ecology of soil fungal and bacterial communities and microbe-catalyzed processes in soils largely relies on community composition analysis using next-generation-sequencing of PCR amplicons. Typically, the relative abundance of individual members of microbial communities are derived from the analyses of 16S rRNA region of prokaryotic microorganisms and 18S rRNA or internal transcribed spacer (ITS) region of the rDNA for fungi and other microeukaryots. The analysis of fungal ITS sequences proves helpful for molecular systematics at the species level, and even within species, but the quantitative information on the relative abundance of individual taxa is skewed due to the presence of multiple rDNA gene copies per genome, ranging from 10 to 200 and the presence of multiple divergent copies of the ITS region. On the other hand, it was demonstrated that there is a group of genes including the elongation factor-1 alpha (*tef1*) or RNA polymerase II second largest subunit (*rpb2*) that are present in a single copy in most fungal genomes and exhibit sufficient variation to be used for phylogenetic analysis and taxonomic assignment. The use of such genes offers the possibility to directly count fungal genomes and improve the knowledge on the relative abundance of individual taxa of fungi in the environmental processes. Here we show that the amount of ITS copies per nanogram DNA shows high variation among soil basidiomycetes and even closely related species largely differ in this respect. Analysis of the *rpb2* gene sequences derived from coniferous forest soils by 454-amplicon pyrosequencing shows that the taxonomic coverage of the sequences is broad and includes also the basal fungal lineages (Microsporidia, Chytridiomycota, Entomophthorales etc.) often missed with other markers. The abundance estimates derived using this molecular marker are largely different from those based on the analysis of the ITS. Although the phylogenetic discriminative power of the *rpb2* gene is limited and direct identification is difficult due to lower numbers of sequences in the GenBank, *rpb2* gives a good insight into fungal phylogeny and diversity estimations.

* * *

Výskyt *Dothistroma pini* a *D. septosporum* na území České republiky na základě detekčního průzkumu Státní rostlinolékařské správy
The occurrence *Dothistroma pini* and *D. septosporum* in the Czech Republic during the survey of the State phytosanitary administration

Eva Zapletalová, Veronika Balejová a Anna Kryštofová

Státní rostlinolékařská správa, odbor diagnostiky, Šlechtitelů 23, Olomouc,
eva.zapletalova@srs.cz

Původce červené sypanky borovic je celosvětově rozšířen. Původcem choroby jsou vřeckovýtrusé houby *Dothistroma septosporum* (s teleomorfoou *Mycosphaerella pini*) a *Dothistroma pini* (teleomorfa neznámá). Dle dosavadních studií se *D. septosporum* vyskytuje celosvětově, zatímco *D. pini* je známa ze severní části USA, nedávno byla zjištěna v Rusku a v několika státech Evropy. Identifikace na základě morfologických charakteristik není jednoznačná, proto bylo k odlišení těchto dvou druhů použito polymerázové řetězové reakce (PCR) dle loos et al. (2010). Vzorky pro

laboratorní identifikaci byly odebírány v rámci detekčního průzkumu zaměřeného na sledování výskytu regulovaného škodlivého organismu *Dothistroma* spp. inspektory Státní rostlinolékařské správy v letech 2011 a 2012. Vzorky jehlic byly odebírány především z okrasných a lesních školek a jejich okolí, příležitostně veřejné zeleně, soukromých zahrad a plantáží vánočních stromků. Z celkového počtu 419 odebraných vzorků bylo 127 pozitivních na *D. septosporum*. Nejčastějšími hostiteli byli *Pinus nigra* a *Pinus mugo*. 89 pozitivních vzorků pocházelo z 20 školek po celé České republice. V rámci průzkumu nebyla potvrzena *D. pini* v České republice.

The red band needle blight fungus is a serious disease of pines (*Pinus* spp.) with a worldwide distribution. It is caused by the ascomycete fungi *Dothistroma septosporum* (teleomorph: *Mycosphaerella pini*) and *Dothistroma pini* (teleomorph unknown). According to this study is *D. septosporum* a worldwide distributed, while *D. pini* is known only from the north of the USA. Recently was identified in Russia and also in some European countries. The identification of two *Dothistroma* species only based on morphology is virtually impossible. Polymerase chain reaction (PCR) according to loos et al. (2010) was used for differentiation between these two *Dothistroma* species. Samples for the laboratory identification were collected by inspectors of the State Phytosanitary Administration during the detection survey in the Czech Republic in 2011 and 2012. Pine needle samples were taken mainly from ornamental and forest nurseries and their surroundings, individually also from public greeneries, privat gardens and plantations of Christmas trees. From 419 collected samples were 127 *D. septosporum* positive. The main hosts were *Pinus nigra* and *Pinus mugo*. 89 positiv samples of *D. septosporum* were collected from 20 nurseries in the Czech Republic. *Dothistroma pini* wasn't found in the Czech Republic.

* * *

Skrining antifungálních vlastností některých rostlinných extraktů **Screening of antifungal properties of some plant extracts**

Martin Žabka

Výzkumný ústav rostlinné výroby v.v.i., Drnovská 507, 161 06, Praha – Ruzyně

Methanolové extrakty celkem 27 léčivých rostlin byly užity při skriningové studii se zaměřením na testování antifungálních vlastností. Inhibiční efekt byl testován na modelu čtyř vybraných patogenních a toxinogenních houbových druhů: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Fusarium oxysporum* a *Fusarium verticillioides*, v souladu s jejich ekonomickým významem. Možnost užít některé testované rostlinné extrakty jako složku pesticidů na přírodní bázi byla indikována v případě pěti rostlinných druhů. Nejvíce efektivními byly *Asarum europaeum*, *Angostura trifoliata* a především *Alpinia purpurata*.

Klíčová slova: Rostlinný extrakt, antifungální aktivita, Patogenní houby, Toxinogenní houby, Botanické fungicidy.

Methanol extracts of twenty seven medicinal plants were used in screening assay for antifungal activity. Growth inhibitory effect was tested against four very important pathogenic and toxinogenic fungal species: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Fusarium oxysporum* and *Fusarium verticillioides* in accordance with their health and

economic significance. Possibility to use some of plant extracts as a component of natural pesticide in a future was indicated in the case of five plant species. The most effective were *Asarum europaeum*, *Angostura trifoliata* and especially *Alpinia purpurata* extracts.

Keywords: Plant extract, Antifungal activity, Pathogenic fungi, Toxinogenic fungi, Botanical fungicides.

* * *

Alena Nováková (ed.): Abstracts from the workshop MICROMYCO 2012

The workshop MICROMYCO 2012 was held in 11-12th September 2012 in České Budějovice (Southern Bohemia) in the Institute of Soil Biology, Biology Centre AS CR, v.v.i. Thirty five specialists in microscopic fungi from the Czech Republic, Slovakia (3 participants), and Austria (1 participant) participated on this workshop. Seventeen lectures and 14 posters were presented covering many different fields of study (soil mycology, phytopatology, medical mycology, taxonomy and ecology of microscopic fungi etc.). Abstracts of all presented contributions are presented here.