

Entomopatogenní, nematofágní a mykoparazitické houby

System, biologie a ekologie



Entomopatogenní houby

•obligátní nebo fakultativní parazité hmyzu

- Phylum: Ascomycota, class: Sordariomycetes, subclass: Hypocreomycetidae, order: Hypocreales f:Cordycipitaceae**

- Pohlavní stádia: *Cordyceps* spp., *Hypocrella* spp., *Terrubiella* spp.

- Nepohlavní stádia: *Aschersonia* spp., *Beauveria* spp., *Hirsutella* spp., *Metarhizium* spp. ., *Nomurea* sp., *Tolyocladium* spp., *Lecanicillium lecanii*, *Gliocladium virens* .. etc.

- Phylum: Ascomycota, class: Eurotiomycetes, order: Eurotiales f:Trichocomaceae**

- Paecilomyces* sp.,

- SubPh: Entomophthoromycotina**

Conidiobolus spp., *Entomophaga* spp., *Entomophthora* spp., *Erynia* spp.

- Odd: Blastocladiomycota**

Coelomomyces spp.

- Oomycota Tř, Peronosporomycetes, řád: Lagenidiales**

Lagenidium giganteum, *Pythium oligandrum*

Obecná biologie entomopatogenních druhů hub

- Většina entomopatogenních druhů má životní cyklus synchronizovaný s životním cyklem svých hostitelů a s podmínkami prostředí
- Druhy hub a jejich izoláty s ohledem na hostitelský druh mohou vykazovat různé patogenní vlastnosti
- Hostitelské spektrum, patogenita a klíčivost a životaschopnost houby včetně teplotního optima je závislé na druhu houby a izolátu
- Většina zástupců z tř. Sordariomycetes a Eurotiomycetes jsou oportunní druhy s dobrou schopností saprotrofytického růstu a schopností parazitovat více druhů hmyzu
- Smrt hostitele bývá spojována s produkcí mykotoxinů
- Entomopatogenní houby odd Zygomycota řádu Entomophthorales jsou naopak biotrofní patogeni hmyzu a není známa produkce toxinů
- řád Hypocreales (Ascomycota) zahrnuje druhy schopné produkovat sekundární metabolity, zejména nepohlavní generace

Infekce a transmise

- Anamorfické druhy se množí nepohlavními spórami – konidie
- Konidie jsou buď hydrofobické nebo obalené lepivou mucilagenní hmotou – disperze vzduchem, vodou nebo se přilepí na přenašeče
- ***Entomophthorales*** – primární konidie jsou aktivně vymršťovány hydrostatickým tlakem a sekundární tzv. kapilikonidie jsou pasivní, prašné a hydrofobní
- Konidie se přilepí na hostitele a iniciuje se řada enzymatických reakcí mezi hostitelem a patogenem, na konci klíční hyfy se tvoří apresorium a penetrační hyfa, kterou houba proniká skrze exoskeleton.
- ***Hypocreales, Eurotiales*** – v hemolymfě kolují a množí se kvasinkovitá tělíska a dochází k produkci toxinů. Vlákňité mycelium a sporulace se objevuje až po smrti hostitele na jeho povrchu.
- ***Entomophthorales*** – houba se maskuje produkcí kulatých protoplastů (bohaté na sacharidy) takže dočasně není rozeznatelná haemocytou. Skelet hmyzu zůstává přilepený k listu pomocí rhizoidů, které vyrůstají z ústního ústrojí hmyzu.

Persistence entomopatogenních hub v prostředí

- Druhy řádu *Entomophorales* produkují odpočivné spóry – azygospóry, které mohou přežívat v půdě. U některých druhů není způsob přežívání zcela znám.
- *Hypocreales, Eurotiales* – přežívají nepříznivé podmínky v podobě sklerocií nebo chlamydospór



Neozygites fresenii

Ascomycota, tř. Pyrenomycetes, řád: Hypocreales Č: Cordycipitaceae

- rod *Cordyceps* zahrnuje asi 500 druhů
- většina druhů jsou parazité hmyzu a hub
- produkují také látky, používané v medicíně (Cyklosporin A = anamorfa *Tolyocladium inflantum*)
- v tradiční čínské medicíně se používají některé druhy k zvýšení imunity a posílení organismu
- Celosvětově rozšířený rod (kromě arktických oblastí), druhová diverzita je především v tropech a subtropích
- Pleomorfické druhy schopné přežít jako anamorfa nebo teleomorfa
- Přednostně se vyskytují v lesích, typicky zbarvená stromata se tvoří především v mechu, opadu, zetlelém dřevě a ve stromatech se tvoří pohlavní plodnice – perithecia, stromata se tvoří především v období dešťů. Mnohé druhy jsou schopné i saprobního způsobu života – anamorfní stadia.

- Entomopatogenní druhy mohou parazitovat na 12 hmyzích řádech včetně roztočů a pavouků. Nejznámější je *Cordyceps militaris* na kuklách motýlů (Lepidoptera), *Ophiocordyceps stylophora* na larvách a kuklách brouků (Coleoptera) a *Ophiocordyceps sphecocephala* na Hymenoptera.
- Rod *Elaphocordyceps ophiglossoides* parazituje na hypogeické plodnici rodu *Elaphomyces*
- Rody *Hypocrella*, *Samuelsia* a *Moelleriella* parazitují na dvoukřídlém hmyzu a červcích zejména v subtropích a tropech.

Cordyceps militaris



Cordyceps militaris



Elaphocordyceps ophiglossoides



Elaphocordyceps ophiglossoides ©Kavkova



Elaphocordyceps ophiglossoides ©Kavkova

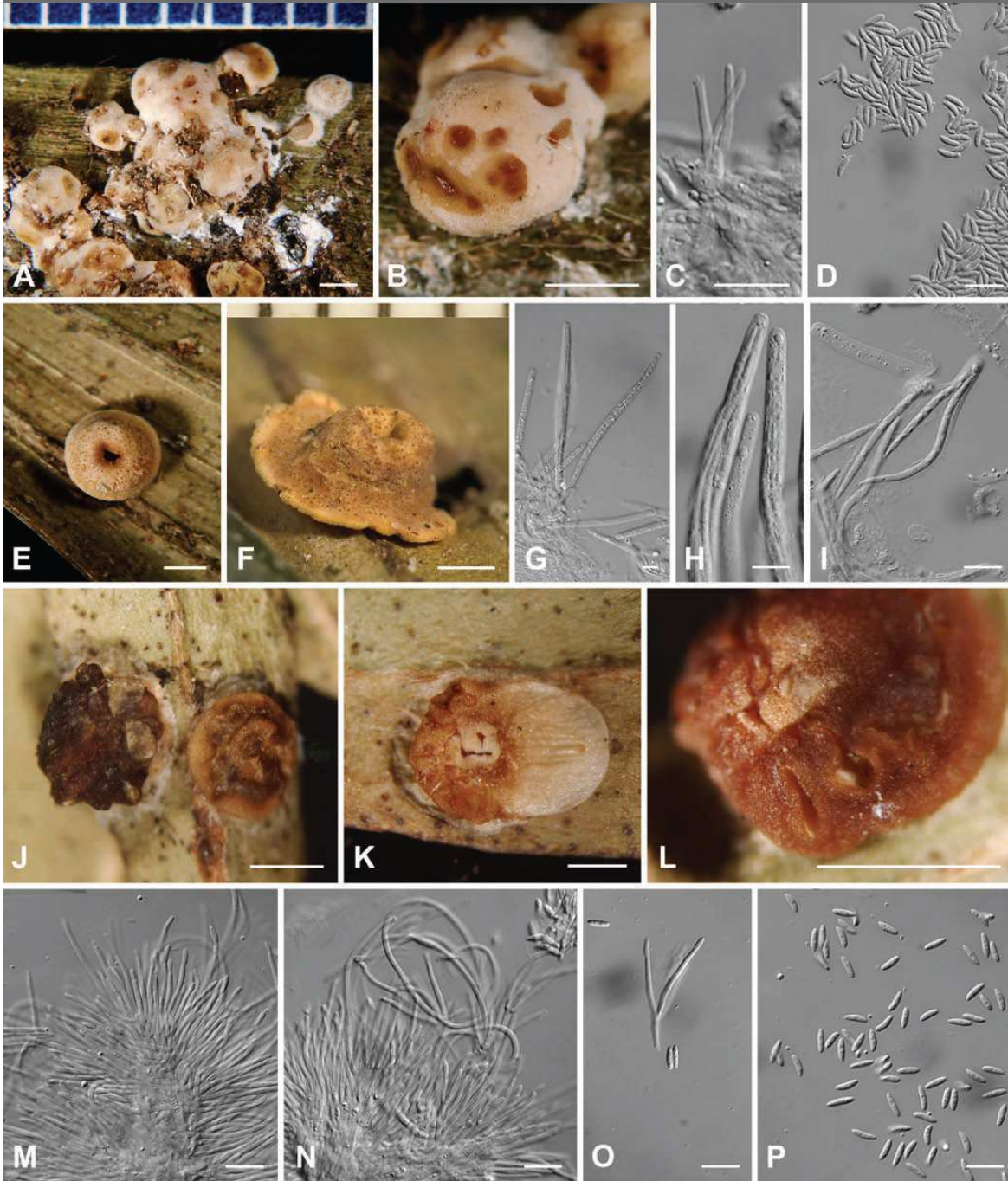
Elaphocordyceps ophiglossoides



Elaphocordyceps ophiglossoides



Průřez stromatem – perithecia a uvolněné askospory

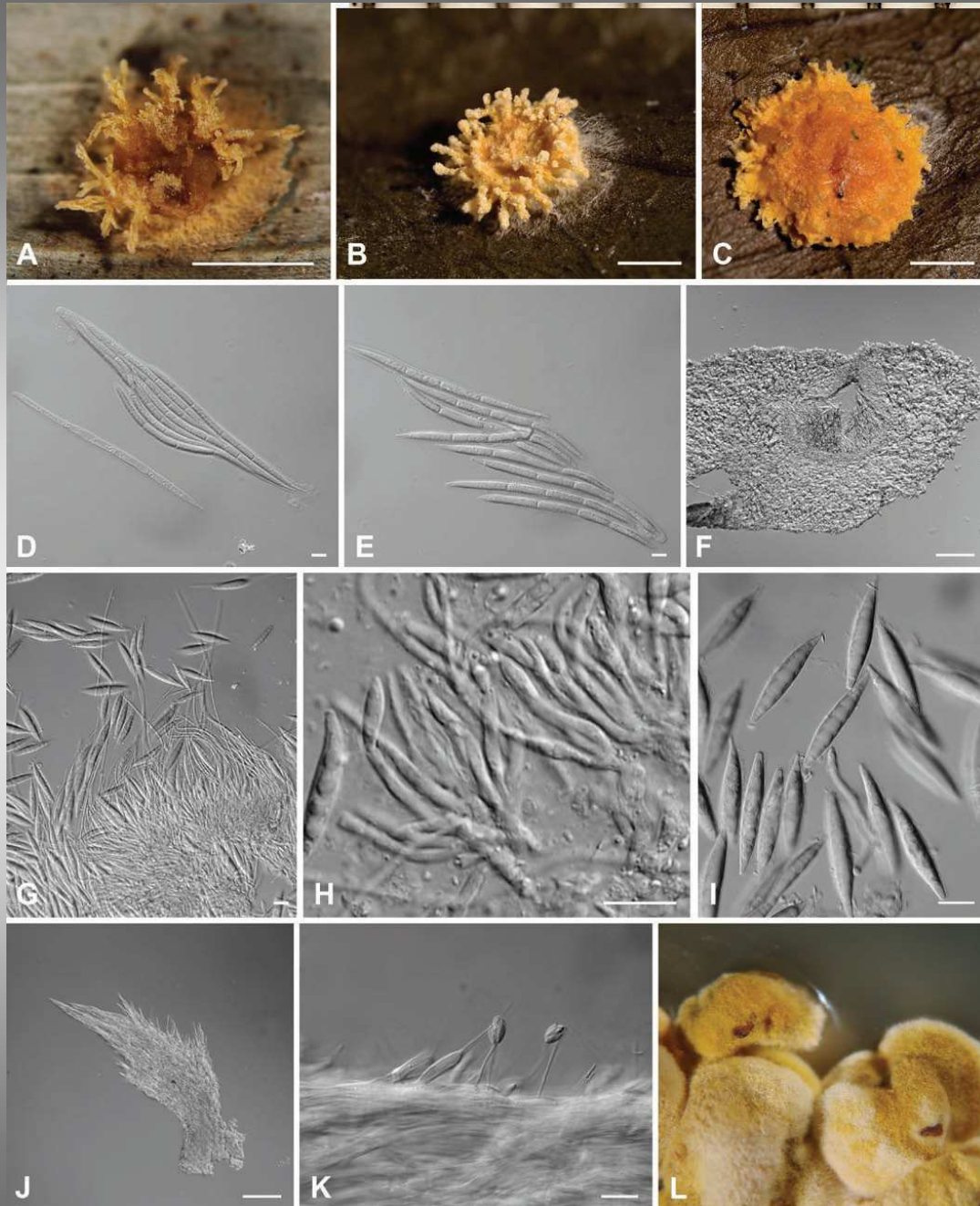


A–D. *Samuelsia chalalensis*. A–B. Stromata containing conidiomata. D. Phialides. D. Conidia. **E–I. *Samuelsia geonomis*.** E–F. Stromata containing perithecia. G–I.

Asci and ascospores. **J–P.**

***Samuelsia intermedia*.** J–L. Stromata containing conidiomata. M–O. Phialides and paraphyses. P. Conidia. A–D: CUP 067856 (holotype of *S.*

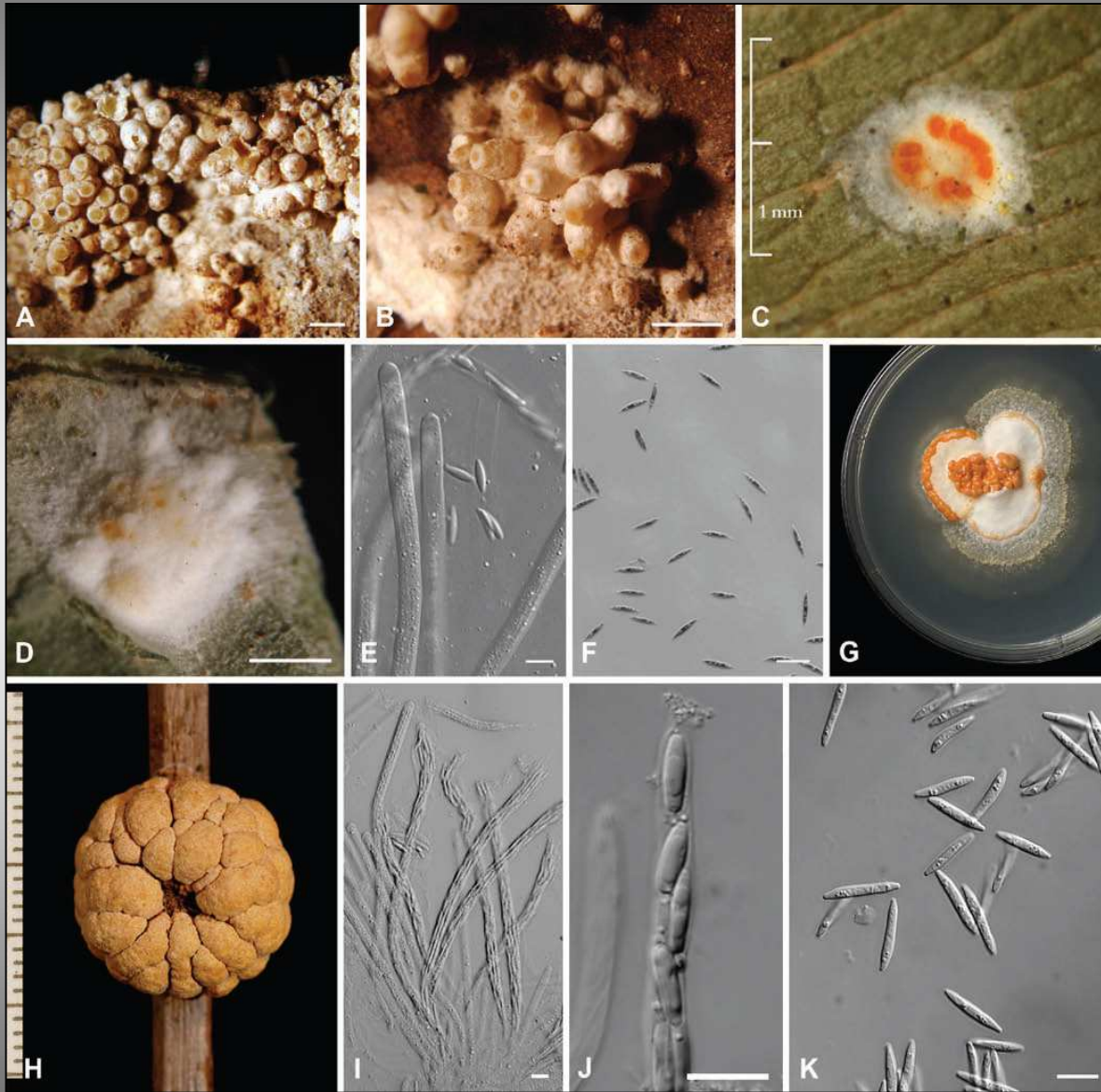
chalalensis); E–I: CUP 067857 (holotype of *S. geonomis*); J–L: FH 3990; M–P: FH 3991 (lectotype of *A. intermedia*). Bars: A–B, E–F, J–L = 1 mm; C–D, G–I, M–P = 10 μ m.



A–L. *Hypocrella hirsuta*. A–C. Stromata. D–E. Ascus and ascospores. F. Section of stroma showing conidioma. G–H. Phialides and paraphyses. I. Conidia. J.

Synnematous synanamorph. K. Synanamorph phialides. L. Colony on PDA at 25 °C after ca. 3 wk. A: CUP 067848; B–I: CUP 067841; J–L: CUP 067843. Bars: A–C = 1 mm;

D–E, G–K = 10 µm; F = 100 µm.



A–G. *Moelleriella libera*.

A–D. Stromata. A–B. Stromata containing perithecia. C–D. Stromata containing conidiomata. E. Asci and part-ascospores. F. Conidia. G.

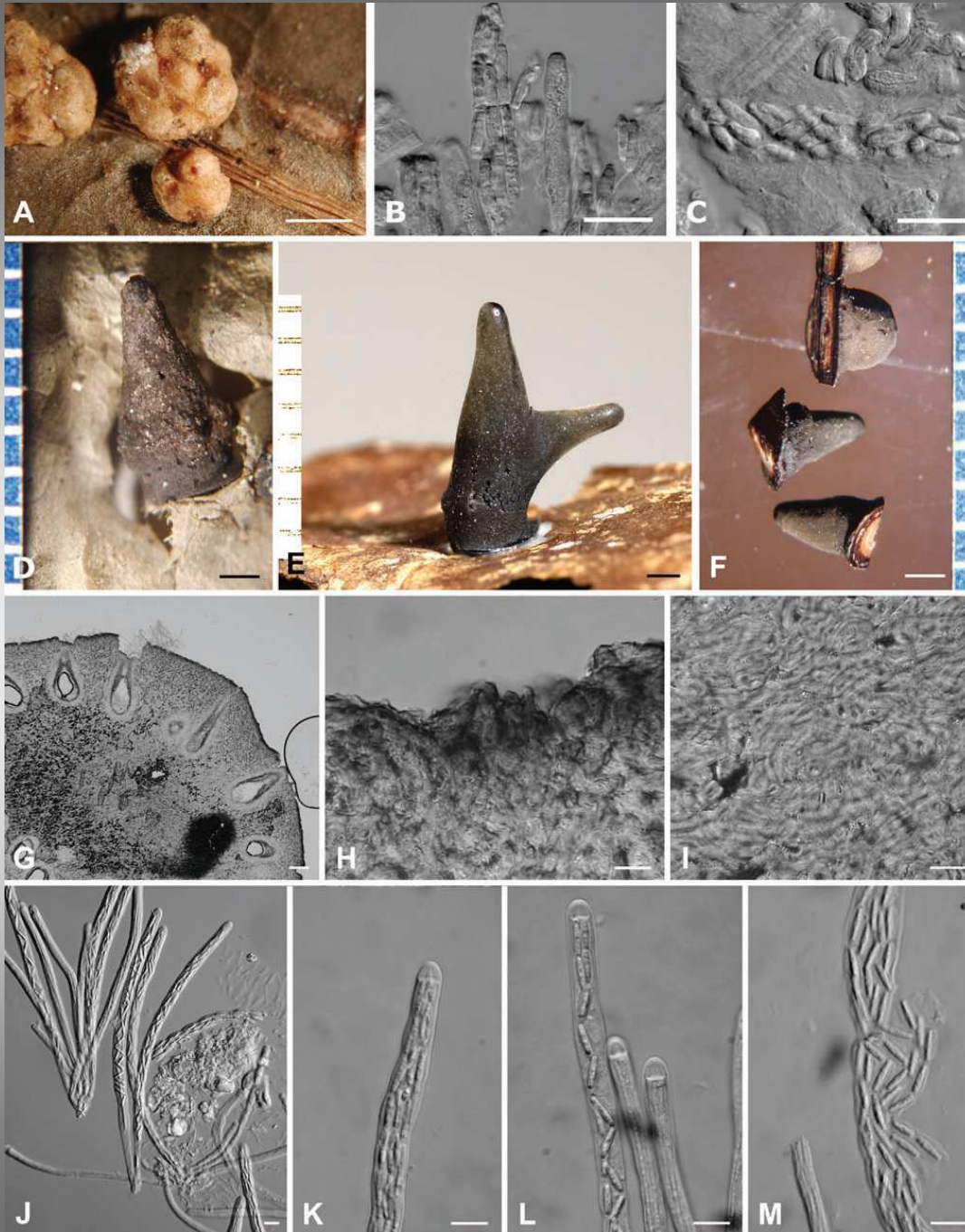
Colony on PDA at 25 °C after ca. 3 wk.

H–K. *Moelleriella macrostroma*.

H. Stroma. I. Asci. J. Part-ascospores. K. Conidia. A–B: CUP 067870; C, E: CUP 067341; D: P.C. 321;

F–G: CUP-PR 4421; H–J: CUP 67508 (holotype of *M. macrostroma*); K: CUP 67509.

Bars: A–B, D = 1 mm; D, F, I–K = 10 µm.



A–C. *Moelleriella*

***colliculosa*.** A. Stromata

showing ostioles. B–C. Asci and part-ascospores. **D–M.**

***Moelleriella cornuta*.** D–F.

Stromata. G. Section of stroma. H.

Section showing outermost layer of

stroma. I. Section showing inner

layer of stroma. J–L. Asci and part-

ascospores. M. Part-ascospores.

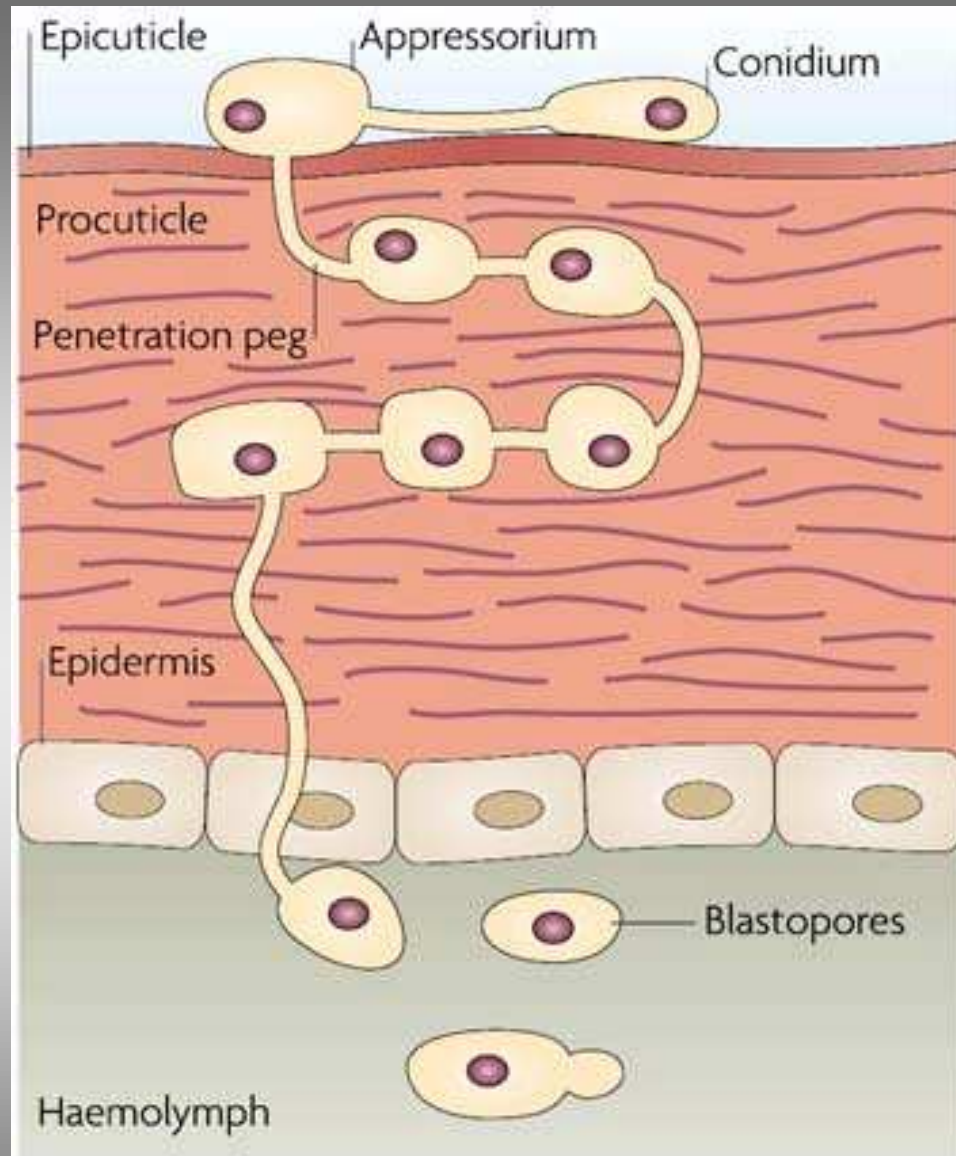
A–C:

Infekční proces a patogenita:

Spóry klíčí klíčným vláknem zakončeným **apresoriem**. Na spodní straně apresoria se tvoří penetrační hrot a skrze exoskeleton hmyzu se mechanickým tlakem dostává do tělních dutin (enzymy -lipázy a proteázy). Uvnitř těla hmyzu se tvoří kvasinkovitá tělíska – blastospóry, které se množí dělením. Přítomnost houby v těle hmyzu vyvolává změny v chování - larvy a dospělci vylézají na vyvýšená místa.

Krátce po smrti jedince houba prorůstá tělem jako vláknitá forma, vyplňuje skeleto (uvnitř (endosklerocium) a exoskeleton zůstává nedotčený. Za vhodných podmínek z endosklerocia vyrůstá stroma v němž se tvoří perithecia a askospóry.





Využití v biologické a integrované ochraně

Anamorfní stádia: *Metarhizium anisopliae* (tel: *Metacordyceps taii*)



Bioinsekticid: **GREEN MUSCLE®**

Metarhizium anisopliae var. *acridum*

(regulace výskytu kobylek a sarančat v Africe, drátovci a larvy)

Lecanicillium muscarium anamorfa od *Cordyceps militaris*



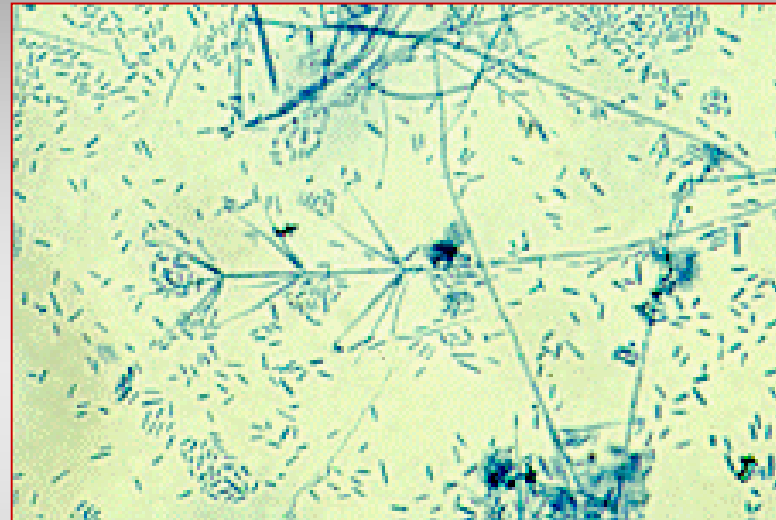
Jako patogen proti mšicím

Hirsutella sinensis (anamorfa od *Ophiocordyceps sinensis*)



Lecanicillium leccani

- Jeden z prvních druhů testovaný jako mykoinsekticid
- Přírodní epizoozie na mšicích, třásněnkách a molících jsou známé ze subtropů a tropů
- Mykoparazitické účinky na padlí (*Erysiphales*) a rzi (*Uredinales*)
- Dva produkty: Koppert Biological Systems (Netherland) – VERTALEC (mšice) a MYCOTAL (molice a třásněnky)
- Přednostně se oba přípravky používají do skleníků, kde jsou příznivé vlhkostní podmínky
- v ČR nejsou registrovány





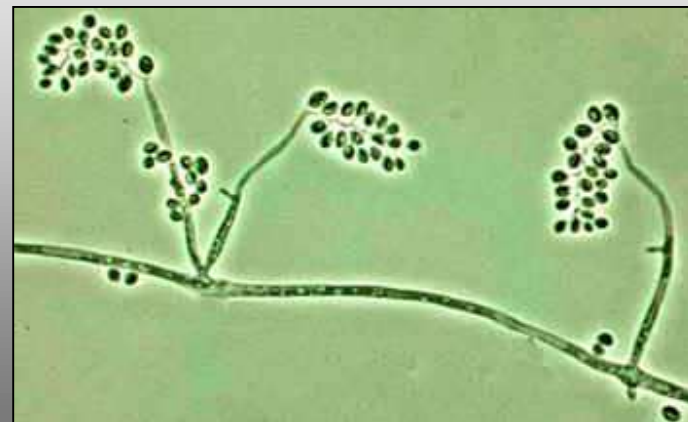
©Koppert Biological Systems

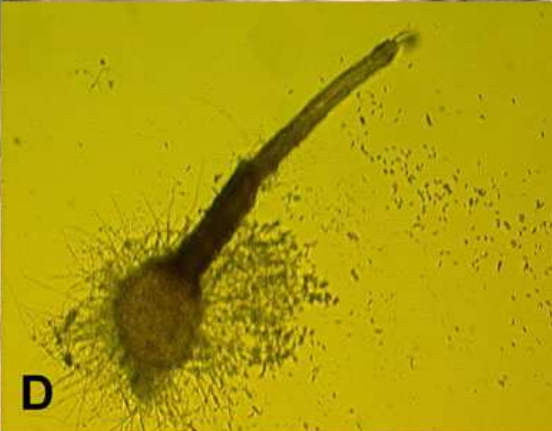
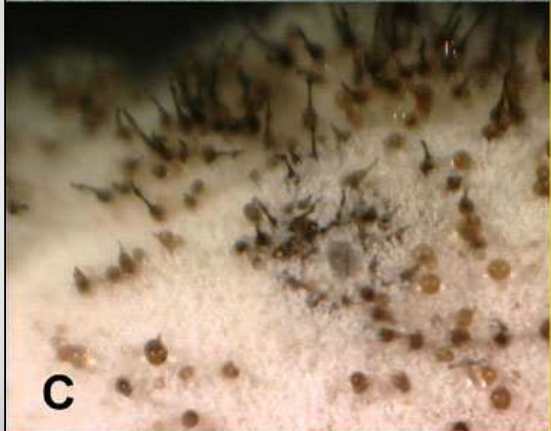
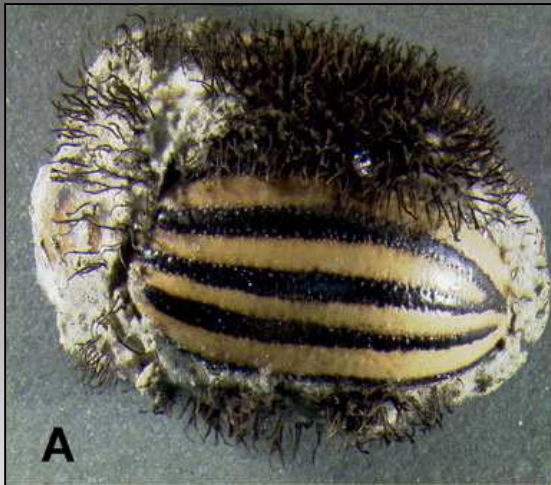


©Koppert Biological Systems

Beauveria bassiana

- Komerční přípravky v USA založené na konidiích: **Mycotech, BotaniGard a Mycotrol B**
- Evropa: **Mycotal, Boverol**
- Použití na: larvy drátovců, brouci, housenky





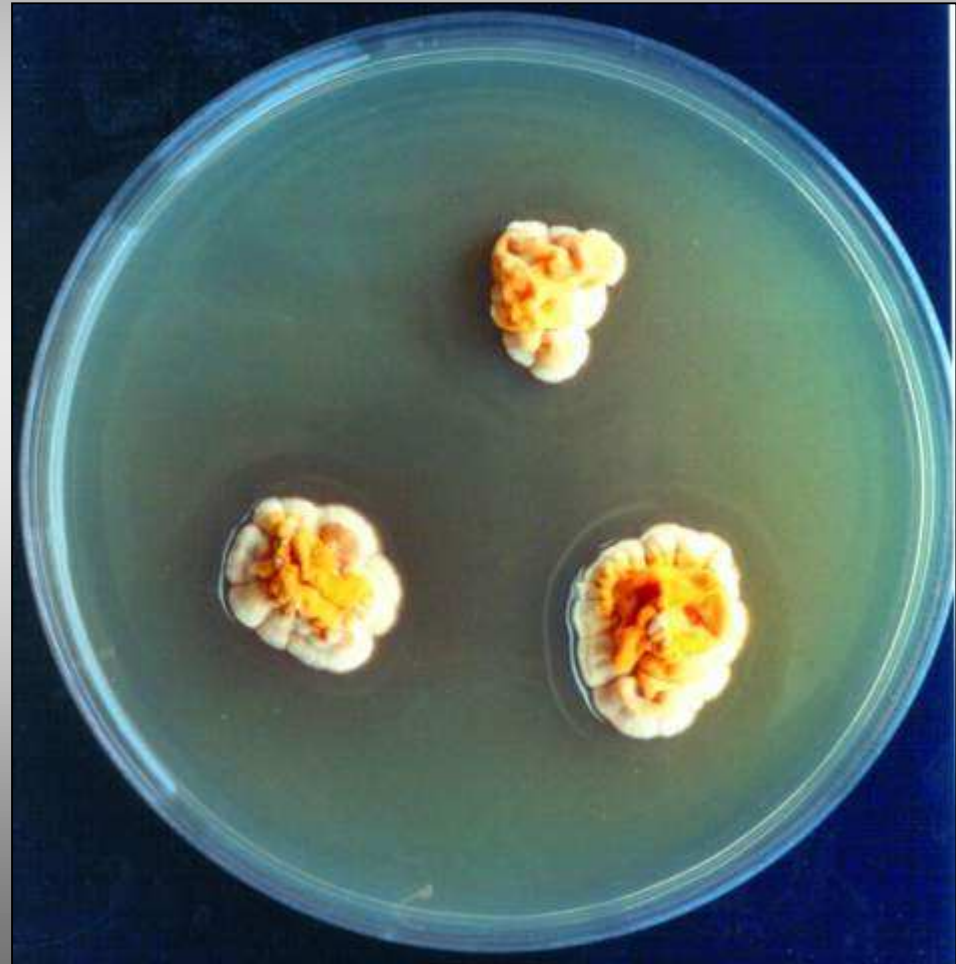
Beauveria brongniartii

- chrousti (*Melolonta melolonta*)
(ponravy chroustů požírají kořínky stromů a bylin – golfové hřiště a trávníky)
- V tekuté kultuře (PDA) produkuje blastospory, jinak aerické konidie



Aschersonia aleuroides

- Původ: Subtropické a tropické oblasti na červcích (citrusy)
- Žlutá a oranžová stromata s konidiemi



Nomurea reilii

- Přednostně na housenkách motýlů a můr (Lepidoptera)
- Prakticky se využívá při ochraně bavlníku



Gliocladium virens a *Trichoderma viridae*

- entomopatogenní a mykoparazitické účinky
- Proti kořenovým patogenům rostlin a kořenovým hnilobám
- Široké spektrum houbových hostitelů
- Vysoké kolonizační schopnosti
- Alergenní konidie
- Patogenní pro larvy, ponravy dvoukřídlý hmyz



Paecilomyces spp.

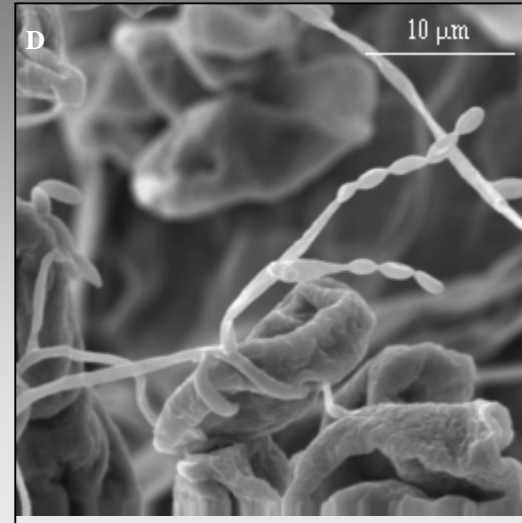
- *P. farinosus*

- *P. fumoso-roseus*

- Učinné proti larvám, housenkám, molicím, mšicím a třásněnkám

- PreFeRal (ThermoTrilogy USA)

- Fakultativní mykoparazitické účinky



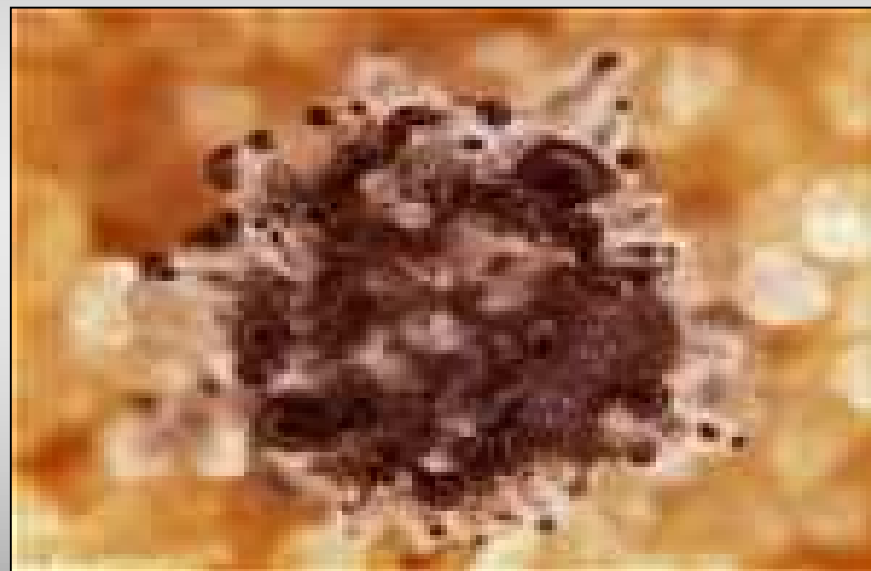
Applikovaná mykologie PřF JU ©Kavkova
Paecilomyces fumosoroseus - parazitovní papáti nože



Applikovaná mykologie PřF JU ©Kavkova
Paecilomyces fumosoroseus

Coniothyrium minitans- mykoparazitické účinky

Mykoparazitické účinky proti
Sclerotinia sclerotiorum



Ampelomyces quisqualis

- Přirozený výskyt u řádu Erysiphales (Padlí) a některé rzi
- Tvoří sessilní pyknidia s pyknosporami
- Lze využít při regulaci výskytu padlí ve sklenících a sadech



Phoma glomerata

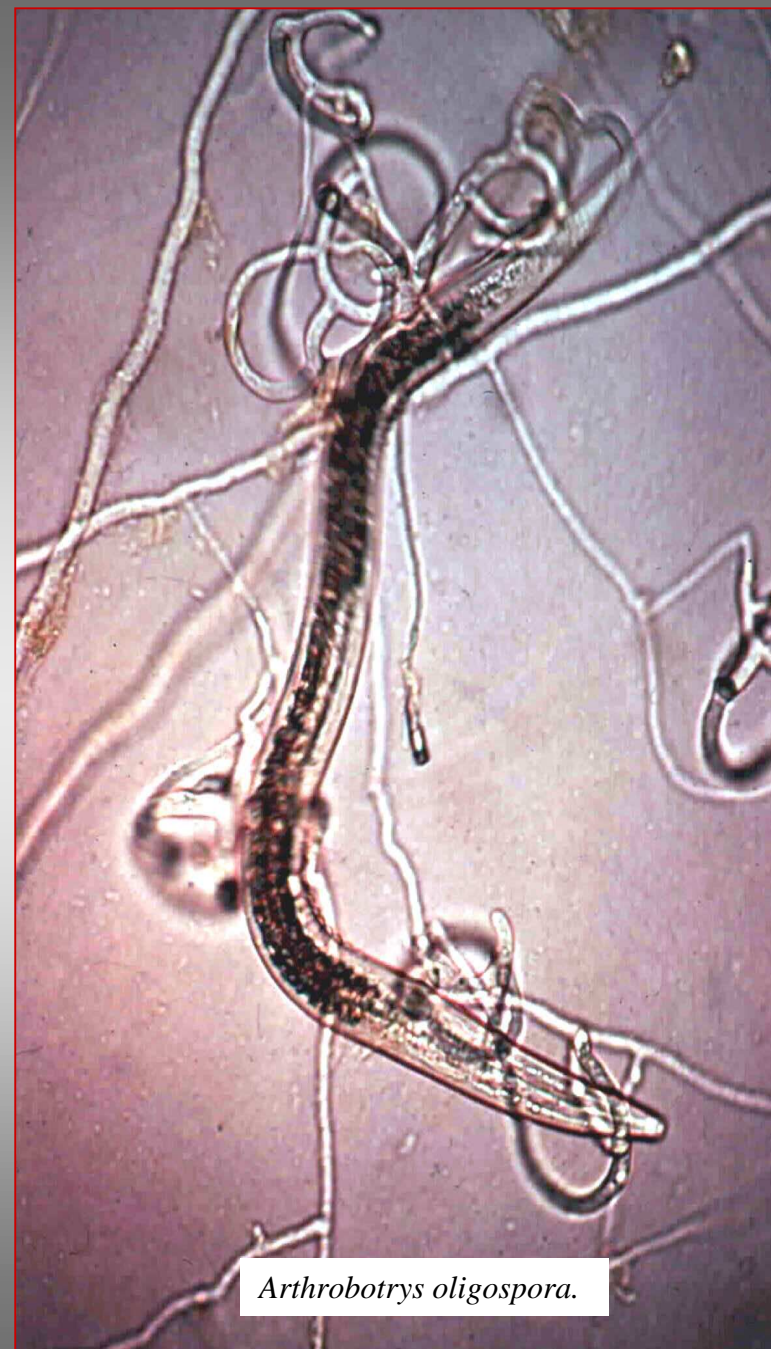


Dravé houby

Pasti – smyčky na háďátka



Arthrobotrys dactyloides



Arthrobotrys oligospora.

Subph: Entomophthoromycotina Entomophthorales

- *Conidiobolus* spp., *Entomophaga* spp., *Entomophthora* spp., *Erynia* spp.
- Biotrófní patogeni hmyzu
- Epizoocie populací mšic, much, pestřenek, ponrav a housenek motýlů a můr etc.



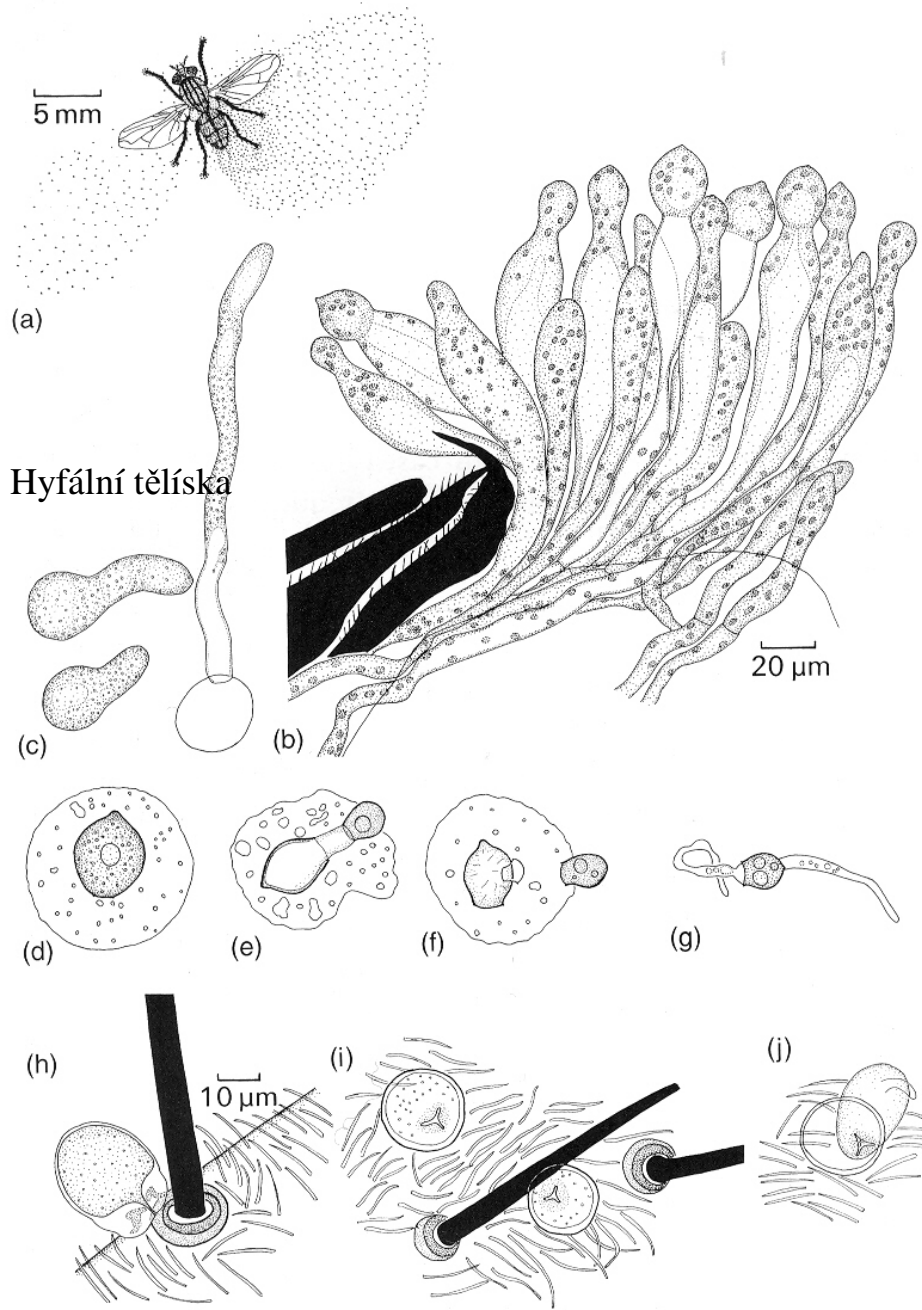


Pandora gammae (Weiser) Humber 1989

Empusa musca



Empusa musca@PříJÚ Kevkova



5 mm

(a)

Hyfální tělíska

(c)

(b)

20 µm

(d)

(e)

(f)

(g)

(h)

10 µm

(i)

(j)

Palisádové nevětvené sporangiofóry ve skeletonu hmyzu, mnohojaderné

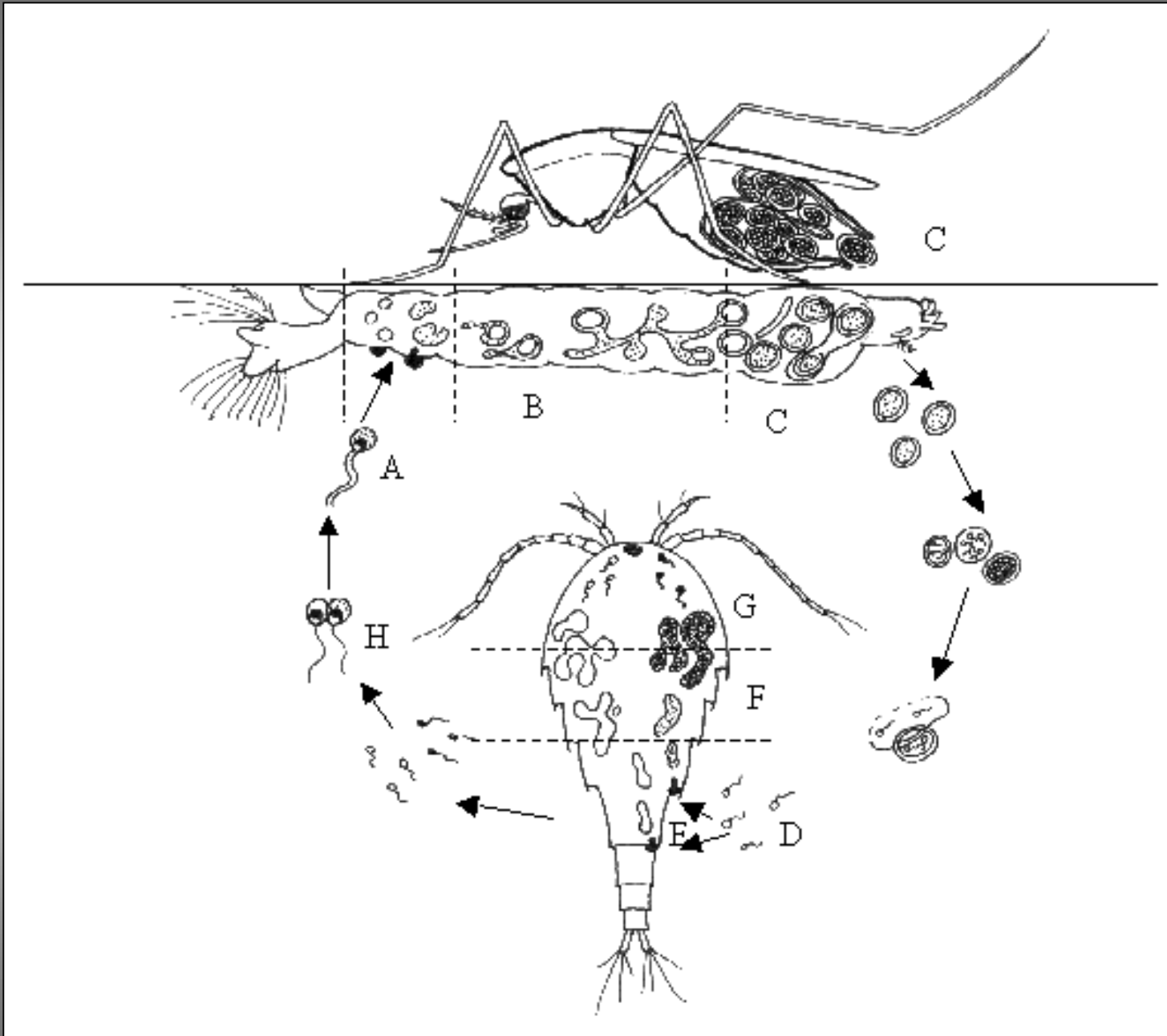
Primární sporangiospóra je obklopena cytoplasmou produkuje sekundární sporangiospóru a ta klíčí

Odd: Blastocladielomycota

Tř. Blastocladielomycetes

ř. Blastocladales

- *Coelomomyces* spp.
Je rod, který zahrnuje asi 70 druhů
- Životní cyklus je typický střídáním hostitelů a pohlavní (gametofytické) a nepohlavní (sporofytické fáze)
- Patogeni vodních larev dvoukřídlého hmyzu (Culicidae, Chironomidae...)
- Životní cyklus zahrnuje obligátní fázi na drobných vodních členovcích (buchanky) (*Copepoda*) a dvě generace komárů.
- Nepříznivé podmínky přežívá jako odpočivná spóra na komářích larvách čtvrtého instaru
- Houba je schopná přežít v populacích komárů několik let a mortalita komářích larev se může pohybovat od 50-90%



Generalizovaný životní cyklus *Coelomomyces*: **A**-dvoubíčíkatá zygota infikuje hemocel komáří larvy, produkuje hyfogeny, které později formují hyfy, (**B,C**). Hyfy uvnitř larev produkuje odpočivná sporangia. Příležitostně, pokud infikovaná larva přežije a je z ní aktivní samička, šíří sporangia při kladení. **D**-z odpočivných sporangií se uvolňují jednobíčíkaté zoospóry, infikují buchanku – haploidní gametofytická fáze (**E**)- formují se gametangia (**F**) a uvnitř i vně těla buchanky jsou produkovány gamety (+a-) (**G**). Fúzí a tvoří biflagelátní zygotu, která dokončuje cyklus tím, že infikuje jinou larvu komára (**H**).



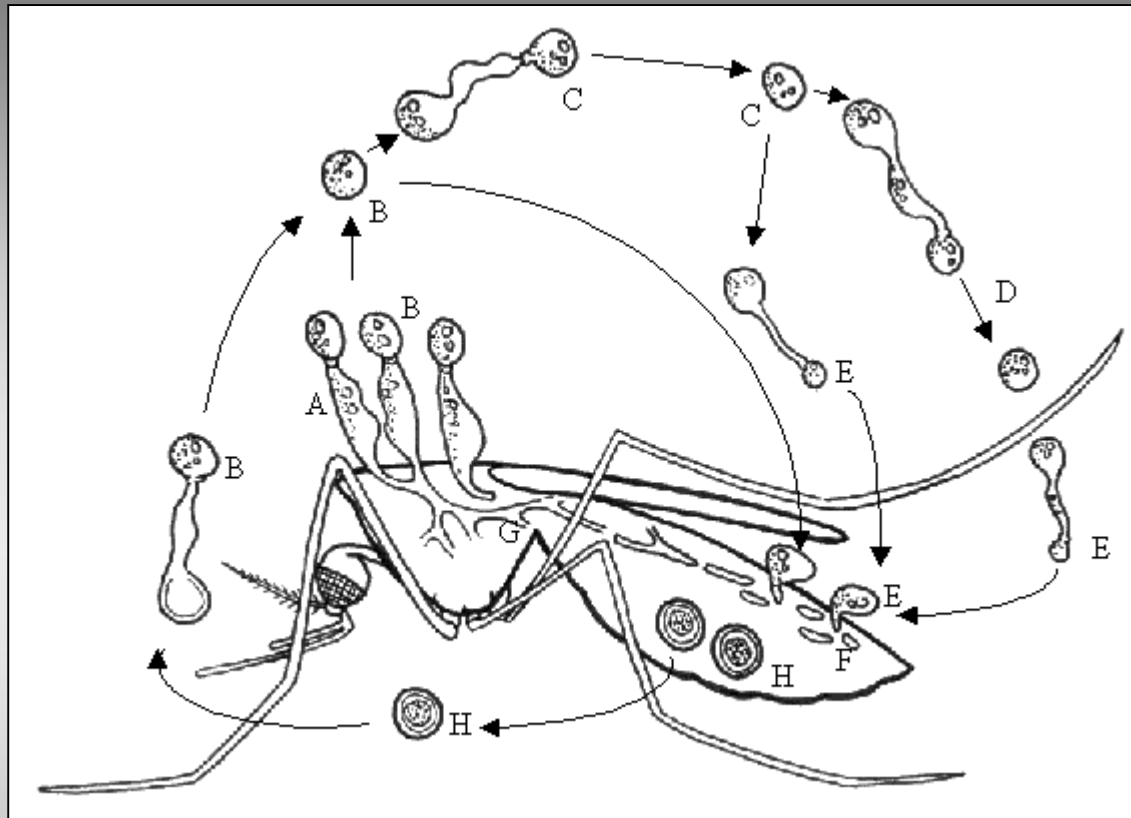


Figure 3. Generalized life cycle of an entomophthorous fungus. Conidiophores (A) on host (in this example a mosquito) forms primary conidium (B), which may form secondary conidium (C), which in turn may form tertiary conidium (D) in absence of a suitable host. Capilliconidia, formed from other conidia, may be formed, infecting a new host. Hyphal bodies (F) are formed and develop into mycelium and stroma (G), which produce resting spores (H) or conidiophores (A). Drawn by Ernst-Jan Scholte, modified after Tanada & Kaya (1993).

Oomycota Tř. Peronosporomycetes, řád: Lagenidiales

Lagenidium giganteum

Životní cyklus se skládá z pohlavní fáze (oospory) a nepohlavní fáze (zoospóry)

Fakultativní parazit. Aplikuje se ve fázi tzv. presporangií, oospór nebo obojího.

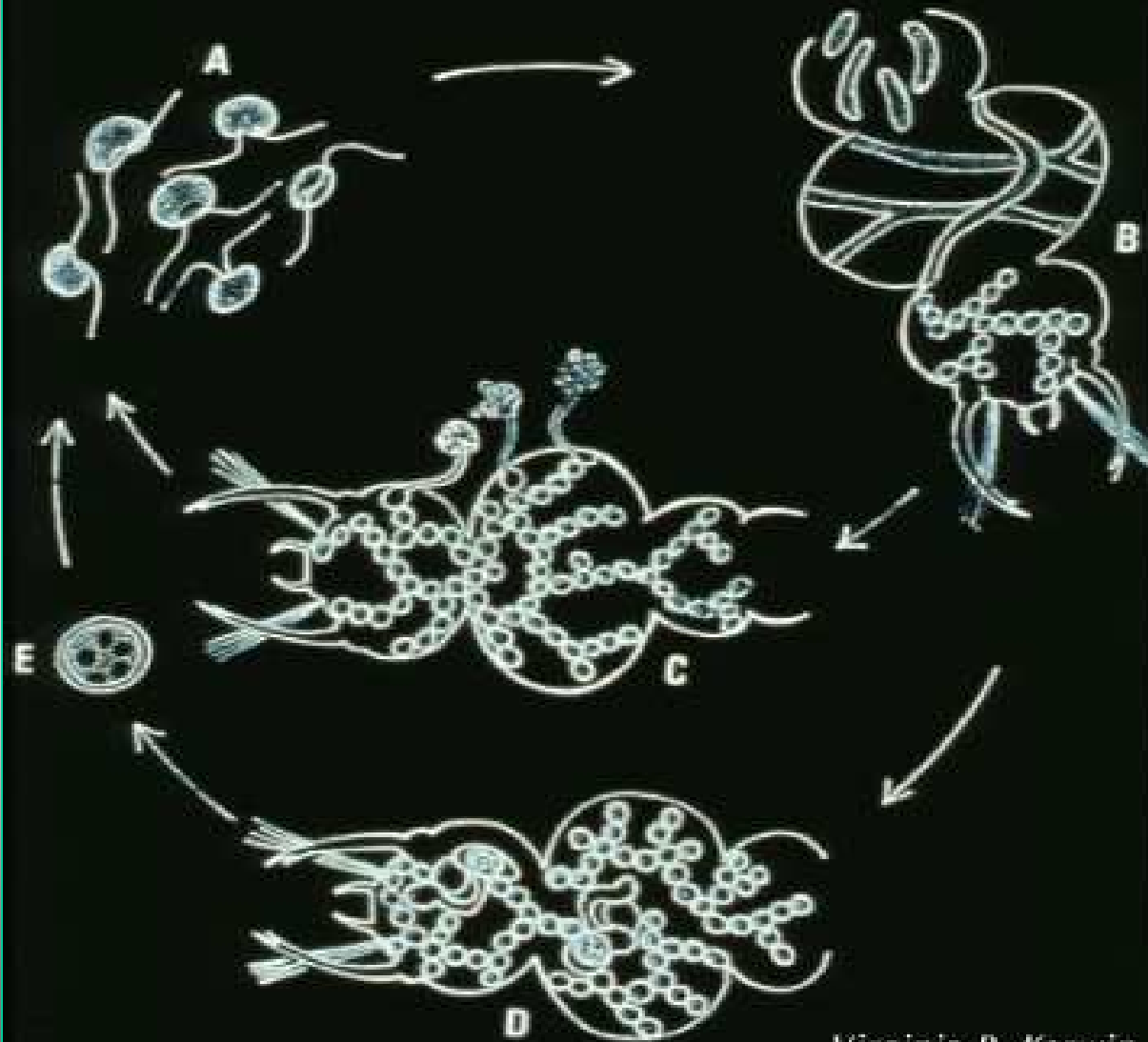
Lze kultivovat na *in vitro* substrátech - fermentory

Efektivita závisí na teplotě vody (20-30°C)

LAGINEX®



Life Cycle of *Lagenidium giganteum*

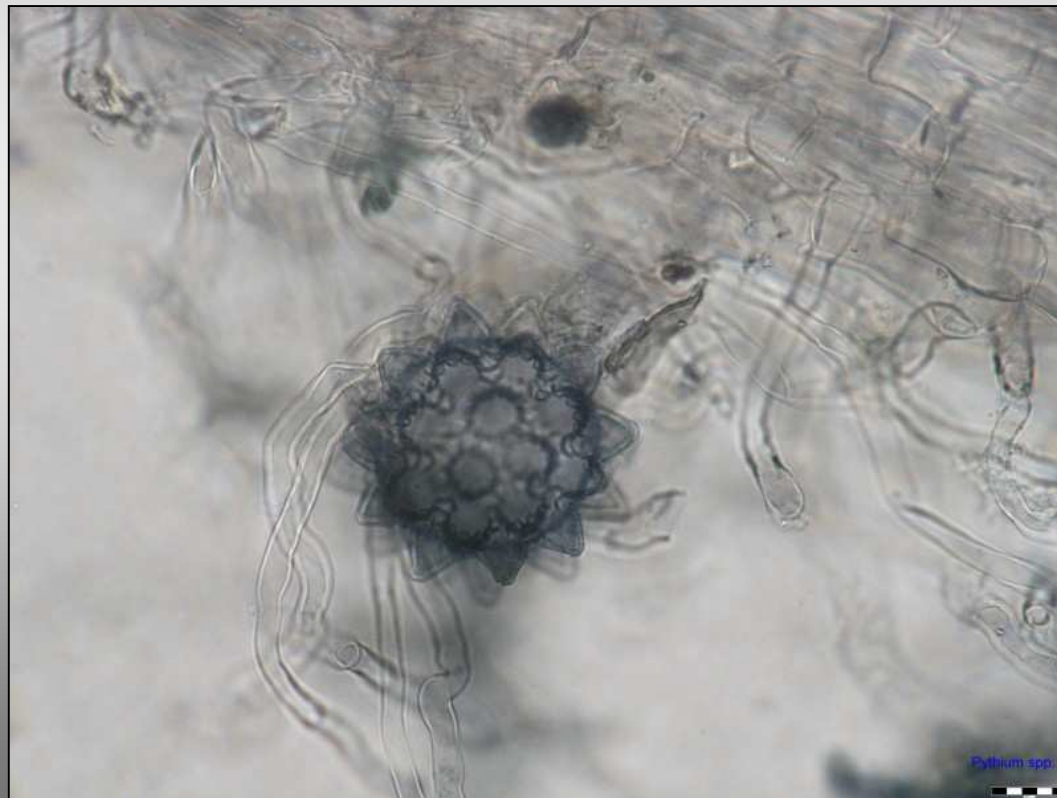


Virginia B. Kerwin

Oomycota Tř. Peronosporomycetes, řád: Pythiales

Pythium oligandrum

- mykoparazit kořenových patogenů (*Phytophthora spp.*, *Pythium ultimum*)
- přípravek Polyversum



Použití hub v biologické ochraně

Strategie ochrany rostlin:

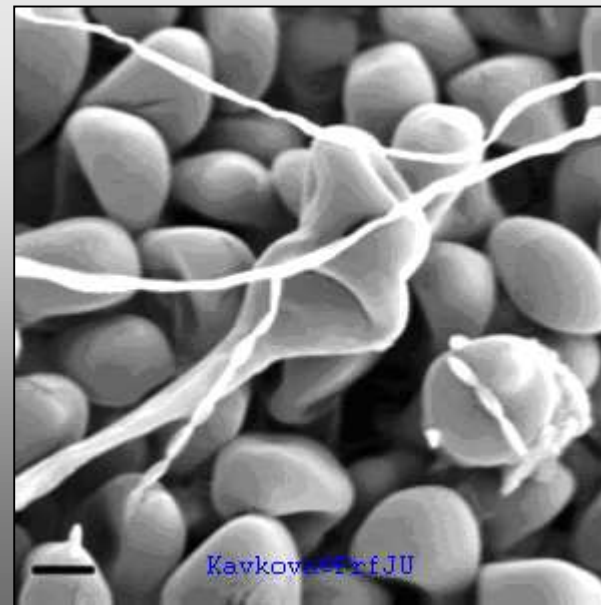
Klasická biologická ochrana využívá přirozené nepřátele nebo patogenní organismy proti hostitelskému hmyzu. Výběr vhodných patogenů se probíhá v původních ekosystémech. Úspěšná biologická ochrana je založena na dlouhodobě udržitelné regulaci škůdců nebo patogenů pod práh ekonomické škodlivosti.

Augmentace –rozšíření přirozených patogenů

- 1. Inokulativní introdukce** do ekosystému: inokulum je introdukováno do plodiny v malých množstvích ještě před výskytem škůdce s tím, že se předpokládá, že při výskytu škůdce se bude houba šířit v populacích a udrží se tam.
- 2. Inundativní introdukce** předpokládá, že inokulum se aplikuje kurativně, v dostatečném množství, aby to zredukovalo populaci hmyzu a neočekává se přirozeně opakovaná infekce.

U mykoparazitických hub rozeznáváme tyto **životní strategie**:

- **Antibióza**
- **Kompetice**
- **Parazitismus**
- **Predace**



Izolace entomopatogeních a mykoparazitických hub

- Znalost životní strategie houby a nároků
- PDA, MEA, selektivní media
- Izoláty z různých populací nebo druhů hmyzu (hub), trapové metody – vychytávání entomopatogenních hub z půdy pomocí larev a housenek (biting method)
- Testování jejich účinnosti *in vitro* – biotesty (kochovy postuláty)
- Testování v provozních podmínkách
- Testování vedlejších účinků na užitečný hmyz
- Produkce sekundárních metabolitů
- Formulace preparátu

Finální formulace preparátu

- Zásady: ekologicky šetrné, ekonomicky úsporné a účinné
- Prášková formulace: konidie a inertní nosiče
- Konidie lze získat z media *in vitro*, z porostlých obilek...etc.
- Alginátové pelety
- Tekuté kultury (blastospory)
- Kapsle
- Rozpustné sáčky
- Kombinace s feromony (atraktanty)
- Kombinace s rostlinnými produkty jako NEEM Oil nebo azadirachtin

Zdroje informací:

Shah P.A. and Pell J.K. (2003) Entomopathogenic fungi as biological control Appl.Microbial Biotechnol 61:413-423

Scholte E.-J., Knols B.G.J., Samson R., and Takken W. (2004) Entomopathogenic fungi for mosquito control: a review. Journal of Insect Science 4:19

The mycota (1997) (Esser k. and Lemke P.A. eds.) IV. Environmental and Microbial relationships (Wicklow D.T. and Soderstrom B.E. eds.)

<http://cordyceos.us>

<http://www.koppertonline.com/>

www.forestryimages.org

plpnemweb.ucdavis.edu

www.senasa.gob.pe

www.nahuby.sk

mycologie.catalogne.free.fr

www.bba.de

www.biotec.or.th

www.engormix.com

www.insectscience.org

www.uoguelph.ca

www.gouli.110mb.com