

**ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERSITA V PRAZE**  
**FAKULTA LESNICKÁ A ENVIRONMENTÁLNÍ**  
**KATEDRA OCHRANY LESŮ A MYSLIVOSTI**

---

**VZTAH KAMBIOFÁGNÍHO A XYLOFÁGNÍHO  
HMYZU A JEHO DOPROVODNÉ MYKOBIOTY**

disertační práce

autor: Ing. Petr Šrůtka

školitel: Prof. Ing. Vladimír Kalina, CSc.

Praha, červen 2006

## Poděkování

Děkuji na prvním místě svému školiteli – Prof. Ing. Vladimíru Kalinovi, CSc., za vedení, rady a pomoc s obrazovými materiály.

Děkuji RNDr. Sylvii Pažoutové, CSc. za pomoc při určení hub sekvenováním, za kritické shlednutí práce, pomoc se zpracováním textu a poskytnutí možnosti využít vybavení laboratoře.

Děkuji RNDr. Aleně Kubátové, CSc. za poskytnutí referenčních kultur penicilií a pomoc při jejich určování, a za kritické shlednutí některých kapitol.

Dík patří lesníku Josefu Žďárskému, hospodáři na lesním majetku Bačov, za vstřícnost a umožnění odběru vzorků dřeva.

Děkuji RNDr. Davidovi Novotnému za určení referenčních kmenů mikroskopických hub a konzultace k jejich určování.

Za pomoc při určení zygomycetů děkuji RNDr. Marii Váňové, CSc.

Děkuji dále Ing. Vítězslavě Peškové, Mgr. Blahoslavě Vytiskové, Mgr. Miroslavu Kolaříkovi, Ing. Janu Liškovi, Ing. Petru Kapitolovi a Romanu Modlingerovi za pomoc různého charakteru a morální podporu při zpracování této práce.

# Cambiophagous and xylophagous insect and its associated mycobiota

## ABSTRACT:

This work deals with relationship of fungi and insects on the example of the wood wasp *Xiphydria longicollis*. Although there is a broad range of insects living in oaks, this species was chosen for its increasing abundance, the presence of symbiotic fungi and substantial influence on health of oaks.

The symbiotic fungi of wood wasps from the family *Siricidae* are mostly known, in the case of affiliated family *Xiphydriidae* their exact determination has been missing. According to rather old literary data, originally coming from Cartwright (1938) and Francke – Grossmann (1967), the symbiotic fungus belongs to the ascomycetous genus *Daldinia*, supposedly to the species *Daldinia concentrica*.

Research was performed in 2000 – 2005. Wood samples with wood wasp larvae were taken from affected trees during winter. The choice of the right trees was simplified due to their „indication“ by woodpeckers, that peck out larvae from wood at the beginning of winter.

Woodwasp adults were reared from incubated logs. Larvae were also obtained by cutting and splitting of wood samples. In the case of adults (males and females) the composition of their superficial mycobiota was investigated by dilution method - washing off in distilled water using sonic shaker. Resulting suspension was plated suitably diluted onto agar plates. Symbiotic fungi of *X. longicollis* were investigated either by isolation directly from female mycangia or they were inoculated by sticking the basal end of the ovipositor into agar plate.

The superficial mycobiota of larvae was investigated after their quasi – sterile extraction from the wood and rolling over the surface of agar plates.

In this way, a number of fungal isolates was obtained that were determined microscopically using classical morphological methods. In the case, that the morphological markers were scarce and did not permit the identification, the isolates were determined via rDNA or  $\beta$  – tubulin gene sequencing and comparison with databases (GenBank).

In the superficial adult mycobiota, the species of the genus *Penicillium* predominated, the most abundant was *Penicillium spinulosum*, *P. glabrum* and *P. brevicompactum*. Species of the genus *Acremonium* were also very abundant.

Superficial mycobiota of larvae contained also several species of the genus *Penicillium*, the most abundant were *Penicillium carneum*, *P. corylophilum* and *P. spinulosum*. *Phaeoacremonium rubrigenum* was also often found. Relatively plentiful was also zygomycetous fungus *Umbelopsis isabelina*. Less abundant were two species of fungi of the genus *Ophiostoma*, *Ophiostoma quercus* and *O. grandicarpum*. The fungus of the genus *Daldinia* was isolated from the surface of larvae only in one case, although it is a symbiont. It was the same species, that was isolated from female mycangia.

In the mycangia of adult females of *X. longicollis*, two symbiotic fungal species were identified based on rDNA and  $\beta$ -tubulin sequence comparison - either *Daldinia decipiens* or *Entonaema cinnabarina*. In 68% of females examined, *D. decipiens* was found and 25% of females contained *E. cinnabarina*. By dilution of mycangial content it was discovered, that the number of reproduction elements (blastospores, mycelial parts and other propagules) is up to 20 million. Woodwasps are able to keep the pure culture in their mycangia.

It is interesting, that *Entonaema cinnabarina* was found in the mycangia as no fruiting bodies of this fungus were ever recorded in Czech Republic and neighboring countries. The genus *Entonaema* occurs especially in tropics and subtropics. It may be supposed, that the

occurrence of fungi of the genus *Entonaema* as symbionts is connected with spreading of *X. longicollis* from warmer European areas in relation to oak decline and climatic changes.

# OBSAH

1. ÚVOD .....	1
2. ZAMĚŘENÍ A CÍL PRÁCE .....	4
3. LITERÁRNÍ PŘEHLED .....	8
3. 1. Mykofagie mravenců .....	8
3. 2. Mykofagie termitů .....	11
3. 3. Kůrovci a houby .....	16
3. 3. 1. Typy symbióz a jiných vztahů kůrovců a hub .....	17
3. 3. 2. Fytofágové – fytofágní kůrovci .....	18
3. 3. 3. Mycetofágové – ambroziovní kůrovci .....	20
3. 3. 4. Saprofágní druhy kůrovců .....	22
3. 3. 5. Morfologické adaptace kůrovců k soužití s houbami – mykangia kůrovců .....	22
3. 4. Mykofagie ambroziových brouků z čeledi Platypodidae .....	24
3. 5. Mykofagie pilořítek z čeledí Siricidae a Xiphydriidae .....	26
3. 5. 1. Symbiotické houby pilořítek .....	27
3. 5. 2. Mykangia u pilořítek .....	29
3. 5. 3. Vliv pilořítek na fyziologii hostitelských dřevin .....	30
3. 6. Čeleď Xiphydriidae a pilořitka dubová ( <i>Xiphydria longicollis</i> GEOFFROY, 1785) (Hymenoptera) .....	32
3. 6. 1. Charakteristika čeledi Xiphydriidae a u nás se vyskytující druhy této čeledi .....	32
3. 6. 2. Vzhled dospělců a imaturních stadií pilořítky dubové .....	32
3. 6. 3. Způsob života pilořítky dubové .....	35
3. 6. 4. Soužití pilořítek rodu <i>Xiphydria</i> s houbami .....	38
3. 7. Mykobionti a mykofagie (fungivorie) .....	42
3. 7. 1. Mouchy jako mykobionti .....	42
3. 7. 2. Brouci jako mykobionti .....	45
3. 7. 3. Motýli jako mykobionti .....	48

4. MATERIÁL A METODIKA .....	50
4. 1. Lokalita a odběr vzorků .....	50
4. 1. 1. Výběr lokality .....	50
4. 1. 2. Charakteristika lokality Bačov .....	50
4. 1. 3. Odběr materiálu – sběr vzorků .....	54
4. 2. Zpracování a inkubace vzorků .....	54
4. 2. 1. Získávání imág .....	54
4. 2. 2. Získávání larev .....	55
4. 2. 3. Izolace hub – mikrobiologické práce .....	55
4. 2. 4. Půdy a roztoky .....	56
4. 3. Zpracování výsledků .....	57
4. 3. 1. Určování a fotografická dokumentace izolovaných kmenů hub.....	57
4. 3. 2. Analýza DNA .....	57
4. 3. 2. 1. Sekvence genomické rDNA .....	57
4. 3. 2. 2. RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) .....	58
4. 3. 3. Konstrukce fylogramu .....	59
5. VÝSLEDKY .....	61
5. 1. Poznatky z morfologie, biologie a bionomie pilořitky dubové .....	61
5. 1. 1. Lokalizace, vzhled a obsah mykangií pilořitky dubové .....	61
5. 1. 2. Počet, tvar a velikost vajíček pilořitky dubové .....	61
5. 1. 3. Místa vývoje, substrát a chodby pilořitky dubové ve dřevě dubů .....	64
5. 1. 4. Pokus o založení chovu, délka vývoje a doba líhnutí pilořitky dubové .....	67
5. 2. Druhy hub, izolovaných z imág, larev a mykangií pilořitky dubové.....	69
5. 2. 1. Houby izolované s povrchu imág pilořitky dubové .....	69
5. 2. 2. Houby izolované z larev pilořitky dubové .....	71
5. 2. 3. Houby izolované z mykangií samic pilořitky dubové .....	72

5. 3. Ekologická valence izolovaných hub	
– vztah izolovaných hub k prostředí a pilořitce dubové .....	77
5 . 3. 1. Nematopatogenní houby .....	77
5. 3. 2. Entomopatogenní houby .....	77
5. 3. 3. Fytopatogenní houby .....	78
5. 3. 4. Entomochorní houby .....	78
5. 3. 5. Půdní/ubikvistické houby .....	79
5. 3. 6. Kolonizátoři dřeva .....	80
5. 3. 7. Humánní patogeny .....	80
5. 3. 8. Houby nezařaditelné do předchozích skupin .....	80
5. 4. Popis a dokumentace izolovaných druhů hub .....	81
5. 5. Druhy hmyzu, vychované ze dřeva dubů, kolonizovaných pilořitkou dubovou.....	147
6. DISKUSE .....	149
6. 1. Použité metodické přístupy .....	149
6. 1. 1. Odběr a inkubace vzorků .....	149
6. 1. 2. Izolace hub .....	150
6. 1. 3. Určování hub .....	151
6. 2. Hynutí dubů za účasti pilořitek .....	151
6. 3. Neobjasněné otázky vztahu pilořitek rodu Xiphydria, jejich symbiotických hub a hostitelských dřevin .....	153
7. ZÁVĚR .....	155
8. LITERATURA .....	157
9. PŘÍLOHY .....	168

# 1. ÚVOD

Hmyz, respektive třída hmyzu představuje jednoznačně největší skupinu živočichů co do množství druhů. O přesném počtu druhů nemůžeme hovořit, ovšem udává se, že je známo již přibližně 1 200 000 druhů hmyzu (Kalina 1992). Je to tedy skupina velmi početná a též velmi úspěšná z hlediska adaptace na prostředí, ve kterém žije, včetně využití různorodých potravních zdrojů.

Uvažujeme-li o hmyzu a jeho potravě z hlediska evoluce, byly nejpravděpodobnějším primárním zdrojem potravy rostliny, zejména jejich asimilační orgány. Sama skutečnost, že tělo rostlin, zejména vytrvalých, obsahuje látky velmi těžko stravitelné, to znamená celulózu a lignin, svědčí o tom, že během evoluce musely rostliny pravidelně čelit potravním nárokům živočichů. Dosáhly v tom též mistrovství, jak v adaptaci na časté zraňování a likvidaci asimilačních orgánů (např. spásání), tak i ve volbě výše zmíněných nestravitelných substancí, ze kterých utvořily svá těla, a v umění je ještě impregnovat různými látkami, znesnadňující jejich využití jak hmyzem, tak i různými dalšími mikroorganismy (včetně hub). Hromadící se detrit i značná hojnost dřeva jako potenciálního zdroje potravy ovšem nemohl zůstat hmyzem ani potom nepovšimnut, a tak nepřekvapuje, že obojí dokáže hmyz využívat jako potravní substrát, ovšem nikoli bez pomoci symbiotických organismů, mezi kterými mají největší význam houby a bakterie.

Mezi hmyzem a jeho symbionty tak vznikly značně těsné a různorodé vztahy, a je nutno podotknout, že i velmi běžné, ačkoli zůstávaly zejména ve svém rozsahu a variabilitě dlouhou dobu poměrně málo objasněné. První objevy těchto vztahů vyvolaly mezi přírodovědci značné překvapení a nadšený obdiv, neboť se vyznačují jak jednoduchostí a účelností tak i účinností a funkčností (viz např. Hartig, 1844).

Není to však jen nestravitelnost celulózy nebo jiných substancí, se kterou se musí hmyz vyrovnat. Vážný problém tvoří též obranné reakce hostitele, bez jejich účinného překonání nelze dosáhnout potravního zdroje představovaného lýkem a dřevem stromů. Zcela jistě proto řada druhů kambioxylofágů (též tzv. podkorního hmyzu) upřednostňuje ke svému vývoji stromy handicapované a oslabené. Další druhy hmyzu naopak dokáží napadnout stromy relativně zdravé a ovlivnit ve svůj prospěch průběh obranných reakcí hostitele, a to často s překvapivým úspěchem. Zjišťujeme opět, že zde hmyz využívá symbiotických hub, které jsou schopny rychle kolonizovat bezprostřední okolí rány stromu a silně omezit jevy,



jako např. tok oleoresinů (pryskyřic) či tvorbu fenolů, které by mohly mít na útočící hmyz fatální dopad (Solheim 1991, Hulcr 2003).

Další bariérou, kterou hmyzu i ostatním fytofágům připravily rostliny, jsou produkty specializovaného metabolismu, např. alkaloidy a příbuzné látky, které vykazují toxické efekty vzhledem k živočichům. Tuto bariéru překonávají konkrétní druhy hmyzu pomocí enzymatického vybavení, které jim umožňuje blokovat nebo eliminovat účinek toxických látek v jejich těle. Enzymy, které jsou k tomu potřebné, získává hmyz v řadě případů též ze symbiotických organismů, převážně bakterií a hub (Martin 1991).

Houby (především zástupci oddělení Ascomycota a Basidiomycota z říše Fungi) představují velmi diverzifikovaný zdroj potravy co do množství, velikosti, tvaru a místa výskytu, avšak po stránce chemického složení již víceméně stejnorodý. Hmyz, který je využívá jako zdroj potravy, musí být vybaven enzymy, umožňujícími mu trávit chitin,  $\beta$ -glukany a využívat močovinu jako zdroj dusíku, na druhé straně tím získá výjimečně různorodý a výživný potravní zdroj. Nevýhodou zde sice bývá značně nevyrovnaná dostupnost hub co do časové a prostorové distribuce, ale na druhé straně může hmyz druhotně využít enzymů, které houby obsahují a užívají k rozkladu substrátu, na kterém rostou. Fungivorní druhy hmyzu mohou využívat na jedné straně velké a relativně dlouho vytrvávající plodnice makromycetů, ale ve velkém množství případů se musely též umět přizpůsobit malým rozměrům potravního zdroje a velmi omezené době jeho trvání (Hanski 1987).

Výzkum vztahu hmyzu a hub má jednak motivy čistě přírodovědecké, jednak též dosti praktické. Cílem přírodovědného přístupu je jednak poznání zmíněného vztahu včetně jeho podrobností a zákonitostí, a směřuje dále k popisu nově zjištěných organismů. Praktické důvody které vedou k výzkumům tohoto typu jsou motivovány případy, ve kterých dochází k nápadným epifytociím. Z nich je nejznámější například šíření tzv. holandské nemoci jilmů, avšak existuje i řada případů dalších, méně proslulých, například běžné působení agresivnějších druhů kůrovců v hospodářských lesích, nebo hynutí dubů i dalších dřevin při nápadné účasti hmyzu.

Pozoruhodný přínos má výzkum vztahů mezi hmyzem a houbami též pro taxonomická a evoluční studia, jelikož existuje řada příkladů těsné vazby mezi určitými druhy, kdy například symbiotické nebo z nutričního hlediska pro hmyz významné houby se již nevyskytují jinde, nežli na místech, kde daný druh hmyzu žije. Navíc udržování tohoto vztahu se často děje tzv. „vertikálním způsobem“ – předáváním houbových symbiontů z rodičů na potomstvo. V takovém případě je možné porovnat příbuzenské vztahy jak u

blízkých druhů hmyzu, tak i u jejich symbiontů a stanovit i dobu, kdy pravděpodobně došlo k nastolení těchto vztahů.

Hlavním problémem, který je nutno překonat při odhalování vztahů mezi natolik evolučně vzdálenými organismy, jako jsou houby a hmyz, je nutnost zvládnutí obou oborů, entomologie i mykologie. Pravidelně tak dochází k paradoxům, kdy entomolog pocítuje nutnost nastudovat do značné míry mykologii a přiučit se mikrobiologickým pracím, anebo naopak mykolog se snaží alespoň v nejnútnejší míře zvládnout anatomii a taxonomii hmyzu. Pravidlem a do značné míry i nutností proto bývá také spolupráce mezi vědci zmíněných oborů.

## 2. ZAMĚŘENÍ A CÍL PRÁCE

Známých typů interakcí mezi houbami a hmyzem je celá řada, jsou zde vztahy nutriční, symbiotické, mutualistické, indiferentní, ale též parazitické.

S ohledem na tuto skutečnost, nasměroval jsem svou práci především ke vztahům symbiotickým a nutričním, neboť podat jen celistvější přehled všech typů vztahů hmyzu a hub by bylo nejen obtížné, ale též by se vymykalo zaměření této práce. Vždyť jen poznatky, týkající se hub pro hmyz patogenních, jsou velmi bohaté a věnuje se jim celá řada publikací týkajících se nyní preferovaných metod biologického boje.

V literárním přehledu proto zmiňuji především ty případy soužití hmyzu a hub, které se zabývají podobným problémem, který jsem řešil i já, a zmiňuji autory, kteří se úspěšně zhostili podobné práce, jako byla ta moje, a poskytli mi tak jednak metodický návod, ale též poznatky, na které jsem mohl navázat.

Jedním z původních motivů pro mou práci bylo přispět k objasnění etiologie případů hynutí dubů, jelikož vím, že se nikdo nevěnoval dostatečně podrobně otázkám vztahu na dubech žijícího hmyzu a hub.

Ve středoevropských podmínkách je na různé druhy dubů z okruhu dubu letního a zimního vázáno okolo 1500 druhů hmyzu (Patočka et al. 1999). Pouze některé z těchto druhů mají větší význam z hlediska fyziologie hostitelských stromů, tzn. z hlediska ovlivnění jejich zdravotního stavu (zejména negativního) anebo schopnosti způsobit ve větší nebo menší míře zánik živých dubů. Největší význam z tohoto hlediska má nesporně hmyz, žijící v podkorním prostředí, živící se lýkem nebo dřevem dubů. Z těchto druhů hmyzu má největší důležitost kůrovec bělokaz dubový - *Scolytus intricatus*. Z dalších kambioxylofágů jsou důležití krasci rodu *Agrilus*, kterých se na dubech vyskytuje více druhů, nejvíce je zmiňován polník dvojtečný – *Agrilus biguttatus*, i když na teplejších stanovištích bývají hojné a početnější menší druhy tohoto rodu, např. *Agrilus sulcicollis* nebo *Agrilus angustulus* a *Agrilus viridis*.

Pilořitka dubová (*Xiphydria longicollis*) začala být uváděna jako významný xylofágní druh blanokřídlého hmyzu až v souvislosti s případy epifytotických vln hynutí dubů, označovaných nakonec jako tzv. hromadné hynutí dubu (viz např. Gogola, Chovanec 1987, Marcu 1966).

Vzhledem k tomu, že práce, osvětlující význam bělokaza dubového i jeho asociaci s určitými druhy hub byly již provedeny (Patočka 1985, Gogola, Chovanec 1987, Šrůtka 1996, Kubátová et al. 2004), připadaly pro mou práci v úvahu hlavně krasci rodu *Agrilus* a

pilořitka dubová. Během přípravných prací se ukázalo, že odběr vzorků, obsahujících larvy a kukly krasců a na druhé straně vzorků, obsahujících larvy pilořitky dubové vyžaduje odlišný přístup – odlišnou dobu odběru, jiné lokality i různou metodiku inkubace a zpracování vzorků.

Jako hmyz, na který zaměřím svou pozornost jsem zvolil nakonec pilořitku dubovou (*Xiphydria longicollis*), vzhledem k tomu, že je v naší fauně známa poměrně krátkou dobu, a protože její význam vzrůstá, což lze přičíst teplejšímu klimatu v recentním období, a v neposlední řadě jsem se pro ni rozhodl také pro její předpokládanou vazbu na symbiotické houby. V případě těchto hub někteří autoři přímo udávají (Příhoda 1994a), jiní hypoteticky zmiňují jejich patogenní význam pro napadené duby (Gogola, Chovanec 1987, Marcu 1966).

Při předběžných odběrech vzorků mi bylo známo několik lokalit, na kterých byla destruktivní činnost pilořitek významná, a bylo možno předpokládat, že bude možné získat dostatečný počet larev i imág po dobu několika let, což bylo nutné k uskutečnění předpokládaných na sebe navazujících prací.

Vzhledem k neúplným údajům o obecném složení mykobioty, doprovázející pilořitku dubovou během různých fází jejího vývoje je moje práce především zaměřena na identifikaci symbiotických (mykangiálních) hub tohoto hmyzu, lokalizaci mykangií u samic a zjištění dalších druhů hub na povrchu dospělců a larev.

Jako vedlejší výsledky předkládám doplňující údaje o bionomii a ekologii pilořitky dubové (*Xiphydria longicollis*) a údaje faunistické, tzn. přehled dalších xylofágních a kortikofágních druhů hmyzu, získaných na základě inkubace vzorků dřeva, odebraných na vybrané lokalitě.

## 3. LITERÁRNÍ PŘEHLED

### 3. 1. Mykofagie mravenců

Mezi vyspělé obligátní mykofágy patří bezesporu mravenci (Hymenoptera; Formicidae) patřící do monofyletického tribu Attini podčeledi Myrmicinae, ačkoli imága přijímají částečně i rostlinnou potravu.

Mravenci, kteří jsou zařazeni do tribu Attini spadají do 14 rodů a ve kterých je popsáno celkem 210 druhů (Schultz et al. 2005). Všechny známé druhy žijí na severním i jižním americkém kontinentu, ponejvíce v oblasti od severního Texasu po jih Argentiny.

Tribus není vnitřně jednotný, tvoří jej tzv. „vyšší Attini“ s rody *Atta*, *Acromyrmex*, *Sericomyrmex*, *Trachymyrmex* a *Pseudoatta*, a „nižší Attini“ s osmi zbývajícími rody - *Mycetarotes*, *Myrmicocrypta*, *Mycocepurus*, *Apterostigma*, *Cyphomyrmex*, *Mycetosoritis* a *Mycetophylax*. Mravenci rodu *Mycetoagroicus* mají taxonomické postavení mezi oběma výše zmíněnými skupinami (Villesen 2001, Schultz et al. 2005).

Tito mravenci jsou patrně ve své čeledi nejlépe poznanými druhy, jelikož jejich defoliační činnost je velmi významná a má často značný negativní ekonomický dopad. V oblastech, kde se mravenci vyskytují, bývají nejvýznamnějšími defoliátory a největší hrozbou pro zemědělství (Schultz et al. 2005). Jedna průměrná kolonie mravence *Atta cephalotes* L. spotřebuje denně asi tolik listů, jako jedna dospělá kráva. V ekosystému, ve kterém žijí, spotřebují 12 – 17% listové produkce a jeden druh mravence užívá listů až padesáti různých druhů rostlin. Z hlediska defoliace jsou to tedy širocí polyfágové. Uvádí se, že ztráty, způsobené „mravenci ukrajujícími listy“ („leafcutter ants“) činí na obou amerických kontinentech ročně ztrátu jedné miliardy USD, a z toho pouze v USA přibližně 5 miliónů USD.

Ačkoli již předkolumbovským pozorovatelům bylo zřejmé, že si mravenci nosí do hnízda kousky ukousaných listů anebo sbírají čerstvě opadlé pupeny, plody a listy (jsou totiž zmíněni v mayském eposu o původu světa Popol Vuh), je poznání jejich fungikultury mnohem mladšího data. Skutečný význam sbírání rostlinného materiálu objevili současně a nezávisle na sobě dva vědci a to Thomas Belt a Fritz Müller, oba roku 1874, kteří správně uvedli, že okousané listy a jiný rostlinný materiál slouží pouze jako hnojivo (půda) na které mravenci pěstují houby, a že jsou tedy vlastně jedlíci hub a nikoli rostlin (Schultz et al. 2005).

Jelikož jak mravenci tribu Attini, tak i jejich houboví symbionti (s výjimkou symbiotické houby mravenců rodu *Apterostigma*) jsou monofyletického původu, usuzuje se, že mykofagie u nich vznikla pouze jedenkrát a to asi před 50 milióny let. Způsob, kterým využívají symbiotickou houbu i jejich celková bionomie se již různí a liší se zejména, srovnáme-li primitivnější „nižší Attini“ a vyspělejší „vyšší Attini“.

U těchto dvou skupin se liší způsob života, délka jeho trvání a trvání kolonie, velikost kolonie, kastovní systém, i kultivované houby a i způsob jejich kultivace.

„Nižší Attini“ nemají výrazný kastovní systém, který je omezen víceméně na matku a dělnice, případně samce, mají kolonie malé, čítající několik stovek jedinců, krátkověké – trvající okolo jednoho až dvou let, symbiotickou houbu kultivují pouze v jedné nebo několika málo komorách, jako substrát používají většinou odumřelé listy a plody. Hnízdo i komoru k pěstování hub budují sice většinou pod zemí, ale také na povrchu půdy, pod kameny nebo kmeny stromů, pod kůrou, ve vyhnílych kmenech nebo i nad zemí (na stromech). Jako substrát pro pěstování hub používají odumřelý rostlinný materiál, tzn. větvičky, listy, opadlé šupiny pupenů a okvětní lístky, ale také dřevnaté plody a dokonce trus fytofágního hmyzu.

Naproti tomu „vyšší Attini“ mají několik kast dělnic, které nejenže vykonávají různé činnosti, ale liší se i velikostí, nejmenší jsou okolo dvou milimetrů velké a největší až jeden centimetr. Mezi nimi vynikají velikostí tzv. „vojáci“ kteří jednak kolonii i její cesty střeží a brání, ale také pomáhají při úkonech, na které drobné dělnice fyzicky nestačí. Hnízda si budují výhradně pod zemí, kolonie mají početné až o několika miliónech jedinců, a kolonie může existovat až dvacet let. Komor k pěstování hub mají více, od několika až po více než sto. Jako substrát pro pěstování hub používají přednostně čerstvý materiál, zprvu okvětní lístky a tyčinky květů, později ukrojené kousky listů různých rostlin. Za sběrem substrátu cestují po nápadných stezkách, které jsou u různých druhů různě široké (od pěti až do třiceti cm) a zbaveny veškerého vegetačního pokryvu.

Samice mravenců před svatebním letem naberou do speciálního orgánu uvnitř hlavy, tzv. infrabukální kapsy, inokulum houby zpracované do kompaktní peletky. Během svatebního letu se samice spáří i s několika samci (podle druhu mravence), a po přistání na zemi se snaží založit novou kolonii – především zakládá první komůrku s kulturou symbiotické houby. Peletku, kterou vyvrhne, uloží do prvotní komůrky a potírá ji jak tekutými exkrementy, tak i slinami. Mycelium tyto substance stimulují k růstu. Prvotním materiálem k výrobě substrátu pro pěstování houby bývají rozžvýkané okvětní lístky nebo tyčinky květů, později listy různých rostlin, nacházejících se v okolí, zejména měkké nejmladší listy nového růstu (Fernández-Marín et al. 2003).

Mycelium, které je ošetřováno mravenci (potíráno slinami a okusováno) netvoří žádné konidie nebo jiné plodné struktury, zato ovšem hustě porůstá substrát a konce jeho hyf ztloustnou do tvaru bambulek nebo jakýchsi kuliček – tzv. gongylií. Teprve tato gongylia představují vlastní potravu mravenců. Larvy mravenců jsou výhradně vyživovány myceliem symbiotické houby, potrava dospělých mravenců je doplněna o šťávy listů, které jsou zpracovávány na substrát pro pěstování houby.

Udržovat čistou kulturu houby není ani pro mravence jednoduché. Základním prvkem jejich péče je udržování optimální vlhkosti, teploty a kyselého pH v substrátu a kultivačních komorách. Kromě potírání mycelia slinami a tekutými exkrementy jej i mechanicky okusují a plejí, na jimi kultivovaných houbách se totiž vyskytuje mykoparazit z rodu *Escovopsis* (Deuteromycota). Vzhledem k tomu, že tento mykoparazit se vyskytuje pouze v hnízdech mravenců tribu Attini, poskytlo porovnání různých izolátů této houby cenné informace o příbuznosti mravenců a pravděpodobné době vzniku mravenčí fungikultury (Mueller et al. 1998). Mravenci části své kultury zasažené tímto mykoparazitem odstraňují a ukládají do odpadních komor, které jsou větší a uloženy hlouběji než komory kultivační. S kastami mravenců, kteří provádějí toto pleť, se ostatní příslušníci kolonie stýkají co nejméně (Hart, Ratnieks 2001). Čistou kulturu pomáhají udržovat svými enzymy též určité druhy aktinomycetů a bakterií, které některé druhy mravenců nesou na svém exoskeletu a přimíchávají do kultury (Curie et al. 2002, Van Borm et al. 2002). Jinak své tělo mravenci úzkostlivě čistí a končetiny, které přicházejí do styku se substrátem a myceliem, potírají slinami.

Symbiotické houby mravenců tribu Attini jsou monofyletické (až na jednu zjištěnou výjimku), a jsou řazeny převážnou většinou autorů do čeledi hub pečárkovitých, Agaricaceae, tribu Leucocoprinae (Schultz et al. 2005).

Taxonomická bádání, zaměřená na izolaci a determinaci houbového symbionta byla velmi obtížná a nejsou dodnes ukončena. Hlavním problémem je zde skutečnost, že kultivované houby netvoří ani v mravenčích hnízdech ani in vitro žádné plodné struktury, plodnice jsou nalézány pouze vzácně většinou u nedávno opuštěných hnízd. V takové situaci je obtížné podat důkaz, že jde skutečně o symbiotickou houbu mravenců a ne o plodnici kontaminanta, zvláště když si uvědomíme, že kromě komor, kde probíhá kultivace symbiotických hub, mají mravenci ještě několik větších komor s „odpadem“ neboli „vyčerpaným substrátem“, ze kterého již mohou vyrůstat různé druhy hub. I v případě, že bylo mycelium úspěšně izolováno, bylo obtížné usoudit, do které vyšší taxonomické jednotky houba patří, neboť na

myceliu nejsou přezky (jaké jsou obvyklé u hub stopkovýtrusých) a pouze podle doliporních přepážek se usuzovalo, že půjde o bazidiomycety.

Prvním, kdo v podstatě správně určil na základě opakovaných nálezů plodnic na hnízdech symbiotickou houbu mravenců rodu *Acromyrmex*, byl Möller (1893) (ex Weber 1979). Tuto houbu pojmenoval *Rozites gongylophora*. Nepřítomnost plodných struktur na myceliu a tvorba „gongylií“ vedla Kreisela (1972) k popisu tohoto vegetativního stadia, které pojmenoval *Attamyces bromatificus* a zařadil do pomocné skupiny Deuteromycotina.

Pozdější výzkumy, prováděné na základě fylogenetických analýz za použití moderních metod ukazují, že se u „vyšších Attini“ jedná o rody *Leucoagaricus* a *Leucocoprinus*, a u „nižších Attini“ o rod *Lepiota* (viz např. Cherret et al. 1987, Mueller et al. 1998). Výjimka byla zjištěna u mravenců rodu *Apterostigma* z „nižších Attini“, kteří mají symbiotickou houbu z rodu *Geronemma* z čeledi Pterulaceae (Villesen et al. 2004).

**Tabulka č. 1**

Symbiotické houby mravenců tribu Attini		
Druh mravence	Symbiotická houba	Autor
<i>Acromyrmex disciger</i>	<i>Rozites gongylophora</i>	Möller 1893
<i>Cyphomyrmex costatus</i>	<i>Lepiota sp.</i>	Weber 1957
<i>Atta sexdens</i>	<i>Leucocoprinus gongylophorus</i> <i>Leucoagaricus gongylophora</i> <i>Agaricus gongylophora</i>	Heim 1958
<i>Myrmicocrypta buenzlii</i>	<i>Lepiota sp.</i>	Weber 1966
<i>Atta insularis</i>	<i>Attamyces bromatificus</i>	Kreisel 1972
<i>Myrmicocrypta auriculatum</i>	<i>Lepiota sp.</i>	Hervey et al. 1977
<i>Apterostigma spp.</i>	<i>Geronemma spp.</i> (Pterulaceae)	Villesen et al. 2004

(podle Weber 1979, Cherret et al. 1987, Mueller et al. 1998 a jiných autorů)

### 3. 2. Mykofagie termitů

Termiti jsou řazeni do samostatného řádu Isoptera (všekazi). Příslušníci tohoto řádu sice patří mezi evolučně původnější, méně vyspělý hmyz s nedokonalou proměnou, nicméně velmi adaptabilní na různé podmínky a schopný se jim jednak velmi dobře přizpůsobit a také jich dokonale využít k životu a reprodukci.

Termiti poutají pozornost lidí již dlouhou dobu, významná je zejména jejich destrukční činnost, která spočívá v ničení zpracovaného dřeva a materiálů s obsahem celulózy (např. suché trávy, listí, nebo papíru), a také pro nápadné stavby, které si některé druhy budují.



Z vědeckého hlediska je pozoruhodná organizace jejich hmyzího státu, kastovní systém a také symbióza s různými organismy.

Všech termitů je popsáno přibližně 2600 druhů, tyto jsou řazeny do 281 rodů, které jsou shrnuty do sedmi čeledí (Aanen, Boomsma 2005). Tradičně jsou termiti děleni na „nižší termity“ a „vyšší termity“. „Vyšší termiti“ zahrnují pouze čeleď Termitidae, do ní ale spadá 80% všech popsaných druhů termitů.

Potravním substrátem termitů mohou být organické látky obsažené v půdě, hlavně rostlinný detrit, avšak často jím bývá dřevo, přičemž různé taxonomické skupiny termitů využívají k jeho trávení různých symbiontů. U méně vyspělých druhů termitů jsou těmito symbionty prvoci a bakterie, kdežto příslušníci nejvyspělejší čeledi Termitidae užívají k trávení celulózy a ligninu houby a bakterie. Výhradními pěstiteli hub jsou ale pouze rody a druhy, řazené do podčeledi Macrotermitinae. Tato podčeleď zahrnuje čtrnáct rodů, které jsou domovem v tropických a subtropických krajích, a přibližně 330 druhů (Mueller, Gerardo 2002). Jsou to rody *Acanthotermes*, *Allodotermes*, *Ancistrotermes*, *Euscaiotermes*, *Hypotermes*, *Macrotermes*, *Megaprotermes*, *Microtermes*, *Odontotermes*, *Parahypotermes*, *Protermes*, *Pseudacanthotermes*, *Sphaerotermes* a *Synacanthotermes*.

Činnost termitů bývá z hlediska zájmů člověka chápána většinou negativně, ale z hlediska funkce přírodního společenstva kolonie termitů výrazně přispívají k dekompozici odumřelého organického materiálu. Množství zpracované odumřelé rostlinné biomasy kolísá podle druhu termitů a typu prostředí od 7 do 30% (Wood, Thomas 1987).

Komunita termitího hnízda obvykle zahrnuje jedince několika kast; zejména primární reprodukční pár, tzv. krále a královnu, dělnice nebo i dělníky a vojáky. Dělníci a dělnice buď v této kastě zůstanou do konce života, anebo mohou u některých druhů termitů dospět a zapojit se do pohlavní reprodukce v případech, kdy primární reprodukční pár zahyne. Kolonie termitů mohou být v závislosti na druhu různě početné, od několika desítek jedinců u „nižších termitů“ až po několik miliónů u druhu *Macrotermes bellicosus*.

Během rojení okřídlených dospělců, které v tropech probíhá ve vazbě na období dešťů, v mírnějších krajích pak bývá koncem léta, dojde k páření a pokusu o založení nového hnízda. Hnízdo zakládá primární pár pod zemí. Známé nadzemní stavby, termitiště, budují pouze termiti rodu *Macrotermes*, hnízda ostatních druhů čeledi Macrotermitidae, včetně těch, kteří pěstují houby, jsou z větší části podzemní. Rodičovský pár vybuduje okolo sebe snubní komoru a naklade první vajíčka. První vylíhlé jedince vychovává a krmí pouze na základě svých tělesných energetických rezerv, později dělnice zakládají plástovitou strukturu, k jejímu budování používají vlastní trus pocházející z rozžvýkaných a natrávených

rostlinných zbytků, na kterém začnou pěstovat houby. Tyto plástové struktury jsou ovšem mimo snubní komoru, v samostatných dutinách pod zemí.

Primární inokulace substrátu symbiotickou houbou probíhá u různých druhů termitů různým způsobem. Je zde rozlišován horizontální a vertikální přenos inokula. V případě horizontálního přenosu rodičovský pár během rojení nepřenáší žádné inokulum symbiotické houby, a dělníci (nebo dělnice) musejí inokulum později získat během svých výprav za potravou. Získají jej zpravidla z nějaké volně rostoucí plodnice, které se na hnízdech termitů běžně vyskytují. V případě vertikálního přenosu buď samice nebo samec nese během snubního letu inokulum, získané v mateřském hnízdě, kterým později naočkují substrát v nově zakládáné kolonii.

Většina rodů a druhů termitů, pěstujících houby, používá horizontálního způsobu přenosu, vertikální přenos, který je evolučně odvozenější (vyspělejší) je obvyklý pouze u rodu *Microtermes*, kde inokulum nese během svatebního letu samice, a u druhu *Macrotermes bellicosus*, kde nese inokulum samec (Aanen et al. 2002). Toto inokulum přenášejí v zažívacím traktu.

Termiti pěstují houby ve zvláštních komorách, do kterých ukládají a doplňují substrát nutný pro růst houby. Tento substrát je upraven do lamelovité nebo voštinovité struktury, tvořící jakýsi plást, a tím získává poměrně velký povrch. Celkový objem těchto komor u jedné kolonie může činit u některých druhů termitů i několik kubických metrů.

Primárním substrátem je trus termitů, pocházející z rozžvýkaného a natráveného dřeva nebo jiných rostlinných zbytků. Později přidávají do plástu nový materiál a staré části plástu, porostlé symbiotickou houbou, požírají a ve svém traktu směšují s primárně získanou potravou. Tím dochází k téměř úplné postupné dekompozici substrátu. Chemické látky, získané z celulózy a rostlinného detritu se tak mohou dostat zpět do ekosystému převážně ve formě těl termitů, ať již predovaných nebo po zániku kolonie (Wood, Thomas 1987).

Mycelium symbiotické houby substrát hustě porůstá a v jeho záhybech se tvoří kulovitá synnemata obalená konidiami, zvaná sférule nebo nodule nebo je užíván i mykologický termín sporochia. Tyto sférule jsou relativně velké, v průměru až 5 milimetrů, a dělnice o ně pečují stejně jako o vajíčka nebo mladé nymfy, to znamená olizují je, okusují konidie, a v případě odkrytí komory je odnášejí do bezpečí. Pomocí těchto sférulí též naočkují substrát v nově zakládáných komorách. Na povrchu sférulí lze nalézt také vajíčka a nymfy a i dospělejší dělníci a vojáci je užívají jako potravu.

Čistá kultura houby je udržována především neustálou činností termitů, redigescí starých částí „plástu“ a tvorbou nových. Čistota kultury je navíc podporována enzymy, které

pocházejí z traktu a slin termitů, případně též ze symbiotických bakterií. Kulturu houby udržují v žádoucím stavu také podmínky v pěstitelských komorách, zejména teplota, která je udržována okolo 30°C, a vyšší obsah oxidu uhličitého.

Objev vztahu hub a termitů je připisován Königovi (1779) (ex Wood, Thomas 1987), který první zjistil, že plástovité struktury v hnízdech termitů jsou porostlé houbou. Na tento objev navázala diskuse, jaký význam tato houba pro termity má, a mnozí pochybovali o tom, že její hlavní význam je potravní. Později bylo prokázáno, že kolonie nepřežijí, pokud plásty v komorách neporostou myceliem symbiotické houby. Tyto důkazy podali např. Sands (1969) a Johnson (1981) (ex Wood, Thomas 1987).

**Tabulka č. 2**

<b>Symbiotické houby termitů podčeledi Macrotermitinae</b>			
<b>Druh termita</b>	<b>Symbiotická houba</b>	<b>Místo výskytu</b>	<b>Autor a letopočet</b>
<i>Odontotermes badius</i>	<i>Termitomyces microcarpus</i>	Jižní Afrika	Bottomley, Fuller 1921
<i>Odontotermes kibarensisi</i>	<i>Termitomyces microcarpus</i>	Uganda	Mukiibi 1973
<i>Odontotermes latericius</i>	<i>Termitomyces microcarpus</i>	Afrika	Heim 1977
<i>Odontotermes obesus</i>	<i>Termitomyces microcarpus</i>	Indie	Bose 1923
<i>Odontotermes vulgaris</i>	<i>Termitomyces microcarpus</i>	Jižní Afrika	Bottomley, Fuller 1921
<i>Odontotermes transvaalensis</i>	<i>Termitomyces microcarpus</i>	Jižní Afrika	Bottomley, Fuller 1921
<i>Odontotermes badius</i>	<i>Termitomyces albuminosus</i>	Afrika	Coaton 1961
<i>Odontotermes gurdaspurensis</i>	<i>Termitomyces albuminosus</i>	Indie	Batra a Batra 1979
<i>Odontotermes horni</i>	<i>Termitomyces albuminosus</i>	Vietnam, střední Asie	Bathelier 1927, Heim 1971
<i>Odontotermes obesus</i>	<i>Termitomyces albuminosus</i>	Indie	Bose 1923
<i>Odontotermes obscuripes</i>	<i>Termitomyces albuminosus</i>	Srí Lanka	Petch 1906
<i>Odontotermes redemanni</i>	<i>Termitomyces albuminosus</i>	Srí Lanka	Petch 1906
<i>Odontotermes horni</i>	<i>Termitomyces cartilagineus</i>	Indočína	Grassé, Heim 1950
<i>Protermes minutus</i>	<i>Termitomyces entolomoides</i>	Zaire	Heim 1952, 1977
<i>Odontotermes badius</i>	<i>Termitomyces</i>	Keňa, Zambie	Pegler, Rayner 1969

	<i>eurhizus</i>		
<i>Acanthotermes acanthothorax</i>	<i>Termitomyces fuliginosus</i>	Kongo, Guinea, Zaire	Heim 1940, 1951, 1958, 1971,
<i>Odontotermes badius</i>	<i>Termitomyces globulus</i>	Keňa	Pregler, Rayner 1969
<i>Pseudacanthotermes militaris</i>	<i>Termitomyces mammiformis</i>	Guinea	Heim 1940
<i>Ancistrotermes latinus</i>	<i>Termitomyces medius</i>	Zambie	Coaton 1961
<i>Acanthotermes acanthothorax</i>	<i>Termitomyces robustus</i>	Kongo, Zaire	Heim 1951, 1952, 1958, 1977
<i>Macrotermes natalensis</i>	<i>Termitomyces schimperi</i>	Kamerun, Etiopie	Heim 1951, 1952, 1977
<i>Pseudacanthotermes militaris</i>	<i>Termitomyces striatus</i>	Guinea, Kamerun, Sierra Leone, Pobřeží Slonoviny, Kongo	Heim 1940, 1942, 1948, 1952, 1977

(Podle Wooda a Thomase 1987, zkráceno a zjednodušeno)

Uvádí se, že schopnost pěstovat houby vznikla u termitů během evoluce pouze jedenkrát, a je stará řádově milióny let (Mueller, Gerardo 2002). Mnohé druhy termitů nepěstujících houby dávají též přednost potravě prostoupené myceliem, a tak vznik fungikultury podčeledi Macrotermitinae byl podmíněn jednak výběrem houby a též osvojením schopnosti udržet její kulturu v podmínkách termitího hnízda. Symbiotická houba vyhovuje termitům hlavně tím, že tvoří sférule, o které mohou pečovat podobným způsobem jako o potomstvo, a ochotou růst v podmínkách pěstitelských komor, za poměrně vysoké teploty i obsahu oxidu uhličitého. Termiti naopak umožňují svým symbiotickým houbám přežití (jimi pěstované houby již nerostou volně, pouze v termitích hnízdech) a šíření.

Vzhledem k tomu, že symbiotické houby prorůstají i stěnami termitího hnízda a tvoří na jeho povrchu plodnice, nebylo jejich taxonomické určení natolik problematické jako u mravenců rodu *Atta*.

Houby, pěstované termity jsou dnes řazeny bez výjimky do rodu *Termitomyces*, čeledi Tricholomataceae, jsou to tudíž lupenaté stopkovýtrusé houby. Jsou jedlé i pro člověka, a plodnice druhu *Termitomyces titanicus* je někdy považována za největší kloboukatou houbu, jejíž klobouk může mít až metr v průměru (Vellinga 2004). Je jich popsáno přes 40 druhů, ovšem nejsou to jediné houby, které se v hnízdech termitů vyskytují. Kontaminující druhy hub jsou příčinou nechovatelnosti mykofágních termitů v umělých podmínkách. Jsou to především vřeckaté houby rodu *Xylaria*, a konidiální houby z rodů *Aspergillus* a *Penicillium*, vyskytující se běžně v půdním prostředí. Termiti je dokáží v hnízdě účinně omezit, ovšem jakmile se podmínky změní, rychle přerůstají substrát.

### 3.3. Kůrovci a houby

Čeď kůrovci (Scolytidae) celosvětově zahrnuje okolo 6000 známých druhů. Je to vývojově čeď mladá, dosud se dynamicky rozvíjející, a evolučně velmi úspěšná, která při svém skrytém způsobu života v chodbách vyhlodaných v rostlinných pletivech je schopna kolonizovat jak dřevní (xylémová) pletiva, tak i kůru, lýko a vodivá pletiva, i jiné typy substrátů, jako šišky, semena a dřevě větviček. Je dosti pravděpodobné, že jejich prudká evoluce a evoluční úspěšnost je ve značné souvislosti s jejich dovedností využívat soužití s různými druhy hub, ať už je toto soužití zajišťováno víceméně pasivně a náhodně nebo naopak velmi aktivně a záměrně.

Evoluční studie živé přírody jsou nyní velmi populární, a co se týká kůrovců a hub, panuje názor, že původní skupiny kůrovců se živily lýkem jehličnatých stromů (tvrdí se, že araukárií, ale důkazy jsou zde pouze z 30 miliónů let starého jantaru, přičemž je možné, že jiné kůrovci napadené dřeviny nemusely tvořit fosilizovatelnou pryskyřici). Na některých z kůrovců, zachovaných v jantaru, je podle tělních struktur a snadné zařaditelnosti do dnes existujících rodů zřetelně patrné, že žili ve spojení s houbami, a mnozí z nich byli, podle dnešního chápání „ambrozioví brouci“ a tudíž na houbových symbiontech obligátně závislí. Soužití kůrovců a hub je tedy již velmi starou záležitostí (Hulcr 2003).

Pro kůrovce živící se lýkem je nesporně důležitější využití některých symbiotických hub (převážně z rodů *Ophiostoma* a *Ceratocystis*) jejichž význam tkví ve schopnosti poměrně rychle zablockovat tok pryskyřic, a tak právě tento typ spojení, umožňující kůrovcům napadení živých stromů, tedy vlastně přístup k substrátu, ve kterém probíhá jejich vývoj a jeho využití, je považován za původní (Farrel et al. 2001).

Vlastní počátky výzkumu vztahu kůrovců a hub jsou již relativně starého data. První zmínky k tomuto tématu se týkaly ambroziových kůrovců (Hartig 1844), a tento objev vznikl na základě přirozené snahy zjistit, čím se který druh hmyzu živí. Byl tím objeven hned napoprvé jeden z nejvyspělejších vztahů mezi hmyzem a houbou, totiž situace, kdy si brouk houbu přímo pěstuje, a dospělci ani jejich larvy se neživí ničím jiným.

Další podnět k výzkumu tohoto vztahu poskytl epifytocie tzv. „holandské nemoci jilmů“ neboli grafiózy jilmů, která propukla s velkou destruktivní silou v některých zemích západní

Evropy v době po první světové válce. Zde byl prokázán vztah, chápaný nejprve jako „přenos patogenní houby“ mezi jilmovými kůrovci a houbou *Ophiostoma ulmi* (dnes *Ophiostoma novo-ulmi* přičemž bylo zjevné, že jde o vztah oboustranně výhodný – mutualistický (viz např.

Weber, Brassier 1984). Dosti těsná souvislost mezi houbami rodů *Ophiostoma* a *Ceratocystis* byla zjištěna u hospodářsky nejdůležitějších druhů kůrovců rodů *Ips* a *Dendroctonus*, a podrobně prostudována (viz např. Solheim 1991, Harrington 2005).

Předností tohoto výzkumu je dosti podrobné objasnění obranných mechanismů, které uplatňuje hostitelská dřevina vůči invazi agresivních druhů kůrovců, avšak na druhé straně přinesl jen velmi skromné poznatky poskytující celkový pohled na charakteristiku (aktivních i pasivních) interakcí mezi kůrovci a mikroorganismy s nimi asociovanými.

Na základě výše zmíněných skutečností převládalo mezi entomology mínění, že vztahy mezi kůrovci a houbami jsou převážně mutualistické. Bližší zkoumání, které spadá převážně do období posledních padesáti let, odhalilo však rozrůzněnou stupnici interakcí, zahrnující kromě vztahů již známých a předpokládaných také antagonismus a komensalismus. K těmto objevům vedl jednak výzkum zaměřený na více druhů kůrovců a na druhé straně také celkové studium ekologických vztahů, neboť je zřejmé, že žádný jedinec kteréhokoli druhu kůrovce nepřenáší pouze jeden druh nějaké houby. Náhled na vztahy hub a kůrovců, byl totiž původně velmi ovlivněn tendencí přehlížet početnou skupinu těch druhů kůrovců, kteří využívají z hospodářského hlediska nedůležité ekologické niky, které jsou též početnější než niky agresivních druhů floemofágních a xylofágních kůrovců, schopných fyziologicky poškodit své stromové hostitele (Six 2003).

### **3. 3. 1. Typy symbióz a jiných vztahů kůrovců a hub**

Způsob, jakým daný druh kůrovce využívá symbiotické houby, je dán především jeho životní strategií a bionomií.

Typickým, původním způsobem života kůrovců je kolonizace a potravní využití korních a vodivých pletiv živých nebo odumírajících dřevin. Tyto kůrovce můžeme sice označit jako kambiofágy, ale přesnější pochopení této strategie poskytuje obecnější termín „fytofágové“.

Další životní strategií je kolonizace vnitřních xylémových pletiv, avšak pouze s účelem využít čerstvě vlhké dřevo a chodby v něm jako substrát a prostředí pro pěstování svých symbiotických hub, které teprve slouží za potravu larvám i dospělcům. Dřevní pletiva tyto brouci jako potravu používají pouze v zanedbatelné míře. Tato skupina kůrovců je tradičně

zahrnována do skupiny tzv. „ambroziových brouků“, ale přesnější termín je v tomto případě „mycetofágové“.

Třetí a daleko nejpočetnější skupinu tvoří kůrovci, kteří kolonizují substrát již mrtvý v různém stupni dekompozice. Tato skupina se nazývá „saprofágové“. Je to skupina přes svou početnost nejméně prostudovaná, vzhledem k malému nebo žádnému ekonomickému významu, takže většina studií o této skupině spadá až do poslední doby, a mnohdy souvisí s ekologickými výzkumy zaměřenými na hnijící dřevo.

Výše nastíněné členění kůrovců používá např. Paine et al. (1997) nebo Six (2003).

### 3. 3. 2. Fytofágové – fytofágní kůrovci

Největší a tradiční pozornost na sebe poutá skupina fytofágů, a to především vzhledem k negativním ekonomickým dopadům jejich působení v hospodářsky využívaných lesích.

Jejich životní strategie není zcela stejná a jednotná; existují zde druhy, u kterých může jejich vývoj proběhnout v živých dřevinách bez toho, aby je zahubili (např. *Dendroctonus micans*, *Dendroctonus valens*, *Dendroctonus terebrans*, které bychom mohli nazvat parazity, dále druhy silně agresivní, které dosti běžně nebo i pravidelně napadají a hubí zdravé stromy (např. *Dendroctonus ponderosae*, *Dendroctonus frontalis* ze Severní Ameriky), kteří tudíž mají k hostiteli vztah parazitoidů, a dále největší skupina těch, kteří napadají stromy oslabené, anebo za určitých okolností (vysoká populační hustota nebo výhodné klimatické podmínky – horko a sucho) také vizuálně zdravé dřeviny. Mezi tyto druhy patří u nás například *Ips typographus*, *Ips duplicatus*, *Pityogenes chalcographus*, *Polygraphus poligraphus*, *Pityokteines spinidens*, *Scolytus ratzeburgi*, *Scolytus intricatus*, *Leperisinus fraxini* a řada dalších.

Prvkem, sjednocujícím je do jedné skupiny, je natolik časná kolonizace hostitele a substrátu, že musejí počítat s obrannou reakcí hostitele a mít schopnost ji překonat, buď ji víceméně eliminovat mechanickým způsobem – lokálním drenážováním pryskyřičných kanálků (Wood 1963, ex Berryman 1987), nebo její účinnost omezit jiným způsobem. K tomu využívají různé taktiky, z nichž je velmi časté využití hub, které lokálně (v místě požerku) blokují tok pryskyřic a tím i obranné reakce hostitele, a současně detoxifikují produkované monoterpeny pomocí hydroxylace a oxidace.

Na rozdíl od kůrovců, houby, které fytofágní kůrovci nesou, přicházejí do čistého, nekolonizovaného prostředí s dostatkem zdrojů a bez konkurence jiných druhů hub. Nemusejí mít tedy nějaké výjimečně agresivní schopnosti, a také se ve skutečnosti většinou jedná o houby s pouze mírnými patogenními vlastnostmi. Některé z nich se však mohou ve

vodivých pletivech hostitele rychle rozrůstá a jsou schopny zapříčinit rychlý zánik stromu (např. *Ophiostoma novo-ulmi*). Houby, přenášené na povrchu těla kůrovců anebo v mykangiích mívají spory opatřené slizovým obalem, který zajistí potřebné přilnutí k exoskeletu brouků. Též bylo zjištěno, zejména v případě některých druhů hub rodu *Ophiostoma*, že tento slizový obal má větší afinitu k pryskyřici nežli k vodě, to znamená rozpouští se snáze v látkách

pryskyřičné povahy a na vytékající pryskyřici se tudíž snadno nalepí, což částečně vysvětluje, proč mohou být tyto druhy hub tak hojně a účinně inokulovány do nového hostitele, a naznačuje jejich funkci při potlačení toku pryskyřic (Solheim 1992).

**Tabulka č. 3**

<b>Symbiotické a mykangiální houby fytofágních (floemofágních) a poloambrosiových druhů kůrovců</b>			
<b>Druh kůrovce</b>	<b>Symbiotická houba</b>	<b>Zjištěno na dřevině</b>	<b>Autor</b>
<i>Dryocoetes autographus</i>	<i>Ophiostoma piceaperdum</i>	<i>Picea glauca</i>	Haberkern et al. 2002
<i>Dryocoetes faber</i>	<i>Ophiostoma bicolor</i> <i>Ophiostoma ips</i> <i>Ophiostoma piceae</i>	<i>Picea glauca</i>	Haberkern et al. 2002
<i>Polygraphus rufipennis</i>	<i>Leptographium abietinum</i> <i>Ophiostoma bicolor</i> <i>Ophiostoma ips</i>	<i>Picea glauca</i>	Haberkern et al. 2002
<i>Ips pini</i>	<i>Ophiostoma bicolor</i> <i>Ophiostoma piceaperdum</i>	<i>Picea glauca</i>	Haberkern et al. 2002
<i>Dendroctonus rufipennis</i>	<i>Ophiostoma piceaperdum</i>	<i>Picea glauca</i>	Haberkern et al. 2002
<i>Dendroctonus frontalis</i>	<i>Ophiostoma minus</i> <i>Ophiostoma nigrocarpum</i> <i>Ceratocystiopsis ranaculosus</i> <i>Entomocorticium sp.</i>	<i>Pinus taeda</i>	Harrington 2005
<i>Dendroctonus brevicomis</i>	<i>Ophiostoma minus</i> <i>Ophiostoma nigrocarpum</i>	<i>Pinus contorta</i>	Whitney, Cobb 1972
<i>Dendroctonus jeffreyi</i>	<i>Ophiostoma clavigerum</i>	<i>Pinus jeffreyi</i>	Six, Paine 1997
<i>Dendroctonus ponderosae</i>	<i>Ophiostoma montium</i> <i>Ophiostoma clavigerum</i>	<i>Pinus ponderosa</i>	Whitney, Farris 1970
<i>Ips avulsus</i>	<i>Ophiostoma ips</i>	<i>Pinus echinata</i> , <i>Pinus ellioti</i> , <i>Pinus taeda</i>	Yearian et al. 1972



<i>Ips acuminatus</i>	<i>Ophiostoma clavatum</i>	<i>Pinus sylvestris</i>	Francke-Grosmann 1952
-----------------------	----------------------------	-------------------------	--------------------------

(Podle Crowson 1984, Six 2003, Harrington 2005, sestaveno a doplněno autorem.)

Kromě výše zmíněných druhů hub bylo mnohokrát doloženo, že z těsného okolí kůrovců i z jejich zažívacího traktu je možno izolovat kvasinky, které v tomto případě mají pro brouky pravděpodobně nutriční význam (Barras a Perry 1972 ex Berryman 1987). Někteří fytofágové

jsou však schopni vývoje i bez přítomnosti jakýchkoli hub (Strongman 1987 ex Berryman 1987, Yearian et al. 1972), ačkoli jejich vývoj i kondice potomstva je v přítomnosti určitých druhů hub lepší.

### 3. 3. 3. Mycetofágové – ambroziovní kůrovci

Skupina mycetofágů zahrnuje ty druhy kůrovců, kteří se živí téměř výlučně houbami, a jejich rozmnožování, vývoj potomstva a jeho přežití je zcela závislé na tomto druhu potravy. Mycetofagie zde znamená nejen trofický vztah, ale také navíc schopnost houby pro svou potravu pěstovat. K tomu tito kůrovci využívají chodeb a komůrek svých požerků, které vyhlodávají ve dřevě odumírajících nebo již mrtvých stromů. Ačkoli obvykle využívají pro budování svých požerků relativně čerstvé dřevo, zdravé stromy primárně nenapadají, jen v ojedinělých případech se podílejí na zániku chřadnoucích stromů.

Mycetofágové se vyskytují v deseti různých tribech kůrovcovitých brouků (Beaver 1987). Jsou to následující triby: Hylesini, Hyorrhinchini, Brothosternini, Phloeosini, Scolytini, Scolytoplatypodini, Xyloterini, Xyleborini, Cryphalini a Corthylini. Z nich jsou triby Hyorrhynchini, Xyloterini a Xyleborini výhradně mykofágní, v ostatních tribech se mykofagie týká jen některých rodů a druhů. Ačkoli řada druhů mykofágních kůrovců žije také u nás, těžiště jejich výskytu je v tropech, kde mají mykofágní druhy kůrovců značnou převahu nad druhy fytofágními anebo saprofágy. Ze skutečnosti, že svrchu zmíněné triby nejsou vždy příliš těsně příbuzné, je zřejmé, že mykofagie kůrovcovitých brouků vznikla během evoluce několikrát. K tomu mělo dojít u různých rodů a druhů kůrovců sedmkrát nezávisle na sobě (Farrell et al. 2001; Harrington 2005). Podle těchto autorů, každý přechod kůrovců k mykofagii vedl ke zvětšení jejich druhové diversity a umožnil kolonizaci listnatých dřevin.

Zdůvodnit přechod kůrovců od floemofagie k mykofagii lze pomocí dvou motivů. Tito brouci se zcela zbavili problémů s obtížným trávením celulózy a ligninu, v pěstovaných symbiotických houbách získali mnohem bohatší zdroj bílkovin, nežli je dřevo nebo lýko, a

také zdroj vitaminů skupiny B a sterolů. A na druhé straně tím, že svoje požerky budují ve dřevě, unikli navíc konkurenci floemofágních druhů kůrovců, kteří jinak kolonizují hostitelské stromy ve stejnou dobu (Harrington 2005).

Obecných výhod, které poskytuje kůrovcům soužití s určitými druhy hub, může být ovšem více. Je pravděpodobné, že ty druhy hub, které jsou těsněji spojené s kůrovci, mohou být

antagonistické vůči houbám, které jsou pro kůrovce patogenní, a časná inokulace substrátu žádoucím druhem houby ji zvýhodní vůči konkurenci agresivnějších druhů hub, nevhodných pro vývoj potomstva kůrovců.

**Tabulka č. 4**

<b>Symbiotické houby mycetofágních (ambroziových) druhů kůrovců</b>			
<b>Druh kůrovce</b>	<b>Symbiotická houba</b>	<b>Zjištěno na dřevině</b>	<b>Autor</b>
<i>Xyleborus dispar</i>	<i>Ambrosiella hartigii</i> (syn.: <i>Monilia candida</i> )	<i>Acer platanoides</i> , <i>Betula verrucosa</i>	Hartig 1944, Batra 1967
<i>Xyleborus habercorni</i>	<i>Monilia spp.</i> <i>Fusarium sp.</i>		Müller 1933
<i>Xyleborus bicornis</i>	<i>Monilia spp.</i> <i>Fusarium sp.</i> <i>Penicillium sp.</i>		Müller 1933
<i>Xyleborus fornicatus</i>	<i>Monacrosporium ambrosium</i>	<i>Camelia sinensis</i>	Gadd, Loos 1947
<i>Xyleborus semipacus</i>	<i>Ambrosiella xylebori</i>		Brader 1964
<i>Xyleborus affinis</i>	<i>Cephalosporium pallidum</i>	<i>Pinus spp.</i>	Verrall 1943
<i>Xyleborus pecanis</i>	<i>Cephalosporium pallidum</i>		Verrall 1943
<i>Xyleborus destruens</i>	<i>Fusarium sp.</i>	<i>Tectona grandis</i>	Müller 1933
<i>Xylosandrus</i> <i>/Xyleborus/ germanus</i>	<i>Ceratocystis ulmi</i>	<i>Ulmus sp.</i>	Buchanan 1940
<i>Xylosandrus</i> <i>/Xyleborus/ germanus</i>	<i>Fusarium lateritium</i> <i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Camelia sinensis</i>	Kessler 1974
<i>Xylosandrus</i> <i>/Xyleborus/ compactus</i>	<i>Monilia sp.</i> <i>Fusarium sp.</i>	<i>Coffea sp.</i>	Müller 1933
<i>Xylosandrus</i> <i>/Xyleborus/ compactus</i>	<i>Colletotrichum coffeanum</i> <i>Pestalozzia coffeicola</i>	<i>Coffea sp.</i>	Meifren 1957
<i>Xylosandrus</i> <i>/Xyleborus/ compactus</i>	<i>Ambrosiella xylebori</i> <i>Cephalosporium rubescens</i> <i>Fusarium lateritium</i>	<i>Coffea sp.</i>	Brader 1964

<i>Xylosandrus</i> <i>/Xyleborus/</i> <i>compactus</i>	<i>Fusarium solani</i>	<i>Coffea sp.</i> , <i>Persea americana</i>	Ngoan et al., 1976
<i>Xylosandrus</i> <i>/Xyleborus/</i> <i>compactus</i>	<i>Botryodiplodia</i> <i>theobromae</i>	<i>Coffea sp.</i>	Gregory 1954

(Podle Six 2003, Harrington 2005 a sestaveno a doplněno autorem.)

### 3. 3. 4. Saprofágní druhy kůrovců

Tato skupina kůrovců je ve srovnání s výše uvedenými skupinami kůrovců studovaná nejméně, a velice málo je známo i o jejich bionomii, natož o jejich vztahu k houbám. Důvodem k tomuto stavu je jejich relativně nenápadný a skrytý způsob života a zejména jejich malý význam z hlediska hospodářského.

Saprofágové využívají pro vývoj svého potomstva substrát, který je již zcela odumřelý, který je v probíhající rozkladu nebo již prostoupen dřevokaznými houbami. Mohou tudíž aktivně vyhledávat substrát, již kolonizovaný žádoucím druhem houby, a nemusejí být již tolik závislí na těch, které by si sami přinesli na nové místo vývoje.

V této skupině můžeme zjistit dvě vývojové strategie – jedna skupina druhů využívá rozkládající se korní pletiva, zpravidla na kmenech a větvích stromů přiléhajících k zemi a relativně nedávno odumřelých. Tento typ substrátu vyhledávají v naší fauně např. někteří kůrovci rodů *Hylurgops* a *Dryocoetes* a rovněž kůrovci, kteří využívají požerků jiných druhů kůrovců a tak jsou nuceni žít se již lýkem v pokročilejším stadiu rozkladu, jako např. *Crypturgus pusillus* (GYLL.). Rovněž tak larvy kůrovců rodu *Hylastes* užívají ke svému žíru již dosti rozložené lýko.

Jiné druhy saprofágů cíleně vyhledávají větve a kmínky již prostoupené myceliem některých druhů hub (např. *Lymantor coryli*, *Lymantor aceris*, některé druhy rodu *Thamnurgus*) (Pfeffer 1950).

**Tabulka č. 5**

<b>Symbiotické houby saprofágních druhů kůrovců</b>			
<b>Druh kůrovce</b>	<b>Symbiotická houba</b>	<b>Zjištěno na dřevině</b>	<b>Autor</b>
<i>Lymantor coryli</i>	<i>Diaporthe conjuncta</i>	<i>Corylus avellana</i>	Pfeffer, Příhoda 1950
<i>Lymantor aceris</i>	<i>Dothiora rhamnii</i>	<i>Rhamnus frangula</i>	Pfeffer, Příhoda 1950

(Podle Pfeffera 1950, sestaveno autorem)

### 3. 3. 5. Morfologické adaptace kůrovců k soužití s houbami -mykangia kůrovců

Čeď kůrovcovitých brouků je charakteristická určitými morfologickými prvky, které jsou často užívány v taxonomii jako diakritické znaky, avšak pro vlastní kůrovce mají pochopitelně zcela jiný význam. Řada tělních struktur, ať již vnějších a viditelných, tak i skrytých nebo vnitřních, odráží potřebu kůrovců ovlivňovat, udržovat nebo nějak usměrňovat jejich soužití s houbami. Stejně tak, jako jsou diferencované vztahy různých druhů k určitým houbám, existuje také řada typů struktur, které k zacházení s houbami slouží. Tyto struktury mohou zahrnovat například kartáčky chloupků (setů), nebo soustředěné hrbolky, jež mohou být zploštěné a skloněné jedním směrem a navíc vybavené sety, různě velké dolíčky a jamky na exoskeletu brouků, baňkovité dutinky na štítu nebo krovkách, až po dokonalé kapsovité útvary mezi tělními segmenty, vybavené žlázami produkujícími olejovité nebo voskovité výměšky, které udržují přenášené spory nebo mycelium hub v životaschopném stavu.

Variabilita těchto útvarů je ovlivněna jednak úkolem, který mají tyto orgány zajistit, ale také odpovídá i konkrétnímu druhu houby, který může mít spory jednak s odlišnou charakteristikou povrchu (např. hladké a „suché“ anebo obalené slizem) anebo také odolnější nebo choulostivější na expozici světlu a suchu. Na nové místo vývoje totiž musí rodičovský brouk donést dostatečně velký náklad životaschopných propagulí houby, a tudíž i mykangia musejí mít odpovídající vlastnosti a kapacitu. Proto mívají nejvyspělejší mykangia ambrozií brouci, kteří jsou na svých houbových symbiontech životně závislí. Na druhé straně soustředěné hrbolkovité a dolíčkovité struktury (např. na štítu kůrovců rodu *Ips*) dobře poslouží k přenosu odolnějších spor s lepkavým obalem, jako bývají např. spory hub rodu *Ophiostoma* a *Ceratocystis*.

Termín mykangia použil poprvé Batra (1963) pro nejdokonalejší útvary kapsovitěho nebo baňkovitěho typu, vybavené sekretorickými žlázami. Nynější literatura chápe tento termín často tak volně, že pod něj lze zahrnout všechny shora zmíněné struktury. Pokud se touto otázkou některá práce blíže zabývá, dělí mykangia většinou na primitivnější či „hrubé“ typy – sety, hrbolky a dolíčky postrádající sekretorické žlázy nebo jejich vyústění, a vyspělejší typy – baňkovité nebo kapsovité útvary s přítomností sekretorických orgánů. Novější pohled z recentních výzkumů soudí, že výše uvedené dělení je ovlivněno hlavně nedokonalým poznáním morfologie a funkce těchto struktur, a z tohoto důvodu navrhuje Six (2003) dělení mykangií na tři základní typy – kartáčové typy tvořené hustými sety, potom jamkové typy s jednotlivými sety a na nejvyspělejší kapsovité typy, ovšem každá z těchto skupin je dále dělena na dvě podskupiny – s přítomností sekretorických žláz anebo bez nich.

Sekret, který je do prostoru mykangia vylučován, plní několik funkcí. Především podporuje růst a množení propagulí houby, chrání spory nebo mycelium proti vyschnutí, ale navíc selektivně podporuje symbiotické houby a je antagonistický vůči houbám ostatním (Barras, Perry 1972).

### **3. 4. Mykofagie ambroziových brouků z čeledi Platypodidae**

Čeď jádrolodovitých (Platypodidae) zahrnuje rody a druhy brouků, kteří až na nečetné výjimky patří mezi tzv. ambroziové brouky. Dnes je známo již více než tisíc příslušníků této čeledi, avšak počet známých druhů nemůže být konečný, neboť těžiště rozšíření jádrolodů je v tropických oblastech, a vzhledem k tomu, že jeden druh může užívat ke svému vývoji více dřevin (Giménez, Etienne 2003), jistě budou nalézány a popisovány nové druhy jádrolodů. Existují ovšem druhy monofágní anebo oligofágní, vázané na jednu dřevinu nebo okruh dřevin příbuzných. Žijí sice převážně v listnatých, ale též v jehličnatých dřevinách.

Dosud jsou jádrolodi systematicky řazeni do blízkosti kůrovců, do nadčeledi Curculionoidea. Liší se od nich na první pohled vzhledem, protáhlým tvarem těla, relativně dlouhým štítem a krovkami. Průřez těla mají kruhový, přizpůsobený pohybu v chodbách. Diakritickým znakem, podle kterého mají ostatně odvozeno i latinské pojmenování, je výrazně prodloužený první tarsální článek.

Významným morfoloogickým rysem jsou také mykangia, která mají brouci na horní ploše štítu. Mykangia mají u všech druhů samice, u některých druhů ale také samci, i když méně dokonale vyvinutá. Tato mykangia jsou tvořena většinou drobnými baňkovitými důlky, hustě vedle sebe nahloučenými uprostřed štítu po obou stranách jeho střední linie. Těchto důlků může být několik desítek až i více než sto, ale u některých druhů je jamek méně, v některých případech pouze dvě (např. u rodu *Dicavus*). Mykangia mohou být také situována na spodní okraj štítu blíže krovek (Nakashima 1975). V těchto mykangiích si brouci přenášejí inokulum symbiotických hub, ačkoli vzhledem k umístění a tvaru mykangií v nich bývá více druhů hub. Mykangia jsou vybavena sekrečním aparátem, jsou spojena kanálkem mikrotubuly se žlázami uvnitř hrudi, do mykangia jsou vylučovány látky podporující růst žádoucích druhů symbiontů (Cassier et al. 1995).

Práce, kterou uskutečnil Nakashima (1979) naznačuje, že si samice neplní mykangia sporami hub zevně, ale z vnitřního orgánu propojeného se žlázami. Čerstvě vylíhlé a již hnědě zbarvené samice, pokud jsou v požerku, mají ještě mykangia prázdná, avšak ústní dutinu mají plnou slizu, a v zadní části preorální dutiny mají již sporami naplněnou houbovitou tkáň. Pokud jsou samice odchyceny během rojení, avšak ještě před vstupem do požerku zakládaného samcem, mají již v mykangiích zárodky symbiotických hub. Tento zjištěný fakt ovšem vyžaduje další výzkumnou práci, které by doložila, jakým způsobem se dostanou spory hub z traktu brouka do mykangií.

Jádrohlodi zakládají svoje požerky buď v téměř čerstvém dřevě, anebo v živých stromech. Vzhledem k délce a větvení jejich chodeb si vybírají silnější dimenze, většinou kmen. Jelikož řada druhů má schopnost napadat živé stromy, stávají se v určitých oblastech limitujícím faktorem pro pěstování introdukovaných dřevin, jak ovocných, tak i lignikultury topolů, vrb a dalších dřevin (Payton 1989). V současné době probíhá v Japonsku rozsáhlá kalamita, působená jádrohloďem *Platypus quercivorus*, vyprovokovaná patrně změnou klimatu (Hiiji 1991, M. Tučáni, Banská Štiavnica – ústní sdělení).

Požerek u jádrohloďů zakládá samec, který žije monogamně s jedinou samicí. Požerek je zahloben hluboko do dřeva, pravidelně až do jádrového dřeva kmene. Samice navazuje se svými rozvětvenými chodbami na vstupní část požerku a do koncových větví požerku klade vajíčka. Larvy se pohybují volně v rodičovských chodbách a posléze si hlodají krátké chodby, žebříčkovitě nebo parohovitě situované vzhledem k matečné chodbě. Larvy se živí výhradně podhoubím symbiotických hub, které vyrůstá na stěnách chodeb, a později se zakuklí ve svých chodbách. V napadeném stromě se vyvine zpravidla pouze jedno pokolení; jelikož pro růst jejich symbiotických hub je nutná vysoká vlhkost dřeva, hniјící nebo vysychající dřevo již opakovaně nenapadají.

Ambrosiové houby jádrohloďů, které si brouci pěstují v požercích a přenášejí v mykangiích, náleží převážně do anamorfního rodu *Raffaella* (dříve většinou určovaného jako *Sporothrix*), který patří k teleomorfnímu rodu *Ophiostoma*.

**Tabulka č. 6**

<b>Symbiotické houby brouků čeledi Platypodidae</b>			
<b>Druh jádrohloda</b>	<b>Symbiotická houba</b>	<b>Zjištěno na dřevině</b>	<b>Autor</b>
<i>Platypus cylindrus</i>	<i>Raffaella ambrosiae</i>	<i>Quercus spp.</i>	Baker 1963
<i>Platypus cylindrus</i>	<i>Raffaella sp.</i>	<i>Quercus suber</i>	Cassier et al. 1996
<i>Platypus oxyurus</i>	<i>Graphium sp.</i>	<i>Abies alba</i>	Cassier et al. 1996
<i>Platypus severini</i>	<i>Endomycopsis platypodis</i>	<i>Fagus crenata</i>	Nakashima, Iizuka 1982

<i>Platypus gracilis</i>	<i>Sporothrix sp.</i>	<i>Weinmannia racemosa</i>	Payton 1989
<i>Platypus mutatus</i>	<i>Raffaelea santoroi</i>	<i>Acacia spp., Eucalyptus spp., Populus spp., aj.</i>	Giménez, Etiennot 2003
<i>Platypus quercivorus</i>	<i>Raffaelea quercivora</i>	<i>Quercus spp.</i>	Hiji N. et al. 1991

(Podle Harrington 2005, Cassier et al. 1996, Hiji et al. 1991 sestaveno a doplněno autorem)

### 3. 5. Mykofagie pilořitek z řeledí *Siricidae* a *Xiphydriidae*

Nadřeled' *Siricoidea* (spadající do řadu blanokřídlyř – Hymenoptera) zahrnuje dvě řeledi velmi říbuzných druhů hmyzu (*Siricidae* a *Xiphydriidae*). Jejich společným rysem je vývoj ve dřevě, a to jak jehličnanů, tak i listnářů.

Pilořitky z řeledi *Siricidae* jsou i u nás dobře známy, v řeské republice řije osm druhů na jehličnanech a dva na listnářích. Vědecky je z nich nejlépe poznána pilořitka smrková (*Sirex noctilio*), vzhledem k tomu, ře byla zavleřena do Austrálie a na Nový Zéland, kde způsobila velké ztráty v porostech *Pinus radiata*. Z blízce říbuzné řeledi *Xiphydriidae* (dosud řesky nepojmenované) řijí u nás řři druhy na řůzných listnatých dřevinách (Urban 1997).

Někteři autoři spatřují ve vztahu pilořitek a hub typický symbiotický vztah (Gilbertson 1984), ačkoli existují druhy pilořitek, které nemají symbiotické houby a téř nastávají situace, kdy vyvíjející se larvy nemohou svých obvyklých symbiontů využít, jednoduře z důvodu jejich nepřítomnosti v přesřhlém dřevě. Z tohoto hlediska je symbióza pilořitek a hub na nižší úrovni, nežli například symbióza kůrovců, kteří mají k houbám podstatně mnohostrannějši a diverzifikovanějši vztah. U pilořitky smrkové (*Sirex noctilio*) bylo ovšem prokázáno, ře není schopna bez přítomnosti své symbiotické houby úspěšně založit nové pokolení, a ře larvy vylíhlé v nepřítomnosti symbiotické houby zahynou (Madden, Coutts 1979).

Pilořitky většinou vyhledávají ke svému vývoji stromy, které jsou již stresovány nebo oslabeny jinými faktory. Vhodné pro vývoj nového pokolení jsou stromy poškozené ohněm, dlouhodobým suchem, polomy a pokácené dříví. Z praxe je však dobře známo, ře některým druhům pilořitek postačí k vývoji i stromy zdravé, v dobré kondici, pokud mají rány prosté kůry, tzn. obnažené dřevo. Poranění stromu proto někteři autoři oznařují jako „mechanický stres“ (Madden 1988). Lze ale předpokládat, ře úspěšnost vývoje je ve zdravých stromech nižší, a bývá v podstatě limitována plochou rány a zasychajícího dřeva pod ní.

Larvy pilořitek řijí již od vylíhnutí ve dřevě, což je dáno tím, ře samice pilořitek kladou vajířka přímo do dřeva pomocí dlouhého kladělka. Tento způsob kladení velmi omezuje mortalitu vajířek i mladých larev. Při kladení, resp. zaboření kladělka, samice pilořitky hodnotí („testuje“) vhodnost místa a kvalitu materiálu, takže se v mnoha řípadech stává, ře do závrťů nejsou vykladena vajířka, anebo do rozvětveného závrťu s několika větvemi je vykladeno vajířko pouze jediné. K nakladenému vajířku vypouští samička také dávku vazkého sekretu, který mimo jiné usnadňuje průřhod vajířka kladělkem, ale téř umožňuje přichycení spor anebo jiných propagulí (řástí mycelia – fragmospor, oidii)



symbiotické houby na povrch vajíčka. Vylíhlá larvička se zpočátku živí tímto sekretem, ve kterém se mezitím rozrostlo mycelium symbiotické houby. Později požírá mycelium této houby v závrtu způsobeném kladélkem. Myceliem symbiotické houby se larvy živí po celý první instar a u některých druhů též po celý druhý instar. Teprve poté začnou larvy hlodat chodbu ve dřevě, kde se současně šíří i symbiotická houba (Madden 1988).

Vývoj larev trvá různě dlouhou dobu, podle druhu pilořitky a stavu substrátu 1 – 6 let. Larva prochází nejméně třemi, nejčastěji šesti až dvanácti vrůstovými stupni (instary), v závislosti nejen na druhu pilořitky, ale též na konečné velikosti imága (menší jedinci projdou méně instary). Vývoj je kratší u těch jedinců, kteří se vyvíjejí ve dřevě optimálně vlhkém (60–70%), za přiměřeného přístupu vzduchu, který podporuje růst symbiotické houby a též vyšší teplota (oslunění kmenů) se uplatňuje pozitivně (Madden, Coutts 1979). Během vývoje dosáhne jejich chodba délky 15–40 cm (Urban 1997). Larvy se kuklí nehluboko pod povrchem dřeva v chodbě, která většinou obloukovitě směřuje k povrchu dřeva.

### 3. 5. 1. Symbiotické houby pilořitek

Nejstarší zprávy o související přítomnosti pilořitek a konkrétním druhu houby pocházejí od Cartwrighta (1929). Pozdějším výzkumem bylo zjištěno, že závislost pilořitek na symbiotických houbách je obligátní a postupně byly doloženy i konkrétní druhy hub k důležitějším druhům pilořitek.

Při pohledu do tabulky č. 6 zjišťujeme pozoruhodný konzervatismus pilořitek z příbuzných rodů *Sirex* a *Urocerus*, které žijící ve dřevě jehličnanů. Všechny mají jako symbiotické houby některý druh pevníku, většinou *Amylostereum areolatum*, *Amylostereum chailletii* anebo *Stereum sanguinolentum*. Další pilořitka z čeledi Siricidae, pilořitka *Tremex columba*, má jako symbiotickou houbu outkovku jednobarvou, *Cerrena unicolor*. Jednotícím prvkem je zde, že tyto houby patří do oddělení hub stopkovýtrusých (Basidiomycota). Pilořitky rodu *Xeris* nemají vlastní symbiotickou houbu a musejí tak využívat dřeva již infikovaného jinými druhy pilořitek (Madden, Coutts 1979).

Z výše zmíněného pohledu se zdá podivné, že pilořitka olšová (*Xiphydria camelus*) má jako symbiotickou houbu sazovku (*Daldinia*), která patří mezi houby vřeckovýtrusé (Ascomycota). Navíc, v podmínkách České republiky nebývají plodnice této houby nalézány často, přinejmenším mnohem řidčeji, nežli pilořitka olšová.

Tabulka č. 7

Symbiotické houby pilořitek nadčeledi Siricoidea			
Druh pilořitky	Symbiotická houba	Zjiřtěno na dřevině	Autor
<i>Sirex cyaneus</i>	<i>Stereum sanguinolentum</i>	<i>Larix</i>	Cartwright 1929; Parkin 1942
<i>Sirex cyaneus</i>	<i>Amylostereum chailletii</i>	<i>Abies, Larix, Picea, Pinus</i>	Spradbery, Kirk 1978
<i>Urocerus gigas</i>	<i>Stereum sanguinolentum</i>	<i>Larix</i>	Cartwright 1938; Parkin 1942
<i>Sirex juvencus</i>	<i>Amylostereum chailletii</i>	<i>Abies</i>	Stillwell 1960
<i>Sirex juvencus</i>	<i>Amylostereum areolatum</i>	<i>Abies, Larix, Picea</i>	Spradbery, Kirk 1978
<i>Sirex nitobei</i>	<i>Amylostereum areolatum</i>	<i>Pinus</i>	Kobayashi 1978
<i>Sirex noctilio</i>	<i>Amylostereum areolatum</i>	<i>Pinus aj. jehličnany</i>	Spradbery, Kirk 1978
<i>Tremex columba</i>	<i>Cerrena unicolor</i>	<i>Fagus</i>	Stilwell 1964, 1965
<i>Urocerus albicornis</i>	<i>Amylostereum chailletii</i>	<i>Abies</i>	Stilwell 1966
<i>Urocerus augur</i>	<i>Amylostereum chailletii</i>	<i>Abies, Picea, Pinus</i>	Spradbery, Kirk 1978
<i>Urocerus fantoma</i>	<i>Amylostereum chailletii</i>	<i>Abies, Picea</i>	Spradbery, Kirk 1978
<i>Urocerus gigas</i>	<i>Amylostereum chailletii</i>	<i>Abies, Cedrus, Larix, Picea, Pinus</i>	Spradbery, Kirk
<i>Urocerus gigas flavicornis</i>	<i>Amylostereum chailletii</i>	<i>Abies</i>	Stilwell 1966
<i>Urocerus sah</i>	<i>Amylostereum chailletii</i>	<i>Abies, Cedrus</i>	Spradbery, Kirk 1978
<i>Xeris spectrum</i>	nemá symbiotickou houbu	<i>Abies</i>	Stilwell 1960, 1966
<i>Xeris spectrum</i>	nemá symbiotickou houbu	<i>Abies, Larix, Picea, Pinus</i>	Spradbery, Kirk 1978
<i>Xiphydria prolongata</i>	<i>Daldinia concentrica</i>	<i>Populus sp.</i>	Cartwright 1938
<i>Xiphydria camelus</i>	<i>Daldinia sp.</i>	<i>Alnus</i>	Schimitschek 1974

(podle Gilbertsona 1984, doplněno)

Přesto že patří do různých rodů, všechny zmíněné houby působí bílou hnilobu a mají schopnost rozkládat lignin, ale také hemicelulózy a celulózu. Klíčení spor a rozvoj mycelia je u těchto hub dosti rychlý, pokud ovšem je vlhkost, obsah plynů a teplota dřeva v optimálním rozmezí.

### 3. 5. 2. Mykangia u pilořitek - orgány sloužící k přenosu a uchování propagulí symbiotických hub

Úspěšný a rychlý vývoj larev pilořitek je silně závislý na přítomnosti symbiotických hub v místě vývoje jejich larev. Bylo zjištěno, že např. larva pilořitky *Sirex cyaneus* je schopna po určitou dobu vývoje na čistém myceliu houby *Stereum sanguinolentum* (pevník krvavějící) (Cartwright 1929, ex Gilbertson 1984). Mnozí autoři se domnívají, že larvy pilořitek ani vlastní celulózu nevyužívají jako potravu, a že stráví pouze mycelium hub, obsažené v rozkousaném dřevě, které larva pozřela. U pilořitky *Sirex juvencus* byl pozorován navíc tzv. „zpětný žír“, kdy se larva obrací zpátky do své chodby, a znovu požírá drtinky, které mezitím opět prorostly myceliem jejich symbiotické houby (Urban 1997).

Z výše zmíněných skutečností je zjevné, že pilořitky dokáží efektivně infikovat substrát budoucího vývoje larev svými druhy symbiotických hub, a že larvy samic nabývají propagulí této houby na místě svého vývoje a dokáží je v dostatečném množství donést na místa kladení vajíček. Tento úkol by nebyl zvládnutelný bez specializovaných orgánů – mykangií.

Mykangia poprvé zjistil Buchner (1929) u samic pilořitky velké, (*Urocerus gigas*). Mají tvar dvou mezisegmentálních kapes na zadečku u báze kladélka. Během kladení vajíčka byla u těchto kapes pozorována kontrakce, během níž dochází k nalepení spor symbiotické houby na povrch zvláštním sekretem pokrytého vajíčka. Stejně mezisegmentální kapsy (mykangia) byly poté zjištěny i u ostatních pilořitek z rodů *Sirex*, *Urocerus* a *Tremex*.

Klíčovou otázkou ovšem bylo, jak dochází k infekci nově vylíhlého samičího imága. Při studiu morfologie larev pilořitek zjistil Parkin (1941, 1942) přítomnost tzv. hypopleurálních orgánů na prvním zadečkovém článku samičích larev. Tyto hypopleurální orgány jsou vlastně hluboké záhyby na konci prvního článku zadečku, a jsou tvořeny sadou jamek, které obsahují olejovitý sekret se sporama a částmi mycelia hub. Před posledním svlékáním dojde v těchto jamkách k silné produkci sekretu, který po svlečení pokožky larvy ztuhne do podoby voskových šupinek, ve kterých jsou konzervovány životaschopné spory hub. Během líhnutí kukly dochází k retraktivním pohybům kladélka, pomocí kterých jsou tyto voskové šupinky „nasáty“ do mykangií u jeho báze (Gilbertson 1984). Odebrání poslední exuvie larvy z kukelné kolébky znemožňuje předání spor na nové samičí imágo, čehož bylo využito pro srovnání symbiotických a asymbiotických chovů pilořitek (Madden 1988).

Larvy pilořitek rodu *Xeris* mají mykangia nedokonale vyvinuta, takže u nich nemůže dojít k infekci samičího imága výše popsaným způsobem.

### 3. 5. 3. Vliv pilořitek na fyziologii hostitelských dřevin

Soužití pilořitek s houbami, inokulace stromů během kladení vajíček a žír larev spojený s rozvojem mycelia symbiotické houby podstatným způsobem ovlivňuje fyziologický stav napadeného stromu. Objasnění právě tohoto aspektu bylo jedním z konečných cílů výzkumu biologie, bionomie a ekologie pilořitek a pro je nutné jej zmínit i zde.

Samotný mechanický účinek žíru larev pilořitek v hostitelských stromech by ve většině případů nepředstavoval dostatečnou příčinu k jejich chřadnutí a odumření. Přesto byly počáteční příznaky chřadnutí stromů, v tomto případě borovice paprsčité (*Pinus radiata*), pozorovány již za deset dní až tři týdny potom, co na tyto stromy započaly pilořitky klást (jednalo se o pilořitku smrkovou, *Sirex noctilio*), tedy zcela jistě dříve, nežli se larvy vylíhly a započaly žít, a zcela jistě také předtím, nežli došlo k podstatnějšímu zachvácení dřevních pletiv rozvojem inokulovaných hub (Madden, Coutts 1979).

Při výzkumu tohoto problému bylo zjištěno, že vážný patogenní účinek vzhledem k jehličnatým stromům má sekret, kterým pilořitky obalují vajíčko, aby snáze prošlo kladélkem (a ve kterém se uchycují spory symbiotických hub). Časný nástup příznaků napadení – vadnutí a diskolorace loňského ročníku jehličí – je právě způsobena fyto toxickým účinkem tohoto sekretu, který způsobuje především lokální vadnutí, zablokování a postupnou nekrotizaci vodivých pletiv, což významně usnadní počáteční vývoj larev. Fytotoxicita sekretu pilořitky smrkové byla ověřena testy vedenými v laboratorních i venkovních podmínkách (Coutts 1969, ex Dowding 1984). Jelikož váček s vazkým sekretem je v zadečku pilořitek jedním z největších a nejnápadnějších orgánů, a sekret je tak možné snadno odebrat, byla testována fyto toxicita tohoto sekretu i u dalších druhů pilořitek, přičemž bylo zjištěno, že sekret pilořitek rodu *Urocerus* nemá fyto toxické účinky. Toto zjištění je v plném souladu s faktem, že larvy této pilořitky se vyvíjejí i dokončí vývoj velmi často v živých stromech, které mají povrchová poranění, a tyto stromy přesto přežívají ještě několik desetiletí, i když již vyhnily v důsledku rozvoje mycelia pevníku krvavějícího.

Z hlediska fyziologie stromu můžeme tedy rozdělit pilořitky do dvou skupin – jednak druhy schopné vývoje v živých stromech, a na druhé straně druhy vyžadující stromy oslabené a usychající, které krátce po jejich napadení, tedy během jediné vegetační sezóny, zahynou.

Připomínám, že právě u dubů, napadených pilořitkou dubovou *Xiphydria longicollis*, je jejich kolaps během jediné sezóny pravidelnou záležitostí a může být způsoben mimo jiné

také výše uvedenou fyto toxicitou inokulovaného sekretu, ačkoli tato skutečnost ještě nebyla ani testována a tím méně prokázána.

### 3. 6. Čeď Xiphydriidae a pilořitka dubov (*Xiphydria longicollis* Geoffroy 1785) (Hymenoptera)

#### 3. 6. 1. Charakteristika ředi Xiphydriidae a u ní se vyskytující druhy této ředi

Čeď Xiphydriidae zahrnuje v Evropě dva rody (*Konowia* a *Xiphydria*) a řest druh (*Xiphydria camelus* L., *X. longicollis* GEOFFROY, *X. prolongata* (GEOFFROY in FOURCROY), *X. picta* KONOW, *Konowia betulae* ENSLIN a *K. megalolitana* BRAUNS) (Kraus 1997).

Jsou to menři pilořitky, dlouh 15–30 mm, převzn čern zbarven, vlcovtho těla, liři se od pilořitek ředi Siricidae tím, že hrudí vybíhá vpředu v jaksi „krek“, kter je poměrně dlouh a na první pohled zřeteln.

Nejbznji se vyskytující druhy, které dokonce vystupuj občas řkodliv, jsou pilořitka olřov (*X. camelus*) a pilořitka dubov (*X. longicollis*). Tyto dva druhy jsou polyfgn, vyskytují se na řadě listn, avřak případy ohniskového hynutí dřevin, evidentn zpsoben jejich napadenm, jsou známy pouze z olřovch a dubových porostů.

Ostatn druhy této ředi lze označit jako u ní vzcn nebo velmi vzcn.

#### 3. 6. 2. Vzhled dospělců a imaturních stadií pilořitky dubov(*Xiphydria longicollis*)

Imága pilořitky dubov (*X. longicollis*) mají prothl tělo vlcovtho přřezu. Jsou okřdlena dvěma páry blantch křídel, kter jsou bohat žilkovan. Při hran předních křídel je poměrně mal tmav zbarven políčko (tzv. plamka). Křídla přisedají na hrudí, kter vybíhá vpředu v dosti dlouh krek, kter se směrem k hlavě imág zuřuje. Nohy jsou poměrně dlouh s robustními stehny a holenmi. Hlava je polokulovit, při dorzálním pohledu vpředu zaoblen s výraznou zadní hranou, s třemi jednoduchými očky na temeni a dvěma velkýma slořenma oma po stranách hlavy. Kusadla jsou poměrně siln, v klidu se jejich konce nzkovt překrývají. Tykadla jsou u obou pohlaví nitkovt, středn dlouh. Jsou na hlavě vkloubena dosti nízko, nad řelnm řttkem.

Pohlavn dimorfismus imág je dosti vrazn, spočívá ve velikosti, zbarven a tvaru zadečku. Samci jsou vrazn menři (10–25 mm) a zadeček mají zakončen klřtřkami, kter mohou být v klidu skryty uvntř posledních řlnk (Obr. 4). Samice jsou vtř (15–42 mm včetně kladlka), a zadeček je zakončen protáhlou pochvou, ve kter je ulořen kladélko (Obr. 5 a 12a). Kladlko samic se skládá ze tří podelnch dl, dorzln dl je nejsilnjř a kortkovt, k němu zespona přiléhají dva ploře liřtovit dly. Díly jsou vzjemn vi sobě voln podeln pohybliv a na koncích jsou vybaveny vystupujícími protáhle vrubovtmi „zoubky“, kter jsou vřř a vraznjř blíže ke konci kladlka (Obr. 8). Kladlko je siln

chitinizované, velmi pevné, avšak překvapivě elastické (flexibilní). V klidu má samice kladélko uloženo v pochvě, která nápadně vystupuje na konci zadečku.

Obě pohlaví jsou vybarvena podobně, převážně černě s četnými žlutavými skvrnami (Obr. 4 a 5). Hlava je zdobena čtyřmi dlouhými a výraznými žlutými pásky, po jednom na lících na zadní hraně hlavy a dva probíhají podélně na temeni. Na hrudi před kořeny předních křídel je rovněž žlutavá skvrnka, světlejší žluté skvrny jsou i na bocích zadečkových článků. Poslední žlutavá skvrna na zadečku samic před pochvou kladélka (Obr.12a) bývá poměrně velká a nápadná.

Žlutavé zbarvení těchto skvrn (zejména skvrn na hlavě) a jejich větší velikost odlišuje pilořitku dubovou od pilořítky olšové, která má skvrny bledě bělavé a podstatně menší.

Dospělé larvy pilořítky dubové jsou co do velikosti rovněž velmi proměnlivé, 11–35 mm dlouhé, válcovité, bělavě zbarvené. Mají dobře vyvinutou hlavu bez očí, se silnými kusadly, světle hnědě zbarvenou, tykadla jsou velmi krátká. Hruď larvy je širší než ostatní tělo, nohy jsou redukovány na tři páry bradavkovitých výstupků. Po vyjmutí ze dřeva je tělo larev při pohledu z boku lehce zakřiveno do tvaru písmene „S“, avšak před kuklením se tělo zkracuje a ztlušťuje a jeho zakřivení mizí (Obr. 6 a 7). Na konci těla je krátký, hnědě zbarvený a silně chitinizovaný trn, který je na ventrální straně schůdkovitě stupňovaný.

Kukly jsou volné a v závislosti na stupni jejich vývoje nejprve bělavé, později světle žlutohnědé s tmavší hlavou, před vylíhnutím nabývají zbarvení podobného imágum (Urban 1977).

Vajíčka jsou bělavá, neprůhledná, velmi charakteristického kyjovitého tvaru – jejich přední část (vlastní vajíčko) je protáhle oblá, jeho proximální konec se zužuje a vybíhá v jakési vlákno, a konec tohoto vlákna je opět krátce oble rozšířen (Obr. 9b).

### **3. 6. 3. Způsob života pilořítky dubové (*Xiphydria longicollis*)**

Živnou dřevinou pilořítky dubové jsou u nás různé druhy dubů, převážně ovšem dub letní a dub zimní. Podle literárních údajů (Schimitschek 1974, Kraus 1997, Pavlík 2000) se tato pilořitka může vyvíjet též v olších, jilmech, bříze, javoru babyce, javoru klenu a hrušni.

Pilořitka dubová u nás přezimuje jako larva, ve dřevě napadených dubů, buď již dospělá v kukelné kolébce, anebo nedovyvinutá v chodbě. Imága se líhnou od konce června do září, v závislosti na stupni svého vývoje po přezimování. Během líhnutí je možno zjistit protandrii (samci se líhnou dříve), která však není příliš výrazná.

Po spáření, které se pravděpodobně odehrává v korunách dubů, samice kladou vajíčka pod kůru dubů, zpravidla do rozhraní kůry a dřeva, anebo pouze do povrchu dřeva. Tato hloubka

kladení je dána jejich poměrně krátkým kladélkem a tloušťkou kůry v místě kladení. Na živé duby v dobré kondici kladou samice jednak do usychajících větví v koruně, anebo do ran s obnaženým dřevem a jejich těsného okolí. U dubů chřadnoucích kladou vajíčka i pod kůru kmenových partií stromu, včetně spodní části kmene. Vajíčka mohou být kladena jednotlivě, avšak i po více (dvou až třech) kusech do téhož místa. Počet vajíček, který jedna samice naklade, se různí podle její velikosti a pohybuje se okolo jednoho sta kusů.

Průsvit vnitřního kanálku kladélka je velmi malý a tak se vajíčko při průchodu kladélkem musí stlačit a velmi protáhnout. Průchod vajíčka kladélkem usnadňuje sekret, který samice vytlačuje do kladélka ze zvláštního vakovitého zásobníku (obr. 9a). Do tohoto sekretu se na distálním konci vajíčka zachytí i propagule symbiotické houby, které samice skladuje ve zvláštních orgánech – mykangiích, která jsou ukryta pod posledním ventrálním článkem zadečku těsně před bází kladélka (Obr. 12).

Vajíčka se vylíhnou po třech až čtyřech týdnech, a vylíhlá larvička se v prvním instaru živí převážně myceliem symbiotické houby, které mezitím narostlo v kanálku po zápichu kladélka a případně pod kůrou (Francke-Grosmanová 1939). Později larva vyhledává ve dřevě chodbu, která je kruhového průřezu a ucpána napěchovanou drtí. Na dubu tyto chodby probíhají převážně v běli, příčným i podélným směrem, a do jádra zasahují pouze ojediněle, v souvislosti s hlodáním kukelné chodby. Na javorech, bříze a olši zasahují chodby i jádrové partie dřeva. Okolo chodeb se viditelně šíří mycelium houby, které způsobuje změnu barvy (většinou ztmavnutí) zasaženého dřeva. Počet vzrůstových stupňů (instarů) u pilořitky dubové dosud nikdo nezjistil, avšak lze předpokládat, že instarů bude nejpravděpodobněji 6 nebo 7. Samice budou mít pravděpodobně více vzrůstových stupňů, než samci. Před kuklením si larva vybuduje kukelnou kolébku, většinou nehluboko pod povrchem dřeva, podélně situovanou (Obr. 7). Larvy, pocházející z vajíček nakladených v červnu a červenci, plně dorostou již během téže vegetační sezóny, později nakladené larvy pokračují na jaře ještě v žíru a kuklí se během počátku léta.

Vývoj pilořitky dubové je převážně jednoletý, u menší části jedinců (těch, kteří přezimovali jako nedospělé larvy) může trvat i o něco více než jeden rok.

### **3. 6. 4. Soužití pilořitek rodu *Xiphydria* s houbami**

Mykangia u pilořitek čeledi Siricidae poprvé zjistil Buchner (1928), a jelikož je symbióza pilořitek žijících na listnácích zjevnější a těsnější, nežli u siricidů na jehličnanech, bylo možné od té doby předpokládat nález mykangií i u pilořitek čeledi Xiphydriidae.



První takový údaj pochází od Cartwrighta (1938), který referuje o podobných mykangiích jako u siricidních pilořítek na pilořitce *Xiphydria prolongata*. Udává zde též, že kultura houby, kterou izoloval z jejích mykangií, se velmi podobá kultuře sazovky kruhaté - *Daldinia concentrica*, avšak v některých mikroskopických znacích se odlišuje. Jeho údaje cituje též Francke-Grosmannová (1967) a její údaj je dále citován dalšími autory (Schimitschek 1974, Eichhorn in Schwenke 1982, Kraus 1997, Pavlík 2000). Schimitschek v citovaném díle uvádí, že dle písemného sdělení Francke-Grosmannové je mykangiální houbou pilořítky olšové (*X. camelus*) také nějaká varieta houby *Daldinia concentrica*, která bude pravděpodobně též mykangiální houbou pilořítky dubové (*X. longicollis*). Francke-Grosmannová tak usuzuje podle svých studií olší napadených pilořítkou olšovou, a podobných příznaků hniloby ve dřevě dubů.

Poslední údaj o pilořitce rodu *Xiphydria*, jejích mykangiích a mykangiální houbě pochází z Japonska od H. Kajimury (2000), který vychoval ze vzorků odebraných z javoru *Acer sieboldianum* pilořítku *Xiphydria ogasawari*. Ve své práci tvrdí, že objevil zcela nový typ mykangií u pilořítek (ačkoli mykangia byla již popsána Cartwrightem, kterého cituje, a ani Francke-Grosmannová, která pracovala s *X. camelus*, je zřejmě nepovažuje za odlišná od mykangií siricidů). Zmiňuje se i o kultivaci mykangiálních hub, přičemž všechny izoláty byly identické. Houbu sice přímo neurčil, ale uvádí, že to může být *Daldinia concentrica*, jak referuje Cartwright.

Mykangia ani mykangiální houby u pilořítky dubové (*Xiphydria longicollis*) tudíž dosud nikdo pravděpodobně ještě nestudoval.

Rovněž není objasněno, jakým způsobem dochází k naočkování mykangií samičích imág pilořítek rodu *Xiphydria* symbiotickou houbou, jelikož na jejich larvách nebyly dosud zjištěny žádné speciální orgány ke skladování nebo zachycení spor či jiných propagulí hub.

### **3. 7. Mykobionti a mykofagie (fungivorie)**

Termín mykobiont označuje ty druhy živočichů, jejichž vývoj nebo i celý nebo téměř celý život se odehrává uvnitř plodnic hub. Neznamená to ovšem nutně, že mykobiont se vždy musí živit houbou, kterou obývá, (i když většinou tomu tak je), může se živit například dravě, anebo se živí pletivem houby alespoň po část svého života nebo preimaginálního vývoje. V každém případě ovšem tento způsob života představuje extrémní pól mykofagie a specializace na houby nejen jako na potravní substrát, ale plodnice hub též pro tyto živočichy představují životní prostředí, tedy nejen potravní ale též prostorovou niku.

Skutečnost, že larvy a dospělci mykobiontů se živí plodnicemi vyšších hub, bývá označována často jako fungivorie, tento termín mimo jiné poskytuje i možnost odlišit fungivorii od lichenivorie, neboť tyto dva způsoby výživy se vyskytují často ve stejných taxonomických skupinách hmyzu.

Výzkum vztahů mezi mykobionty a houbami se odlišuje kromě jiného také tím, že zde předchází určení druhu houby určení druhu hmyzu, a určení houbového hostitele bývá snadné, čemuž je ve výše zmíněných skupinách mykofágů právě naopak.

Mykobionti také nemusejí přenášet zárodky hub na místo kladení, a z tohoto důvodu ani nemívají mykangia.

Živočichů, které můžeme řadit mezi mykobionty je početná řada, mezi členovci je to především bohaté druhové spektrum roztočů a chvostoskoků, z hmyzu jsou nejznámějšími mykobionty příslušníci řádu dvoukřídlých a některé čeledi a druhy brouků. V ostatních řádech hmyzu nalézáme mykobionty poměrně vzácně, malý počet druhů existuje ještě mezi motýly.

Velká většina mykobiontů, ne-li všichni, se dostala k houbám jako k potravnímu substrátu během evoluce druhotně, jejich předkové se živili buď rostlinným materiálem, listy, korními pletivy, dřevem nebo obecně hnilivými organickými látkami, v některých případech dokonce dravě.

Jako příklady mykobiontů mohou blíže posloužit někteří zástupci z řádu dvoukřídlých (Diptera), z řádu brouků (Coleoptera) a z řádu motýlů (Lepidoptera).

#### **3. 7. 1. Mouchy jako mykobionti**

V řádu dvoukřídlých (Diptera) je mnoho čeledí, které využívají jako potravního substrátu pro svoje imaturní stadia houby. Na prvním místě je nutno jmenovat čeleď Mycetophilidae (bedlobytkovití), ovšem mykobionty nalezneme též v nejpříbuznějších čeledích

Bolitophilidae, Ditomyidae a Keroplatidae. I v některých dalších čeledích nalezneme, sice již méně početně druhy, jejichž vývoj probíhá v plodnicích hub, to platí například o čeledích Sciaridae (smutnicovití), Cecidomyidae (bejlomorkovití), Lestremiidae, Heteropezidae, Helomyzidae (lanýžovkovití), ale též v čeledích Muscidae (mouchovití) a Drosophilidae (octomilkovití) (Doskočil et al., 1977, Bruns 1984).

Výzkum dvoukřídlých mykobiontů je dosud většinou zaměřen poněkud jednoduše, na zjištění druhu much, vázaných na určitý druh hostitele. Vzhledem k početnosti řádu dvoukřídlých a nenápadnému způsobu života jeho příslušníků lze takto i dnes najít nové druhy much např. v tropech, anebo doplnit stávající znalosti (Ševčík, Papp 2004). Pokročilejší výzkumy se zabývají na jedné straně tímto zmíněným problémem, ale též odvozují zákonitosti, kterými se řídí využití sporokarpu hub larvami dvoukřídlých (Bruns 1984).

Mouchy, které jsou specializované na houby hřibovité nebo lupenaté, se musejí umět vyrovnat s mnoha charakteristikami svých hostitelů. Zejména musejí respektovat velikost plodnic a jejich kratší nebo delší dobu trvání a dále výraznou sezónnost, časovou nerovnoměrnost výskytu hub.

Prvnímu faktoru čelí mouchy především schopností rychlého vývoje, kdežto období bez výskytu hub překonávají pomocí vrozené různě dlouhé diapauzy, zcela podobně jako jiné druhy hmyzu přečkávají suchá, chladná nebo jinak nepříznivá období. Tento typ diapauzy mají zejména druhy specializované na určitého hostitele, kdežto u méně specializovaných much je sezónní nedostatek substrátu částečně řešen právě jejich polyfagií.

Samotné zužitkování plodnic hub mušními mykobionty má též svá pozoruhodná pravidla. Čerstvé basidiokarpy jsou méně výživné, nutričně nekompletní, kdežto hmyzem již napadené jsou obohaceny o kvasinky a bakterie a z hlediska výživy jsou již kompletní. Třeň, pletivo klobouku a výtrusorodá vrstva mají různou výživnou hodnotu, a z toho důvodu bývá nejdříve využito základ výtrusorodé vrstvy a třeň. Žír mykobiontů se proto stupňuje s věkem a s pokračujícím rozkladem plodnice.

Některé basidiomycety obsahují antibiotika, která brání rozvoji kvasinek a bakterií, a tak tyto druhy také bývají mykobionty méně napadány (např. *Strobilomyces floccopus*, *Paxillus spp.*, *Suillus spp.*). Jiné obsahují látky odpuzující hmyz, chutnající i člověku hořce (*Chalciporus piperatus*, *Tylopilus felleus*) a nejsou proto mouchami kolonizovány. Obecně jedovaté houby, například muchomůrky, mají též své muší speciality, kteří je dokáží využívat jako potravu a vyvíjet se v jejich plodnicích, ačkoli pro těsně příbuzné druhy much jsou tyto houby jedovaté (Shaw 1992).

Hřibovité houby mají více druhů much specializovaných na určitého hostitele, nežli houby lupenaté.

Někteří mykobionti jsou specializováni spíše na čerstvé houby, ale většina jich preferuje již houby, jejichž pletiva se rozkládají.

Z toho hlediska je možno vylišit čtyři skupiny: primární fungivory, mezi kterými je nejvíce specialistů, upřednostňujících určitý druh houby (většinou mouchy z čeledí Phoridae, Mycetophilidae a Anthomyidae), sekundární fungivory, kteří preferují rozkládající se houby a jsou velmi polyfágní (např. některé druhy much z čeledí Drosophilidae a Tipulidae), dále detritivory, kteří dávají přednost vývoji v odumřelých a hnijících plodnicích, a predátory, kteří predují výše uvedené skupiny fungivorů, tudíž patří sice mezi mykobionty, ale nikoli vždy mezi fungivory.

Toto dělení je ovšem jen rámcové, neboť existuje mnoho druhů much, které by bylo možné zařadit přinejmenším do dvou z výše uvedených skupin. Například primární mycetofágové dokončují vývoj často v rozkládajících se plodnicích, detritivoři mohou pro svůj vývoj preferovat staré plodnice hub, ale jsou schopni vývoje i v jiných substrátech, anebo některé druhy čeledi Muscidae se sice nejprve živí rozkládajícím se sporokarpem, později jsou ovšem predátory (Bruns 1984).

Pozoruhodný mutualistický vztah k houbám byl objeven u much rodu *Botanophila* (synonymum *Phorbia*) (Diptera: Anthomyidae). Vývoj larev těchto much probíhá ve stromatech hub z rodu *Epichloë*, které rostou na živých travách jako parazité (jsou to vřeckaté houby, které patří do čeledi Clavicipitaceae). U nás se běžně vyskytuje např. plíseň dusivá (*Epichloë typhina*). Nejenže larvy využívají askospory těchto hub jako potravní substrát a žijí v jejich stromatech, ale navíc se také imága zúčastňují spermatizace – oplodnění stromat v rámci své aktivity, zahrnující jednak přijímání potravy na povrchu nezralých stromat a směřující nakonec ke kladení vajíček. Protože na povrchu nezralých stromat se tvoří nepohlavní spory – tzv. spermacie, přenesou je dospělé mouchy z jednoho individua houby na druhé, a umožní tak spermatizaci, na kterou navazuje pohlavní proces houby, tvorba plodnic, vřecek a askospor. Obligátní vývojová vazba much rodu *Phorbia* na houby rodu *Epichloë* je známa už více než sto let, byla však považována spíše za parazitismus. Výzkum, vedený v posledních několika desetiletích nejen že odhalil mutualistickou povahu tohoto vztahu, ale umožnil nalézt jak nové druhy hub rodu *Epichloë*, tak i much rodu *Botanophila* (Bultman, Welch 2000).

### 3. 7. 2. Brouci jako mykobionti

Postihnout celkově fungivorii brouků je dosti obtížné až nemožné vzhledem k velké početnosti tohoto největšího hmyzího řádu. Nicméně jako příklad fungivorních mykobiontů mohou posloužit příslušníci čeledi Ciidae, a někteří zástupci čeledi Tenebrionidae. Mykofágní výživa imág je často zmiňována u brouků z nadčeledi Staphylinoidea, ačkoli jen některé příslušníky této nejbohatší broučí nadčeledi můžeme považovat též za mykobionty.

Plodnice chorošovitých hub obývají brouci z čeledí Ciidae, Tenebrionidae a Anobiidae. Víceletý růst a trvanlivost plodnic poskytuje těmto broukům i dostatečně dlouhou dobu pro jejich vývoj.

Z těchto mykobiontů je nejlépe prozkoumán způsob života potemníkovitých brouků, u kterých je výhodou jejich relativní velikost a též dlouhověkost, což obojí umožňuje dlouhodobější sledování označených jedinců. V Evropě jsou výzkumy zaměřeny na druh *Bolitophagus reticulatus* a v severní Americe na *Bolitotherus cornutus*. Jsou to brouci 7–12 mm velcí, se skulpturovaným povrchem štítu a krovek, takže je zde pravděpodobné, že tyto dolíky a vrásky na tělním povrchu slouží i přenosu symbiotických organismů. Prozatím však těmto vztahům není v současné době věnována taková pozornost, jako kvantitativním ekologickým výzkumům.

Oba jmenovaní brouci se vyvíjejí v dlouhodobě vytrvávajících plodnicích chorošovitých hub, *Bolitophagus* výhradně v troudnatci kopytovitém (*Fomes fomentarius*), a *Bolitotherus* ještě navíc v lesklokorce ploché (*Ganoderma applanatum*.) (Bondrup-Nielsen 2005, Knutsen et al 2000). Samice kladou jednotlivá vajíčka na horní plochu plodnic a pokrývají je exkrementy. Upřednostňují větší a starší plodnice. Larvy, které se vylíhnou, se zavrtávají do plodnic a živí se jejich pletivem. Vývoj larev *Bolitophagus reticulatus* trvá 6 až 10 měsíců, u druhu *Bolitotherus cornutus* je relativně krátký, okolo tří až čtyř měsíců. Kuklí se a popřípadě přezimují v plodnicích. Dospělí brouci, jak je u potemníkovitých běžné, jsou dlouhověcí a žijí až pět let.

Výzkumem, zaměřeným na chování a pohyb brouků (jejich disperzní ekologii), se zjistilo, že větší diversita populace je v krajině, kde je les fragmentován do větších či menších enkláv, a že plodnice jsou zde častěji obsazeny. Samice kladou vajíčka raději do živých plodnic, nežli odumřelých. Větší přežití larev je v plodnicích, ve kterých se vyvíjí více jedinců současně. Brouci dokáží létat, avšak let není pro jejich rozptýlení a vyhledávání nových plodnic nezbytný. Brouci kolonizují přednostně plodnice na bližších stromech, buď

přelétnutím na krátkou vzdálenost nebo častěji přelezením. Samci *Bolitotherus cornutus* dávají přednost větším samicím a zápasí o ně, snaží se různě shodit soka se zad samice (Bondrup-Nielsen 2005).

Běžnými obyvateli plodnic chorošovitých hub jsou brouci čeledi Ciidae. Tato čeleď zahrnuje již více než 550 známých druhů, které se všechny živí myceliem nebo plodnicemi hub (Lawrence 1974).

Většinou jsou to velmi drobní brouci, největší druhy dosahují 3 mm délky. Tvar těla je většinou protáhle oválný, avšak jsou známy druhy se zploštělým tělem, nebo cylindrickým či kulovitým tvarem těla, a na hlavě a hrudi mnohých druhů bývají výrůstky různého tvaru. Krovky bývají dolíčkované a tělo výrazně krátce chlupaté, což naznačuje určitou funkci těchto struktur v soužití s houbami. Larvy jsou světlé a válcovitého tvaru těla, s dvěma výraznými háčky na devátém abdominálním článku.

Tito brouci žijí často dosti pospolitě, a lze je nalézt ve značných počtech na jaře na povrchu a v okolí vhodných plodnic chorošovitých hub anebo v během léta uvnitř nich. Tento způsob života ovšem zvyhodňuje též na ně specializované parazitoidy a predátory, kterých je známa celá řada.

Po spáření, které se odehrává většinou na povrchu plodnic hlodá samice chodbu uvnitř plodnice, do důlků ve stěnách chodby klade vajíčka, která utěsňuje zátkou z rozžvýkaného materiálu plodnice. Larva po vylíhnutí hlodá svou chodbu a mívá pět vzrůstových stupňů. Vývoj jedné generace trvá přibližně 8 týdnů (Lawrence 1974).

Jejich drobné tělesné rozměry a kratší doba života znesnadňují provedení podobných výzkumů, jako u výše uvedených brouků čeledi Tenebrionidae, neboť není snadné si jednotlivá individua dospělců označit, anebo je během jejich života zpětně několikrát odchytil. Výzkum zákonitostí mykofagie v této čeledi je proto více zaměřen na zjištění druhového spektra, které se v daném prostředí vyskytuje, a na druhy hub, které mohou využít ke svému vývoji, to znamená preferenci vývojového substrátu pro jednotlivé druhy čeledi Ciidae.

Většina druhů je schopna vývoje v dosti širokém spektru chorošovitých hub, např. *Ceracis thoracicornis* byl nalezen v třiceti šesti druzích chorošů, *Cis americanus*, *Cis creberrimus* a *Ceracis singularis* ve více jak dvaceti různých choroších (Gilbertson 1984). Na druhé straně každý druh preferuje určitého hostitele, takže je možné například v plodnicích troudatce pásovaného sice nalézt sedm různých druhů Ciidů, avšak více jak 90% jedinců náleží pouze jedinému druhu (Thunes et al 2000). Jiné výzkumy naznačují spíše preferenci pro určitý typ

lesního prostředí (např. paseku anebo zapojený porost), nežli pro konkrétní druhy hub anebo množství jejich plodnic (Komonen, Kouki 2005).

V nejpočetnější broučí nadčeledi Staphylinoidea bývá často zmiňováno mykofilní chování mnoha zástupců a častá mykofagie dospělců. Biologie většiny druhů brouků této nadčeledi není dostatečně prozkoumána, u mnohých nejsou známy larvy ani způsob jejich výživy. U druhů známých je ovšem běžné, že jejich larvy bývají predátory, zatímco dospělci jsou nacházeni na plodnicích různých hub. Většinu druhů tudíž nemůžeme počítat v přísném slova smyslu mezi mykobionty, ačkoli způsob jejich vývoje a života se v mnohém podobá životu těch mušičích mykobiontů, kteří jsou během larválního života převážně nebo výhradně predátory.

Tak můžeme v rámci této nadčeledi usoudit na vznik mykofagie a přechod ke způsobu života v plodnicích hub, postupnou evolucí z předků, kteří se živili dravě, byli tedy predátory. Zatímco velká většina druhů této nadčeledi se živí dosud dravě, dospělci mnohých druhů jsou mykofilní, s oblibou navštěvují plodnice hub, kde se živí jak zde přítomnými členovci, tak i sporiemi nebo jinými částmi plodnic.

Tento způsob výživy mohl být evolučním předstupněm pro přechod k vyhraněné fungivorii a způsobu života mykobiontů, což znamená, že larvy i dospělci se začali žít pouze sporiemi nebo pletivými plodnicemi hub. Za takové můžeme považovat v rámci nadčeledi Staphylinoidea příslušníky subtribu Gyrophaenina, který obsahuje třináct výhradně mykobiontních a fungivorních rodů. Mykobionty jsou bez výjimky také příslušníci rodu *Oxyporus*, podčeledi Oxyporinae.

Příslušníci mykobiontních rodů jsou velmi malí, většinou měří od 1 do 2 mm (s výjimkami na obě strany). Pokud jde o dospělé, a v mnohých případech i o larvy, živí se především sporiemi obývané plodnice. Proto jsou v některých pracích označováni jako „mikrofágové“. Ústní ústrojí larev i dospělců je přizpůsobeno sbírání spor hub a seškrabování bazidií a konců hyf ve výtrusorodé vrstvě plodnic – hymeniu. Jejich maxily jsou vybaveny hřebínky a kartáčky, a mají v ústním ústrojí někdy i dutiny, ve kterých lze spory „skladovat“ a které do jisté míry připomínají ústní mykangia, známá například u některých kůrovců (Ashe 1984).

Nebývají úzce specializovaní na žádnou konkrétní houbu, vyvíjejí se většinou polyfágně v několika příbuzných druzích hub, většinou v houbách lupenatých (řád Agaricales). Jiné druhy jsou polyfágní na chorošovitých houbách (řád Aphyllophorales). Hřibovité houby s rourkovitým hymeniem (řád Boletales) kolonizují zřídka. Nevyskytují se v houbách vřecovýtrosých a břichatkovitých.

Nejčastěji jejich vývoj probíhá v houbách lupenatých, a to i v druhích pro člověka jedovatých, ovšem druhové spektrum hostitelských hub je velmi široké, a tak se stává, že některé druhy čeledi Gyrophaenidae jsou známi jako škůdci v kulturách pěstovaných hub (Frank, Stansly 2004).

Vývojové prostředí, které poskytují broukům lupenaté houby, nutí na ně vázané druhy brouků jednak efektivně a rychle vyhledávat plodnice, ale také musejí mít poměrně rychlý vývoj - jejich vajíčka mají krátkou inkubační dobu a život larev je relativně krátký. Druhy, které se vyvíjejí v houbách chorošovitých, jsou tohoto časového tlaku víceméně ušetřeny (Ashe 1984).

Poněkud odlišným způsobem zpracovávají potravu příslušníci čeledi Oxyporinae. Jejich larvy i dospělci se živí pletivem plodnic hub, ve kterých si budují chodby. Ukousnuté částičky plodnic směšují se slinami a rozžvýkávají, a část takto připravené potravy ukládají u ústí chodbiček. To poněkud připomíná jakési „mimotělní trávení“, které mimochodem bývá dosti časté u druhů dravých (Newton 1984).

### 3. 7. 3. Motýli jako mykobionti

Je pozoruhodné, že mykofágní mykobionty můžeme vzácně nalézt také mezi motýly (řád Lepidoptera). Naprostá převaha příslušníků tohoto řádu se během larválního života živí čerstvými rostlinnými pletivy. Výhradně fungivorní a mykobiontní způsob života je tudíž v řádu motýlů velmi výjimečný.

Pokud nalezneme další výjimky z tohoto pravidla, je známa malá skupina motýlů s dravými housenkami a již početnější skupina detritivorů a lichenivorů. Housenky lichenivorů se ovšem živí lišejníky, podvojnými organismy skládajícími se z houbové a řasové složky, ovšem předpokládá se, že dokáží trávit pouze složku řasovou (Rawlins 1984).

Jak lichenivorie, tak i fungivorie není v žádné motýlí čeledi výhradním způsobem života. V taxonomických skupinách, kde se vyskytuje, nalézáme zejména detritivory, nebo druhy mixotrofní, vyvíjející se na různém odumřelém materiálu (detritu), který bývá víceméně prostoupen myceliem hub.

V nejprimitivnějších skupinách motýlů se mykofagie nevyskytuje vůbec, je omezena pouze na relativně evolučně odvozenější příslušníky podřádu Ditrysia.

Mykofágní nebo lichenivorní druhy motýlů se vyskytují ve více nadčeledích, vlastní fungivory a mykobionty však nalezneme především a převážně v nadčeledi Tineoidea, menší počet v nadčeledích Gelechioidea a Noctuoidea a ojedinělé případy v nadčeledi Pyraloidea



(Rawlins 1984). V našich podmínkách jsou mykobionty pouze příslušníci čeledi Tineidae (molovití).

Obligátní fungivoři a mykobioti se vyvíjejí výhradně v houbách, které rostou na hniječím dřevě nebo parazitují na žijících stromech. Mykobionti z čeledi molovitých velmi preferují hostitele s trvalými sporokarpy (chorošovitě - Polyporaceae a dřevnatkovité – Xylariaceae). Většina druhů je oligofágních – jsou schopni vývoje v několika příbuzných družích, ale existují zde i monofágové, např. náš největší mol (až 6 cm v rozpětí křídel) *Scardia boletella* žije pouze v plodnicích troudnatce kopytovitého (*Fomes fomentarius*), a to pouze v místech zachovalých původních bučin se starými stromy, ačkoli troudnatec kopytovitý je běžně se vyskytující parazitickou houbou na bucích a břízách ve starších listnatých lesích. Monofágem je též mol *Agnathosia mendicella*, který žije výhradně v plodnicích síťkovce dubového (*Daedalea quercina*). Polyfágové většinou užívají plodnice ohnivců (*Phellinus* spp.), březovníku březového (*Piptoporus betulinus*), anebo troudnatce pásovaného (*Fomitopsis pinicola*) a jiných chorošovitých hub, přičemž nezáleží na které dřevině plodnice rostou. V jedné plodnici se může vyvíjet i více druhů molů současně.

Vývoj mykobiontních motýlů je jednoletý, a neovlivňuje nijak fruktifikaci plodnic, to znamená jejich žír je lokalizován také do starších částí plodnice a ne již tolik do výtrusorodé vrstvy, na rozdíl od muších mykobiontů (Liška 1999).

Housenky motýlů jsou dosti náchylné k nákazám patogenními houbami, které u nich působí letální mykózy, a tak je u motýlích detritivorů i fungivorů paradoxně účelné omezit kontakt povrchu těla s okolím. Děje se tak především díky hydrofobní kutikule, která je navíc vybavena výrůstky různého tvaru a sety (chlupy). Zejména bývá chráněna hlavová kapsule housenek, která bývá skulptována hrbolky a výrůstky, a spirákula (dýchací otvory) na bocích těla, která bývají věnčena sety a výrůstky.

Většina housenek hmyzu má schopnost příst hedvábná vlákna, a tak některé druhy opřádají povrch chodbiček uvnitř rostlinných pletiv, anebo v případě fungivorů uvnitř plodnic hub. Nejdokonalejší způsob zamezení kontaktu těla s okolím si osvojily ty druhy, které si spřádají vak, ze kterého vyčnívají pouze jejich nohy a hlava, nebo pouze ústní ústrojí. Takovéto užití vlastního předu je charakteristické hlavně pro čeleď Psychidae (vakonošovití) a Tineidae (molovití) (Rawlins 1984).

## 4. MATERIÁL A METODIKA

### 4. 1. Lokalita a odběr vzorků

#### 4. 1. 1. Výběr lokality

Zvoleny byly lokality s každoročním výskytem čerstvě napadených stromů a možností odebrat dostatečné množství vzorků (okolo 1 m<sup>3</sup>) se souhlasem vlastníka.

Z předchozích návštěv bylo podle výskytu požerků vytipováno několik míst. Jednalo se o lokality Radotín-Cikánka, LS Křivoklát a lesní majetek Bačov u Velkého Oseka.

Během prvních tří let prací, tj. 2001, 2002 a 2003 se ukázalo, že v letech 2002 a 2003 nebylo možné nalézt na lokalitě Radotín–Cikánka čerstvě napadené stromy a tudíž ani odebrat dostatečné množství vzorků.

Na lokalitě LS Křivoklát bylo sice možné čerstvě napadené stromy nalézt, avšak množství imág *Xiphydria longicollis*, které se během inkubace vylíhly ze vzorků, nebylo dostatečné.

Pouze na dobře přístupné lokalitě Bačov u Velkého Oseka bylo možné každoročně nalézt čerstvě napadené stromy a odebrat dostatek materiálu (s výjimkou roku 2002, kdy byly nalezeny pouze dva čerstvě napadené stromy, a po inkubaci vzorků z nich bylo získáno pouze 12 imág). V ostatních letech dosahoval počet vychovaných piložitek z cca 1 m<sup>3</sup> polen 150 až 500 jedinců.

#### 4. 1. 2. Charakteristika lokality Bačov

Lokalita Bačov, na které byly odebrány prakticky všechny vzorky použité ke zpracování této práce, leží v Polabí v blízkém sousedství obce Velký Osek. Přímá vzdálenost porostů, ze kterých byly odebírány vzorky od řeky Labe je asi čtyři kilometry. (Obr. 10 a 11).

Je to území dosti nízko položené ( 192 m n. m.) a klimaticky poměrně teplé (charakteristiky počasí z blízké stanice Poděbrady viz Tab. 19).

Lesní porosty jak na lokalitě Bačov, tak i v širším okolí tvoří převážně dub, avšak většina porostů, včetně rezervací (Libický luh a Veltrubský luh) byla založena uměle a z osiva dovezeného, což lze doložit např. výskytem dubu ceru (*Quercus cerris*) v některých porostech.

Dubové porosty na lokalitě Bačov, vzhledem ke své nadmořské výšce a vzdálenosti od Labe již nemají charakter typických lužních porostů, a jsou protkány sítí kanálů a potokem Bačovkou. V minulosti (až do poloviny osmnáctého století) však tekla tímto územím řeka Cidlina, a poté zde byl rybník a mokřiny, které byly postupně odvodněny a vysušeny.

Nynější porosty jsou tvořeny převážně dubem letním (*Quercus robur*), z ostatních dřevin je zastoupena bříza bradavičnatá (*Betula verrucosa*), jilm habrolistý (*Ulmus carpinifolia*), v podrostu krušina obecná (*Frangula alnus*), dřín obecný (*Cornus mas*) a svída obecná (*Cornus sanguinea*).

Vyšší polohy v sousedství dubových porostů jsou většinou zalesněny borovicí a místy je zastoupen i smrk.

Charakteristiky porostů, ze kterých byly odebírány vzorky, obsahuje tabulka č. 8.

#### **4. 1. 3. Odběr materiálu – sběr vzorků**

Výskyt stromů, napadených piložítka dubovou byl zjišťován během zimního období, většinou v prosinci a lednu. Odběr vzorků byl proveden v únoru každého roku.

Napadené stromy byly nalezeny na základě poškození piložitek, které byly právě během počátku zimního období odkrývány datlovitými ptáky. Bez jejich činnosti by bylo velmi obtížné napadené stromy nalézt a odlišit je od souší jiného původu. Vzhled poškození piložítka dubové je zcela typický, jedná se o převážně příčně probíhající chodby v běli. Bylo tedy snadné tyto stromy odlišit od stromů napadených krásci rodu *Agrilus* anebo různými druhy tesaříků.

Odběr vzorků lze provést během ledna nebo února, vzhledem k probíhající diapauze přezimujících stadií hmyzu, ale též vzhledem k pokračující predaci larev piložítka dubové. Během zimy totiž bývá predováno až 80% larev, a jarní odběr vzorků, jakkoli by byl z hlediska pozdního líhnutí piložitek teoreticky možný, by nemohl poskytnout žádoucí množství imág.

Po skácení vhodných stromů z nich byly vyříznuty vhodné partie. Byla vybrána místa s odkrytými poškozeními, pokud bylo zřejmé, že predace je pouze částečná, a sousedící partie, pokud byly na radiálním řezu zjištěny chodby piložitek anebo alespoň zasažení běli hnilobou (larvy piložitek se nevyskytovaly v partiích dosud relativně čerstvých nebo zaschlých až během pozdního podzimu a zimy, tzn. nezasažených hnilobou běli). Výřezy byly odebírány v délce cca 80 cm, průměr odebraných vzorků byl od 10 cm až do 30 cm.

## **4. 2. Zpracování a inkubace vzorků**

### **4. 2. 1. Získávání imág**

Přivezené vzorky (polena) byly jednotlivě nebo po dvou vloženy do velkých pytlů ze silného igelitu a potom ještě do pytle ze síťovité tkaniny – monofilu, který bylo možno

nahore, nad igelitovým pytlím s polenem, zavázat. Takto zabalená polena byla nejprve uložena v mrazu, v teplotě pohybující se od  $-2^{\circ}\text{C}$  do  $-4^{\circ}\text{C}$ .

Uskladněná polena v pytlích byla přenesena do teplejší místnosti během dubna, teplotu v této místnosti bylo možno regulovat pouze částečně, směrem k vyšším teplotám, a byla udržována v rozmezí od  $+20^{\circ}\text{C}$  do  $+26^{\circ}\text{C}$ . Během této teplé inkubace byla polena v pytlích každých čtrnáct dní vlhčena sterilní destilovanou vodou. Smyslem tohoto vlhčení bylo především usnadnit vývoj a líhnutí pilořitek. Podle mých zkušeností je hmyz na vlhkosti během kuklení a líhnutí silně závislý, a bez tohoto vlhčení by se ho vylíhla jen část.

Během inkubace vystupovaly z polen různé druhy hmyzu – nejprve kůrovci a krasci a parazitoidní blanokřídlí, později tesaříci a nakonec pilořitky s některými druhy tesaříků. K líhnutí pilořitek docházelo většinou až během července. Rozmezí, během kterého se pilořitky líhly, pokrývalo zhruba čtyři až pět týdnů.

Pilořitky byly hned po vylíhnutí odchytávány do sterilních Petriho misek, a to každá samostatně do jedné misky vzhledem k nesnášenlivosti imág.

Petriho misky s pilořítkami byly po nezbytně nutnou dobu, do shromáždění počtu potřebného k zahájení izolací hub, uskladněny v chladničce při teplotě  $+3^{\circ}\text{C}$  až  $+5^{\circ}\text{C}$ .

#### **4. 2. 2. Získávání larev**

Pro účely izolací hub byly odebírány i larvy pilořitek, které bylo nutno vyjmout ze dřeva. Vhodné vzorky jsem příčně nařezal na špalíky cca 25 cm vysoké, a poté sekerou rozdělil na klínovité části, jejichž oblá část (původně obvod kmene) měřila asi 10 cm. Z těchto klínů jsem odsekl obvodovou část bělí s přilehlým jádrem, v síle většinou 8 cm. Tento hranolek jsem postupně sendvičovitě radiálně odsekával po centimetrových vrstvách, až jsem našel larvu. Larvu jsem poté vyjmul sterilní pinzetou a přímo provedl inokulaci.

#### **4. 2. 3. Izolace hub – mikrobiologické práce**

Všechny izolace probíhaly na bramborovo-mrkvovém agaru (PCA), při teplotě  $+22$  až  $+25^{\circ}\text{C}$ .

Izolaci hub s povrchu imág jsem prováděl dilutivním způsobem – omýváním imág sterilní destilovanou vodou. V průběhu tří dnů bylo odchyceno patnáct čerstvě vylíhlých imág (počet samců a samic zhruba 1 : 1). Imága byla umístěna jednotlivě do sterilních zkumavek s 2 ml sterilní destilované vody a sonikována 40 minut v sonické třepačce (Transsonic T460H, výrobce firma Elma, Singen, Německo), Zkumavky ve stojánku byly zanořeny ze dvou třetin do vody ve vaničce. Poté bylo do zkumavek přidáno ještě 8 ml sterilní destilované vody a 1

ml této suspenze byl vyset na PCA. Pro tuto izolaci byly používány Petriho misky o průměru 10 nebo 12 cm.

Po týdnu kultivace jsem popisoval morfologii kolonií a očkoval subkultury na šikmé agary PCA.

Larvy byly kvasisterilně vyňaty z bělových vrstev, ojediněle i z přilehlé části jádrového dřeva. Většina larev se nalézala těsně pod povrchem dřeva v kukelných kolébkách. Celý povrch larvy byl otřen o PCA. K této izolaci byly používány misky o průměru 12 cm.

K izolaci hub z mykangií pilořitky dubové byly používány samice odebrané většinou bezprostředně po vylíhnutí z polen, odchycené do sterilních Petriho misek a usmrcené parami ethylesteru kyseliny octové. Menší část samic byla 3 – 4 dny po vylíhnutí skladována v Petriho miskách v chladničce.

Mrtvou samici jsem stále ve stejné Petriho misce přenesl pod mikroskop, kde jsem ji otočil ventrální stranou vzhůru a jehlou vysunul kladélko z jeho pochvy. Za kladélko jsem potom pomocí tvrdé pinzety silně zatáhl, až došlo k exponování mykangií a odkrytí jejich obsahu. Obsah mykangií byl sterilní jehlou přenesen na PCA. Bazálním, odděleným koncem kladélka byl inokulován další PCA. Celkem jsem tímto postupem vyšetřil šestnáct samic a získal 32 naočkovaných misek.

#### **4. 2. 4. Půdy a roztoky**

Bramboro-mrkvový agar (PCA)

400g strouhané mrkve,

400g strouhaných brambor,

60g technického agaru

2500ml destilované vody

Nastrouhaná mrkev a brambory byly uvařeny v Papinově hrnci s 2 litry destilované vody a suspenze přefiltrována a vylisována přes hustou tkaninu. Do suspenze byl přidán agar a vše doplněno destilovanou vodou na objem 3 l. Toto množství bylo rozvařeno v zavařovacích sklenicích o objemu 720 ml a skladováno v chladničce do doby použití.

Malt extract agar (MEA)

20g Malt extract

20g technického agaru

960 ml destilované vody

Složky byly nejprve rozmíchány v chladném stavu, a potom rozvařeny v zavařovacích sklenicích o objemu 720 ml a skladovány v chladničce do doby použití.

Modifikovaný laktofenol pro mikroskopii:

22 ml 80% kyseliny mléčné

22 g čistý fenol

56 ml nasycený vodný roztok polyvinylalkoholu

1 g methylenová modř (barvivo)

### **4. 3. Zpracování výsledků**

#### **4. 3. 1. Určování a fotografická dokumentace izolovaných kmenů hub**

Narostlé kultury byly fotograficky dokumentovány, a z každé z nich bylo připraveno několik trvalých mikroskopických preparátů v modifikovaném laktofenolu. Mikroskopické preparáty byly rovněž použity pro dokumentaci.

K fotografické dokumentaci kultur v Petriho miskách byl použit fotoaparát Nikon F80. Kultury byly nejprve nasnímány na diafilm a poté diapozitivy oskenovány.

K fotografické dokumentaci mikropreparátů byl použit mikroskop Jenaval s fotoaparátem Olympus Camedia C5060WZ, obsluhovaný programem Quick Photo Camera 2.2 .

Izoláty byly taxonomicky určeny pomocí morfologie kultur (na PCA, méně často na MEA) a mikromorfologie a to srovnáním s publikovanými klíči a popisy a/nebo srovnáním s referenční kulturou. Referenční kultury a konzultace poskytla RNDr. A. Kubátová. Určení ophiostomatálních hub a dalších kmenů jsem konzultoval s Mgr. D. Novotným, Ph. D. a určené kmeny jsem rovněž použil jako referenční pro porovnání s ostatními izoláty.

Izoláty mykangiálních hub, u kterých bylo zřejmé (podle vzhledu, mikroskopického pozorování i literárních údajů) že patří houbám z čeledi Xylariaceae, a kde jsem očekával zpřesnění literárně uváděných údajů, byly určeny pomocí analýzy DNA v Mikrobiologickém ústavu AV ČR (viz níže).

#### **4. 3. 2. Analýza DNA**

##### **4. 3. 2. 1. Sekvenace genomické rDNA:**

V případě, že mikro- a makromorfologické znaky izolovaných hub neumožnily jednoznačnou identifikaci do rodu, byly izoláty určeny pomocí porovnání sekvence

genomické ribozomální DNA s databází. Analýza byla provedena v Mikrobiologickém ústavu AV ČR v laboratoři RNDr. S. Pažoutové.

DNA byla izolována z mladého mycelia pomocí soupravy UltraClean Microbial DNA Isolation Kit (Mo-Bio Laboratories, Solana Beach, California) podle manuálu výrobce. Fragment DNA obsahující variabilní spacery ITS1 a ITS2 a konzervativní úsek 5.8S rDNA (ITS1-5.8S-ITS2) byl získán pomocí amplifikace metodou PCR s použitím kombinací primerů ITS1 nebo ITS5 s primery ITS4 nebo ITS4s. Fragment tzv. D1D2 oblasti z 28S rDNA byl získán amplifikací s použitím dvojice primerů NL1 a NL4.

**Tabulka č. 9**

<b>Amplifikované primery</b>	
<b>Primer</b>	<b>Sekvence (5' - 3')</b>
ITS1 (White, T.J., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J.W., 1990)	TCCGTAGGTGAACCTGCGG
ITS5 (White, T.J., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J.W., 1990)	GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG
ITS4S Kretzer, A., Li, Y., Szaro, T.M., Bruns, T.D. 1996)	CCTCCGCTTATTGATATGCTTAAG
ITS4 (White, T.J., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J.W., 1990)	TCCTCCGCTTATTGATATGC
NL1 (O'Donnell, K., 1996)	GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG
NL4 (O'Donnell, K., 1996)	GGTCCGTGTTTCAAGACGG
T1: (O'Donnell, K., Cigelnik, E., 1997)	AACATGCGTGAGATTGTAAGT
T22: (O'Donnell, K., Cigelnik, E., 1997)	TCTGGATGTTGTTGGGAATCC

Reakční směs (25 µl) obsahovala: 50 ng genomické DNA, 20 pmol každého z dvojice primeru, 0.2 mM směsi desoxyribonukleotidfosfátů (dNTPs) a 1 jednotku Taq polymerázy DynaZyme v pufru výrobce (Finnzymes, Oy, Finland).

Inkubace proběhla v termocykleru Mastercycler *gradient* (Eppendorf, Hamburg, Germany) po celkem 32 teplotních cyklů:

95°C/3 min, 55°C/30 s, 72°C/1 min (1x)

95°C/30 s, 55°C/30 s, 72°C/1 min (30x)

95°C/30 s, 55°C/30 s, 72°C/10 min (1x)

Amplifikované fragmenty byly vyčištěny od zbytku primerů a reakční směsi pomocí soupravy Wizard DNA Clean-Up System (Promega, Madison, WI., USA) a sekvenovány na zakázku v sekvenační laboratoři PřF UK, Viničná 7.

Získané sekvence byly porovnány s databází GenBank pomocí webové aplikace NCBI Blast (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi>).

Úsek genu pro beta-tubulin byl amplifikován pomocí primerů T1 a T22 (O'Donnell and Cigelnik 1997), teplotní režim termocyklu byl totožný jako při amplifikaci rDNA. Amplifikovaný fragment DNA byl obousměrně sekvenován a sekvence porovnána s databází GenBank.

#### **4. 3. 2. 2. RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)**

Tato metoda genetického fingerprintingu založená na PCR (Welsh a McClelland 1990) byla použita k porovnání genetické podobnosti izolátů. Reakční směs (20  $\mu$ l) obsahovala 10-50 ng DNA, 0.2 mM dNTPs, 1,75 mM MgCl<sub>2</sub>, 20 pmol primeru, reakční pufr DynaZyme a 1 jednotku Taq polymerázy DynaZyme (Finnzymes, Oy, Finland). Reakční směs byla inkubována v termocyklu celkem 35 cyklů:

94°C/3 min, 38°C /1 min, 72°C/20 s (1x)

93°C/20 s, 38°C/1 min, 72°C/20 s (33x)

93°C/20 s, 38°C/1 min, 72°C/6 min (1x)

Výsledné fragmenty DNA byly rozděleny elektroforeticky na agarózovém gelu (1.5 %) v pufru 1x TBE při napětí 4 V cm<sup>-1</sup>.

#### **4. 3. 3. Konstrukce fylogramu**

V programu BioEdit 7.0.5 (Hall 1999) byly sestaveny dva datové soubory, jeden obsahoval sekvence rDNA izolátů získaných ze samic pilořítek a z povrchu larvy a příbuzné sekvence z databáze GenBank (Tab. ) a druhý sestával z částí sekvence  $\beta$  - tubulinu. Distanční matrice a fylogram byly v obou případech vytvořeny v programu MEGA3 (Kumar et al. 2004). Matrice byla vypočtena podle modelu "Kimura 2-parameter", fylogramy zkonstruovány metodou "neighbor-joining". Statistické ověření jednotlivých větví fylogramů bylo provedeno metodou bootstrapu (500x), rovněž v programu MEGA3.



Tabulka č. 10

Příbuzné xylariální druhy a jejich sekvence			
Druh	Sekvence	Dřevina	Lokalita
<i>Daldinia petriniae</i>	AF176970	<i>Corylus avellana</i>	Denmark, Sjaelland
<i>Daldinia petriniae</i>	AF176971	<i>Alnus incana</i>	Sweden, Jamtland
<i>Daldinia petriniae</i>	AF176972	<i>Salix</i>	Sweden, Vastmanland
<i>Daldinia petriniae</i>	AF176974	<i>Alnus</i>	Sweden, Gotland
<i>Daldinia petriniae</i>	AF176975	<i>Alnus</i>	Sweden, Dalarna
<i>Daldinia petriniae</i>	AY354238	<i>Betula</i>	Lithuania
<i>Daldinia concentrica</i>	AF163021	<i>Fraxinus</i>	Netherlands
<i>Daldinia concentrica</i>	AF176956	<i>Fraxinus</i>	UK, Box Hill
<i>Daldinia concentrica</i>	AF176957	<i>Fraxinus</i>	Denmark, Romso
<i>Daldinia concentrica</i>	AF176958	<i>Fraxinus</i>	UK, Wales, Bongor
<i>Daldinia concentrica</i>	AY616681	<i>Fraxinus excelsior</i>	UK, Wales, Carmarthenshire
<i>Daldinia concentrica</i>	AY616683	<i>Fraxinus excelsior</i>	Germany, NRW, Neandertal
<i>Daldinia fissa</i>	AF176979	<i>Betula</i>	Finnland, Karelia
<i>Daldinia fissa</i>	AF176980	<i>Fagus</i>	Denmark, Sjaelland
<i>Daldinia fissa</i>	AF176981	<i>Malus</i>	Denmark, Sjaelland
<i>Daldinia vernicosa</i>	AF163022		USA, Dixon
<i>Daldinia loculata</i>	AF176968	<i>Betula</i>	Sweden, Lappland
<i>Daldinia loculata</i>	AF176969	<i>Sorbus</i>	Sweden
<i>Daldinia loculata</i>	AY787695	<i>Fraxinus</i>	Lithuania
<i>Daldinia loculatoides</i> ( <i>grandis</i> )	AF176982	<i>Fagus</i>	UK, Scotland
<i>Daldinia eschscholzii</i>	AY616684	<i>angiosperm</i>	Thailand, Phuket
<i>Daldinia</i> sp. SFC 980601-10	AF163023		Korea
<i>Daldinia</i> sp. F16	AY315403	<i>Bazzania</i> sp.	Jamaica, Blue Mountain
<i>Daldinia</i> sp. „A“		<i>Quercus robur</i>	CZ, Bačov
<i>Daldinia</i> sp. L29_1		<i>Quercus robur</i>	CZ, Bačov
<i>Daldinia</i> sp. 10_11		<i>Quercus robur</i>	CZ, Bačov
<i>Entonaema</i> <i>liquescens</i>	AY616686		USA, Kansas
<i>Entonaema</i> <i>cinnabarina</i>	AY616685	<i>Fraxinus</i>	France, Pyrénées, Ile de Autervive
<i>Entonaema</i> sp. „B“		<i>Quercus robur</i>	CZ, Bačov

(sestaveno podle databáze GenBank

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=Nucleotide>)

## 5. VÝSLEDKY

### 5. 1. Poznatky z morfologie, bionomie a biologie pilořitky dubové (*Xiphydria longicollis* GEOFFROY)

#### 5. 1. 1. Lokalizace, vzhled a obsah mykangií pilořitky dubové

Mykangia pilořitky dubové jsou situována na stejném místě, jako u pilořitek čeledi Siricidae (viz Buchner 1928, Francke-Grossmannová 1939) a mají i podobný vzhled. Jsou skryta pod posledním sternitem před kladélkem (Obr. 12a). Vlastní mykangia jsou vnějším párovým orgánem, uloženým mimo dutinu zadečku. Jsou to poměrně hluboké vchlípeniny mezisegmentální membrány po obou stranách kořene kladélka. Při silnějším zatažení za kladélko se exponují a vyhřezne i jejich obsah, který má polotekutou až tuhou konzistenci, a podobá se vzhledem vlhkému škrobu (Obr.12b).

Tekutost obsahu závisí podle mých zjištění na době, která uplynula od vylíhnutí imága (stáří imága). Starší samice mají obsah mykangií tužší, který po exponování mykangií vypadá nejčastěji jako dvě válcovité pelety.

Během života samice je v mykangiích udržována čistá kultura houby, která se v sekretu (obsahu mykangií) ještě pomnožuje cestou kvasinkovitého pučení (Obr.13). Počet propagulí (blastospor nebo částí mycelia) dosahuje vysokých hodnot, až dvaceti miliónů částic. Jakmile samice zahyne, obsah mykangií je velice rychle kontaminován dalšími druhy hub, především z rodu *Penicillium* nebo *Trichoderma*.

#### 5. 1. 2. Počet, tvar a velikost vajíček pilořitky dubové

Zadeček je zcela vyplněn dvěma vaječníky a váčkem „rezervoárem“ mazu, který samice používá při kladení vajíček (Obr.9a). Další orgány nejsou na první pohled patrné, ale celkem zřetelné bývají ještě Malpighiovy žlázy.

Pitval jsem celkem dvacet samic a zjistil jsem, že vaječníky obsahují u nejmenších samic 120 vajíček, u největších samic až 190 vajíček. Průměrný počet vajíček se pohybuje mezi 170 a 180 kusy.

Vajíčka jsou neprůhledně bílá, kyjovitého tvaru, střední část tvoří vlákno (Obr.9b). Délka „hlavičky“ tedy vlastního vajíčka se pohybuje od 1,12 do 1,38 mm, její šířka je v rozmezí od 0,42 do 0,50 mm. Celková délka vajíčka, včetně středního vlákna a rozšířeného zakončení, se pohybuje od 3,5 do 4,0 mm.

### 5. 1. 3. Místa vývoje, substrát a chodby pilořitky dubové ve dřevě dubů

Dub letní (*Quercus robur*) je náchylnější k napadení pilořitkou dubovou. Všechny napadené stromy na lokalitě Bačov patřily k tomuto druhu. K napadení dubu zimního (*Quercus petraea*) dochází ovšem také, což je možné pozorovat například na Křivoklátsku.

Obvyklým místem, kde se larvy pilořitky dubové vyvíjejí, jsou usychající větve v korunách starších dubů (Obr. 3). Proto se v literatuře udává, že pilořitky kolonizují odumírající duby „odshora dolů“. Podle mých zkušeností je kolonizace celých stromů celkem běžná, i když je pravda, že využity jsou vždy i tenké vrcholové části. Kolonizace vhodných dubů pilořitkou dubovou probíhá patrně po dva roky, přičemž nejprve jsou využita již nekrotizovaná místa, t.j. rány a jejich okolí a část nebo všechny vrcholové partie dubu. Druhý rok je kolonizován zbytek větví a kmenové partie stromu.

Vizuálně se ovšem tato situace nejčastěji jeví jako kolaps stromu během jediné sezóny. Po první sezóně jsou využity a nekrotizovány jen určité sektory běli, a tak ještě značná část koruny vyraší, a její vývoj pokračuje celkem „normálně“ jelikož vajíčka bývají nakladena nejdříve v červnu, a k žíru larev a rozvoji hub ve zbylých částech běli dochází až k podzimu, a požerky jsou odkryty datlovitými ptáky během zimy.

Celková délka chodeb nebyla snadno zjistitelná, vzhledem k jejich rozrušení datlovitými ptáky a hromadnému vývoji larev ve vhodných místech kmene. Délka chodeb je velmi variabilní především z důvodu různé velikosti larev (a později imág) a činí 20 – 40 cm. Chodby bývají často koncentrovány do jednoho dosti omezeného prostoru. Důvodem ke stínění chodeb byl podle mého názoru především prostorově omezený rozvoj symbiotických hub, tzn. „hniloby“ uvnitř dřeva, vzhledem k tomu, že larvy využívají pouze běl a okolí jejich chodeb je vždy diskolorované a zasažené hnilobou. U kmenů, jejichž běl byla zasažena hnilobou po většině obvodu, probíhaly chodby sice na první pohled „všesměrně“, avšak velká jejich část probíhá víceméně horizontálním směrem. V dubech probíhají chodby prakticky výhradně v bělovém dřevě (Obr. 2 a 14), ve kterém se také symbiotické houby poměrně rychle rozrůstají. Do jádrového dřeva zasahují chodby dosti výjimečně a pravděpodobně v souvislosti s předkukelným chováním larvy, tedy s budováním kukelné kolébky (Obr. 6 a 14b). Kukelné kolébky jsou dvojího typu; převládá kolébka situovaná v podélném směru jen několik milimetrů pod povrchem dřeva (Obr. 7), ale některé

(ojedinělé) larvy si budují kukelnou chodbu ve tvaru oblouku, který směřuje z vnitřních vrstev dřeva k povrchu kmene (Obr. 6a).

Při líhnutí imág v terénu dochází velmi často až zcela běžně k jejich hynutí, přičemž dobře vyvinutí dospělci (samci i samice) zůstanou nehluboko pod povrchem kůry, takže při odloupení kůry buď vyčnívají zadečkem z chodbičky na vnitřní straně kůry anebo přední částí těla z běli (Obr. 15c). Tuto skutečnost zjistilo více entomologů (Kraus 1997, Pavlík 2000), a podle obecného názoru hynutí souvisí se silným přehřátím povrchových vrstev kůry za letních dnů, kdy k líhnutí dochází.

#### **5. 1. 4. Pokus o založení chovu, délka vývoje a doba líhnutí pilořitky dubové**

Aby bylo možné získat spolehlivé údaje k některým bionomickým datům týkajícím se vývoje pilořitky dubové (například způsob kladení vajíček, počet instarů, přesná délka vývoje apod.), je nutné úspěšně zvládnout metodu jejího chovu.

Pokusil jsem se založit chov pilořitky dubové v improvizovaných podmínkách v místnosti, kde jsem též inkuboval vzorky (kde se líhla imága ze vzorků odebraných v terénu).

K tomu jsem využil čerstvě odebraných polen z dubu letního, která jsem vložil do velkého igelitového pytle, vloženého ještě do uzavíratelného monofilového pytle. Do těchto „chovných zařízení“ (založil jsem čtyři) jsem vypouštěl čerstvě vylíhlé samce a samice pilořitek.

Zhruba po dvou měsících jsem některá a posléze všechna polena oloupal, abych zjistil, zdali samice do těchto polen nakladly vajíčka a zda se již larvy vyvíjejí. Vajíčka ani larvy jsem na žádném polenu nezjistil, to znamená že samice na tento materiál (čerstvá dubová polena) nekladly.

Důvodů, proč nedošlo ke kladení do materiálu, který je na první pohled „vhodný“ k vývoji pilořitky dubové, může být více. Především ten, že tato polena byla pravděpodobně „příliš čerstvá“ a samice je otestovaly jako k vývoji a kladení nevhodná. Z literatury je totiž známo, že samice siricidů testují místa ke kladení mnohonásobným zapichováním kladélka, a pokud se jim daný strom a místo nejeví pro vývoj larev vhodné, do zápichů nenakladou (Madden 1988, Urban 1997).

Na druhé straně došlo v mých založených vzorcích ke spontánnímu vývoji pilořitek, a to v důsledku opakovaného kladení do starého materiálu.

Materiál odebraný v roce 2001 byl natolik obsazen larvami pilořitek, že se z něj (během července a srpna 2001) vylíhlo několik set imág, která jsem ke konci líhnutí již v pytlích se starými poleny ponechával. Veškerý odebraný materiál jsem sledoval v chovných místnostech dva roky, abych mohl zjistit, zdali má pilořitka dubová jednoletý anebo dvouletý vývoj. V květnu 2002 jsem zjistil silné líhnutí imág z těchto vzorků, odebraných již před dvěma roky. Tato imága navíc byla neobvykle veliká.

Vzhledem ke značnému množství imág bylo zřejmé, že zde došlo k opakovanému kladení do starého materiálu.

Abych si tuto skutečnost potvrdil, vypouštěl jsem v roce 2004 (kdy jsem měl též k dispozici dostatek imág) přebytečná imága do dvou pytlů se silnějšími poleny, a polena ve všech založených „chovných pytlích“ (bylo jich celkem deset) jsem i po dolíhnutí a přes zimu občas vlhčil. V následujícím roce (2005) došlo ve dvou „doplňovaných“ pytlích s poleny k opakovanému líhnutí pilořitek, přičemž z „nedoplňovaných“ pytlů se nevylíhla v této sezóně ani jediná pilořitka.

Vzhledem k tomu, že imága, která se vyvinula po opakovaném kladení do starých polen se líhla během května, trval jejich vývoj zhruba deset měsíců (od srpna do května), což odpovídá teplejšímu uložení vzorků v podmínkách chovné místnosti (20 – 25° C během léta a podzimu, 18 – 22° C během zimy a jara).

Z těchto skutečností vyvozují, že pilořitka dubová má v našich podmínkách vývoj v převážné většině jednoletý, je však schopna klást opakovaně a vyvinout se i ve „starém“ materiálu, tedy v dubech, které jsou odumřelé již rok a více. Vývoj proběhne úspěšně, je-li vegetační sezóna současně vlhká a teplá.

Ve venkovních podmínkách jsem zjistil imága náhodně již v červnu, z polen uložených ve venkovních podmínkách se pilořitky líhly většinou od července do srpna. Líhnutí ze vzorků, založených v chovných místnostech, bylo buď soustředěno do jedné vlny, která měla vrchol koncem července, ale líhnutí imág ze vzorků, odebraných v roce 2005, proběhlo ve dvou vlnách, přičemž druhá vlna vrcholila až v září.

## 5. 2. Druhy hub, izolovaných z imág, larev a mykangií pilořitky dubové

### 5. 2. 1. Houby izolované s povrchu imág pilořitky dubové

Druhy hub, které byly izolovány s povrchu samců a samic pilořitky dubové (celkem 30 kusů imág), mají vazbu převážně na venkovní prostředí a povrch dřeva (Tab.11, 12, a 13). Nebyly vůbec zachyceny houby které se rozrůstají ve dřevě (např. houby čeledi Ophiostomataceae), a které by mohly být považovány za symbiotické (z čeledi Xylariaceae).

Přestože se druhové spektrum, získané s povrchu samců liší od spektra samic, lze tomu jen stěží přikládat nějaký hlubší význam. Nejvýznamnější odlišností, která mohla ovlivnit rozdíly mezi mykobiotou samců a samic, je především sama velikost imág. Samci jsou mnohem menší než samice a tudíž i povrch jejich těla – záchytná plocha pro spory hub - je rovněž menší. Dalším faktorem, který mohl hrát jistou roli, mohou pravděpodobně být rozdíly v aktivitě samců a samic, anebo spíše v individuální aktivitě imág a době, která uplynula od jejich vylíhnutí do odebrání z chovného zařízení.

Pohled na tyto kvantitativní rozdíly se poněkud změní, pokud obrátíme pozornost na tu skutečnost, kolik imág neslo určitý druh houby. Zde už vidíme, že nejčastěji měli samci i samice na sobě mykobiotu složenou z různých druhů penicilií, a významněji se od této skutečnosti odlišují jen některá individua.

Nejpočetnějším druhem houby, zjištěným na povrchu samců, bylo *Acremonium* a *Acremonium* sp. 1. O tuto skutečnost „se zasloužila“ pouze dvě individua, ostatní samčí imága nesla na svém povrchu především spory penicilií, a to nejčastěji *Penicillium spinulosum*, *P. carneum* a *P. citrinum*. Méně početně byly zastoupeny *P. glabrum*, *P. brevicompactum* a *P. soppii*.

Dalším hojnějším druhem na povrchu těl samců byla *Trichoderma harzianum*, která byla zjištěna na čtyřech jedincích. Poměrně hojně byly zastoupeny zygomycety, *Umbelopsis isabelina* (syn.: *Micromucor isabelinus*), bylo zjištěno na osmi jedincích, spolu s dalším druhem třídy Zygomycetes *Mucor circinelloides* f. *lusitanicus*, který se vyskytoval na pěti imágách. Tyto zygomycety mají schopnost rychlé kolonizace substrátu a vyskytují se nejčastěji na hničících rostlinných materiálech, avšak některé druhy jsou známy jako původci mykóz u zvířat i člověka.

Na dvou imágách bylo zjištěno též *Phaeoacremonium rubrigenum*, které má dle literárních údajů afinitu ke dřevu i k živočišným bílkovinám.

Dominantními druhy mykobioty povrchu těl samic byla penicilia, a to jak v množství izolací, tak i v počtu imág, která určitý druh nesla. Nejpočetněji bylo zastoupeno *Penicillium spinulosum* (stejně jako v případě samců) a *P. glabrum*. Poměrně hojně bylo i *P. citrinum*, *P. carneum* a *P. brevicompactum*. Z ostatních druhů byla nejhojnější *Trichoderma harzianum*, zjištěná na pěti samicích. Zygomycety byly o něco početnější než v případě samců, nejhojněji se vyskytovaly *Umbelopsis isabelina* a *Mucor circinelloides* f. *lusitanicus* (Tab.11, 12 a 13).

## 5. 2. 2. Houby izolované z larev pilořitky dubové

Mykobiota, zjištěná na povrchu larev pilořitky dubové, poskytuje pestrý obraz. Její rozmanitost a jen sporadická přítomnost hub čeledi Xylariaceae ukazuje na to, že metodou otisku je sice možné zjistit velkou diverzitu různých druhů hub, ale na druhé straně jen celkem vzácně nalézt houby, které by mohly být symbiotické, jelikož jejich frekvence je mezi izolovanými houbami velmi nízká.

Před vlastním vyšetřením jsem larvy rozdělil na dvě skupiny podle velikosti. U velkých larev je vysoce pravděpodobné, že se jednalo pouze o larvy samic pilořitky dubové, protože samice jsou značně větší než samci. Naopak u skupiny menších larev mohlo být mezi larvami samců i několik samic. K tomuto rozdělení mne vedl předpoklad, že s povrchu samicích larev bude možné častěji izolovat symbiotickou houbu, jelikož by měly mít nějaký specializovaný orgán pro její uchování (mykangia). Tento předpoklad se mi však nepodařilo potvrdit.

Nejpočetnějším druhem na povrchu larev bylo *Penicillium carneum*. Tento druh byl stejně často izolován jak z menších, tak i z větších larev a byl zjištěn na více než 50% larev. Mykobiota penicilií byla na povrchu larev nejhojnější skupinou, podobně jako na povrchu imág, ovšem její druhové složení se mírně odlišuje. Dalšími hojně zastoupenými druhy tohoto rodu bylo *P. corylophilum*, *P. glabrum* a *P. spinulosum*. Minoritně zastoupeny byly druhy *P. citreonigrum*, *P. variabile* a *P. soppii*.

Další skupinu hub, i když taxonomicky již nejednotnou, charakterizovalo bílé nebo světlé (mikroskopicky hyalinní) mycelium. Tyto houby převládaly jednoznačně na větších larvách (předpokládaných samicích). Pozoruhodný je nezvykle hojný výskyt druhu *Phaeoacremonium rubrigenum*, který byl nalezen na 32% větších larev, avšak pouze na 7% larev menších. Tuto houbu lze snadno určit již makroskopicky podle vzhledu kultury (Obr.47), jelikož pod světlým až bílým myceliem dochází k nafialovělému zbarvení média.

Bývá izolována jako patogen různých rostlin, ale pozoruhodnější jsou její nálezy ze situací v souvislosti s hmyzem anebo dokonce bývá zjišťována jako humánní patogen, z čehož vyplývá jistá afinita této houby k živočišným bílkovinám (Kubátová et al. 2004).

Ppoměrně častý byl i nález ophiostomatálních hub – nejhojněji byla zastoupena *Ophiostoma quercus*, méně hojně *O. grandicarpum*, opět především na larvách větších. Houby rodu *Ophiostoma* se vyskytují poměrně často v bělových částech výřezů dubu i jiných dřevin a některé z nich patří k rostlinným patogenům. Vzhledem k tomu, že v české republice byly na dubu zjištěny přinejmenším čtyři druhy rodu *Ophiostoma*, (Mgr. D. Novotný, ústní sdělení) není tento nález příliš překvapující. Pozoruhodné ovšem je, že dvě z vyšetřovaných větších larev (L32 a L42, viz tab. č.15) měly na těle převážně spory ophiostom. Zda a v jakém vztahu mohou být houby rodu *Ophiostoma* k larvám pilořitky je obtížné usoudit, může se jednat jak o vztah náhodný, tak i potravní.

Houby čeledi Xylariaceae, které by bylo možno považovat za symbiotické, byly izolovány pouze z jednoho exempláře větších larev, byla to táž houba, která byla izolována z mykangií dospělých samic - *Daldinia* sp. „A“ (*Daldinia decipiens*). Na příslušnost tohoto izolátu do čeledi Xylariaceae upozornily již při mikroskopování typické stromatické buňky (Obr.25a).

Méně početně zastoupené houby patřily k druhům *Umbelopsis isabelina*, *Mucor plumbeus*, *Aureobasidium pulullans*, *Geotrichum candidum*, *Trichoderma harzianum*, a *Dothiora cannabinae*. Pozoruhodnější je častější nález zmíněné houby *Umbelopsis isabelina*, která se vyskytovala jak na větších, tak i menších larvách (Tab. 14, 15 a 16).

### **5. 2. 3. Houby izolované z mykangií samic pilořitky dubové**

Především mohu konstatovat, že živé samice jsou schopny udržovat v mykangiích zcela čistou kulturu mykangiální houby, a pomnožovat počet propagulí této houby – blastokonidií. Mycelium v mykangiích má kvasinkovou podobu, tvoří jednotlivé buňky až řetízky větších oválných buněk (Obr. 13).

Pomocí ředění obsahu mykangií a výsevu suspenze blastokonidií bylo možno zjistit, že počet blastokonidií a jiných částic mycelia se pohybuje od dvou do dvaceti miliónů. Důvod pro tak rozdílnou hodnotu vidím především v různé velikosti samic a potom v době, která uplynula od jejich vylíhnutí, která může ovlivnit namnožení mykangiální houby v mykangiích.



Po izolaci hub z mykangií izoláty vykazovaly dva typy růstu – světlý až bílý, jemně plstnatý, a hrubší, poměrně rychle tmavnoucí typ. Překvapivý byl především fakt, že mykangiální houba nepatří k jedinému druhu.

Izoláty ze samic *X. longicollis* byly otestovány metodou RAPD, která je rozdělila do dvou typů v souladu s morfologií kultur (Obr. 17, 24 a 27). Sekvence úseku rDNA a porovnání s databází ukázalo, že jeden typ je blízký druhu *Daldinia petriniae*, ale nikoli totožný. Protože v databázi GenBank nebyly od všech druhů daldinií dostupné sekvence ITS oblasti rDNA, byla sekvenována ještě část genu pro beta-tubulin. Amplifikovaný fragment DNA byl obousměrně sekvenován a sekvence porovnána s databází GenBank. Tato sekvence byla s výjimkou jedné báze totožná se sekvencí *Daldinia decipiens* (AY951694) původem z Dánska (Hsieh et al. 2005).

Druhovú identifikace souhlasí i s morfologickým pozorováním, protože *D. decipiens* má skutečně konidiaci jak sympodiálně holoblastickou (typ *Nodulisporium*), tak perkurentní (typ *Sporothrix*) (Stadler et al. 2001). Ve fylogramech zkonstruovaných na základě sekvencí beta-tubulinu a aktinu (Hsieh et al. 2005) tvoří daldinie sannelidickou nebo smíšenou konidiaci (*D. petriniae*, *D. singularis* a *D. decipiens*) monofyletický kladus (Obr.19). Stejně ve fylogramu zkonstruovaném na základě rDNA sekvencí (Obr.18) tvoří izoláty daldinií z pilořitek sesterský taxon k *D. petriniae*.

Stadler et al. (2001) uvádějí nálezy plodnic *D. decipiens* pouze z břízy v Dánsku a Švédsku.

Sekvence rDNA zástupců druhého typu byla téměř identická se sekvencí *Entonaema cinnabarina*, takže lze skupinu s tímto druhem ztotožnit. V Evropě byly plodnice *E. cinnabarina* nalezeny nejseverněji v Pyrenejích a v Bulharsku (Stadler et al. 2004), v naší republice zjištěny nebyly.

Nález Daldinie (kterou mělo celkem 69% vyšetřovaných samic) v mykangiích příliš nepřekvapuje, neboť odpovídá literárním údajům (Cartwright 1938; Francke-Grossmannová 1967), není to však *Daldinia concentrica*, jak je dosud literárně tradováno. Poprvé je ovšem taxonomicky identifikována.

Nález houby *Entonaema cinnabarina* v mykangiích pilořitky dubové je zcela překvapivý. O soužití této houby s pilořitkami rodu *Xiphidria* neexistují dosud žádné údaje. Tuto houbu mělo v mykangiích 25% pilořitek (tedy čtyři kusy), avšak v dalších ověřovacích a ředicích pokusech, ke kterým bylo použito dalších šest samic pilořitek, byla tato houba izolována ještě ve třech případech.

Další druhy hub, které se objevily při izolaci z kladélka pilořitek v Petriho miskách, mohou považovat za kontaminaci s povrchu kladélka anebo povrchu imága. Jedinou výjimkou je

nález houby *Beauveria* sp., která byla hojně izolovaná z jedné samice společně s její mykangiální houbou. Rod *Beauveria* zahrnuje druhy, které jsou pro hmyz patogenní. Zde je pozoruhodné, že byla tato houba izolována z kladélka pilořitky, což může naznačovat i způsob jejího šíření v populaci pilořitek. Zda-li tato houba může být přítomna v mykangiích pilořitky nemohu doložit, ale ani vyloučit.

Kontaminujícími druhy, pocházejícími s povrchu imág, bylo nejčastěji *Penicillium glabrum* a *P. citrinum*., a některé další druhy penicilií (Tab. 17 a 18).

### **5. 3. Ekologická valence izolovaných hub - vztah izolovaných hub k prostředí a piložítce dubové**

Během své práce jsem izoloval a určil celkem 32 druhů hub. Jako každý jiný živý organismus, má i každý druh houby své specifické vazby k okolí. Přizpůsobení pro život v konkrétním prostředí zahrnuje jednak afinitu k určitému typu substrátu, tak i strategii přežití nepříznivých podmínek a způsob šíření na nová místa, se kterou souvisí např. rychlost růstu a množství a charakter produkováných spor.

Hlavními skupinami, které připadají v úvahu v případě xylofágního hmyzu, jsou podle Kirschnera (1998) houby nematopatogenní, entomopatogenní, mykofilní/mykoparazitické, fytopatogenní, entomochorní houby, půdní/ubikvistické houby, kolonizátoři dřeva, kolonizátoři hrabanky, humánní patogeny, a houby nespádající do žádné z předešlých skupin.

Toto třídění má však spíše rámcový charakter, neboť některé druhy hub je možné zařadit do dvou nebo i tří z výše zmíněných skupin.

#### **5. 3. 1. Nematopatogenní houby**

Izolován jeden druh z této skupiny:

*Phaeoacremonium rubrigenum*

Tato houba může být podle literárních údajů (Kirschner 1998) řazena mezi nematopatogenní houby. Hádátka jsem na larvách nebo dospělých koloniích nepozoroval. *P. rubrigenum* se však vyskytovalo se však velmi hojně na povrchu larev piložítky a běžně i na dospělých, a z mých výsledků i z literárních údajů (Kubátová et al. 2004) vyplývá jeho vazba na kambioxylofágní hmyz. Patogenní schopnosti vůči hmyzu nejsou dosud doloženy.

#### **5. 3. 2. Entomopatogenní houby**

Izolován jeden druh z této skupiny:

*Beauveria* sp.

Houby rodu *Beauveria* jsou často zjišťovány jako patogeny hmyzu a jsou používány jako prostředek biologického boje (Weiser 1966) a bývají izolovány i z larev a imág podkorního hmyzu (Kirschner 1994, 1998). Houbu jsem izoloval z odtrženého konce kladélka samice piložítky, a tato situace může naznačovat jak možnost její přítomnosti v mykangiích, tak i způsob šíření v populaci piložitek. Tuto hypotézu by však bylo potřebné doložit dalšími zjištěními této situace.

### 5. 3. 3. Fytopatogenní houby

Izolovány tři druhy zařaditelné do této skupiny.

*Dothiora cannabinae*

*Fusarium* sp.

*Phoma* sp.

Houby rodu *Dothiora* jsou poměrně zřídka izolovány a determinovány. V literatuře jsou druhy tohoto rodu uváděny jako patogenní na různých dřevinách, izolovaný druh konkrétně z lýkovce *Daphne cannabina* (Shoemaker et al. 2003). Houby rodu *Fusarium* a *Phoma* jsou obecně udávány jako patogenní na různých rostlinách (Fassatiová 1979, Domsch et al. 1993, Webster 1980). Houby rodu *Fusarium* bývají nalézány i ve dřevě dubů, patogenní působení houby *Fusarium solani* udává z Maďarska Bohár (1996), zmiňuje její nález v požercích krasců a šíření vaskulárním systémem dubů.

### 5. 3. 4. Entomochorní houby

Byly izolovány tři druhy hub, zařaditelných do této skupiny.

*Daldinia decipiens*

*Entonaema cinnabarina*

*Ophiostoma quercus*

Houby *Daldinia decipiens* a *Entonaema cinnabarina* jsou sice dosud považovány za druhy kolonizující odumřelé dřevo (Stadler et al. 2001, Triebel et al. 2005), avšak v této studii byly zjištěny v mykangiích piložravky dubové (*X. longicollis*), která je prokazatelně zodpovědná za jejich rozšíření do dřeva živých, byť patrně stresovaných a odumírajících dubů. Proto jde o typicky entomochorní houby.

V pracích (Gogola a Chovanec 1987, Kubátová et al. 2004) je zmiňována přítomnost ophiostomatálních hub v souvislosti s bělokazem dubovým (*Scolytus intricatus*). *Ophiostoma quercus* (syn.: *O. querci*) je rovněž uvedena mezi entomochorními houbami (Kirschner 1998). Řadím ji proto do skupiny entomochorních hub, ačkoli může být zařazena též do skupiny kolonizátorů dřeva.

Vazba entomochorních hub a hmyzu je ambivalentní, má svůj význam jak pro houbu, tak i pro hmyz. Hmyz si vazbu k entomochorním houbám upevnil mj. z důvodů potravních, to znamená z nutnosti využít jich k rozkladu celulózy a dalších složek dřeva, a současně i jako vlastní potravu. Uvážíme-li, že anamorfní stadia hub rodu *Ophiostoma* jsou potravou řady

ambroziových brouků, a v mé práci byly dosti početně zjištěny v souvislosti s larvami pilořitky, nelze vyloučit jejich význam pro výživu larev.

### 5. 3. 5. Půdní/ubikvistické houby

Izoloval jsem 20 druhů hub, které jsou buď jednoznačně zařaditelné do této skupiny, anebo pro jejich uvedení v rámci ní svědčí níže zmíněné literární údaje. Jedná se o následující druhy:

*Acremonium curvulum*

*Acremonium* sp. 1

*Aureobasidium pullulans*

*Epicoccum nigrum*

*Mucor circinelloides* f. *lusitanicus*

*Mucor plumbeus*

*Paecilomyces variotii*

*Penicillium brevicompactum*

*Penicillium carneum*

*Penicillium citreonigrum*

*Penicillium citrinum*

*Penicillium corylophilum*

*Penicillium glabrum*

*penicillium minioluteum*

*Penicillium soppii*

*Penicillium spinulosum*

*Penicillium variable*

*Penicillium* sp. 1

*Trichoderma harzianum*

*Umbelopsis isabellina*

Pro druhy uvedené v této skupině je charakteristická vysoká produkce spor a pro většinu z nich i šíření spor vzduchem. Vzhledem k těmto vlastnostem mohou v prostředí jako jsou např. rostlinné zbytky, povrch dřeva a dřevo obecně, půda apod. snadno převládnout a početně dominovat nad druhy hub s jinou strategií. Většina z uvedených druhů je ze dřeva a/nebo ze souvislosti s hmyzem již známa (Novotný 1995, Kirschner 1998, Kolařík 2002).

Nález řady druhů hub rodu *Penicillium* na povrchu imág není překvapivý, avšak pozoruhodné je zjištění, že penicilia byla běžně nalézána na povrchu larev pilořitky, přestože

místo žíru larev je relativně vzdáleno a dlouho izolováno od venkovního prostředí a nekomunikuje s povrchem kmene.

Z výše uvedených druhů je také pozoruhodný hojný nález zygomycetu *Umbelopsis isabelina*, který není příliš často v souvislosti s xylofágním hmyzem udáván. Tato houba byla nalezena v hniјícím dřevě s hnízdem termitů (Watanabe et al. 1998).

### **5. 3. 6. Kolonizátoři dřeva**

Do této skupiny zařazují dva následující druhy:

*Ophiostoma grandicarpum*

*Pleurostomophora ootheca*

*Ophiostoma grandicarpum* byla teprve nedávno hlášena z území našeho státu (Novotný, Šrůtka 2004). Bývá izolována poměrně zřídka, podle mých zkušeností - izoloval jsem ji v předešlých pracích několikrát (Šrůtka 1995) - je to kolonizátor již odumřelého dřeva a kůry dubu. *Pleurostomophora ootheca* je zástupce teprve nedávno popsaného rodu (Vijaykrishna et al. 2004), její nález u nás je ojedinělý. Houby tohoto rodu jsou kolonizátoři odumírajícího a odumřelého dřeva.

### **5. 3. 7. Humánní patogeny**

Izolován jeden druh:

*Geotrichum candidum*

Tato kvasinka bývá zjišťována na substrátech s obsahem tuku a bílkovin (např. kaseinu a keratinu) a je znám dostatek případů, kdy byla nalezena jako kožní patogen lidí (Fassatiová 1979).

### **5. 3. 8. Houby nezařaditelné do předchozích skupin**

Izolován jeden druh

*Phialocephala fortinii*

Tato houba je známa jako endofyt v kořenech různých rostli, jak dřevin tak i bylin, a to především v chladných a boreálních oblastech. S kořeny některých z nich tvoří tzv. „pseudomykorhizy“ anebo mykorhizy erikoidního typu, bývá nalézána i v souvislosti s rostlinami netvořícími mykorhizy (např. rašeliníky – *Sphagnum* spp.) (Hambleton et al. 2003, Grünig 2003). Příčinou této relativně široké valence je nesporně polyfyletický charakter tohoto druhu.

Nález této houby ve dřevě odumřelého dubu a současně v souvislosti s hmyzem je poněkud atypický a ojedinělý.

## **5. 4. Popis a dokumentace izolovaných druhů hub**



## 5. 5. Druhy hmyzu, vycované ze dřeva dubů, kolonizovaných pilořitkou dubovou

Inkubace vzorků dřeva je snadnou a velmi efektivní metodou pro studium biodiverzity organismů, obývajících tuto niku. Množství zjištěných druhů hmyzu a obecně členovců bývá velké a je možné je prakticky rozdělit podle životní strategie a potravní specializace v rámci jejich životního prostředí – dřeva.

Základní skupinou jsou primární konzumenti – xylofágové, kambiofágové a kortikofágové. Spolu s nimi zde žijí mykofágové, živící se houbami kolonizujícími dřevo a komensálové, živící se detritem a exkrementy, produkovanými ostatními obyvateli této niky.

Odvozenými skupinami, závislými na výše zmíněných, jsou predátoři, parazité a parazitoidi.

Tabulka č. 11

Přehled kambioxylofágních druhů hmyzu zjištěných na lokalitě Bačov		
Řád	Druh hmyzu	stupeň výskytu
Lepidoptera	<i>Dafa formosella</i>	hojný
	<i>Schiffermülleria schaefferella</i>	hojný
Hymenoptera	<i>Xiphydria longicollis</i>	velmi hojný
Coleoptera	<i>Plagionotus arcuatus</i>	velmi hojný
	<i>Plagionotus detritus</i>	hojný
	<i>Phymatodes testaceus</i>	hojný
	<i>Xylotrechus antilope</i>	velmi hojný
	<i>Clytus tropicus</i>	vzácný
	<i>Mesosa curculionides</i>	vzácný
	<i>Mesosa nebulosa</i>	vzácný
	<i>Saperda scalaris</i>	vzácný
	<i>Leiopus nebulosus</i>	hojný
	<i>Agrilus biguttatus</i>	hojný
	<i>Agrilus sulcicollis</i>	velmi hojný
	<i>Colydium elongatum</i>	vzácný
	<i>Scolytus intricatus</i>	velmi hojný
	<i>Xyleborus monographus</i>	hojný

Části dubových kmenů, které jsem během své práce inkuboval, pocházely ze stromů, které byly ještě minulou sezónou živé a alespoň zčásti olistěné. Vychované druhy hmyzu patří z velké většiny mezi primární kolonizátory odumírajících dubů, to znamená že většina z nich patří mezi tzv. „fyziologické škůdce“ dubu, tedy druhy hmyzu, které jsou schopni způsobit odumření dubů anebo při něm spolupůsobit.

Z tohoto hlediska patří mezi nejnebezpečnější (nejdůležitější) druhy bělokaz dubový *Scolytus intricatus*, krasci *Agrilus sulcicollis* a *Agrilus biguttatus* a pilořitka dubová (*Xiphydria longicollis*). Mezi druhy negativně ovlivňující fyziologický stav dubů patří na druhém místě všichni uvedení tesařici a drtník *Xyleborus monographus*.

Uvedené druhy drobných motýlů a brouk *Colydium elongatum* zdravotní stav dubu příliš neovlivňují, neboť žijí převážně v odumřelých vrstvách dubové borky.

Největší diversita zachycených druhů hmyzu spadala do řádu Hymenoptera (parazitické druhy z podřádu Apocrita). Tyto druhy jsem neurčoval, zaznamenával jsem pouze nálezy blanokřídlých parazitů, náležejících dle literárních údajů (Schimitschek 1974, Eichhorn 1982) jednoznačně k pilořítkám.

Z hymenopter parazitujících pilořitku dubovou mohu potvrdit pouze druh *Aulacus striatus* (Hymenoptera, Aulacidae).

## 6. DISKUSE

### 6. 1. Použité metodické přístupy

Výsledky z kvalitativního hlediska značně ovlivňuje použitá metodika, a to počínaje výběrem a odběrem vzorků, přes jejich inkubaci, způsob izolace hub i možnosti jejich determinace, zejména pak možnosti využít moderních metod analýzy DNA.

#### 6. 1. 1. Odběr a inkubace vzorků

Vzorky byly odebírány převážně na lokalitě Bačov u Velkého Oseka, kde se pilořitky dubové hojně vyskytovaly na dubu letním. Je do jisté míry pravděpodobné, že výsledky by mohly být odlišné, pokud by bylo k dispozici více vhodných lokalit pro odběr vzorků, které by zahrnovaly i další druhy dubů, které pilořitky dubová též kolonizuje (dub zimní a dub šípák). Samotný výběr určitých partií kmene, bez celkové analýzy stromu, neposkytne celistvější údaje o tom, jak jsou pilořitkou využívány různé partie kmene a jaký může být podíl dvou zjištěných mykangiálních druhů hub, zohledníme-li jejich společný rozvoj v jednom napadeném stromu.

Vyšetření vzorků z více lokalit a analýza celého stromu by jistě mohla přinést další zajímavé výsledky.

Inkubace vzorků sice probíhala v podmínkách, kde sice nemohlo ve větší míře dojít k jejich další kontaminaci houbami z místního prostředí, ale nutnost vzorky dále vlhčit, i fakt, že již nebyly vystaveny ani slunečnímu svitu, ani dešti nebo výraznějšímu pohybu vzduchu, musel vyústit v další rozvoj některých druhů hub na inkubovaných vzorcích. Mohlo se tak zvýšit zastoupení těch hub, které rychle rostou a velmi sporulují, to znamená například hub z řádu Mucorales anebo penicilií.

Tento faktor je poměrně nesnadné eliminovat, bylo by to do jisté míry možné při použití dokonalejších chovných zařízení s možností regulace všech charakteristik prostředí, anebo paralelně s pokusy v umělých podmínkách využít také venkovních podmínek, to znamená zaměřit se například na zpracování napadených stromů (až po izolaci hub na umělé půdy) rovnou na venkovní lokalitě, což by bylo možné zajistit využitím předem připravených stojících lapáků.

Z dříve získaných zkušeností (Šrůtka 1995) vím, že v podstatě je možné izolovat mykangiální houbu z čerstvě nakladených vajíček, která lze odebrat ze snůšek pod kůrou. Avšak nalézt takový kmen, kde je právě nakladeno a vajíčka se ještě nevylihla, je víceméně

věcí náhody anebo široce založené přípravy stojících i ležících lapáků, což dnes vzhledem k vlastnictví porostů lze jen obtížně zajistit.

Nutno podotknout, že použití mikrobiologických technik v terénu je velmi náročné na předchozí přípravu a vybavení, a v neposlední řadě také na čas.

### 6. 1. 2. Izolace hub

Domníval jsem se původně, že pomocí dilutivní metody (inokulace suspense spor hub, smytých destilovanou vodou) bude možné zjistit jednak velkou šíři druhového spektra hub a na druhé straně vytipovat podle vyšší frekvence mezi narostlými koloniemi a izolovanými taxony mykangiólní (symbiotické) druhy hub.

Tento předpoklad se v praxi nepotvrdil a to z více důvodů, především proto, že množství druhů hub, smytých s povrchu těla imág je skutečně značné, a stejně tak i počet spor náležejících jednotlivým druhům. Rychlost růstu různých druhů hub na umělém médiu je také různá, a rychle rostoucí druhy (především z rodů *Mucor*, *Penicillium*, *Paecilomyces*, *Fusarium* a *Trichoderma*) přerostou celou plochu misky dřívě, nežli spory jiných hub vyklíčí a utvoří natolik vyvinutou kolonii, aby ji bylo možno odizolovat. Stávalo se, že celá miska byla přerostlá jen jedním druhem houby (např. trichodermou), anebo že miska byla plná drobných kolonií, které však rostly ve směsi (zejména penicilia a kvasinky) a bylo velmi obtížné až nemožné tyto dvě složky oddělit a čistě je odizolovat.

Tuto skutečnost jsem sice záhy zjistil, ale ani později zvolené silnější ředění, ani použití větších misek tento problém neodstranilo, patrně z toho důvodu, že množství spor a jiných propagulí hub je na různých individuích rovněž značně rozdílné, což v důsledku vedlo k situaci, že v některých miskách došlo k minimálnímu nárůstu kolonií, zatímco v jiných, stejně zpracovaných se kolonie překrývaly a vzájemně přerůstaly. Navíc jsem mezi izoláty neobjevil žádný, který by podle literárních údajů mohl patřit houbám, které jsou u pilořítek považovány za symbiotické.

Přestože samice pilořítek mají mykangia plná propagulí symbiotických hub, jsou tato dobře skryta a účinně uzavřena, takže během dilutivního procesu (třepání imág ve 2 ml destilované vody) zřejmě nedošlo ani během 40 minut k uvolnění blastospor.

Proto jsem u izolace hub s povrchu těla larev volil jinou metodu, a to inokulaci přímo povrchem těla larvy sterilně vyjmuté ze dřeva. Zde sice již byl nárůst kolonií přehlednější, avšak druhové spektrum hub (především z důvodu výskytu různých druhů rodu *Penicillium*) bylo překvapivě bohaté. I když se podařilo zjistit některé houby z čeledi Xylariaceae (o kterých jsem podle literárních údajů předpokládal, že jsou symbiotické), šlo v podstatě o

nečetné nálezy, takže nebylo možno usoudit, zda je tato izolovaná houba v těsnějším vztahu k larvě pilořitky.

K nálezu symbiotické houby vedla až izolace z odděleného kladélka a z mykangií, které jsem až během této práce na těle pilořitky lokalizoval. Zvážíme-li četnost izolace a místo, odkud pochází inokulum, je mimo jakoukoli pochybnost, že odizolované houby jsou skutečně mykangiální. Izolace z mykangií pilořitky dubové je poměrně snadná, jelikož mykangia jsou dosti velká, po jednoduché operaci i z venku přístupná a většinou obsahují dostatek sekretu s naprosto čistou kulturou symbiotické houby.

### **6. 1. 3. Určování hub**

Vzhledem k tomu, že jsem měl k dispozici pouze základní literaturu k určování nižších hub, doplnil jsem určování hub podle klíčové a srovnávací literatury ještě porovnáním s referenčními kulturami, které jsem získal na specializovaných pracovištích od kvalifikovaných odborníků (Dr. Kubátová – PšF UK, Praha a Dr. Novotný – VÚRV Ruzyně).

K určení houby je nutno odizolovaný taxon nejprve kultivovat, a porovnat jeho růst na různých médiích. Vzhledem k tomu, že jsem používal převážně pouze bramoro-mrkvový agar (PCA), nebylo by bez srovnání s referenčními kulturami možné přiřadit izoláty ke konkrétnímu druhu. Vzhledem k tomu, že tato metoda není zcela standardní, musím připustit možnost omylu, i když tvrdím, že k němu nemohlo dojít často.

Některé izoláty, především mykangiální houby, byly určeny pomocí sekvenování rDNA v laboratoři RNDr. S. Pažoutové v MBÚ ČSAV. Tato metoda nejenže dovoluje s vysokou přesností určit druh houby, ale může ukázat i na možnou existenci blízkce příbuzného taxonu, tedy nového, zatím nerozlišeného druhu.

## **6. 2. Hynutí dubů a olší za účasti pilořitek**

Z literatury jsou známy případy ohniskovitěho nebo dokonce hromadného hynutí dubů v rozsáhlých oblastech (Gogola, Chovanec 1987, Marcu 1966). Ve všech těchto případech byla zjištěna jako jeden z doprovodných druhů hmyzu též pilořitka dubová. Některé dřívější zprávy (Dominik, Starczyk 1989) a nové práce (Kraus 1997, Pavlík 2000) hovoří o případech ohniskovitěho hynutí dubů způsobeného pilořitkou dubovou, o jejím šíření a vzrůstajícím významu. Tito autoři zmiňují i její soužití se symbiotickými houbami, buď zcela chybně

hypotetizují o možném přenosu hub rodu *Ophiostoma*, anebo uvádějí relevantnější převzaté údaje o *Daldinia concentrica*.

Z vlastní zkušenosti i s diskusí s kolegy (Ing. J. Liška, Praha, ústní sdělení) mohu potvrdit značný patogenní význam pilořitek rodu *Xiphodria* na dubech a také na olších. Komplexní výzkum bionomických otázek pilořitky dubové, vztahu hub k tomuto druhu hmyzu a celkových dopadů na napadené duby nebyl dosud proveden, a i tato moje práce osvětluje jen některé dílčí otázky, i když je patrně první prací zaměřenou ke vztahu pilořitky dubové a jí přenášených hub.

Z předložených výsledků přinejmenším vyplývá, že symbiotickými houbami pilořitky dubové mohou být pouze houby z čeledi Xylariaceae, a patrně jen z blízkého příbuzenstva rodu *Daldinia*. Tyto symbiotické houby se po inokulaci během žíru larvy rozrůstají v trachejích napadených dubů (viz obr. 53) a blokují tak vodivé dráhy ve značných částech běli, často až po celém obvodu kmene.

Podle některých výsledků mé předchozí práce (Šrůtka 1995) mohu doložit určitý patogenní účinek symbiotických hub pilořitky dubové vzhledem k hostitelským dřevinám.

Jak tato skutečnost, tak i samotná početnost pilořitky dubové na některých lokalitách (kterou je možno doložit výskytem kmenů s jejími požerky i počtem imág odchovaných z odebraných vzorků) naznačuje, že je příčinou hynutí řady dubů, a to zejména na teplejších lokalitách (podle mého odhadu se jedná o čtvrtinu až třetinu uschlých stromů).

Překvapivě rychlý zánik napadených dubů je možno vysvětlit mimo jiné velmi účinnou metodou inokulace stromů, kdy se vajíčko se symbiotickými houbami dostane do míst vhodných pro rozvoj zmíněných hub a navíc s minimální konkurencí jiných druhů hub i larev jiného hmyzu. Upozorňuji také na skutečnost, že nikdo dosud neověřil toxicitu sekretu, který pilořitka dubová používá pro usnadnění průchodu vajíčka kladélkem, a který patrně má fyto toxické účinky. To dokládá obrázek č. 9a, kde je možno vidět kruhovou lézi kolem snůšky vajíček pilořitky dubové, přičemž tato léze musela vzniknout během krátké doby (byla v ní nalezena ještě nevyhlá vajíčka).

### **6. 3. Neobjasněné otázky vztahu pilořitek rodu *Xiphodria*, jejich symbiotických hub a hostitelských dřevin**

Bionomické studie pilořitek, které žijí na jehličnanech (čeleď Siricidae) osvětlily již do značných podrobností jejich vývoj i symbiotické vztahy. Stalo se tak jen „díky“ tomu, že

některé z nich byly zavlečeny do subtropických a tropických oblastí, kde se velmi škodlivě přemnožily.

Naopak v případě čeledi Xiphydriidae nejsou dosud dořešeny některé základní bionomické otázky, například celková doba vývoje v závislosti na podmínkách prostředí a substrátu, počet vrůstových stupňů, kvalita materiálu vhodného pro kladení, i etologické záležitosti, jako například kde probíhá páření imág, zda a jakou imága přijímají potravu apod. Příčinou je zde patrně skutečnost, že pilořitky rodu *Xiphydria* obecně vzato nebyly dosud příliš hojné, nepočítáme-li případy jejich překvapivého namnožení v souvislosti s hynutím dubů. Nezanedbatelný je také fakt, že k vlnám hynutí dubů docházelo ponejprv v zemích, kde entomologické výzkumy tohoto typu nemají velkou tradici.

Ačkoli mykangia pilořitek rodu *Xiphydria* byla několikrát zjištěna, chybí dosud jejich podrobný anatomický a histologický popis, není známo složení substance, kterou mají samice v mykangiích a ve které si pomnožují symbiotickou houbu, a zejména není znám způsob, jakým si samice naočkují svá mykangia po vylíhnutí z kukly. V případě larev nebylo dosud zjištěno, zda a kde mají samičí larvy nějaké orgány, které by jim zajistily kontinuitu soužití s mykangiální houbou, ačkoli mykangia larev u Siricidů byla již popsána.

Příslušníci čeledi Xiphydriidae žijí jednak po celé Evropě, v Asii, a v Severní Americe. Jejich mykangiální houby nejsou přesně určeny, a dosud ve všech případech se tvrdí, že jejich mykangiální houbou je *Daldinia concentrica*, ovšem vždy chybí její spolehlivá determinace.

V Evropě se velmi vzácně vyskytují xiphydriím blízce příbuzní příslušníci čeledi *Konowia*, o kterých je prakticky známo pouze to, že existují a jak vypadají, a další skutečnosti jsou téměř nezámé.

Ani u našich dvou nejhojnějších druhů rodu *Xiphydria* není dosud zcela jasné, zda mohou mít jako mykangiální houbu i jiné druhy čeledi Xylariaceae, a zda můj nález dvou druhů hub není v podstatě náhodný.

Vzhledem k polyfagii obou nejhojnějších druhů by bylo potřebné zjistit, zda se uplatňuje jejich symbióza s houbami na všech živných dřevinách, a zda i na nich mají stejné druhy symbiontů. Spektrum symbiotických druhů hub může být rozdílné i v rámci areálu rozšíření těchto pilořitek, jelikož oblast rozšíření jak *X. longicollis*, tak zejména *X. camelus* je velmi rozsáhlá a sahá od krajín subpolárních až k subtropickým.

Podle analogie s pilořitkami čeledi Siricidae a podle mých pozorování (Šrůtka 1995) lze předpokládat, že larva pilořitky dubové se celý první instar živí myceliem symbiotické houby, a bylo by možné (za předpokladu založení umělých chovů) porovnat nutriční význam

různých druhů hub, například často zmiňovaných ophiostom s houbami mykangiálními. Tím by bylo možno s konečnou platností potvrdit nebo vyloučit těsnější vztah piložitek k tomuto tolik diskutovanému rodu askomycetů.

Pozoruhodná je též zjištěná skutečnost výskytu houby *Entonaema cinnabarina* mimo známou oblast jejího areálu. Zde by bylo potřebné objasnit, jaký je vlastně areál jejího rozšíření a zda v oblastech, kde nejsou nalézány plodnice, závisí jejich šíření skutečně pouze na jejích hmyzích přenašečích.



## 7. ZÁVĚR

Cíle práce, který jsem si v jejích počátcích vytknul, se mi podařilo dosáhnout. Vyšetřením mykobioty doprovázející piložitku dubovou během života imág a larev byly zjištěny jak její mykangiální houby, tak i doprovodné druhy hub, a to jak ty těsněji vázané k tomuto druhu hmyzu, tak i druhy související více s prostředím, ve kterém žije.

1. Během své práce jsem použil tři metodické postupy, vedoucí k izolaci hub z piložitky dubové. Dilutivní (smývací) technikou lze skutečně zjistit široké spektrum druhů hub, a bylo by i možné zaměřit tuto metodu izolace specifitěji, např. na pomalu rostoucí druhy s hyalinním myceliem, anebo naopak na houby rodu *Penicillium* a jim blízké. Nalézt touto metodou mykangiální houby je však obtížné až téměř nemožné.
2. Metodou otisku, kterou jsem použil při vyšetřování mykobioty povrchu larev, je již snazší mykangiální houby nalézt a izolovat, ale nikoli v takových proporcích, aby bylo možné s jistotou označit některý izolovaný taxon za houbového symbionta piložitek. Tato metoda však skýtá jistou naději, pokud budeme hledat místo, kde na svém těle larvy piložitek symbiotické houby nesou.
3. Metoda přímé izolace hub z mykangií přináší přesvědčivé výsledky, v případě piložitek je relativně snadná, neboť mykangia jsou po jednoduché operaci zvenku přístupná a dostatečně velká. V mykangiích ve většině případů je dostatek propagulí symbiotické houby (zjištěno dva až dvacet miliónů částic). Získané výsledky nastolují další otázky, související jak s životem piložitky dubové, tak i s jejími houbovými symbionty.
4. Houby, které piložitky rodu *Xiphidria* využívají jako symbiotické, jsou zástupci rodu *Daldinia* a blízce příbuzných rodů. Daldinie v tomto smyslu zmiňují již Cartwright (1938) a Francke-Grosmannová (1967) avšak bez dalšího taxonomického zpřesnění, které ostatně nebylo v té době ještě možné. Pomocí sekvenování rDNA bylo možno stanovit, že primární symbiotickou houbou piložitky dubové (*Xiphidria longicollis*) je *Daldinia decipiens*, a alternativním druhem, který má v mykangiích menší část samic, je *Entonaema cinabarina*. *D. decipiens* považuji za „primární“ pro její převahu mezi izoláty, i z důvodu recentního zjištění, že je mykangiální houbou těsně příbuzné piložitky, *Xiphidria camelus*. Je ovšem pravděpodobné, že v teplejších nebo naopak chladnějších částech areálu *X. longicollis* může být poměr obou mykangiálních hub odlišný.

Za velmi pozoruhodnou považuji zjištěnou skutečnost, že mykangiálních druhů hub vázaných na pilořitku dubovou je více, a navíc považuji za pravděpodobné, že v rámci jejího areálu výskytu bude možné zjistit i další alternativní druhy mykangiálních hub.

5. Z výše uvedeného vyplývá, že pilořitka dubová může zaměnit svého symbionta za jiný druh. Jelikož jsem prozkoumal dosti podrobně povrchovou mykobiotu imág i larev pilořitek, považuji za silně pochybné, že by pilořitky rodu *Xiphydria* mohly účinně přenášet jiné fytopatogenní houby nežli výše zmíněné druhy mykangiálních hub, a jejich role během zaznamenaných vln hynutí dubů se tudíž poněkud odlišuje od hypotéz, vyslovených příslušnými autory (Marcu 1966, Příhoda 1991, 1994 a, 1994b, Dominik, Starczyk 1989), kteří předpokládali přenos spor hub rodu *Ophiostoma*. Nepovažuji za možné, že by jejich mykangiální houbou mohly být jiné houby nežli zástupci čeledi Xylariaceae, a uvažovaná možnost přenosu hub ophiostomatálních je zhora vyloučená. Postřeh, že se pilořitky rodu *Xiphydria* mohou významně podílet na hynutí dubů je však zcela pravdivý.
6. „Sekundární“ mykangiální houba, *Entonaema cinnabarina*, není z území české republiky známa. Vzhledem k běžnému výskytu pilořitky dubové je velmi pravděpodobné, že se u nás vyskytuje ve dřevě dubů, avšak netvoří plodnice. Předpokládám, že právě tato houba může být jednou z příčin ohniskovitěho nebo i „hromadného“ hynutí dubů. Je však dosud otázkou, jaké jsou její skutečné patogenní vlastnosti. Na tuto otázku by mohlo nepřímou odpověď zjištění, jaké jsou relativní proporce mezi oběma nalezenými mykangiálními houbami v populaci samic pilořitky dubové a jak hojně se ve dřevě hynoucích dubů in situ tyto houby vyskytují.

Z hlediska biologie hub by bylo zajímavé objasnit, zda za šíření druhu *Entonaema cinnabarina* mimo známý areál jejího výskytu jsou zodpovědné skutečně pouze pilořitky rodu *Xiphydria*, a že tato skutečnost nesouvisí s jejím šířením jiným způsobem.

## 8. LITERATURA

- Aanen D. K., Boomsma J. J. (2005): Evolutionary Dynamics of the Mutualistic Symbiosis between Fungus-Growing Termites and *Termitomyces* Fungi. In: Vega F. E., Blackwell M., (eds.): Insect - Fungal Associations, Ecology and Evolution. Oxford University Press, Oxford, pp. 191-210
- Aanen D. K., Eggleton P., Rouland-Lefèvre C., Guldberg-Froslev T., Rosendahl S., Boomsma J. J. (2002): The Evolution of Fungus-growing Termites and their Mutualistic Fungal Symbionts. PNAS, vol. 99, no. 23, pp. 14887-14892
- Ashe J. S. (1984): Major Features of the Evolution of Relationships Between Gyrophaenine Staphylinid Beetles (Coleoptera: Staphylinidae: Aleocharinae) and Fresh Mushrooms. In: Wheeler Q., Blackwell M. (eds.): Fungus-Insect Relationships. Columbia Univ. Press, New York, pp. 227-255
- Barnett H. L. (1955): Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Burges Publishing, Minneapolis, pp. 1-218
- Barras S. J., Perry T. J. (1972): Fungal Symbionts in the Prothoracic Mycangium of *Dendroctonus frontalis* (Coleoptera: Scolytidae). Zeitschrift für Angewandte Entomologie 71, pp. 95-104
- Batra L. R. (1963): Ecology of Ambrosia Fungi and their Dissemination by Beetles. Transactions of the Kansas Academy of Science 66, pp. 213-236
- Batra L. R., Batra S. W. T. (1979): Termite - Fungus Mutualism. In: Batra L. R. (ed.) Insect-Fungus symbiosis, proceedings of a symposium organized and sponsored by the Second International mycological Congress, August 27-September 3, 1977, Tampa, Florida, pp. 117-163
- Beaver R. A., 1987: Insect - Fungus Relationship in the Bark and Ambrosia Beetles. In: Insect - Fungus Interactions. Wilding N., Collins N. M., Hammond P. M., Webber J. F. (eds.), pp. 121-143
- Berryman A. A. 1987: Adaptive Pathways in Scolytid - Fungus Association. In: Insect - Fungus Interactions. Wilding N., Collins N. M., Hammond P. M., Webber J. F.(eds.) pp. 145-159
- Bisett J. (1984): A revision of the genus *Trichoderma*. I. Section Longibrachiatum sect. Nov. Canadian Journal of Botany, vol. 62, pp. 924-931

- Bisett J. (1991a): A revision of the genus *Trichoderma*. II. Infrageneric classification. Canadian Journal of Botany, vol. 69, pp. 2357-2372
- Bisett J. (1991b): A revision of the genus *Trichoderma*. III. Section *Pachybasium*. Canadian Journal of Botany, vol. 69, pp. 2373-2417
- Bisett J. (1991c): A revision of the genus *Trichoderma*. IV. Additional notes of section *Longibrachiatum*. Canadian Journal of Botany, vol. 69, pp. 2418-2420
- Bondrup-Nielsen S. (2005): The Forked Beetle as a Model System in Ecology. Arthropods of Canadian Forests nr. 1, April 2005, Canadian Forest Service, pp. 8-12
- Bohár G. (1996): *Fusarium solani* as a cause of vessel discoloration in declining oak. Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica 31: 205-211
- Boysen M., Skouboe P., Frisvad J., L Rossen L. (1996): Reclassification of the *Penicillium roqueforti* group into three species on the basis of molecular genetic and biochemical profiles. Microbiology, 142: 541-549.
- Bruns T. D. (1984): Insect Mycophagy in Boletales. Fungivore Diversity and the Mushroom Habitat. In: Wheeler Q., Blackwell M. (eds.): Fungus-Insect Relationships. Columbia Univ. Press, New York, pp.91-129
- Buchner P. (1928): Holznahrung und Symbiose. Vortrag gehalten auf dem X. Internationalen Zoologentag zu Budapest am 8. september 1927. Springer Verlag, Berlin, pp. 1-64
- Bultman T. L., Welch A. M. (2000): The cost of mutualism in fly-fungus interaction. Oecologia, 124: 85-90
- Cartwright K. S. G. (1938): A further note on fungus association in the Siricidae. Ann. Appl. Biol. 25, pp. 430-432
- Cassier P. , Lévieux J., Morelet M., Rougon D. (1996): The Mycangia of *Platypus cylindrus* Fab. And *P. oxyurus* Dufour (Coleoptera: Platypodidae). Structure and Associated Fungi. J. Insect Physiol, Vol. 42, No.2, pp. 171-179
- Currie, C. R., Bot A. N. M., Boomsma J. J. (2002): Experimental Evidence of a Tripartite Mutualism: Bacteria protect Ant Fungus Gardens from Specialized Parasites. Oikos, 101: 91-102
- Dominik J. Starczyk J. R.(1989): Owady niczace drewno. Panstwowe Wydawnictwo Rolnicze i Lesne, Warszawa, pp. 1-524
- Domsch K. H., Gams W. (1993): Compendium of Soil Fungi, Volume 1. IHW-Verlag, pp. 1-860
- Doskočil J. et all (1977): Klíč zvířeny ČSSR, Díl V - Dvoukřídlí. ČSAV, Praha, pp. 1-373

- Dowding P. (1984): The evolution of insect-fungus relationship in the primary invasion of forest timber. In: Invertebrate - Microbial Interactions, Joint symposium of British Mycological Society and The British Ecological Society, Exeter, september 1982. Cambridge University Press, London, pp. 133-153
- Eichhorn O. (1982): Familienreihe Siricoidea. In: Schwenke w. et al.: Die Forstschädlinge Europas, IV. bd. P. Parey, Hamburg und Berlin, pp. 196-231
- Farrell B. D., Sequeira A. S., Meara B. C. O., Normark B. B., Chung J. H., Jordal B. H. (2001): The Evolution of Agriculture in Beetles (Curculionidae: Scolytinae and Platypodinae). *Evolution* 55, pp. 2011-2027
- Fassatiová, O. (1979): Plísně a vláknité houby v technické mikrobiologii. SNTL, Praha pp.1-211
- Fernández-Marín H., Zimmerman J. K., Weislo W. T. (2003): Nest-Founding in *Acromyrmex octospinosus* (Hymenoptera, Formicidae, Attini): Demography and Putative Prophylactic Behaviors. *Insect. Soc.* 50: 304-308
- Francke-Grosmann H. (1939): Über das Zusammenleben von Holzwespen (Siricidae) mit Pilzen. *Zeitschrift für Angewandte Entomologie* 25, pp. 647-680
- Frank J. H., Stansly P. A. (2004): Eumicrota and Phanerota (Coleoptera: Staphylinidae: Aleocharinae) Attacking Cultivated Mushrooms in Florida. *Florida Entomologist* 87 (2), pp. 237-240
- Gilbertson R. L. (1984): Relationship Between Insects and Wood-Rooting Basidiomycetes. In: Wheeler Q., Blacwell M. (1984): *Fungus - Insect Relationships*. Columbia university Press, New York, pp. 130-165
- Giménez R. A., Etiennot A. E. (2003): Host range of *Platypus mutatus* (Chapuis, 1985) (Coleoptera: Platypodidae). *Entomotropica*, Vol 18 (2), pp. 89-94
- Gogola E., Chovanec D. (1987): Podkôrník dubový a tracheomykóza dubov. Vyd. Videopress Mon a MLVH SSR, Bratislava
- Grünig Gh. R. (2003): Population biology of the tree-root endophyte *Phialocephala fortinii*. Dissertation, Swiss Federal Institute of Technology, Zürich, pp. 1-126
- Grylls B. T., Seifert K. A. (1993): A synoptic key to species of *Ophiostoma*, *Ceratocystis* and *Ceratocystiopsis*. In: Wingfield M. J., Seifert K. A., Weber J. F. (eds.), *Ceratocystis and Ophiostoma - taxonomy, ecology and pathogenicity*. St. Paul, pp. 261-268.
- Hall, T. A. (1999): BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.* 41:95-98.

- Hambleton S., A Tsuneda A., Currah R. S. (2003): Comparative morphology and phylogenetic placement of two microsclerotial black fungi from *Sphagnum*. *Mycologia* 95: 959-975.
- Hanlin T. (1990): Illustrated Genera of Ascomycetes. APS Press, st. Paul, Minnesota, pp. 1-263
- Hanski I. (1987): Fungivory. *Fungi, Insect and Ecology*. T. (1990): In: Wilding N., Collins N. M., Hammond P. M., Webber J. F. (eds.): *Insect - Fungus Interactions*. Academic Press, New York, pp. 25-68
- Harrington T. C. (2005): Ecology and Evolution of Mycophagous Bark Beetles and their Fungal Partners. In : Vega F. E., Blackwell M. (eds.): *Insect-Fungal Associations*. Oxford University Press, pp. 257-291
- Hart A. G., Ratnieks L. W. (2002): Waste Management in the Leaf-Cutting Ant *Atta colombica*. *Behavioral Ecology* vol. 13 No. 2: 224-231
- Hartig T. (1844): Ambrosia des *Bostrichus dispar*. *Allg. Forst und Jagdzeitung* (1844): pp. 73-74
- Hijii, N.; Kajimura, H.; Urano, T.; Kinuura, H.; Itami, H., (1991). The mass mortality of oak trees induced by *Platypus quercivorus* (Murayama) and *Platypus calamus* Blandford (Coleoptera: Platypodidae). The density and spatial distribution of attack by the beetles. *Journal of the Japanese Forestry Society*. 73(6): 471-476.
- Hingley M. R. (1971): The ascomycete Fungus, *Daldinia concentrica* as a habitat for Animals. *Journal of Animal Ecology*, 40: 17-32
- Hsieh H. M., Ju Y. -M., Rogers J. D. (2005): Molecular phylogeny of *Hypoxylon* and closely related genera. *Mycologia* 97: 914-923
- Hulcr J. (2003): Kůrovci miláčci evoluce. *Vesmír* 82, pp. 692-696
- Cherrett J. M., Powell R. J., Strandling D. J. (1987): The Mutualism Between Leaf-cutting Ants and Their Fungus. In: Wilding N., Collins N. M., Hammond P. M., Webber J. F. (eds.): *Insect - Fungus Interactions*. Academic Press, New York, pp. 93-119
- Ju Y. M., Vasilyeva L., Rogers J. D. (1999): *Daldinia singularis* sp. Nov. From Eastern Russia and notes on some other taxa. *Mycotaxon* 71: 405-412.
- Ju, Y. M., Rogers J. D, San Martín F. (1997): A revision of the genus *Daldinia*. *Mycotaxon* 61: 243-293.
- Kajimura H. (2000): Discovery of *Mycangia* and *Mucus* in adult Female Xiphydriid Woodwasps (Hymenoptera: Xiphydriidae) in Japan. *Annals of entomological Society of America*, vol. 93, pp. 312-317

- Kalina V. (2000): Entomologie. ČZU, Praha, skriptum, pp. 1-140
- Kirk P. M., Cannon P. F., David J. C., Staplers J. A. (2001): Ainsworth and Bisbys Dictionary of Fungi. CAB International, Egham, pp. 1-616
- Kirschner, R. (1994): Mit Borkenkäfern assoziierte Pilze. Diplomarbeit, Univ. Tübingen, pp. 1-148
- Kirschner R. (1998): Diversität mit Borkenkäfern assoziierter filamentöser Mikropilze. Disertation, Univ. Tübingen, pp. 1-575
- Knutsen H., Rukke B. A., Jorde P. E., Ims R. A. (2000): Genetic differentiation among populations of the beetle *Bolitophagus reticulatus* (Coleoptera: Tenebrionidae) in a fragmented and continuous landscape. *Heredity* 84, pp. 667-676
- Kolařík M, Kubátová A., Pažoutová S., Šrůtka P. (2004): Morphological and molecular characterisation of *Geosmithia putterillii*, *G. pallida* comb. nov. and *G. flava* sp. nov., associated with subcorticolous insects. *Mycol. Res.* 108 (9): 1053–1069.
- Kolařík, M. (2002): Ekologie a taxonomie hypokreálních zástupců rodu *Geosmithia*. Diplomová práce, PšF UK, Praha, pp. 1-152
- Komonen A., Kouki J. (2005): Occurrence and abundance of fungus-dwelling beetles (Ciidae) in boreal forests and clearcuts: habitat associations at two spatial scales. *Animal Biodiversity and Conservation* 28.2 (2005), pp. 137-147
- Kraus M. (1997): Zur verbreitung und Lebensweise der Eichenschwertwespe *Xiphydria longicollis* (Geoffroy, 1785) in Bayern (Hym.: Symphyta, Fam. Xiphydriidae). *Galathea* 13/3, Berichte des Kreises Nürnberger Entomologen, pp. 89-106
- Kreisel, H. (1972): Pilze aus Pilzgärten von *Atta insularis* in Kuba. *Allg. Mikrobiol.* 12: 643-654
- Kretzer A., Li Y., Szaro T. M., Bruns T. D. (1996): Internal transcribed spacer sequences from 38 recognized species of *Suillus* sensu lato: Phylogenetic and taxonomic implications. *Mycologia* 88(5): 776-785.
- Kubátová A., Kolařík M., Pažoutová S. (2004): *Phaeoacremonium rubrigenum* associated with with bark beetles found in the Czech Republic. *Folia Microbiol., Praha*, 49: 99-104.
- Kubátová A., Kolařík M., Prášil K., Novotný D. (2004): Bark beetles and their galleries: well known niches for little known fungi on the example of *Geosmithia*. *Czech mycology* 56, pp. 1-18

- Kumar S., Tamura K., Nei M. (2004): MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. *Briefings in Bioinformatics* 5: 150-163
- Lawrence J. F. (1974): The Ciid beetles of California. *Bulletin of the California Insect Survey*, vol. 17, Univ. Of California, Berkeley, pp. 1-47
- Liška J. (1999): Lignikolní houby jako potravní substrát motýlů (Insecta: Lepidoptera). *Sborník referátů z konference "Houby a les" (3. - 5. června 1999)*, vyd. MZLU Brno, pp. 63-66
- Madden J. L., Coutts M. P. (1979): The Role of Fungi in the Biology and Ecology of Woodwasps (Hymenoptera: Siricidae). In: *Batra L. R. (ed.) Insect-Fungus symbiosis, proceedings of a symposium organized and sponsored by the Second International mycological Congress, August 27-September 3, 1977, Tampa, Florida*, pp. 165-174
- Madden J. L. (1980): *Sirex* in Australasia. In: *Berryman A. A. (ed.) Dynamics of Forest Insect Populations*. Plenum Press, New York and London, pp. 408-429
- Marcu G. (1966): Studiul cauzelor si al metodelor de prevenire si combatere a uscarii stejalurui. *Centrul de documentare tehnica pentru economia forestiera, Bucuresti*, p. 1-582.
- Martin M. M. (1991): The evolution of cellulose digestion in insects. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*. Vol. 333, pp. 281 - 288
- Mueller U. G., Rehner S. A., Schultz T. R. (1998): The Evolution of Agriculture in Ants. *Science*, Vol. 281, pp. 2034-2038
- Nakashima T. (1975): Several types of the Mycetangia Found in Platypoid Ambrosia Beetles (Coleoptera: Platypodidae). *Insecta Matsumurana*, new series 7, September 1975, pp. 1-69
- Nakashima T. (1979): Notes on the time when the new female adults of the ambrosia beetle *Crossotarsus nipponicus* Blandford (Coleoptera: Platypodidae) harvest their symbiotic fungi into their mycetangia. *Insecta Matsumurana*, new series 17, December 1979.
- Newton A. F. (1984): Mycophagy in Staphylinoidea (Coleoptera). In: *Wheeler Q., Blackwell M. (eds.): Fungus-Insect Relationships*. Columbia Univ. Press, New York, pp. 302-353
- Novotný D. (1995): Příspěvek k poznání mykoflóry kořenů dubů postižených onemocněním s tracheomykózními příznaky. *Diplomová práce, PřF UK, Praha*, pp. 1-157
- Novotný D., Šrůtka P. (2004): *Ophiostoma stenoceras* and *O. grandicarpum* (Ophiostomatales), first records in the Czech Republic. *Czech Mycology* 56 (1-2), pp. 19-32



- O'Donell K. (1996): Progress towards a phylogenic classification of *Fusarium*. *Sydowia* 48 (1), 57-70
- Pádr Z. (1990): Faunistic records from Czechoslovakia. *Acta Entomologica Bohemoslovaca*, 87: 396-398
- Pádr Z. (1993): Faunistické studie výskytu blanokřídlého hmyzu (Hymenoptera) v jižních Čechách; historie a současnost.. Sborník Jihočeského musea v Českých Budějovicích, Přírodní vědy, 33: 71-78
- Paine T. D., Raffa K. F., Harrington T.C. (1997): Interactions Among Scolytid Bark Beetles, Their Associated Fungi, and Live Host Conifers. *Annual Review of Entomology*, 42: 179-206
- Parkin E. A. (1941): Symbiosis in larval Siricidae. *Nature (London)*147, p.329
- Parkin E. A. (1942): Symbiosis and Siricid woodwasps. *Ann Appl. Biol.* 29, pp. 268-274
- Patočka J. (1985): K bionómii a lesníckemu významu podkôrnika dubového. *Zprávy lesnického výzkumu* 30, pp. 17-21
- Patočka J., Krištín A., Kulfan J., Zach P. (1999): Die Eichenschädlinge und ihre Feinde. Institut für Waldökologie der Slovakischen Akademie der Wissenschaften, Zvolen, pp. 1-396
- Pavlík, Š. (2000): K výskytu a ekológii píllovky *Xiphydria longicollis* Geoffr. (Hym.: Xiphydriidae) v dubových lesoch. In Hlaváč P., Reinprecht L., Gáper J. : Ochrana lesa a lesnícka fytopatológia, medzinárodná konferencia venovaná životným jubileám prof. Ing. Jozefa Kodríka, CSc. a Ing. Karola Vaníka, CSc. Technická universita vo Zvolene, Zvolen - Sielnica, pp. 173-179
- Payton, I. J. (1989). Fungal (*Sporothrix*) induced mortality of kamahi (*Weinmannia racemosa*) after attack by pinhole borer (*Platypus* spp.). *New Zealand Journal of Botany* vol 27, pp. 359-368
- Pfeffer A. (1994): Zentral- und westpalearktische Borken- und Kernkäfer. *Entomologica Basiliensia* 17, (1994) Basel, pp. 1-310
- Pfeffer A., Příhoda A. (1950): Vztah mezi kůrovci a houbami. *Ochrana rostlin* 23, pp. 115-127
- Pitt, J. I. (1991): A Laboratory Guide to Common *Penicillium* Species. CSIRO Division of Food Research, North Ryde, Australia, pp. 1-187
- Příhoda A. (1991): Sukcese zkázy. *Vesmír* 70, pp. 623-624
- Příhoda A. (1994a): Hynutí bříz. *Ochrana přírody* 49, pp. 45-46
- Příhoda A. (1994b): Grafióza dubu. *Vyd. Český ústav ochrany přírody, Praha*, pp. 1-50

- Rawlins J. E. (1984): Mycophagy in Lepidoptera. In: Wheeler Q., Blackwell M. (eds.): Fungus-Insect Relationships. Columbia Univ. Press, New York, pp. 382-423
- Samson R. A., Pitt J. I. (2000): Integration of Modern Taxonomic Methods for *Penicillium* and *Aspergillus* Classification. Harwood Academy Publishers, pp. 1-510
- Shaw P. J. A. (1992): Fungi, Fungivores and Fungal Food Webs. In: Carol G. C., Wicklow D. T. (eds.): The Fungal Community, its Organization and Role in the Ecosystem. Dekker, New York, pp. 295-310
- Shoemaker R. A., Holm L., Eriksson O. E. (2003): (1594) Proposal to conserve the name *Dothidea* with a conserved type (Fungi: Dothideomycetes). Taxon 52, pp. 623-625
- Schimitschek E. (1974): Beiträge zur Ökologie von Nadelbaum- und Laubbaum Holzwespen (Hymenoptera, Siricidae). Zeitschrift für Angewandte Entomologie 75: 225-247
- Schultz T. R., Mueller U. G., Curie C. C., Rehner S. A. (2005): Reciprocal Illumination: A comparison of Agriculture in Humans and in Fungus-Growing Ants. In : Vega F. E., Blackwell M., (eds.): Insect - Fungal Associations, Ecology and Evolution. Oxford University Press, Oxford, pp. 149-190
- Six D. (2003): Bark Beetle-Fungus Symbioses. In: Bourtzis K., Miller T. A. (eds.): Insect Symbiosis. CRC Press, London, pp. 97-114
- Slabý, O (1947): O ambroziových plísních. Lesnická práce 26, pp. 375-381
- Solheim H. (1991): Ecological aspects of fungi associated with the spruce bark beetle *Ips typographus*, with special emphasis on fungal invasion of Norway spruce sapwood and the role of the primary invader *Ophiostoma polonicum*. Dr. Agric. Thesis, Norwegian Forest Research Institute, pp. 1-136
- Solheim H. (1992): The early stages of fungal invasion in Norway spruce by the bark beetle *Ips typographus*. Can. J. Bot 70, pp. 1-5
- Stadler M., Baumgartner M., Wollweber H., Ju Y. -M., Rogers J. D.(2001): *Daldinia decipiens* sp. nov. and notes on some other European *Daldinia* spp. inhabiting Betulaceae. Mycotaxon 80: 167-177
- Stadler M., Ju Y. -M., Rogers J. D. (2004): Chemotaxonomy of *Entonaema*, *Rhopalostroma* and other Xylariaceae. Mycol Res. 108: 239-56.
- Stilwell M. A. (1965): Hypopleural organs of the woodwasp larva *Tremex columba* (L.) containing the fungus *Daedalea unicolor* Bull. Ex Fris. Can. Entomol. 97, pp. 783-784
- Ševčík J., Papp L. (2004): Bolitophilidae (Diptera) from Taiwan. A Family New to the Oriental Region. Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae 50, pp.55-62

- Šrůtka P. (1995): Role hmyzích vektorů. Dílčí závěrečná zpráva výzkumného projektu č. 329-91-9106 „Odumírání dubů a dalších dřevin v lesních porostech s příznaky tracheomykózního onemocnění“. VÚLHM Jíloviště - Strnady, pp. 1-25
- Šrůtka P. (1996): Přenos spor hub kůrovci rodu *Scolytus* se zřetelem k bělokazu dubovému (*Scolytus intricatus* Ratz.). Lesnictví - Forestry, 42, pp. 510-517
- Thunes K. H., Midtgaard F., Gjerde I. (2000): Diversity of Coleoptera of the bracket fungus *Fomitopsis pinicola* in a Norwegian spruce forest. Biodiversity and Conservation 9: 833-852
- Triebel D., Peršoh D., Wollweber H., Stadler M. (2005): Phylogenetic relationships among *Daldinia*, *Entonaema*, and *Hypoxyton* as inferred from ITS nrDNA analyses of Xylariales. Nova Hedwigia 80: 1-2, pp.25-43
- Urban J., (1997): Pilořitky – vážní techničtí škůdci dřeva. Truhlářské listy 4 (5) pp. 25-28
- Van Borm S., Billen J., Boomsma J. (2002): The Diversity of Microorganisms Associated with *Acromyrmex* Leafcutter Ants. BMC Evolutionary Biology, [www.biomedcentral.com/1471-2148/2/9](http://www.biomedcentral.com/1471-2148/2/9), pp. 1-5
- Vellinga E. V. (2004): The Biggest Mushroom? Mycena News, The mycological Society of San Francisco, vol. 56, pp. 1-3
- Vijaykrishna D., Mostert L., Jeewon R., Gams W., Hyde K. D., Crous P. W. 2004: *Pleurostomophora* (Calosphaeriales), a new anamorph genus morphologically similar to *Phialophora*. Studies in mycology 50: 387-395
- Villesen P. (2001): Mating System Evolution, Worker Reproduction and Symbiont Diversity in Attine Ants. Ph.D. thesis, Institute of biological Sciences, Department of Ecology and Genetics, the Faculty of natural Sciences, University of Aarhus. Pp. 1-114
- Villesen P., Mueller U. G., Schultz T. R., Adams R.M.M., Bouck A. C. (2004): Evolution of Ant-Cultivar Specialization and Cultivar Switching in *Apterostigma* Fungus-Growing Ants. Evolution 58(10), pp.2252-2265
- Watanabe T., Watanabe Y., Fukatsu T., Kurane R. (1998): *Mortierella isabelina* and *M. lignicola* from decayed wood with termite nests in Yakushima, Japan. Mycoscience 39: 475-476
- Webber J. F., Brasier C. M., 1984: The Transmission of Dutch Elm Disease: A Study of the Process Involved. In: Invertebrate - Microbial Interactions, Joint symposium of British Mycological Society and The British Ecological Society, Exeter, September 1982. Cambridge University Press, London, pp. 271-306

- Weber N. A. (1979): Fungus-Culturing by Ants. In: Batra L. R. (ed.): Insect-Fungus symbiosis, proceedings of a symposium organized and sponsored by the Second International mycological Congress, August 27-September 3, 1977, Tampa, Florida, pp. 77-115
- Webster J. (1980): Introduction to Fungi, second edition. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 1-669
- Weiser J. (1966): Nemoci hmyzu. Academia, Praha, pp. 1 - 534
- Welsh J., McClelland M. (1990): Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. Nucl. Acids Res., 18: 7213-7218
- White T. J., Bruns T., Lee S., Taylor J. W., (1990): Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis M. A., Gelfand D. H., Sninsky J. J., White T. J. (Eds.), PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. Academic Press, New York, pp. 315–322.
- Wood T. G., Thomas R. J. (1987): The Mutualistic Association between Macrotermitinae and *Termitomyces*. In: Wilding N., Collins N. M., Hammond P. M., Webber J. F. (eds.): Insect - Fungus Interactions. Academic Press, New York, pp. 67-92
- Yearian W. C., Gouger R. J., Wilkinson R. C. (1972): Effect of the Bluestain Fungus, *Ceratocystis ips*, on Development of *Ips* Bark Beetles in Pine Bolts. Annals of the Entomological Society of America 65, pp. 481-487