

**Univerzita Karlova v Praze**

**Přírodovědecká fakulta**

**Katedra botaniky**

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



**Karolína Horáková**

# Mikroskopické houby v jeskyních a jiných podzemních prostorech

Microscopic fungi in caves and other underground shelters

Bakalářská práce

Praha, 2011

Školitel: RNDr. Alena Kubátová CSc.

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne 5.5.2011

Karolína Horáková

## **Poděkování**

Děkuji své školitelce RNDr. Aleně Kubátové CSc. za trpělivé vedení práce, podnětné připomínky, za pomoc při vyhledávání literatury a veškeré další poskytnuté rady při vytváření bakalářské práce.

# Mikroskopické houby v jeskyních a jiných podzemních prostorách

## Obsah

1.	Abstrakt.....	5
2.	Úvod.....	6
3.	Jeskyně a další podzemní prostory jako prostředí pro život organismů.....	7
4.	Adaptace hub na chladné podmínky.....	8
5.	Metodika studia diverzity mikroskopických hub v podzemních prostorách.....	9
6.	Diverzita mikroskopických hub v jeskyních a podzemních prostorách.....	12
6.1	Houby v jeskynních sedimentech a půdách ve světě.....	12
6.2.	Houby v jeskynních sedimentech a půdách v České republice a na Slovensku.....	17
6.3	Koprofilní mikroskopické houby.....	19
6.4	Houby v ovzduší jeskyní a podzemních prostor.....	22
6.5	Entomopatogenní mikroskopické houby v podzemních prostorách.....	25
6.6	Houby žijící na netopýrech.....	28
7.	<i>Geomyces destructans</i> a geomykóza.....	29
7.1	Geomykóza.....	29
7.2.	Metodika studia druhu <i>Geomyces destructans</i> .....	29
7.3.	Charakteristika druhu <i>Geomyces destructans</i> .....	30
7.4	Patogeneze geomykózy.....	32
7.5	Rozšíření <i>Geomyces destructans</i> .....	32
7.6	Rozdíly v rozšíření <i>Geomyces destructans</i> .....	35
8.	Závěr.....	36
9.	Seznam literatury.....	37

## **Abstrakt**

Tato bakalářská práce je literární rešerší zabývající se diverzitou mikroskopických hub v jeskyních, popřípadě v podzemních prostorách vytvořených člověkem.

Jeskyně představují unikátní prostředí pro život organismů charakteristické specifickými mikroklimatickými podmínkami a omezeným zdrojem živin. V práci jsem se podrobněji zaměřila na mikromycety, které byly v prostředí jeskyní izolované ze sedimentů, z ovzduší, z mrtvého hmyzu a z exkrementů.

V další části práce se podrobněji věnuji druhu *Geomyces destructans*, který způsobuje u hibernujících netopýřů nemoc zvanou syndrom bílého nosu - geomykózu. Je to problematika, která v poslední době vzbuzuje velkou pozornost vědců z řad mykologů, zoologů i parazitologů.

**Klíčová slova:** mikroskopické houby, jeskyně, netopýři, syndrom bílého nosu (WNS), geomykóza

## **Abstract**

This Bachelor thesis is meant as a literature search concerned with diversity of microscopic fungi in caves, prospectively in underground spaces which were made by humankind.

The caves represent unique environment for living organisms which is characteristic with specific microclimatic conditions and with deficient sources of nutrients. I have concentrated my focus to micromycetes which were isolated from sediments, atmosphere, dead insect and excrements in caves.

The next part of my Bachelor thesis is aimed at species *Geomyces destructans* which causes so called white-nose syndrome illness - geomycosis on hibernating bats. It is an actual problem which interests scientists such as mycologists, zoologists and parasitologists.

**Key words:** microscopic fungi, caves, bats, white-nose syndrome (WNS), geomycosis

## 2. Úvod

Jeskyně představují specifické prostředí pro život organismů, proto je jim věnována velká pozornost ze strany odborníků. Zájem je věnován i studiu diverzity mikroskopických hub v jeskyních. Je to problematika zajímavá pro člověka z několika aspektů, např. pro výskyt hub potencionálně patogenních pro člověka a jiné savce či pro výskyt psychrofilních hub, které mohou mít potenciální biotechnologický význam podobně jako jiné extrémofilní organismy.

Předkládaná rešerše se týká především diverzity mikroskopických hub v jeskyních, jsou však zmíněny i studie, které se zabývaly podzemními prostory uměle vytvořenými člověkem, v nichž panují podobné mikroklimatické podmínky (např. příbramské uranové doly, kamenná podzemní hrobka v Bratislavě či podzemní vodárenský tunel v Bedřichově).

Nejstarší práce zabývající se diverzitou mikroskopických hub, kterou jsem využila v práci, jsou tři díly Biospeleologica (Lagarde, 1913, 1917, 1922), které se zabývaly jeskyněmi či podzemními prostory ve Francii a ve Španělsku.

V průběhu vývoje mykologie se názvy některých hub změnilo, v mé práci uvádím názvy hub v takovém znění, v jakém byly použity v daných studiích.

Cílem mé bakalářské práce je shrnout poznatky o diverzitě mikroskopických hub v jeskyních a přitom se podrobněji zaměřit na výskyt a vlastnosti houby druhu *Geomyces destructans*.

### **3. Jeskyně a další podzemní prostory jako prostředí pro život organismů**

Jeskyně představují ekosystém se zcela specifickým prostředím a podmínkami. Nedostatek světla v podzemních prostorách způsobuje především absenci primárních fotoautotrofů. Je to však spojeno i s poměrně stálou teplotou a vysokou relativní vlhkostí, pomalým prouděním vzduchu a existencí míst s nízkým obsahem kyslíku (Juberthie, 1995).

Každá jeskyně se dá rozdělit do několika odlišných zón, na vchodovou zónu, která je v největším kontaktu s vnějším prostředím, střední zónu s kolísavou teplotou a zónu zůstávající v úplné tmě a s poměrně stálou teplotou (Poulson a White, 1969).

Výše uvedené faktory ovlivňuje např. geografická a geologická poloha, hydrologické a meteorologické poměry, dynamika vnější komunikace, fyzikální, radiologické a chemické parametry. Změny faktorů jsou v jeskyních velmi pozvolné. Teplota vzduchu je závislá na teplotě matečné horniny, výměně vzduchu s okolním prostředím, na změnách relativní vlhkosti a proudění vzduchu. Na relativní vlhkost má vliv zejména obsah vody v horninách a výskyt toků spodní a podpovrchové vody. Relativní vlhkost v jeskyních se většinou pohybuje nad 90 %. Proudění vzduchu v jeskyních zprostředkovává komunikaci s vnějším prostředím a může být tak zdrojem houbových propagulí (Hromas, 2009).

Stabilní životní podmínky v jeskyních umožnily zachování takových druhů, které se v dnešních povrchových ekosystémech a v dané oblasti již nevyskytují (Juberthie, 1995). Množství organismů v podzemních prostorách je nižší než na povrchu, což je důsledek specifických podmínek ovlivňujících organismy a vyžadujících jejich adaptaci. Specifické podmínky navodily u jeskynních organismů řadu přizpůsobení: fyziologická (zpomalení metabolismu, ztrátu denní periodicity), etiologická (změna chování) a morfologická (postupná ztráta pigmentu, redukce zrakových orgánů, rozvoj hmatových i čichových ústrojí a receptorů vlhkosti) (Hromas, 2009).

Všechny jeskyně postrádají zdroj uhlíku z rozkladu rostlinného materiálu, který jinak slouží jako hlavní zdroj živin pro živočichy či saprotrofní organismy žijící na povrchu. Organický materiál pochází v podzemním prostředí zejména z guana a exkrementů netopýrů a dalších živočichů, z jejich mrtvých těl a splachu z povrchu (Nováková, 2004a). Velmi specifickým substrátem jsou jeskynní sedimenty, které mohou mít různé vlastnosti lišící se dle složení, zrnitosti či původu různých částí jeskyně (Nováková, 2008). Dalším zdrojem živin bývá materiál přinesený lidmi, což platí zvláště pro veřejně přístupné jeskyně. Např. ve Zbrašovských jeskyních byla studována textilní vlákna z oděvu návštěvníků jako substrát pro kolonizaci mikroskopickými houbami (Marvanová et al., 1992).

Pro specifické prostředí jeskyní je příznačná menší rozmanitost společenstev než na povrchu, zpomalený životní cyklus a stálost prostředí s pomalými změnami; tím je tento

ekosystém citlivější na každý vnější zásah, který může vést i k nezvratným škodám (Hromas, 2009).

#### 4. **Adaptace hub na chladné podmínky**

Schopnost organismů žít při nižších teplotách se nazývá psychrofylie. Výskyt psychrofilních hub je omezen na chladné habitaty. Vyskytují se v polárních oblastech, v alpinských půdách, na ledových a sněhových polích či v jeskyních (Mueller et al., 2004). Psychrofilní houby mají optimum růstu do teploty 16 °C, rostou při teplotě maximálně 20 °C. Oproti tomu psychrotolerantní houby mají obecně optimum růstu nad 20 °C (Gounot, 1986).

Se schopností vyvíjet se v chladných teplotách jsou spojeny některé adaptace, např. buněčných membrán. U psychrofilních hub obsahují buněčné membrány vyšší podíl nenasycených mastných kyselin, čímž jsou více fluidní (Gounot, 1986). Dexter a Cooke (1984) zjistili, že psychrofilní druh *Mucor strictus* má při klesající teplotě větší podíl nenasycených řetězců mastných kyselin v porovnání s mezofilními zástupci rodu *Mucor*.

Nízké teploty jsou spojené s vodním stresem, proto vznikají v buňkách látky, které mohou tento stres kompenzovat. Např. v cytosolu vzniká disacharid trehalosa, která stabilizuje membrány během dehydratace a slouží jako zásoba uhlíku (Jorge et al., 1997). Další látka, která působí při vodním stresu, je např. manitol (polyol) důležitý pro udržení vysokého osmotického tlaku (Lewis a Smith, 1967).

Reakce na stres se mohou u různých druhů hub lišit. Např. Weinstein et al. (2000) studovali rozpustné uhlovodíky a lipidy v houbách izolovaných z Antarktidy, a to u druhů *Humicola marvinii*, *Geomyces pannorum* a *Mortierella elongata*. Při nízkých teplotách druh *Humicola marvinii* hromadil uhlovodíky s kryoprotektivním účinkem (intracelulárně trehalosu a extracelulárně glycerol). Druh *Geomyces destructans* odpovídal na působení nízkých teplot změnou složení lipidů, kdy stoupal počet nenasycených lipidů. U druhu *Mortierella alpina* se vlivem nízké teploty snižuje podíl ergosterolu, zvyšuje se podíl kyseliny stearidonové a množství intracelulární trehalosy při růstu v nízkých teplotách.

## 5. Metodika studia diverzity mikroskopických hub v podzemních prostorách

Studium diverzity mikroskopických hub zahrnuje několik základních kroků: odběr vzorků, izolace hub, identifikace hub a analýza výsledků.

Výsledky týkající se diverzity hub jsou podstatně ovlivněny již způsobem odběru primárních vzorků, např. zvoleným počtem vzorků, rozsahem a délkou odběrového období (Mueller et al., 2004). Jednou z prací, založena na velmi rozsáhlém materiálu, je práce Novákové (2009) zabývající se diverzitou mikromycetů v jeskynním systému Domica, který byl sledován dlouhodobě v průběhu let 2002 až 2007. Hlavní podíl tvořily vzorky sedimentu, ovzduší, guana, exkrementů žízála a stejnonožců. V průběhu studie bylo zjištěno 195 taxonů mikroskopických hub. Další obsáhlou studií je práce Novákové (2008), zkoumající diverzitu hub v sedimentech několika jeskyní ČR a SR. Z jeskyní Slovenska byly vzorky odebírány opakovaně, z českých jeskyní většinou jednorázově. Ze všech jeskyní bylo zaznamenáno celkem 90 druhů hub. Příkladem zahraniční studie může být Grishkan et al. (2004), v níž byla zkoumána diverzita hub v solné jeskyni Arubotaim v Izraeli. Vzorky byly odebírány třikrát během tří let, izolováno bylo 68 druhů hub.

Pro studium diverzity mikromycetů v podzemních prostorách se v základu využívají metody kultivační a molekulární. Jednotlivé metodiky se dále mohou různit dle typu substrátu (jeskynní sedimenty a půda, exkrementy, mrtvý hmyz, ovzduší apod.).

Kultivační metody využívané při studiu diverzity hub v půdách a podobných substrátech jsou shrnuty v práci Mueller et al. (2004). Obecně platí, že kultivačními metodami mohou být zaznamenány houby, které mají spory ve zkoumaném substrátu v životaschopném stavu. Kultivační metody mají však různá omezení. Mohou být izolovány pouze kultivovatelné houby, které jsou schopné vyvíjet se na zvoleném typu živného média při zvolených inkubačních podmínkách (např. teplota). Zvolené medium či kultivační teplota může některé druhy hub zvýhodňovat před jinými, např. silně sporulující a rychle rostoucí druhy rodu *Penicillium*, *Mucor* či *Trichoderma* oproti pomaleji rostoucím druhům, např. *Geomyces destructans*.

Vzorky jeskynních sedimentů jsou většinou zpracovávány zřed'ovací metodou (Nováková, 2004b, 2008, 2009; Volz a Yao, 1991) nebo inokulací malého množství substrátu přímo na izolační medium v Petriho misce (Nováková, 2004b). Jako izolační média se používají např. živné medium s půdním extraktem (SEA) a Sabouraudovo medium (SAB), oba s přídavkem bengálské červeně a chloramfenikolu kvůli potlačení růstu bakterií (Nováková, 2004, 2006, 2009). Jurado et al. (2010) použili pro izolaci hub ze sedimentů živné medium se sladovým extraktem (MEA) s přídavkem nebo bez přídavku bengálské červeně. Orpurt (1964) pro izolaci hub z půdy použil vodní agar obsahující 0,1 % glukózy a 0,01% kvasničného extraktu. Šimonovičová et al. (2004)

použili pro izolaci Czapek-Doxův agar a bramboro-dextrozový agar, agar se sladovým extraktem a glukozové medium s kvasničnýmj extraktem a chloramfenikolem.

Některé studie se zabývaly vlivem extrémního pH na houby, čemuž přizpůsobily i složení medií. Např. Nagai et al. (1998) pro studium alkalifilních a alkalitolerantních hub v japonských jeskyních použili médium s upraveným pH pro dané potřeby. Vzorky půdy byly zpracovány zřed'ovací metodou. Pro kultivaci byl zvolen kukuřičný agar (CMA) a zásaditý kukuřičný agar (ACMA), ve kterém byly navíc 3g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> a 3g Na<sub>2</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O. Misky byly inkubovány při 24 °C po 1 až 3 týdny. Grishkan et al. (2004) studovali mikroskopické houby ze solné jeskyně Arubotaim (Mount Sedom, na jihozápadním pobřeží Mrtvého moře). Vzorky půdy byly zpracovány zřed'ovací metodou. Pro izolaci byly zvoleny 2 typy médií, a to se sladovým extraktem (MEA) a totéž medium s obsahem vody z Mrtvého moře (25 %) a destilované vody. Medium MEA s přidavkem slané vody bylo vhodné pro izolaci a růst halotolerantních a halofilních druhů. K potlačení růstu bakterií byl přidán streptomycin. Inkubace probíhala při teplotě 25 °C ve tmě po dobu 2 týdnů. Pro další kultivaci byly použity agary MEA a MEA s obsahem 20 % slané vody.

K odběru vzorků z ovzduší lze využít sedimentační metodu, tedy expozici Petriho misek s izolačním médiem po různě dlouhou dobu (Marvanová et al., 1992; Kubátová et al., 2005; Nováková, 2009; Wang et al., 2010). Jde o nejjednodušší a často využívanou metodu. Jako izolační medium se používají např. medium s půdním extraktem a glukosou (SEGA) (Kubátová et al., 2005), medium se sladovým extraktem (MEA) (Marvanová et al., 1992; Kubátová et al., 2005), medium s půdním extraktem (SEA) a vodní medium (Marvanová et al., 1992), bramboro-dextrozové medium (PDA) (Wang et al., 2010), Sabouraudovo medium (SAB) s přidavkem bengálské červeně a chloramfenikolu (Nováková, 2004b, 2009).

Nevýhodou sedimentační metody je to, že není možné zjistit přesný počet spor v určitém objemu vzduchu, a opět mohou být zachyceny jen druhy hub schopné růst na zvoleném médiu. Proto jsou při studiu hub vyskytujících se v ovzduší využívány různé typy aeroskopů. Např. Docampo et al. (2011) v jeskyni Nerja (jižní Španělsko) využili k získání spor z ovzduší jeskyně dva volumetrické jímače spor (Hirst-typ) a sedmidenní záznamové zařízení (seven-day recorder).

Houby rostoucí na mrtvém hmyzu v podzemních prostorách jsou studovány přímo z nárostů na hmyzu, a to na základě jejich fenotypových makroskopických i mikroskopických znaků (např. Lagarde, 1913, 1917, 1922) nebo kultivačními metodami. V pozdějších pracích jsou již využívány kultivační techniky spočívající v přenesení spor, sporulujících struktur nebo části mycelia na kultivační médium. Např. Gunde-Cimerman et al. (1998) studovali entomopatogenní houby na rovnokřídlem hmyzu (*Orthoptera*). Pro kultivaci hub použili bramboro-dextrozové medium (PDA), medium se sladovým extraktem (MEA), sladinové medium (beer wort agar,

BWA), ovesný agar (OA) s přidavkem kvasničného extraktu, dodinu a benomylu, medium s kvasničným a sladovým extraktem, chloramfenikolem a ketokonazolem (MYCK) a medium z vaječného žloutku. Kubátová a Dvořák (2005) použili pro izolaci hub na nalezeném mrtvém hmyzu agar se sladovým extraktem (MEA) a bramboro-mrkvový agar (PCA).

Koprofilní houby se mohou zpracovávat podobným způsobem jako houby z půd, tj. zředovací metodou nebo kultivací ve vlhkých komůrkách přímo na exkrementu (Mueller et al., 2004).

Houby jsou kultivovány většinou při teplotě 20 °C až 25 °C. Např. Nováková (2004b, 2006) nejprve izolační Petriho misky inkubovala v 10 °C až 12 °C, izolované houby pak již kultivovala za standardních podmínek (tj. 25 °C).

Identifikace mikroskopických hub je ve většině prací založena na mikroskopických znacích kultivovaných hub. V posledních letech jsou však využívány i metody sekvenace DNA (např. Gargas et al., 2009; Nováková a Kolařík, 2010). V současné době se molekulární metody začínají využívat při studiu diverzity hub v prostředí jako alternativa kultivačních izolačních metod. Např. Jurado et al. (2010) a Vaughan et al. (2011) využili pro studium izolovaných hub DNA-analýzu PCR a DGGE analýzu (denaturing gradient gel electrophoresis) pro zpracování vzorků ze sedimentu. Lindner et al. (2011) použili molekulární metody (analýzu rRNA) pro detekci houby *Geomyces destructans* přímo v půdních vzorcích.

Posledním krokem studia mikroskopických hub je analýza výsledků. Mnoho autorů uvádí výčty zachycených druhů se zaznamenanou frekvencí výskytu (tj. výsledky týkající se primární diverzity). Ve studiích se využívají i statistické metody. Např. Hsu a Agoramoorthy (2001) použili Spearmanův korelační test pro porovnání získaného počtu propagulí hub z jednotlivých jeskyní. Docampo et al. (2011) použili také Spearmanův korelační test, kterým zkoumali úroveň shody koncentrace spor získaných dvěma volumetrickými přístroji. Wang et al. (2010) použili pro zjištění závislosti vztahu mezi houbami v ovzduší a environmentálními parametry Pearsonův korelační test.

## 6. Diverzita mikroskopických hub v jeskyních a podzemních prostorách

### 6.1 Houby v jeskynních sedimentech a půdách ve světě

Jeskynní sedimenty představují specifický substrát s rozmanitým složením, zrnitostí i původem v různých částech jeskyně v závislosti na způsobu vytváření jeskynních prostor či výskytu vodních toků. V jeskyních bývá materiál transportován horizontálním i vertikálním směrem. Z geologického hlediska lze v jeskyních najít klastické i chemické sedimenty. Na vzniku chemických sedimentů se podílejí chemické reakce (např. vysrážení z roztoků) a fyzikálně-chemické procesy (např. změny tlaku a teploty). Klastické sedimenty se dle původu rozlišují na autochtonní (materiál pochází z jeskyně, např. sedimenty vznikající zvětráváním matečné horniny) a alochtonní (materiál byl do jeskyně transportován, např. fluvialní sedimenty, sedimenty ukládané ze stagnující vody, infiltrační sedimenty, splachové sedimenty) (Hromas, 2009).

Na americkém kontinentě se diverzita hub v jeskyních sedimentech či v půdách studovala na Bahamách (Orpurt, 1964), dále ve dvou státech USA, v Michiganu (Volz a Yao, 1991) a ve West Virginii (Rutherford a Huang, 1994), v portorických jeskyních (Nieves-Rivera, 2003) a v jeskyním systému Kartchner (Vaughan et al., 2011). V Asii byla problematika mikroskopických hub studována ve dvou japonských vápencových jeskyních (Nagai et al., 1998), dále v jižní Indii (Koilaraj et al., 1999), na Taiwanu (Hsu a Agoramoorthy, 2001) a v solných jeskyních v Izraeli (Grishkan et al., 2004). Na evropském kontinentě byly houby ze sedimentů studovány ve Francii a Španělsku (Lagarde, 1913, 1917, 1922), v Itálii (Mosca a Campanino, 1962), ve španělské jeskyni Castanar de Ibor (Jurado et al., 2010) a ve francouzské jeskyni Lascaux (Bastian, 2010).

V nejstarších pracích (Lagarde, 1913, 1917, 1922) nebyly houby zjišťovány kultivačními metodami, ale na substrátech vyskytujících se v půdě či na povrchu půdy. Ve Francii byl na fragmentech kostí zaznamenán druh *Myxotrichum racovitzae* (jeskyně Voleurs) a ve Španělsku (jeskyně Muricets) a druh *Ombrophila speluncarum* (jeskyně Sainte-Marie). Ve Francii byl nalezen na zbytcích dřeva druh *Chaetomium murorum* (jeskyně Sainte-Madeleine) a *Helotium citrinum* (jeskyně Poujade), na zbytcích ohořelé trávy druh *Chaetomium elatum* (jeskyně Favot), na vysušeném oplodí druh *Dasyscypha virginea* (jeskyně Serre). Ve Španělsku byl nalezen na 3 exemplářích větviček druh *Helotium album* (jeskyně Montsant, Cornudella) a na povrchu půdy druh *Pustularia jeannelii* (jeskyně Fornasoz) (Lagarde, 1913). Ve Francii byl zaznamenán na úlomcích kostí druh *Rosellinia aquila* (jeskyně Artigues-vieilles) (Lagarde, 1917). Ve Francii na malých úlomcích kostí byl nalezen druh *Ombrophila janthina* (podzemní prostora) a druh *Hyalinia dilutella* (jeskyně Cestaragne), na zbytcích listů druh rodu *Pirostoma* (jeskyně Tharaux) a na starých fragmentech kůry druh rodu *Sporotrichum* (jeskyně Saint-Léonard) (Lagarde, 1922).

Ve dvou italských jeskyních nacházejících se v Piemontesi na území Přímořských Alp převládaly v půdních vzorcích druhy rodu *Penicillium*. Byl tam hojně nacházen také druh *Mortierella alpina* a druhy rodu *Geomyces*, typické pro jeskynní prostředí (Mosca a Campanino, 1962).

Na Bahamách, na ostrovech Eleuthera byly zkoumány půdní vzorky ve vápencové jeskyni (pH půdy 7,1 až 9,9), kde se vyskytují netopýři (Orpurt, 1964). Z 19 vzorků půdy bylo izolováno 55 druhů hub 30 rodů. S největší frekvencí byly izolovány druhy *Cunninghamella elegans*, *Mortierella* sp., *Aspergillus flavus*, *Aspergillus ustus*, *Penicillium oxalicum*, *Penicillium solitum*, *Verticillium* sp., *Alternaria tenuis*, *Cladosporium herbarum*, *Humicola* sp., *Pycnostysanus* sp., *Graphiothecium* sp., *Fusarium conglutinans*, *Fusarium culmorum*, *Cryptococcus laurenti* (kvasinka) a *Cryptococcus luteolus* (kvasinka). Na výskyt půdních hub mají velký vliv netopýři, kteří zanesou do jeskyně organický materiál, který pak může být zdrojem živin pro houby.

Nejrozsáhlejším krasem v USA je krasová oblast v Michiganu. Volz a Yao (1991) zde zkoumali sedimenty z „Hendrie river water cave“ nanesené podél říčních břehů v jeskyni. V dané jeskyni hibernují netopýři. Bylo odebráno 100 vzorků ze sedimentů během července 1990. Nejčastěji se v sedimentu vyskytovaly druhy *Trichoderma harzianum* (50 %), *Humicola fuscoatra* (45,5 %), *Mucor racemosus* (25 %), *Scopulariopsis brumptii* (25 %), *Aspergillus niger* (10 %) a *Epicoccum nigrum* (10%). Nahromaděný sediment obsahoval dva keratinofilní druhy *Chrysosporium pannorum* a *Trichophyton terrestre* (9,1%).

Rutherford a Huang (1994) se ve West Virginii (stát USA) zabývali studiem hub v sedimentech pěti jeskyní v místech, která jsou vzdálenější od vchodu. Izolovali 35 druhů, 20 rodů. S největší frekvencí byly izolovány druhy *Aspergillus aureolatus*, *Byssochlamys fulva*, *Penicillium steckii*, *Gliocladium roseum*, *Paecilomyces variotii*, *Mortierella alpina*, *Aspergillus caespitosus* a *Fusarium oxysporum*. Po opakovaném odběru uskutečněném po dvou letech byla zaznamenána jiná frekvence hub, dominovaly druhy *Acremonium cerealis*, *Aspergillus versicolor*, *Monocillium humicola*, *Chrysosporium* sp., *Gliomastix murorum*, *Paecilomyces variotii* a *Scolecobasidium constrictum*. Důvodem by mohly být různé procesy, jako např. nános materiálu zvenčí jeskyně způsobený prouděním vzduchu, chování jeskynních živočichů, vertikální rozložení chemického složení půdy a stálých mikroorganismů v půdě. Změny v osídlení půdy mohou být také ovlivněny procesy difuze kyslíku a vysychání substrátu, což může mít vliv na životaschopnost spór.

Nagai et al. (1998) studovali ve dvou japonských vápencových jeskyních houby v půdních vzorcích (pH vzorků 7,7 až 8,8) a jejich vztah k alkalickému prostředí. Odběry byly provedeny jednorázově. Druhy rodu *Chrysosporium* a *Acremonium* se projeví jako alkalifilní (rostly v pH 10, nikoli v pH 5 až 6). Mezi alkalitolerantní houby (rostly při pH 10 lépe než při pH 5) byly

zařazeny druhy *Acremonium furcatum*, *A. strictum*, *Chrysosporium* sp., *Stachybotrys cylindrospora* a *Verticillium tenerum*. Jako alkalifobní houby (nerostly v pH 10) byly identifikovány druhy *Chaetomium* sp., *Cladosporium* sp., *Cylindrocarpon* sp., *Epicoccum nigrum*, *Geomyces pannorum* var. *pannorum*, *Mortierella* sp., *Mucor* sp., *Paecilomyces* sp., *Penicillium* spp., *Pestalotiopsis* sp. *Trichoderma hamatum*, *Trichoderma harzianum* a *Trichoderma* sp.

Koilraj et al. (1999) se zabývali tím, jak se liší druhové složení hub v závislosti na místě odběru půdních vzorků v několika jeskyních v jižní Indii, a to ve vchodové zóně, střední zóně a zóně s absolutní tmou. Teplota a relativní vlhkost ve vchodové a střední zóně kolísaly, v tmavé zóně byla teplota (27 °C) a relativní vlhkost konstantní (95 %). Vzorky byly shromažďovány mezi zářím 1997 a srpnem 1998. Izolovali 35 druhů sporulujících hub (18 rodů) a 7 typů nesporelujících hub. Některé druhy se nacházely jen v jedné vymezené zóně, např. *Aspergillus chevalieri* byl izolován jen z vchodové zóny, *Aspergillus wentii*, *Chrysosporium* sp., *Trichophyton* sp., *Cunninghamella echinulata* a *Syncephalis* sp. jen z tmavé zóny. Ostatní druhy hub byly izolovány ze všech nebo alespoň ze dvou zón. Z vchodové a střední zóny byly izolovány druhy *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus sydowii*, *Aspergillus* sp., *Curvularia brachyspora*, *Geotrichum candidum* a *Mucor* sp., z vchodové a tmavé zóny druhy *Dactyllela* sp., *Humicola* sp., *Trichoderma viride*, ze střední a tmavé zóny druh *Absidia* sp. Ze všech zón byly nejhojněji izolovány druhy *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus fumigatus*, *Curvularia brachyspora*, *Fusarium* sp., *Geotrichum candidum*, *Humicola* sp., *Mycogone* sp., *Penicillium cyclopium*, *Penicillium fellutanum*, *Absidia corymbifera*, *Chaetomium* sp. Spóry hub mohou být vneseny do jeskynních prostor prostřednictvím vzduchu, vody či vnesením organické hmoty podzemními živočichy. Ve vchodové a střední zóně se vyskytoval větší počet druhů hub; může to být způsobeno vyšší teplotou, nižší relativní vlhkostí a dostupností světla. Výskyt netopýrů také může hrát roli v distribuci propagulí hub v jednotlivých částech jeskyně.

Hsu a Agoramoorthy (2001) studovali termofilní houby z nížinného deštného lesa a dvou vápencových jeskyní (vchodová, střední a tmavá zóna) na jihu Taiwanu (Kenting National park). Teplota v okolí jeskyně se pohybovala mezi 29,8 °C (červenec) a 21,5 °C (leden). Vzorky byly sbírány během ledna 2000 na pěti místech každé zóny. Izolovali celkem 11 druhů hub. Pouze ve vchodové zóně jeskyně byly zaznamenány druhy *Talaromyces duponti*, *Humicola lanuginosa*, *Myriococcum albomyces*, *Absidia corymbifera* a *Mucor pusillus*. Ve vchodové a střední zóně byl zaznamenán druh *Byssoschlamys* sp. Ze všech tří zón jeskyně byly izolovány druhy *Aspergillus niger*, *Aspergillus tamarii* a *Aspergillus wentii*.

V Portoriku v jeskynním systému Rio Camuy nacházejícím se v subtropické oblasti bylo izolováno 34 druhů mikroskopických hub z 15 rodů. Jeskyně je částí krasu vymodelovaného

řekou Camuy. V půdě jeskyní byly nejčastěji nalezeny rody *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Trichoderma*, *Paecilomyces*, *Curvularia*, *Gliocladium*, *Hirsutella* a *Sepedonium* (Nieves-Rivera, 2003).

Grishkan et al. (2004) se zabývali druhovým složením mikroskopických hub v Solné jeskyni Arubotaim v Izraeli (Mount Sedom, jihozápadní pobřeží Mrtvého moře). Teplota uvnitř jeskyně byla poměrně stabilní, kolísala mezi 17,9 °C (prosinec) a 25 °C (červenec). Vzorky z jeskyně byly získány v průběhu tří odběrů. Autoři zaznamenali celkem 68 druhů hub, z 28 rodů. Druhově nejpočetnější byl rod *Aspergillus* (16 druhů, např. *A. asperescens*, *A. crustosus*, *A. fumigatus*), zahrnující též anamorfy rodu *Emericella* (1 druh) a *Eurotium* (3 druhy), rod *Penicillium* (9 druhů, např. *P. brevicompactum*, *P. camemberti*, *P. citrinum*, *P. glabrum*) a rod *Chaetomium* (8 druhů, např. *C. bostrychodes*, *C. murorum*). Hojně byly izolovány druhy *Cladosporium cladosporioides*, *C. herbarum* a *Aspergillus niger*.

Ve Francii v přírodní vápencové jeskyni Lascaux známé svými paleolitickými malbami byl roku 2001 zaznamenán neočekávaný růst hub (Bastian et al., 2010). Na stropě a stěnách, ale i v sedimentech byl nejprve pozorován druh *Fusarium solani*. Na jeho odstranění byl použit chemický postřik na ošetření stěn (roztok benzalkonium chloridu se streptomycinem a polymyxinem, opakováno roku 2004). Přesto se později na stěnách objevily tmavé skvrny (2006). Ze skvrn byly izolovány houby rodu *Verticillium* a *Scolecobasidium*. Autoři studie předpokládají, že benzalkonium chlorid či produkty vzniklé jeho degradací poskytly houbám zdroj uhlíku. Vzorky byly odebrány mezi dubnem 2006 a lednem 2007. Ze sedimentu byly často izolovány druhy *Penicillium namyslowskii*, *Aspergillus versicolor*, *Tolypocladium cylindrosporum*, *Tricholoma saponaceum*, *Geomyces pannorum* (dermatofyt), *Engyodontium album*, *Kraurogymnocarpa trochleospora*, *Clavicipitaceae* sp. Ukázalo se, že důležitou roli v disperzi hub hráli členovci.

Jurado et al. (2010) studovali mikroskopické houby ve španělské jeskyni Castanar de Ibor (přístupné návštěvníkům v letech 2003 – 2008). Průměrná roční teplota jeskyně je 15 °C, kolísající mezi 6,6 °C (prosinec) a 26,7 °C (červen), relativní vlhkost osciluje v průběhu roku mezi 69 % a 96 %. Došlo zde k neočekávanému růstu hub na stěnách jeskyně. Byly provedeny 3 odběry vzorků. Jako první se na stěnách a v sedimentu objevily druhy *Mucor circinelloides* a *Fusarium solani*. Po dvou měsících se jejich výskyt v sedimentu snížil na 10% (za jejich pravděpodobný zdroj byly považovány exkrementy hlodavců). V sedimentu se byly zaznamenány další druhy: *Mucor racemosus*, *Fusarium oxysporum*, *Chaetomium globosum*, *Mortierella alpina*, *Hypocrea lixii*, *Aspergillus ustus*, *Paecilomyces lilacinus*, *Cosmospora consors* a *Penicillium* sp. S využitím metody PCR-DGGE byly v sedimentu jako převládající zjištěny kvasinky

*Rhodotorula mucilaginosa* (bazidiomycety), *Trichosporon* sp. a zygomycety *Mortierella alpina* a *Mortierella elongata*.

Vaughan et al. (2011) studovali diverzitu hub v půdě v jeskynním systému Kartchner na území Arizony (stát USA). Vzorky byly sbírány v únoru 2009 z 5 míst jeskynního systému. Bylo zaznamenáno 53 druhů hub. Nejčastěji byly zachyceny druhy rodu *Penicillium*, *Paecilomyces*, *Phialophora* a *Aspergillus*. Houby byly kultivovány a dále studovány PCR analýzou a metodou DGGE.

V téměř všech studiích byly v sedimentech nalezeny druhy rodu *Penicillium*, které patří mezi nejběžnější saprotrofní houby s celosvětovým rozšířením, převažující hlavně v mírném pásmu (Domsch et al., 2007). Druhy rodu *Aspergillus* také patří mezi běžné saprotrofní houby, zejména v teplejších oblastech. *Aspergillus* spp. jsou běžně zaznamenávány v půdě, ovzduší a na různých substrátech organického původu, mohou se mezi nimi vyskytnout možné patogeny (Domsch et al., 2007). Vyšší počet druhů rodu *Aspergillus* byl zjištěn v jeskyních teplejších oblastí, např. *A. flavus* a *A. ustus* na Bahamách (Orpurt, 1964), *A. niger*, *A. tamarii* a *A. wentii* na Taiwanu (Hsu a Agoramoorthy, 2001), v Portoriku (Nieves-Rivera, 2003), *A. chevalieri*, *A. versicolor* a *A. sydowii* v jižní Indii (Koilaraj et al., 1999), v Izraeli (Grishkan et al., 2004), ve Španělsku (Jurado et al., 2010), v Arizoně (Vaughan et al., 2011).

Ze sedimentu byly také často izolovány houby rodu *Mortierella* (Orpurt, 1964; Nagai et al., 1998), druh *Mortierella alpina* (Mosca a Campanino, 1962; Jurado et al., 2010) a rod *Chaetomium* (původce onychomykóz) (Nagai et al., 1998; Koilaraj et al., 1999; Grishkan et al., 2004; Bastian et al., 2010). Druhy rodu *Mortierella* patří mezi psychrofilní houby, jsou to nejběžnější půdní houby, podílejí se na rozkladu chitinu. Druhy rodu *Chaetomium* se běžně vyskytují na exkrementech. V půdě se podílejí na dekompozici zbytků rostlin. Druhy tohoto rodu jsou také možnými původci onychomykóz (Domsch et al., 2007).

Pro jeskynní půdu je také typický rod *Geomyces* (Mosca a Campanino, 1962). Druh *Geomyces pannorum* (dermatofyt) byl izolován v Japonsku (Nagai et al., 1998) a ve Francii v jeskyni Lascaux (Bastian et al., 2010). Jde o psychrofilní druh, řadící se mezi běžné půdní houby. Je to dominantní druh v Antarktidě, hojně je rozšířen i v mírném pásmu. Má keratinofilní schopnosti, způsobuje dermatofytní infekce (Domsch et al., 2007).

Rovněž rod *Fusarium* patří mezi frekventované houby, viz případ jeho nárůstu ve španělské jeskyni Castanar de Ibor (Jurado et al., 2010) a ve francouzské jeskyni Lascaux (Bastian et al., 2010). Mnohé druhy rodu *Fusarium* jsou půdní houby s kosmopolitním rozšířením. Účastní se na dekompozici celulózy v substrátech rostlinného původu. Některé druhy jsou parazité rostlin (Domsch et al., 2007).

## 6.2 Houby v jeskynních sedimentech a půdách v České republice a na Slovensku

Mikroskopické houby jeskynních sedimentů a půdy byly studovány především v moravských jeskyních (Bosák et al., 2000), v českých a slovenských jeskyních (Nováková 2008, 2009). Věnována pozornost byla půdním houbám znečišťujícím kamenný substrát v podzemní hrobce v Bratislavě (Šimonovičová et al., 2004).

V Javoříčských jeskyních bylo z půdy izolováno 34 druhů hub, mezi běžnější patřily druhy *Acremonium strictum*, *Cladosporium herbarum*, *Geomyces pannorum*, *Mortierella alpina*, *M. humilis*, *M. hyalina*, *Oidiodendron griseum*, *Penicillium* spp. (*P. aurantiogriseum*, *P. glabrum*, *P. janczewskii*) a *Trichoderma viride* (Bosák et al., 2000).

Nováková (2008) studovala diverzitu hub v jeskyni Na Turoldu, v Sloupsko-šošůvských jeskyních, v Punkevních jeskyních a Amatérské jeskyni. V Amatérské jeskyni, kde byly prováděny opakované odběry, bylo zjištěno 42 druhů hub. V ostatních jeskyních, kde byly vzorky odebrány jednorázově, byl zjištěn jen omezený počet druhů hub. V jeskyni Na Turoldu pouze 1 druh, *Aspergillus fumigatus*. Ve Sloupsko-šošůvských jeskyních bylo zachyceno 5 druhů hub. V Punkevních jeskyních se vyskytovaly tři druhy hub, a to druhy *Clonostachys candelabra*, *Gymnoascus reessii* a *Scytalidium lignicola*. Ve stejné práci byly prezentovány výsledky studia diverzity hub i v jeskyních NP Slovenský kras v jeskynním systému Domica (jeskyně Domica, Čertova díra, Dlouhá chodba), Gombasecké jeskyni, Krásnohorské jeskyni, Jasovské jeskyni a Ardovské jeskyni s opakovanými odběry; v Hrušovské jeskyni a Šingliarově propasti s jedním odběrem. Většina uvedených jeskyní je přístupná pro turisty. V jeskyni Domica ze sedimentů bylo zjištěno 48 druhů hub, v jeskyni Čertova díra 6 druhů a v jeskyni Dlouhá chodba 20 druhů. V dalších jeskyních byla diverzita nižší. V Ardovské jeskyni a v Gombasecké jeskyni bylo zjištěno 5 druhů hub. V Krásnohorské jeskyni byly izolovány pouze 3 druhy *Clonostachys rosea* f. *rosea*, *Clonostachys* sp. a *Mortierella* spp. Druhy rodu *Mortierella* se také vyskytovaly v Jasovské jeskyni. V Hrušovské jeskyni byl nalezen pouze druh *Humicola fuscoatra*. Bylo zaznamenáno celkem 90 druhů hub. Některé druhy hub se vyskytovaly v sedimentech několika jeskyní, nejčastěji byly zachyceny druhy *Acremonium murorum*, *Chrysosporium* sp., *Clonostachys* sp., *Mortierella* spp., *Myxotrichum deflexum*, *Gymnoascus reessii*, *Humicola fuscoatra*, *Isaria fumosorosea*, *Pochonia chlamydospora* var. *catenulata* a *Scytalidium lignicola*. Na spektrum hub může mít vliv přístupnost jeskyní pro turisty, zvolená metodika izolace nebo také charakter sedimentů v jednotlivých jeskyních.

Nováková (2009) se zabývala diverzitou hub v jeskynních sedimentech v NP Slovenský kras (jeskyně Domica, Čertova díra a jeskyně Dlouhá chodba) i v novější práci. V těchto třech jeskyních zjistila celkem 86 druhů hub. S nejvyšší frekvencí byly izolovány druhy *Acremonium murorum*, *Arthrimum phaeospermum*, *Beauveria bassiana*, *Doratomyces stemonitis*, *Geomyces*

*pannorum* var. *pannorum*, *Isaria farinosa*, *Myxotrichum deflexum*, *Oidiodendron cerealis* a *O. griseum*, *Paecilium lilacinum*, *Paranomuraea carnea*, *Scytalidium lignicola*, *Trichoderma polysporum*, *Truncatella angustata*, *Chaetomium* sp., *Eurotium* sp. a *Talaromyces flavus*.

Výše uvedené studie se zabývaly diverzitou mikromycetů v přirozených podzemních prostorách. Houby však obývají i podzemní prostory uměle vytvořené člověkem. Např. Šimonovičová et al. (2004) studovali druhové zastoupení půdních hub v podzemní kamenné hrobce židovského hřbitova v Bratislavě, kde houby kontaminovaly náhrobní kameny. Místo se nachází v blízkosti Dunaje, prostory hrobky jsou tmavé, chladné a vlhké od prosakující vody, čímž se vytvářejí dobré podmínky pro kolonizaci houbami. Vzorky byly odebrané z náhrobních kamenů, jejichž pH se pohybovalo v rozmezí 9,7 až 10,3, substrát je vápencového původu. Celkově bylo izolováno 36 druhů hub. Dominantní byly druhy *Acremonium strictum*, *Alternaria alternata*, *Aspergillus versicolor*, *Aureobasidium pullulans*, *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium viridicatum* a *Trichoderma* sp., tyto druhy byly hojně i v ovzduší hrobky. V ovzduší byly hojně zaznamenány ještě další druhy: *Alternaria tenuissima*, *Scopulariopsis* sp. a *Trichoderma viride*. Houby se mohou podílet na biodeterioraci kamenného substrátu, kdy se rozrůstají po substrátu a penetrují do něj hyfami. Tento proces mohou podpořit mikroklimatické podmínky jako zvýšená vlhkost (Šimonovičová et al., 2004).

Častými houbami v sedimentech byly druhy rodu *Acremonium*; druh *A. strictum* byl zaznamenán v Javoříčské jeskyni (Bosák et al., 2000) a v bratislavské hrobce (Šimonovičová et al., 2004). Druh *Acremonium murorum* byl zaznamenán v Amatérské jeskyni (Nováková, 2008) a ve dvou jeskyních NP Slovenský kras (Nováková, 2008, 2009). Druhy rodu *Acremonium* jsou celosvětově rozšířené saprotrofní houby, běžně se vyskytují v půdě (Domsch et al., 2007). Rod *Mortierella* je také běžný obyvatel jeskynních sedimentů. Druhy *Mortierella alpina*, *M. humilis* a *M. hyalina* byly izolovány v Javoříčských jeskyních (Bosák et al., 2000). Druhy rodu *Mortierella* patří obecně mezi nejběžnější půdní houby, kde jsou schopné podílet se na rozkladu chitinu (Domsch et al., 2007). Dalšími častými houbami jeskynních sedimentů jsou druhy rodu *Oidiodendron*; druh *O. griseum* byl izolován z Javoříčské jeskyně (Bosák et al., 2000) i ze slovenských jeskyní (Nováková, 2009). Druhy rodu *Oidiodendron* jsou běžné v půdě či na rozkládajícím dřevu a kůře (Domsch et al., 2007). Druhy rodu *Trichoderma* byly v jeskyních také často zaznamenány. Jde však o houby typické spíše pro půdy s vyšším obsahem rostlinných zbytků. Psychrofilní druh *Geomyces pannorum*, běžný v jeskyních a v půdě arktických oblastí, byl zaznamenán v Javoříčských jeskyních (Bosák et al., 2000) a v několika slovenských jeskyních (Nováková, 2009).

### 6.3 Koprofilní mikroskopické houby

Dalším možným zdrojem živin pro mikroskopické houby v jeskyních mohou být exkrementy živočichů, zejména netopýří guano, ale i exkrementy žížal, stejnonožců a savců. Exkrementy dosahují nízkého pH (kolem 3,5), přesto jsou dobrým zdrojem živin, protože obsahují dostatek organické hmoty (Nováková, 2004b).

V nejstarší práci Lagarde (1922) byly zachyceny houby z exkrementů ve francouzských jeskyních. Koprofilními houbami v jeskyních se v ČR a na Slovensku zabývala hlavně Nováková (2004, 2005, 2009). Ve světě se touto problematikou podrobněji zabývali na Bahamách (Orpurt, 1964), v Portoriku (Nieves-Rivera, 2003, 2009), ve Francii (Larcher et al., 2003), v Japonsku (Sugita et al., 2005) a v Mexiku (Ulloa et al., 2006).

Ve Francii (Lagarde, 1917) na exkrementech hlodavců byl nalezen druh *Stysanus typhoides* (jeskyně Gouillou, Paxolle, Gourgue-de-Saint-Antonin, Gourgue-Saint-Antonin). Ve Francii (Lagarde, 1922) na exkrementech byl zaznamenán druh *Mucor mucedo* (podzemní prostora) a *Gymnoascus reessii* (jeskyně Faux-Monnayeurs).

Nováková (2006) studovala koprofilní houby na netopýřím guanu v jeskyních Slovenska (několik jeskyní NP Slovenský kras, Dobšínská jeskyně) a ČR (Chýnovské jeskyně, Jeskyně Na Tuoldu, Jeskyně na Špičáku, Javoříčské jeskyně, Koněpruské jeskyně, Sloupsko-šošůvské jeskyně). Jeskyně byly sledovány krátkodobě nebo jednorázově. Nováková zjistila, že mezi nejběžnější houby patří rod *Mucor*, nejčastěji zastoupen druhy *Mucor mucedo*, *Mucor dimorphosporus*, *Mucor dimorphosporus* f. *sphaerosporus* a *Mucor hiemalis* f. *hiemalis*. Dalšími častými druhy v guanu byly *Penicillium glandicola*, *Doratomyces stemonitis*, *Tetracosporium paxianum* a *Aspergillus fumigatus*. Na exkrementech kun a žížal se vyskytoval druh *Penicillium glandicola*, na exkrementech žížal a exkrementech stejnonožce *Mesoniscus graniger* byly nalezeny druhy *Myxotrichum deflexum* (opurtuní keratofilní patogen), *Tetracosporium paxianum* a *Oidiodendron cerealis*.

Nováková (2009) se zabývala rovněž výskytem koprofilních hub v dalších jeskyních NP Slovenský kras (jeskyně Domica, Čertova díra, jeskyně Dlouhá chodba). Vzorky byly sbírány na jaře a na podzim v letech 2002 až 2007. Na guanu zaznamenala 92 druhů, na exkrementech savců 4 druhy, na exkrementech žížal 86 druhů a na exkrementech stejnonožců 30 druhů mikroskopických hub (některé se vyskytovaly na více typech exkrementů, nejčastější houby viz v tabulce 1).

Ve starší práci (Nováková, 2004a) zabývající se rovněž výskytem druhů hub na exkrementech živočichů v NP Slovenský kras (jeskyně Domica a Ardovská jeskyně) bylo izolováno celkově 51 druhů z guana, 2 druhy z exkrementů savců, 16 druhů z exkrementů žížal a 19 druhů z exkrementů stejnonožce (některé druhy se nacházely na více typech exkrementů). Jako

hojně byly zaznamenány druhy *Fusarium* sp., *Geomyces pannorum*, *Mortierella* sp., *Paecilomyces lilacinus*, *Thielavia hyrcanie*. Opakovaně byly z guana izolovány *Mucor* spp. (např. *M. hiemalis* f. *hiemalis*, *M. mucedo*), *Trichoderma* spp. (např. *T. hamatum*, *T. polysporum*) a *Penicillium* spp. (např. *P. expansum*, *P. janczewskii*, *P. glandicola*). Na exkrementech bylo nalezeno velké množství saprotrofních druhů.

Tabulka 1: Přehled nejčastějších druhů koprofilních hub v jeskyních Domica, Čertova díra a Dlouhá chodba: 1 – netopýří guano, 2 - exkrementy savců, 3 - exkrementy žížal, 4 - exkrementy isopodů (upraveno podle Nováková, 2009).

+.....nejčastější druhy na daných typech exkrementů  
 +.....méně časté druhy

	j. Domica				Čertova d.j.				Dlouhá ch.j.			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
<b>Zygomycota</b>												
<i>Mortierella</i> spp.	+		+	+						+		
<i>Mucor mucedo</i>	+				+					+		
<b>Ascomycota</b>												
<i>Acremonium berkeleyanum</i>	+			+		+						
<i>Acremonium murorum</i>	+		+				+					
<i>Aspergillus fumigatus</i>	+		+		+		+					
<i>Chrysosporium</i> sp.	+		+		+		+					
<i>Clonostachys rosea</i> f. <i>rosea</i>	+		+		+							+
<i>Doratomyces nanus</i>	+				+		+					+
<i>Geomyces pannorum</i> var. <i>pannorum</i>	+		+		+		+					+
<i>Oidiodendron cerealis</i>	+		+								+	
<i>Paecilomyces variotii</i>	+		+		+							
<i>Paranomuraea carnea</i>	+		+				+		+			
<i>Penicillium citrinum</i>	+				+		+					
<i>Penicillium expansum</i>	+		+		+							
<i>Penicillium glandicola</i>	+	+	+		+		+		+			
<i>Pochonia chlamydosporia</i> var. <i>catenulata</i>	+											
<i>Talaromyces flavus</i>	+		+		+						+	+
<i>Talaromyces wortmannii</i>			+				+				+	
<i>Trichoderma polysporum</i>	+		+	+				+			+	

V Amatérské jeskyni Moravského krasu se nevyskytují netopýři (Nováková, 2006), nebylo tam tedy studováno guano. Z exkrementů žížal byly izolovány druhy *Acrostalagmus luteoalbus*, *Clonostachys candelabra*, *Clonostachys rosea* f. *catenulata*, *Isaria farinosa*, *Paranomuraea carnea*, *Phoma eupyrena*, *Talaromyces flavus* a *Trichoderma* sp. a z exkrementů

stejnonožců druhy *Geotrichium candidum* a *Mucor dimorphosporus* f. *sphaerosporus* (Lukešová a Nováková, 2009).

Na Bahamách (ostrov Eleuthera) v jeskyni obývané netopýry byly z jejich trusu (zřejmě při jednom odběru) izolovány druhy *Circinella muscae*, *Cunninghamella elegans*, *Mucor pyriformis*, *Helicostylum pyriforme* a *Isaria felina* (Orpurt, 1964).

V severním Portoriku byly studovány houby v guanu v jeskynním systému Rio Camuy (Nieves-Rivera, 2003). Bylo zde zjištěno 36 druhů hub (pravděpodobně z jednoho odběru); nejhojnější byly *Aspergillus* spp. (např. *A. flavus*, *A. fumigatus*), *Cladosporium cladosporioides*, *C. herbarum*, *Fusarium* cf. *oxysporum*, *Fusarium solani*, *Penicillium* spp. (např. *P. lilacinum*, *P. roqueforti*), *Trichoderma* spp., *Dictyostelium* spp. (např. *D. citrinum*, *D. purpureum*), *Mucor* spp., *Rhizopus stolonifer* a *Histoplasma capsulatum* (patogen). Nieves-Rivera et al. (2009) studovali houby na guanu i ve třech jeskyních v jihozápadním Portoriku. Celkem zaznamenali 50 guanofilních druhů hub. Nejčastěji se vyskytoval druh *Circinella umbellata*, dále byly izolovány druhy: *Aspergillus* spp. (např. *A. fumigatus*, *A. flavus*), *Cladosporium* spp. (např. *C. cladosporioides*, *C. sphaerospermum*), *Penicillium* spp. (např. *P. chrysogenum*, *P. lilacinum*), *Curvularia* cf. *eragrostidis*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Geotrichum* sp., *Gliocladium* sp., *Hirsutella* sp., *Neurospora* sp., *Paecilomyces* sp., *Scopulariopsis* sp., *Sepedonium* sp., *Trichoderma viride*, *Hypoxylon* sp., *Xylaria anisopleura* a *X. kegeliana*, *Mucor* sp., *Cunninghamella* sp. a *Rhizopus* cf. *stolonifer*.

Larcher et al.(2003) izolovali z guana v západní Francii druhy patřící mezi potenciální patogeny, a to *Candida glabrata* a *Candida guilliermondii*, dále patogen *Histoplasma capsulatum* a keratinofilní patogeny *Trichophyton terrestre*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Aphanoascus fulvescens*, *Myceliophthora thermophila*, *Chrysosporium lobatum*, *Chrysosporium merdarium*, *Chrysosporium pseudomerdarium* a *Chrysosporium pruinatum*. Většina z těchto hub se vyskytuje i v tropickém pásmu.

Sugita et al. (2005) se zaměřili na výskyt kvasinek v japonských jeskyních. Z 20 vápencových jeskyní (odběry mezi prosincem 2003 a únorem 2004) byly z guana izolovány druhy *Trichosporon laibachii*, *Trichosporon porosum* a 7 dalších druhů rodu *Trichosporon*, dále dalších 8 kvasinek (Ascomycota), a to druhy *Candida palmiophila*, *Candida lusitanae*, *Debaryomyces hansenii*, *Hanseniaspora* spp., *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces kluyveri*, *Williopsis californica* a *Zygosaccharomyces florentinus*.

Ulloa et al. (2006) studovali guano v jeskyních Mexika, v oblasti Guerrero, kde je znám výskyt druhu *Histoplasma capsulatum*. Zaznamenali druhy *Aphanoascus fulvescens*, *Gymnascella citrina*, *Gymnoascus dankaliensis*, *Chaetomium fimeti*, *Aspergillus flavo-furcatis*, *Aspergillus*

*terreus*, *Aspergillus terreus* var. *aureus*, *Penicillium* spp., *Malbranchea aurantiaca* a *Sporothrix* sp.

V jeskyních České republiky, Slovenska a Rumunska byl v guanu zjištěn nový druh *Chrysosporium speluncarum* (teleomorfa *Ajellomyces capsulatus*), který se morfologicky podobá houbě *Histoplasma capsulatum*, ale není patogenní (Nováková a Kolařík, 2010).

V mnoha studiích o koprofilních houbách v guanu byly jako nejčastější druhy zjištěny *Mucor* spp. (Orpurt, 1964; Nováková, 2004a, 2009; Nieves-Rivera, 2003, 2009), druhy rodu *Penicillium* spp. (Nováková, 2003, 2005, 2009; Nieves-Rivera, 2003; Ulloa et al., 2006) a druhy rodu *Aspergillus* spp. (Nováková, 2005; Nieves-Rivera et al., 2003, 2009; Ulloa et al., 2006). Druhy rodu *Penicillium* a *Aspergillus* jsou celosvětově rozšířené saprotrofní houby, *Aspergillus* je typický spíše pro teplejší oblasti. Druhy rodu *Mucor* jsou typické koprofilní houby, vyskytují se ale i na jiném organickém materiálu či v půdě (Domsch et al., 2007).

#### **6.4 Houby v ovzduší jeskyní a podzemních prostor**

Mikroskopické houby vyskytující se v ovzduší jeskyní a jiných podzemních prostor ve světě studovali v Rumunsku (Borda a Borda, 2004-2005), v Číně (Wang et al., 2010), v jeskyni Nerja v oblasti jižního Španělska (Docampo et al., 2011) a na Slovensku (Nováková, 2004a, 2009). V ČR byla studována diverzita hub v ovzduší příbramských uranových dolů (Fassatiová, 1970), podzemních prostor ve Zbrašovských jeskyních (Bosák et al., 2000), v Javoříčských jeskyních (Bosák et al., 2000), v Punkevních jeskyních (Bosák et al., 2000), v Amatérské jeskyni (Bosák et al., 2000) a v podzemním tunelu v Bedřichově (Kubátová et al., 2005).

Fassatiová (1970) studovala mikromycety v příbramských uranových dolech. Důvodem studia byly zdravotní problémy některých horníků podmíněné výskytem hub. Pozornost byla věnována houbám vyskytujícím se v ovzduší, dále byly odebírány vzorky z hrtanu pracovníků, ze stěn dolů, zbytků dřeva a z důlních šachet. Vzorky byly sbírány v průběhu let 1967 a 1969, bylo z nich získáno 200 izolátů. Bylo zjištěno 90 druhů hub. Často byly v ovzduší zachyceny patogenní druhy *Aspergillus fumigatus* a *Aspergillus flavus*. Dále byly hojně zaznamenány druhy *Mortierella isabelina*, *M. ramanniana*, *Mucor* spp., *Rhizopus* spp., *Alternaria* spp. (*A. tenuis*, *A. tenuissima*, *A. consortiale*), *Aspergillus* spp., *Cladosporium* spp. (*C. avellaneum*, *C. herbarum*, *C. macrocarpum*), *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., *Scopulariopsis* spp. a *Trichoderma* spp.

Marvanová et al. (1992) se zabývali výskytem mikroskopických hub v ovzduší a na povrchu aragonitu ve Zbrašovských jeskyních. V jeskyních byla naměřena konstantní teplota 15 °C. Zaznamenali 50 taxonů hub. V ovzduší jeskyně byly většinou zaznamenány odlišné druhy hub než na aragonitových stěnách. Jako substrát pro růst hub na stěnách jeskyní také posloužila vlákna z oděvů návštěvníků. Autoři zjistili, že na složení druhového spektra hub má zřejmě vliv teplota.

Houby izolované při 15 °C považovali za psychrofilní, houby izolované při 25 °C za mezofilní, to by mohlo znamenat, že určité druhy hub jsou více či méně specializované na výskyt v tomto typu habitatu. Z ovzduší byly izolovány psychrofilní a mezofilní druhy v podobném poměru, kdežto z povrchu z aragonitu převážně druhy psychrofilní. Z ovzduší byly při obou inkubačních teplotách izolovány druhy *Botrytis cinerea*, *Cladosporium cladosporioides*, *Engyodontium album* a *Phoma eupyrena*. Při inkubaci v 15°C bylo zjištěno z ovzduší 9 druhů, např. *Aspergillus niger*, *Aspergillus spelunceus* a *Penicillium implicatum*, při inkubaci ve 25 °C 11 druhů, např. *Cladosporium herbarum*, *C. macrocarpum*, *C. sphaerospermum*, *Penicillium griseoroseum* a *Aspergillus ustus*. Z povrchu aragonitu bylo při obou variantách teplot izolováno 7 druhů, např. *Aspergillus versicolor*, *Penicillium janczewskii*. Při inkubaci v 15 °C bylo na aragonitu zaznamenáno 23 druhů, např. *Alternaria alternata*, *Penicillium aurantiogriseum*, *P. cenescens* a *Cladosporium macrocarpum*. Při inkubaci ve 25 °C bylo z povrchu aragonitu získáno 16 druhů, např. *Acremonium cf. atrogriseum*, *Penicillium brevicompactum* a *Verticillium psalliotae*.

V Javoříčských jeskyních bylo v ovzduší jeskyně zaznamenáno 10 druhů hub (Bosák et al., 2000). V Punkevních jeskyních bylo z ovzduší izolováno 68 druhů hub (Bosák et al., 2000). V Amatérské jeskyni bylo v ovzduší zaznamenáno 15 druhů hub (Bosák et al., 2000). Punkevní jeskyně jsou otevřené veřejnosti, Amatérská jeskyně je pro turisty uzavřena. Vysoká návštěvnost Punkevních jeskyní má zřejmě vliv na výskyt vyššího počtu druhů hub v ovzduší. V uvedených jeskyních byly nejčastěji zaznamenány druhy *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides*, *C. herbarum*, *C. sphaerospermum*, *Geomyces pannorum*, *Penicillium brevicompactum* a *P. vulpinum*. Jedná se o běžné mezofilní druhy v biosféře schopné růst i za nižších teplot.

Kubátová et al. (2005) se zabývali výskytem mikroskopických hub v prostředí podzemního vodárenského tunelu v Bedřichově. Tunel má poměrně stálé mikroklimatické podmínky s teplotou vzduchu 4,5 °C a relativní vlhkostí přibližně 98 % v době odběru. V průběhu dvou odběrů bylo zde zjištěno celkem 60 druhů hub. S největší frekvencí byly zaznamenány druhy *Acremonium berkeleyanum*, *Geomyces pannorum*, *Oidiodendron cerealis*, *Oidiodendron* sp., *Penicillium* sp. a *Phialophora* sp. Opakovaně byly také zaznamenány, avšak s nižší frekvencí, druhy *Alternaria* sp., *Aphanocladium* sp., *Cladosporium cladosporioides*, *Mortierella* sp., *Oidiodendron griseum*, *Paecilomyces farinosus*, *Penicillium citrinum*, *Penicillium* sp. a *Trichoderma viride*. Ve venkovním ovzduší převládaly druhy rodu *Cladosporium*, *Epicoccum* a *Alternaria*, které jsou v ovzduší běžné. Uvnitř tunelu bylo zaznamenáno spektrum hub, které se tu pravděpodobně vytvořilo vlivem podmínek panujících v této podzemní prostře.

V Rumunsku byla studována mykobiota ovzduší tří jeskyní v západních Karpatech. Jako dominantní byly zaznamenány druhy *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Mucor* spp. a *Candida*

spp., jejich počet klesal směrem od vchodu jeskyně, vyšší koncentrace spór byla zaznamenána ve venkovním prostředí okolo jeskyně (Borda a Borda, 2004-2005).

V Ardovské jeskyni v NP Slovenský kras bylo v ovzduší zjištěno celkem 25 druhů hub, nejhojněji byly zachyceny druhy *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Cladosporium cladosporioides*, *C. herbarum*, *C. sphaerospermum* a *Paecilomyces lilacinus* (Nováková, 2004a). V dalších jeskyních v NP Slovenský kras, a to v jeskynním systému Domica (jeskyně Domica, Čertova díra, jeskyně Dlouhá chodba) bylo celkem izolováno 73 druhů hub (Nováková, 2009). Teplota vzduchu těchto jeskyní se pohybovala od 10,2 °C do 11,4 °C a relativní vlhkost od 95 % do 98 %. Z ovzduší byly nejhojněji izolovány druhy *Rhizopus arrhizus*, *Acrodontium* sp., *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Cladosporium cladosporioides*, *C. herbarum*, *C. sphaerospermum*, *C. tenuissimum*, *Geomyces pannorum* var. *pannorum*, *Isaria farinosa*, *Oidiodendron cerealis*, *Penicillium citrinum* (a další *Penicillium* spp.), *Trichoderma polysporum*, *Ulocladium chartarum* a *Ulocladium* sp.

Wang et al. (2010) studovali spektrum hub vyskytujících se v ovzduší několika jeskyní v Číně (Mogao Grottoes, Dunhuang). Jeskyně jsou známé svými freskami, proto jsou zahrnuty mezi památky UNESCO. Průměrná roční teplota je 9,3 °C, pohybuje se mezi 25 °C (červenec) a 9,3 °C (leden) v okolním prostředí. Jeskyně se lišily přístupností pro návštěvníky; patřily do třech kategorií: jeskyně otevřená pro návštěvníky, jeskyně s omezeným přístupem pro návštěvníky a uzavřená jeskyně. Diverzita hub byla vyšší v otevřené jeskyni než v jeskyni s omezeným přístupem pro návštěvníky a uzavřené jeskyni. Vyšší teplota, relativní vlhkost a velký tok návštěvníků vedl k vyššímu výskytu spór hub v ovzduší, zvláště ve velkých jeskyních. Nejvíce dominující byly druhy rodu *Cladosporium*, následován druhy rodu *Penicillium*, *Alternaria* a *Aspergillus*.

Docampo et al. (2011) studovali, jaké spóry hub se vyskytují v ovzduší jeskyně Nerja v jižním Španělsku. Jeskyně je přístupná turistům. Teplota v jeskyni je víceméně stálá (18 až 19 °C), relativní vlhkost kolísá kolem 78 % až 100 %. Byly zde zachyceny spory 72 druhů hub. Nejhojněji byly zaznamenány spory druhů rodu *Penicillium/Aspergillus* (v "Hall of the Manger" 50 %, v "Hall of the Cataclysm" 65 %) a *Cladosporium* spp. (v "Hall of the Manger" 17 %, v "Hall of the Cataclysm" 13 %). Největší koncentrace spor byla naměřena v létě, zvláště v červenci a srpnu. Spory (konidie) ostatních druhů mikroskopických hub byly zaznamenány v koncentraci 0 % až 1 %.

Téměř ve všech studovaných podzemních prostorech bez ohledu na geografické umístění lokality se vyskytovaly druhy rodu *Penicillium* a *Cladosporium* (nejčastěji druhy *C. cladosporioides*, *C. herbarum* a *C. sphaerospermum*). Druhy rodu *Penicillium* jsou nejběžnější saprotrofní houby, běžně se vyskytující v ovzduší. Druhy rodu *Cladosporium* jsou celosvětově

rozšířené, jejich propagule se běžně vyskytují v ovzduší, v půdě a na organických materiálech, případně i na potravinách (Domsch et al., 2007).

Druhy rodu *Alternaria* byly také velmi frekventované, často byla zaznamenána *Alternaria alternata*, a to ve Zbrašovských jeskyních, v Javoříčských jeskyních, v Punkevních jeskyních (Bosák et al., 2000), v Ardovské jeskyni (Nováková, 2004a) a v jeskynním systému Domica (Nováková, 2009). Druh *Alternaria alternata* je kosmopolitně rozšířen, vyskytuje se na rostlinném a jiném substrátu v půdě, je také častou kontaminantou potravin.

Druhy rodu *Aspergillus* byly zachyceny rovněž ve většině jeskyní, jsou však typické spíše pro teplejší oblasti. V některých jeskyních, zejména v teplejších oblastech, bylo izolováno více druhů rodu *Aspergillus*, a to v rumunských jeskyních (Borda a Borda, 2004-2005), v čínských jeskyních (Wang et al., 2010) a v jeskyni Nerja na území jižního Španělska (Docampo et al., 2011).

Druh *Geomyces pannorum* byl zaznamenán v Punkevních jeskyních (Hanuláková, 1995), v podzemním tunelu v Bedřichově (Kubátová et al., 2005) a v jeskynním systému Domica (Nováková, 2009). Je to psychrofilní druh typický pro půdu v arktických oblastech (Domsch et al., 2007).

Druhy hub, které se vyskytují v ovzduší jeskyní, jsou běžné i v prostředí mimo jeskyně. Např. Pepeljnjak a Šegvic (2003) se zabývali studiem hub v ovzduší na několika lokalitách v Chorvatsku, kde zaznamenali největší podíl spor druhů rodu *Cladosporium*, *Penicillium* a *Alternaria*. Herrero et al. (2006) zaznamenali v ovzduší Madridu rovněž největší podíl spor druhů rodu *Cladosporium*. Grinn-Gofrón a Mika (2008) v polském městě Štětín zachytili nejvíce spor druhů rodu *Cladosporium* a *Alternaria*.

## **6.5 Entomopatogenní mikroskopické houby v podzemních prostorách**

V jeskyních a jiných podzemních úkrytech žije řada různých druhů hmyzu adaptovaných na abiotické podmínky těchto prostor, zejména zástupci *Lepidoptera* (motýli), *Hymenoptera* (blanokřídli) a *Diptera* (dvoukřídli). Využívají prostory jako úkryt k přezimování, avšak v období přezimování jsou zároveň náchylní k infekci entomopatogenními mikroskopickými houbami (Kubátová a Dvořák, 2005).

Studiem entomopatogenních hub v podzemních prostorách se podrobněji zabývali ve Francii, Španělsku a Rakousku (Lagarde 1913, 1917, 1922), v Holandsku (Rombach a Samson, 1983; Samson et al., 1984), v americkém státě Kentucky (Benoit et al., 2004), ve Slovinsku (Gunde-Cimerman et al., 1998), v Čechách (Kubátová a Dvořák, 2005).

Lagarde (1913) zaznamenal ve francouzských jeskyních na chitinových zbytcích hmyzu a na membránách křídel dvoukřídlejších (*Diptera*) druh *Myxotrichum racovitzae* (jeskyně Voleurs),

na mrtvých motýlech (*Lepidoptera*) druh *Cordyceps sphingum*, na fragmentech těla dvoukřídlého hmyzu druh *Isaria densa* (jeskyně Feborac). Ve španělských jeskyních byl na motýlech (*Lepidoptera*) zachycen druh *Isaria* sp. (jeskyně Tabaco), druh *Isaria guignardi* (jeskyně Moros). Druh *Isaria guignardii* byl zaznamenán i na broucích (*Coleoptera*) ve francouzských jeskyních (jeskyně Rorschild, Portel, Tortouse, Niaux, Hount-Santo); sterilní forma mycelia byla zaznamenána ve Španělsku (jeskyně Pena, Clotilde) a ve Francii (jeskyně Batera, Sainte-Hélène, Bedeilhac, Aynat).

Lagarde (1917) zaznamenal ve Francii na motýlech (*Lepidoptera*) druh *Cordyceps sphingum* (jeskyně Belvis) a na něm rostoucí druh *Torubiella minutissima*. Druh *Corralinopsis pilulifera* byl nalezen ve Francii v podzemní prostře na broucích (*Coleoptera*). Ve Francii byl na dvoukřídlém hmyzu (*Diptera*) nalezen druh *Beauveria globulifera* (dnes název *Beauveria bassiana*) (jeskyně Ray) a druh *Helminthosporium* sp. (jeskyně Mythones), na broucích (*Coleoptera*) druh *Mahevia guignardii* (jeskyně Mas-d'Azil). Lagarde (1922) zaznamenal v Rakousku na motýlech (*Lepidoptera*) druh *Cordyceps* sp.

Na českém území ve Zbrašovských jeskyních byly na mrtvém hmyzu zaznamenány druh *Paecilomyces farinosus* a *Beauveris* sp. (album) (Marvanová et al., 1992).

V holandských jeskyních v provincii Limburg byly na mrtvém hmyzu nalezeny druhy *Paecilomyces farinosus*, *Stilbella kervillei*, *Tritirachium cinnamomeum* a rod *Beauveria* (Rombach a Samson, 1983), v pozdější práci byly dále zaznamenány druhy *Hirsutella guignardii*, *Stilbella kervillei*, *Beauveria bassiana* (teleomorfa *Cordyceps bassiana*) a *Isaria farinosa* (dříve *Paecilomyces farinosus*) (Samson et al., 1984). V belgické jeskyni Ramioul byly zaznamenány na mrtvém hmyzu rovněž druh *Hirsutella guignardii* a druhy rodu *Mortierella* (hlavně na brouku rodu *Speonomus*) (Malloch, 1997).

Slovinští mykologové (Gunde-Cimerman et al., 1998) zkoumali druhové zastoupení hub na hmyzu v závislosti na vývojovém stadiu u druhu *Troglophilus neglectus* (koník jeskynní, řád *Orthoptera* - Rovnokřídli) s 8 až 9 nymfálními stadii. Zjistili, že na larválních stádiích se nejčastěji vyskytovali zástupci rodu *Mucor* (*M. baciliformis*, *M. circinelloides* f. *circinelloides*, *M. hiemalis* f. *hiemalis* a *M. hiemalis* f. *corticola*), na dospělých stádiích byl nejčastěji izolován druh *Beauveria bassiana* a *Mucor troglophilus* (Gunde-Cimerman et al., 1998), který byl popsán poprvé z nálezů ve slovinských jeskyních (Zalar et al., 1997).

V chorvatských jeskyních Dinárského krasu se vyskytuje entomopatogen *Cordyceps riverae*, jehož přítomnost byla zaznamenána v r. 1990; vyskytuje se především na rodu *Triphosa* (píďalka, řád *Geometridae* – píďalkovití) (Matočec a Ozimec, 2001).

Ve dvou malých jeskyních v Kentucky (stát USA) bylo zkoumáno spektrum hub na hmyzu druhu *Hadenocetus cumberlandicus* (řád *Orthoptera* – rovnokřídli). Mnoho druhů hub

nalezených na mrtvém hmyzu se řadí mezi půdní saprotrofní houby (*Aspergillus niger*, *Geotrichum candidum*, *Penicillium* sp., *Trichodenna* sp.) a dva druhy patří mezi rostlinné patogeny (*Colletotrichum acutatum*, *Pestalotia* sp.). Izolována byla také typická entomopatogenní houba rodu *Beauveria* sp. (Benoit et al., 2004).

Nováková (2006) izolovala z hmyzu v NP Slovenský kras druh *Beauveria brongniartii* (jeskyně Domica, Ardovská a Krásnohorská jeskyně) a druh *Beauveria bassiana* (jeskyně Domica a Ardovská jeskyně). V jeskyni Domica byly na hmyzu zjištěny i další entomopatogenní druhy *Isaria farinosa* a *Lecanicillium muscarium* (Nováková, 2009).

Kubátová a Dvořák (2005) zkoumali mrtvý hmyz napadený houbami v podzemních prostorách v ČR (štoly, jeskyně, sklepy). Mezi nejčastěji napadenými jedinci byli zástupci řádu *Lepidoptera*, a to *Triphosa dubitata* (píd'alka jeskynní, *Geometridae* - píd'alkovití), *Scoliopteryx libatrix* (múra sklepní, *Noctuidae* - můrovití) a komáři skupiny *Culicidae* (*Diptera*). Nejhojnějšími nálezy entomopatogenních hub byly druhy *Paecilomyces farinosus* a *Cordyceps* sp. (viz Obr. 1), dále byly izolovány druhy *Engyodontium* cf. *parvisporum*, *Hirsutella guignardii*, *Lecanicillium muscarium*, *Paecilomyces farinosus*, *Beauveria* sp. a *Simplicillium* cf. *lamellicola*. Na mrtvém hmyzu byly také nalezeny druhy, které nejsou obecně pokládány za entomopatogenní (*Acremonium bacillisporum*, *Aphanocladium album*, *Engyodontium rectidentatum*, *Mortierella* sp. a *Mucor* sp.). Ve většině případů byl hmyz kolonizován jen jedním druhem houby, méně často dvěma druhy hub. Zaznamenány byly dvojice druhů *Conidiobolus destruens* a *Acremonium bacillisporum*; *Paecilomyces farinosus* a *Lecanicillium muscarium*; *Cordyceps* sp. a *Simplicillium* cf. *lamellicola* (Kubátová a Dvořák, 2005).



Obrázek 1: Perithecia druhu *Cordyceps* sp. na *Triphosa dubitata* (píd'alka jeskynní)  
(Kubátová a Dvořák, 2005)

V jeskyni Castanar de Ibor (jižní Španělsko) byl hmyz kolonizován druhy *Pochonia chlamydosporia* (teleomorfa *Cordyceps chlamydosporia*) a *Absidia repens* (Jurado et al., 2010).

Druhy rodu *Beauveria* se řadí k typickým entomopatogenním druhům hub. Druh *Beauveria bassiana* je široce rozšířený, vyskytuje se v mírném i tropickém pásmu, kde napadá hlavně hmyz skupin *Coleoptera*, *Lepidoptera* a *Diptera*. Záznamy houby v půdě a jiných habitatech jsou většinou spojeny s parazitací hmyzu. Druh *Beauveria brongniartii* je také běžný patogen hmyzu, je také rozšířen celosvětově, ale vyskytuje se méně často než *B. bassiana*. Teleomorfa rodu *Beauveria* – tj. rod *Cordyceps* je také hojně nacházeným patogenem na hmyzu (Domsch et al., 2007).

## 6.6 Houby žijící na netopýrech

Známým patogenem člověka i jiných živočichů izolovaným z guana je *Histoplasma capsulatum* (teleomorfa *Ajellomyces capsulatus*). Způsobuje systémovou mykózu histoplasmózu. Hostitel se může nakazit vdechnutím infekčních propagulí, což jsou mikrokonidie této houby (Taylor et al., 2005). Histoplasmoza byla zaznamenána v několika zemích centrální a jižní Ameriky, ve státech karibské oblasti (Lyon et al., 2004). Taylor et al. (1999) zkoumali netopýry z mexických podzemních prostor. U několika jedinců zaznamenali přítomnost druhu *Histoplasma capsulatum* ve střevech, plicích, v játrech a ve slezině. Jsou také zaznamenány případy onemocnění histoplasmózou u lidí, kteří se nakazili, např. v jeskyních Brazílie (Suzuki et al., 1995), v jižní Africe (Cugnani, 2000), na Kubě (Erkens et al., 2002) a v Kostarice (Lyon et al., 2004).

Významným patogenem netopýrů je také druh *Geomyces destructans*, který způsobuje dermatofytní infekce. Pro nemoc se vžil název syndrom bílého nosu a geomykóza (Chaturvedi, 2011). Nemoc se poprvé objevila v jeskyních na východě USA (Blehert et al., 2009), později i na evropském kontinentu (Puechmaile et al., 2010; Wibbelt et al., 2010; Martínková et al., 2010). Více o druhu *Geomyces destructans* v následujících kapitolách.

Ve Francii byl ze srsti netopýrů izolován druh *Chrysosporium chiropterorum* podobný druhu *Histoplasma capsulatum*. Houba není keratinolytická (Beguin et al., 2005).

## 7. *Geomyces destructans* a geomykóza

### 7.1 Geomykóza

Syndrom bílého nosu (white-nose syndrom, WNS) neboli geomykóza je onemocnění způsobené mikroskopickou houbou *Geomyces destructans*. Bylo pozorováno na hibernujících netopýrech, na nichž se projevuje bílým plísňovým porostem na čeniších, uších a létacích blanách.

Nemoc byla poprvé zaznamenána v jeskyních Howes blízko Albany, New York v únoru 2006. Mortalita netopýrů ve zkoumaných infikovaných zimovištích netopýrů převyšovala 75%. Fylogenetická analýza ukázala, že WNS způsobuje houba blízká rodu *Geomyces* (Blehert et al., 2009). Původce WNS byl nově popsán druh *Geomyces destructans* (Gargas et al., 2009). V Evropě byl *Geomyces destructans* poprvé izolován z netopýra velkého (*Myotis myotis*) ve Francii (Puechmaille et al., 2010).

Tělesná teplota netopýrů při hibernaci klesá o několik stupňů Celsia až na teplotu srovnatelnou s teplotou okolního prostředí, s čímž je spojen i pokles metabolické činnosti a imunitní odpovědi. Pokles tělesné teploty a imunitní odpovědi netopýrů jsou zřejmě základním předpokladem pro napadení druhem *Geomyces destructans* (Meteyer et al., 2009).

*Geomyces destructans* je blízce příbuzný druhu *Geomyces pannorum*, který způsobuje dermatofytní infekce u lidí a zvířat. Druh *Geomyces pannorum* je široce rozšířen v arktických půdách až k mírnému klimatickému pásmu, kde se často vyskytuje v půdě jeskyní a dalších substrátech. Obě blízce příbuzné houby jsou psychrofilní. Pro onemocnění, jež způsobují druhy *G. pannorum* a *G. destructans*, se zavedl termín **geomykóza**, který spojuje do skupiny tyto dva významné patogeny s podobnými projevy napadení tkáně (Chaturvedi a Chaturvedi, 2011).

Netopýři mají v přírodě důležitou roli v mnoha ekosystémech, zejména v regulaci hmyzu, v regeneraci lesa a v opylování rostlin (Williams-Guillen et al., 2008). Mají také význam i ve spojení s onemocněními člověka, protože jsou reservoáry a přenašeči vztekliny a dalších virů, parazitů (Calisher, 2006; Lampo et al., 2000; Trimarchi C.V., 1977) a patogenních hub, např. *Histoplasma capsulatu* (Taylor, 1999).

### 7.2 Metodika studia druhu *Geomyces destructans*

Izoláty houby jsou získávány různými způsoby, a to kultivací vzorků odebraných přímo z netopýrů, otiskem napadeného čenichu nebo létacích blan pomocí průhledné lepící pásky, odstřížením části srsti (Wibbelt et al., 2010), stěrem z čenichu či létacích blan pomocí nylonových nebo vatových štětečků (Martínková et al., 2010; Puechmaille et al., 2010).

Pro primární izolaci houby byly vzorky ve většině studiích inkubovány na Sabouraudově dextrózovém agaru (SDA) s přidavkem antibiotik (např. chloramfenikol, gentamycin) (Gargas et

al., 2009; Wibbelt et al., 2010; Martínková et al., 2010, Puechmaille et al., 2010; Lorch et al., 2010; Courtin et al., 2010), na Sabouraudově agaru (SAB) (Chaturvedi et al., 2010) či na bramborovo-dextrózovém agaru (PDA) (Puechmaille et al., 2010). Kultivace probíhala při nižších teplotách, např. 3 °C (Blehert et al., 2009; Gargas et al., 2009), 4 °C a 8 °C (Wibbelt et al., 2010), 7 °C a 15 °C (Martínková et al., 2010), 10 °C (Puechmaille et al., 2010), 7 °C a 10 °C (Lorch et al., 2010).

Pro studium růstových charakteristik byla použita další živná média. Např. Gargas et al. (2009) studovali růst na kukuřičném agaru (CMA) při teplotách 7 °C, 14 °C (ve 24 °C bez růstu). Chaturvedi et al. (2010) pozorovali základní znaky na SDA a PDA při 4 C. Martínková et al. (2010) hodnotili růstové charakteristiky na čtyřech typech medií: na sladínovém agaru (MEA), na kukuřičném agaru (CMA), na agaru s kvasničným a sladovým extraktem (YMA) a na sacharózovém agaru s kreatinem (CREA), kultivace při 15 °C.

Pro molekulárně genetickou analýzu byla využita PCR analýza genu rRNA vnitřní transkribované oblasti DNA (ITS1, 5.8S, ITS2) a rRNA genu (SSU) (Blehert et al., 2009; Gargas et al., 2010; Chaturvedi et al., 2010; Wibbelt et al., 2010; Martínková et al., 2010; Puechmaille et al., 2010; Lorch, 2010) (Obr. 7.2 A, 7.2 B).

### 7.3 Charakteristika houby *Geomyces destructans*

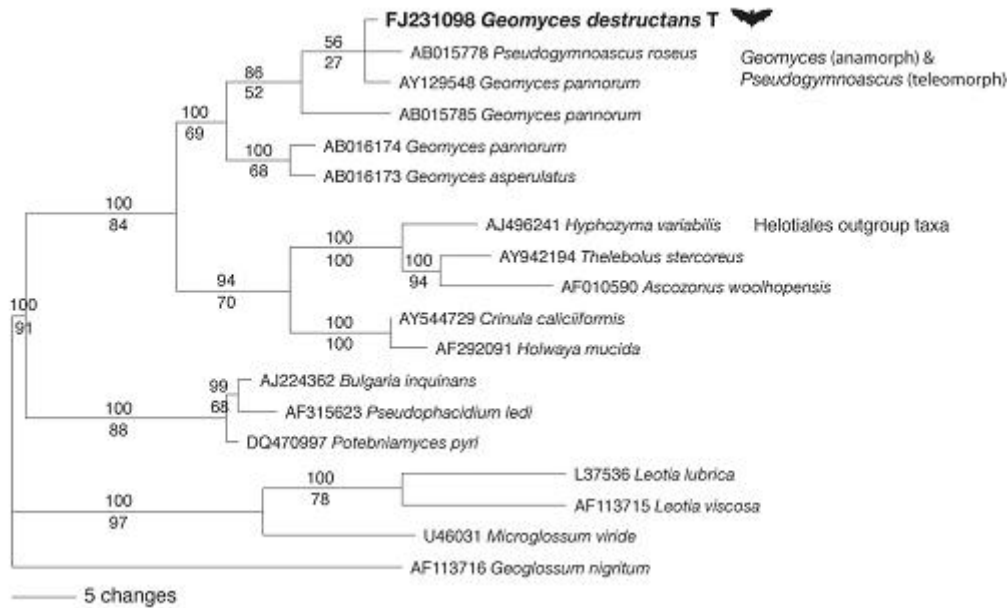
**Taxonomické zařzení:** Fungi, Ascomycota, Leotiomycetes; teleomorfa není známa (*Pseudogymnoascus* u jiných druhů rodu *Geomyces*) (Index fungorum) (<http://www.indexfungorum.org/names/names.asp>)

Fylogenetické stromy: Obr. 2, Obr.3.

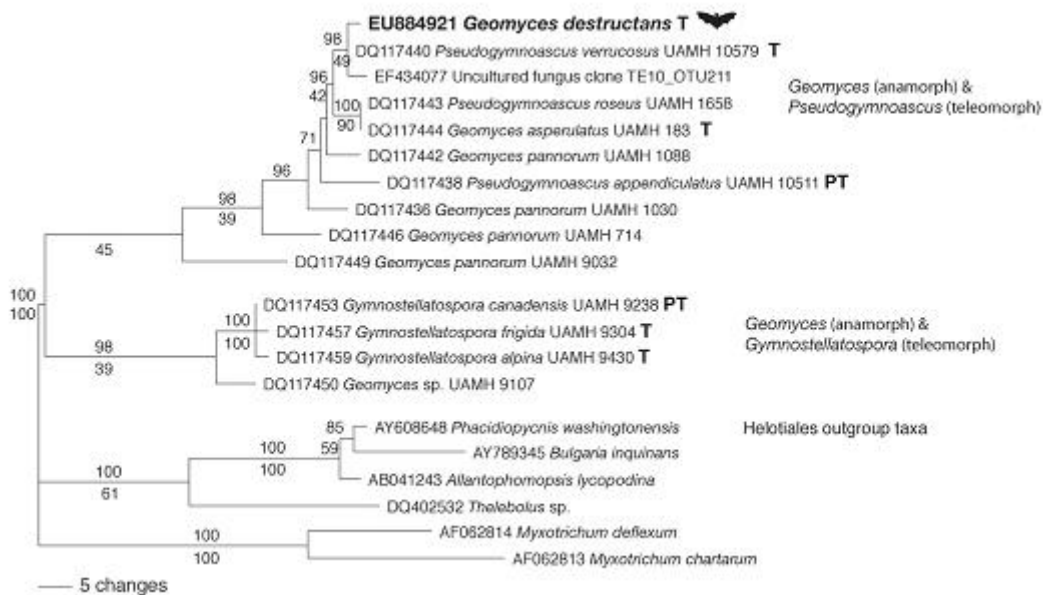
*Geomyces destructans* je psychrofilní houba (Gargas et al., 2010). Kolonie rostou pomalu, za 16 dní přirostou v průměru o 1 mm ve 3 °C, o 5 mm v 7 °C, o 8 mm ve 14 °C, nerostou ve 24°C na CMA a SDA (Gargas et al., 2009). Optimální růst je v rozmezí 4 °C až 14 °C (Chaturvedi et al., 2010). Kolonie jsou na okraji bílé, později mají zelené až zelenošedé zbarvení na SDA (Gargas et al., 2009).

Mikroskopické znaky: konidiofory jsou přímé, hyalinní, hladké, tenkostěnné, široké 1,5-2 µm a dlouhé 35-90 µm, obvykle nesou přeslen 2-4 větví vyrůstající v ostrém uhlu (Gargas et al., 2009). Artrokonidie mohou růst na konidioforech vmezeřeny, bočně nebo terminálně, jednotlivě nebo v krátkých řetězcích (Martínková et al., 2010). Konidie jsou hladké, slabě pigmentované, zakřivené, někdy oválné, se středně silnou stěnou, utáťe s nápadnou jizvou na jednom nebo obou koncích, ve zralosti 2-3 µm široké a 5-12 µm dlouhé, v bazální části se zužují do šířky 1,5-2 µm a v apikální části do šířky 0,5-1,5 µm (Gargas et al., 2009).

Biochemické schopnosti: *Geomyces destructans* má schopnost produkovat proteolytické a hydrolyzující enzymy, a to acid-fosfatázu, N-acetyl- $\beta$ -glukosaminidázu,  $\beta$ -glukosidázu, esterázu, esterázu lipázu, lipázu, leucin arylamidázu a naphtol-AS-B1-fosfohydrolázu. Neprodukuje cystin arylamidázu, trypsin,  $\alpha$ -chymotrypsin,  $\alpha$ -galaktosidázu,  $\beta$ -glukoronidázu,  $\alpha$ -glukosidázu,  $\alpha$ -manosidázu a  $\alpha$ -fukosidázu. Schopnost produkce enzymů byla testována API-ZYM testy. Proteolytické vlastnosti *Geomyces destructans* mohou hrát roli v patogenezi syndromu bílého nosu (geomykózy) (Chaturverdi et al., 2010).



Obrázek 2: Fylogenetická analýza rRNA genu SSU (Gargas et al., 2009)



Obrázek 3: Fylogenetická analýza rRNA genu ITS (Gargas et al., 2009)

#### 7.4 Patogeneze geomykózy

Geomykóza zatěžuje organismus netopýrů, zejména zdravotně, kondičně a zřejmě ovlivňuje i jejich chování po hibernaci.

Houbové hyfy pronikají do pokožky, do chlupových váčků a do mazových žláz, což vede k zánětům a imunitní odpovědi v tkáni hibernujících netopýrů. Zánět se projevuje otoky, hnisavými vředy, zvýšenou přítomností neutrofilů a makrofágů (Meteyer et al., 2009).

WNS může zasáhnout i létací blány, které sestávají ze dvou vrstev jednobuněčné pokožky, mezi nimi je tenká vrstva pojivové tkáně s elastickými vlákny (Meteyer et al., 2009). Kromě své základní úlohy létací blány zastávají další důležité funkce, oběhovou regulaci, termoregulaci, výměnu plynů a hospodaření s vodou. Rány a infekce blan mohou proto nepříznivě ovlivnit jejich funkci, což se odrazí na zdravotním stavu a úspěšnosti netopýrů v aktivním období (Reichard a Kunz, 2009).

Odborníci se domnívají, že průvodním projevem infekce je vzrušení netopýrů z hibernace, což je energeticky náročné. Geomykóza tak způsobuje rychlejší vyčerpání tukových zásob, zhoršení kondice, čímž se zvýší míra úmrtí z vyhladovění (Martínková et al., 2010).

Ve spojení s WNS bylo pozorováno odchylné chování netopýrů v lokalitách, kde netopýry prudce zasáhla infekce (USA). Velké množství z nich se přeskupovalo uvnitř hibernakula do míst blízko vchodu nebo do neobvykle chladných prostor, netopýři také vylétávali v průběhu zimy během dne z hibernakula. V důsledku vyčerpání se pak mnoho mrtvých netopýrů nacházelo uvnitř hibernakula či blízko vchodu (Castle a Cryan, 2010).

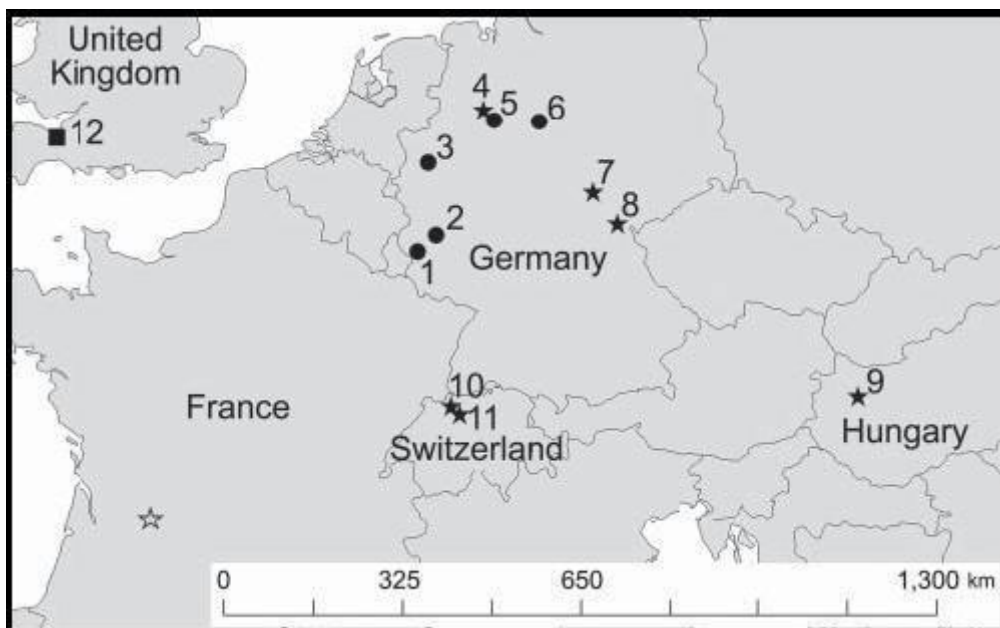
#### 7.5 Rozšíření *Geomyces destructans*

Syndrom bílého nosu (geomykóza) byl poprvé zaznamenán v jeskyních blízko Albany (stát New York) během zimy 2006 až 2007 na 4 druzích netopýrů: *Myotis lucifugus* (netopýr hnědavý), *Myotis septentrionalis* (netopýr hnědý), *Eptesicus fuscus* a *Perimyotis subflavus* (Blehert et al., 2009). V březnu 2009 byl WNS potvrzen histologickým vyšetřením mrtvých netopýrů ze zasažených jeskyní a jiných podzemních prostor v Massachusetts, New Jersey, Vermontu, West Virginii, New Hampshire, Connecticutu, Virginii a Pensylvánii (Gargas et al., 2009). Zasažení byli netopýři i ve dvou provinciích Kanady - Ontario a Quebec (Wibbelt et al., 2010). WNS se v USA rozšířil velmi rychle, z počátečního místa výskytu nemoci ze západu Albany se rozšířil severně do Vermontu a na jih do Virginie (Aley, 2010). Nemoc se tedy rozšířila v okruhu 1600 km přes 11 států USA, v dubnu 2010 byl WNS ještě potvrzen daleko západně v St. Louis a Missouri (Castle a Cryan, 2010) (Obr. 7.5 A). V zimě 2009 až 2010 byl WNS pozorován na 6 druzích ze 7 druhů netopýrů vyskytujících se v této oblasti: *Myotis myotis*

(netopýr velký), *Myotis septentrionalis* (netopýr hnědý), *Myotis sodalis* (netopýr společenský), *Myotis leibii*, *Perimyotis subflavus*, *Eptesicus fuscus* (Castle a Cryan, 2010).

V Evropě byl první případ WNS zaznamenán na jednom netopýrovi druhu *Myotis myotis* (netopýr velký) ve Francii (okres Périgueux, Akvitánie) v březnu 2009 (Puechmaille et al., 2010).

Další studie se zabývala situací ve 4 zemích Evropy, v Německu, Velké Británii, Maďarsku a Švýcarsku (Obr. 7.5 B) (Wibbelt et al., 2010). Vzorky byly odebrány z 12 zimovišť (viz Obr. 4), ze 23 dospělých jedinců reprezentujících 6 druhů netopýrů, a to z 1 *Myotis brandtii* (netopýr Brandtův), ze 3 *Myotis dasycneme* (netopýr pobřežní), z 1 *Myotis daubentonii* (netopýr vodní), z 15 *Myotis myotis* (netopýr velký), z 1 *Myotis oxygnathus* (netopýr ostrouchý) a ze 2 *Rhinolophus ferrumequinum* (vrápenec velký). Vzorky odebrané z netopýrů byly kultivovány, mikroskopovány světelným a elektronovým mikroskopem a zkoumány geneticky. *Geomyces destructans* byl zaznamenán ve 21 případech z 23 (*G. destructans* nebyl potvrzen ve Velké Británii ve 2 případech).



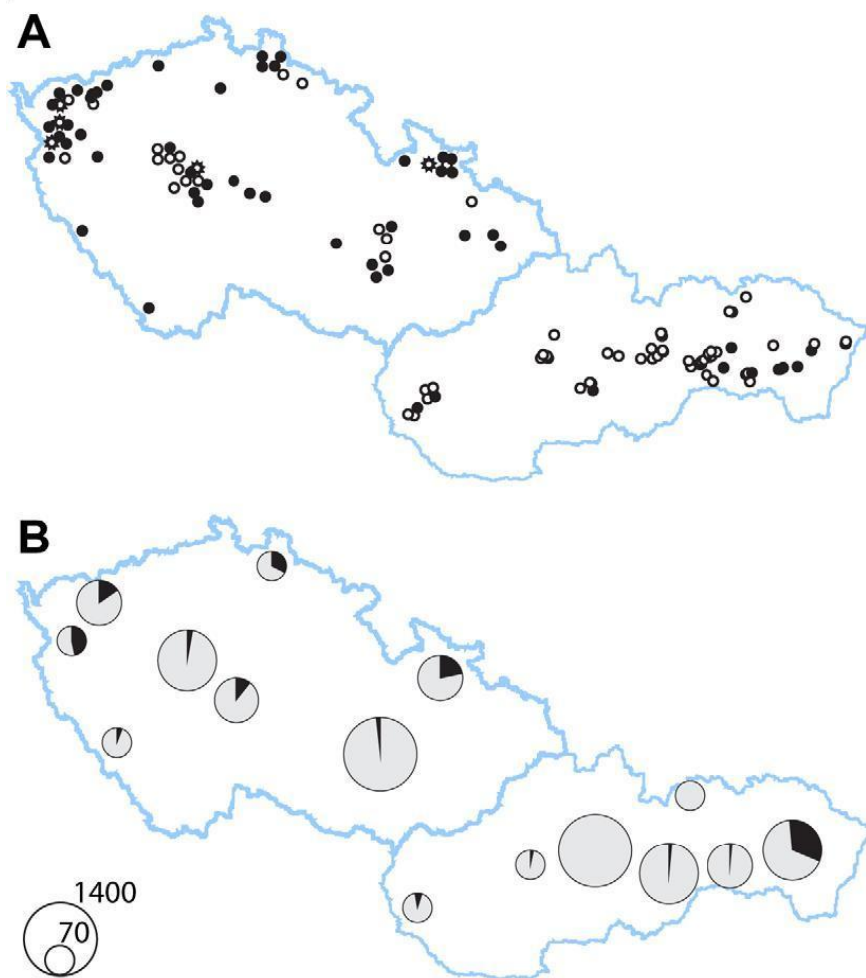
Obrázek 4 - Mapa:

Studie výskytu *Geomyces destructans* v Evropě, výskyt potvrzen (★, ☆), výskyt nepotvrzen (•, ■)

(Wibbelt et al., 2010)

Další studie v rámci Evropy se zabývala výskytem WNS v České republice a na Slovensku (Martínková et al., 2010; Šimonovičová et al.). Během zimy 2008 až 2009 byli netopýři podezřelí na nákazu WNS zaznamenáni v 7 lokalitách. Během zimy 2009 až 2010 byla nemoc zaznamenána v 33 lokalitách čítajících přes 800 hibernakul v České republice a na

Slovensku. Nejvíce podezřelých jedinců na WNS se řadilo k druhu *Myotis myotis* (netopýr velký), 375 zasažených, dále bylo zasaženo 19 jedinců *Myotis blythii* (netopýr východní), 2 jedinci *Myotis dasycneme* (netopýr pobřežní), 1 jedinec *Myotis bechsteinii* (netopýr velkouchý), 1 jedinec *Myotis mystacinus* (netopýr vousatý) a 1 jedinec *Myotis nattereri* (netopýr řasnatý). Vzorky získané z netopýrů byly kultivovány, mikroskopovány a podrobeny genetické analýze. Největší ohniska nákazy byla zaznamenána v podhorských oblastech a středních polohách, kde bylo zasaženo 11% až 100% jedinců *Myotis myotis*. Mnohem menší míra nákazy byla zjištěna v horských oblastech, na Šumavě 5 % a na Slovensku 0 % až 5 %, dále ve vápencových oblastech (Martínková et al., 2010) (viz Obr. 5).



Obrázek 5 - Výskyt *Geomyces destructans* v ČR a na Slovensku (Martínková et al., 2010):

- (A) Rozšíření WNS v jednotlivých lokalitách (některé body zahrnují více než 1 hibernakulum). Lokality, kde probíhalo sčítání 2009/2010 ( ° ), lokality podezřelé na WNS ( • ).
- (B) Míra rozšíření WNS na jedincích druhu *Myotis myotis* (velikost kruhu je poměrná k velikosti populace).

## 7.6 Rozdíly v rozšíření *Geomyces destructans*

Rozdílné strategie hibernace netopýrů mohou velice ovlivnit konečný dopad geomykózy na populaci (Martínková et al., 2010). V Severní Americe se shluky hibernujících netopýrů pohybují od 1000 až po 50000 jedinců v hibernakulu, zatímco v Evropě netopýři hibernují jednotlivě nebo v malých skupinách, což v Evropě způsobuje mnohem menší míru mortality (Martínková et al., 2010; Wibbelt et al., 2010). Pouze v severní části Německa v několika málo přírodních stanovištích byly pozorovány shluky s 13000 až 18000 jedinci (Wibbelt, 2010). Jedinci s WNS se v průběhu hibernace opakovaně probouzejí a dochází u nich ke zvýšení teploty. Uvnitř velkých shluků pak ruší a budí ostatní netopýry. V konečném důsledku má pak WNS fatální následky (Martínková et al., 2010).

Existuje hypotéza podporující myšlenku, že *Geomyces destructans* se dříve vyskytoval v Evropě než v Severní Americe (Martínková et al., 2010), proto jsou evropští netopýři vůči této houbě více imunologicky a behaviálně rezistentní (Wibbelt, 2010). Je pravděpodobné, že v Evropě proběhla koevoluce mezi netopýry a *Geomyces destructans*, WNS tak možná způsobil silný selekční tlak na strategii v hibernaci netopýrů, který mohl vést k upřednostnění hibernace v menších skupinách (Martínková et al., 2010).

## Závěr

Studium prací o diverzitě mikroskopických hub v jeskyních odhalilo, že tato problematika byla zkoumána na všech kontinentech, tedy na lokalitách lišících se jak geografickým umístěním, tak i konkrétními mikroklimatickými podmínkami.

Na šíři spektra zaznamenaných druhů hub může mít vliv zvolená metodika, tj. způsob a rozsah odběru, zpracování vzorků, kultivační metody, molekulární metody a analýza výsledků.

Mnoho druhů hub není tak často v jeskyních zaznamenáváno nebo jen ojediněle, může to být tím, že jeskyně jsou svými mikroklimatickými podmínkami pro ně okrajová nika nebo se jejich spory špatně šíří. Mezi mikroskopickými houbami jsou však i rody, které se vyskytovaly téměř všude, byly hojně nacházeny ve sedimentu, na exkrementech a v ovzduší, jako druhy rodu *Penicillium*, *Aspergillus* či druh *Geomyces pannorum*. Druhy rodu *Penicillium* a *Aspergillus* patří mezi nejběžnější saprotrofní houby s celosvětovým rozšířením. Druh *Geomyces pannorum* je psychrofilní houba, běžně se vyskytující v jeskyních.

Mezi nejčastěji zaznamenané houby v sedimentech jeskyní patří běžné půdní druhy jako *Mortierella*, *Acremonium*, *Oidiodendron*, *Trichoderma*, *Chaetomium* a *Fusarium*. Nejčastěji zjištěnými koprofilními houbami jsou druhy rodu *Mucor*, které jsou známé z exkrementů i v jiných typech lokalit. Obdobně je tomu i u hub nejčastěji zaznamenaných v ovzduší jeskyní: časté byly rody běžně známé z venkovního ovzduší, a to *Cladosporium*, *Alternaria*, *Penicillium* a *Aspergillus*. Nejčastěji zaznamenaným rodem na mrtvém hmyzu byl rod *Beauveria* či jeho teleomorfa *Cordyceps*, která je rovněž běžně známa jako typická entomopatogenní houba.

Některé z hub vyskytující se v prostředí jeskyní mohou být patogenní. Příkladem je houba *Geomyces destructans*, která způsobuje dermatofytní infekce na hibernujících netopýrech a vyvolává tak nemoc geomykózu (syndrom bílého nosu). Netopýři mají v průběhu hibernace nízkou tělesnou teplotu a utlumený imunitní systém, což je zřejmě základní předpoklad, aby psychrofilní houba napadla organismus netopýřů. Nemoc se dříve projevila v USA než v Evropě. V USA v současnosti způsobuje velké úhyny netopýřů, podmíněné především velkými shluky hibernujících netopýřů. Vědci se domnívají, že druh *Geomyces destructans* se v Evropě vyskytoval již dříve, a že tu již proběhla koevoluce mezi netopýřem a houbou, jejímž výsledkem je vyšší imunologická odolnost evropských netopýřů a změny v chování (hibernace v menších skupinách). To, že houba s nízkým teplotním optimem růstu a omezeným výskytem má takové patogenní účinky, je dáno souhrou pro ní vhodných okolností. Našla si vhodného hostitele - netopýře, kteří jsou v době hibernace velmi oslabeni vlivem poklesu imunitní funkce, což houbě poskytuje příhodné podmínky pro její existenci.

## 9. Seznam literatury

- Aley T. (2010): Management strategies for responding to white-nose syndrome in bats. - NSS News: 10–14
- Bastian F., Jurodo V., Nováková A., Alabouvette C., Saiz-Jimenez C. (2010): The microbiology of cave cricket *Troglophilus neglectus* cadavers. - Microbiology 156: 644–652
- Beguín H., Larcher G., Nolard N., Chabasse D. (2005): *Chrysosporium chiropterorum* sp. nov. isolated in France, resembling *Chrysosporium* state of *Ajellomyces capsulatus* (*Histoplasma capsulatum*). - Medical Mycology 43(2): 161-169
- Benoit J.B., Yoder J.A., Zettler L.W., Hobbs H.H. (2004): Mycoflora of troglonec cave cricket *Hadenocercus cumberlandicus* (Orthoptera : Rhabdiphoridae), from two small caves in Northeastern Kentucky. - Annals of the Entomological Society of America 97 (5): 989–993
- Blehert D.S., Hicks A.C., Behr M., Meteyer C.U., Berlowski-Zier B.M., et al. (2009): Bat white-nose syndrome: an emerging fungal pathogen?. - Science: 323: 227
- Borda C., Borda D. (2004-2005): Airborne microorganisms in show caves from Romania. - Trav. Inst. Spéol. "Émile Racovitza" 43 - 44: 65–73
- Bosák P. et al. (2001): Czech Republic. - In: Juberthie Ch., Decu V. (eds): Encyclopaedia Biospeleologica, Tom III, p. 1406-1426, Société de Biospeleologie, Moulis - Bucarest
- Calisher C.H., Childs J.E., Field H.E., Holmes K.V., Schountz T. (2006): Bats: Important reservoir hosts of emerging viruses. - Clinical Microbiology Reviews 19: 531-545
- Castle K.T., Cryan P.M. (2010): White-nose syndrome in bats: A primer for resource managers. - Park Science 27 (1): 20-25
- Chaturvedi V., Chaturvedi S. (2011): Editorial: What is in a name? A proposal to use Geomyces instead of White Nose Syndrome (WNS) to describe bat infection caused by *Geomyces destructans*. - Mycopathologia 171(4): 231-233
- Chaturvedi V., Springer D.J., Behr M.J., Ramani R., Li X., Peck M.K., Ren P., Bopp D.J., Wood B., Samson W.A., Butchkoski C.M., Hicks A.C., Stone W.B., Rudd R.J., Chaturvedi S. (2010): Morphological and molecular characterizations of psychrophilic fungus *Geomyces destructans* from New York bats with White nose syndrome (WNS). - Plos One 5: 1-12
- Courtin F., Stone W.B., Risatti G., Gilbert K., Van Kruiningen H.J. (2010): Pathologic findings and liver elements in hibernating bats with White-nose syndrome. - Veterinary Pathology 47(2): 214-219
- Cugnani H.C. (2000): Histoplasmosis in Africa: A Review. - The Indian Journal of Chest Diseases & Allied Sciences 42: 271-277
- Dexter Y., Cook R.C. (1984): Fatty-acids, sterols and carotenoids of the psychrophile *Mucor strictus* and some mesophilic *Mucor* species. - Transactions of the British Mycological Society 83: 455-461
- Docampo S., Trigo M.M., Recio M., Melgar M., García-Sánchez J., Cabezudo B. (2011): Fungal spore content of the atmosphere of the Cave of Nerja (southern Spain): Diversity and origin. - Science of the Total Environment 409: 835-843
- Domsch K.H., Gams W., Anderson T.-H. (2007): Compendium of soil fungi. - IHW Verlag, Eching
- Erkens K., Lademann M., Tintelnot K., Lafrenz M., Kaben U., Reisinger E.C. (2002): Histoplasmosis in a group of bat researchers returning from Cuba. - Deutsche medizinische Wochenschrift 127 (1/2): 21-25
- Fassatiová O. (1970): Micromycetes inhabiting the mines of Příbram (Czechoslovakia). - Česká Mykologie 24 (3): 162-165
- Gargas A., Trest M.T., Christensen M., Volk T.J., Blehert D.S. (2009): *Geomyces destructans* sp. nov. associated with bat white-nose syndrome. - Mycotaxon 108: 147-154
- Gounot A.-M. (1986): Psychrophilic and psychrotrophic microorganisms. - Experientia 42: 1192-1197
- Grinn-Gofrón A., Mika A. (2008): Selected airborne allergenic fungal spores and meteorological factors in Szczecin, Poland, 2004 - 2006. - Aerobiologia 24: 89-97
- Grishkan I., Nevo E., Wasser S.P. (2004): Micromycetes from the Saline Arubotaim Cave: Mount Sedom, The Dead Sea Southwestern Shore, Israel. - Journal of Arid Environments 57: 431-443

- Gunde-Cimerman N., Zalar P., Jeram S. (1998): Mycoflora of cave cricket *Troglophilus neglectus* cadavers. – Mycopathologia 141: 111-114
- Herrero A.D., Ruiz S.S., Bustillo M.G., Morales P.C. (2006): Study of airborne fungal spores in Madrid, Spain. - Aerobiologia 22: 135-142
- Hromas J. et al. (2009): Jeskyně In: Mackovčín P., Sedláček M.: Chráněná území ČR, svazek XIV. - Agentura ochrany přírody a krajiny ČR a EkoCentrum Brno, Praha
- Hsu M.J., Agoramoorthy G. (2001): Occurrence and diversity of thermophilous soil microfungi in forest and cave ecosystems of Taiwan. – Fungal Diversity 7: 27–33  
<http://www.botany.utoronto.ca/ResearchLabs/MallochLab/Malloch/Caves/Ramioul.html>
- Jorge A.J., Polizeli T.M., Thevelein J.M., Terenzi H.F. (1997): Trehaloses and trehalose hydrolysis in fungi. – FEMS Microbiology letters 154: 165-171
- Juberthie Ch. (1995): Underground habitats and their protection. - Council of Europe Press, Strasbourg
- Jurado V., Porca E., Cuezva S., Fernandez-Cortes A., Sanchez-Moral S., Saiz-Jimenez C. (2010): Fungal outbreak in a show cave. - Science of the Total Environment 408: 3632-3638
- Koilraj A.J., Marimuthu G., Natarajan K., Saravanan S., Maran P., Hsu M.J. (1999): Fungal diversity inside caves of Southern India. - Current Science 77: 1081-1083
- Kubátová A. a Dvořák L. (2005): Entomopathogenic fungi associated with insect hibernating in underground shelters. - Czech Mycology 57(3–4): 221–237
- Kubátová A., Prášil K., Váňová M. (2005): Půdní mikromycety v prostředí podzemního tunelu - předběžné výsledky. - In: Život v půdě p. 91-98
- Lagarde J. (1913): Biospeleologica, Champignons, Ser. 1. – Archives de Zoologie Expérimentale et Générale 53: 277-307
- Lagarde J. (1917): Biospeleologica, Champignons, Ser. 2. - Archives de Zoologie Expérimentale et Générale. 56: 279-314
- Lagarde J. (1922): Biospeleologica, Champignons, Ser. 3. - Archives de Zoologie Expérimentale et Générale 60: 593-695
- Lampo M., Feliciangeli M.D., Marquez L.M., Bastidas C., Lau P. (2000): A possible role of bats as a blood source for the *Leishmania* vector *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). - The American Society of Tropical Medicine and Hygiene 62: 718-719
- Larcher G., Bouchara J.P., Pailley P. (2003): Fungal biota associated with bats in Western France. - Journal de Mycologie Médicale: 13 (1): 29-34
- Lewis D.H., Smith D.C. (1967): Sugar alcohols (polyols) in fungi and green plants I. Distribution, physiology and metabolism. - New Phytologist 66: 143-184
- Lindner D.L. (2011): DNA-based detection of the fungal pathogen *Geomyces destructans* in soils from bat hibernacula. - Mycologia 103(2): 241-246
- Lorch J.M., Gargas A., Meteyer C.U., Berlowski-Zier B.M., Green D.E., Shearn-Bochsler V., Thomas N.J., Blehert D.S. (2010): Rapid polymerase chain reaction of white-nose syndrome in bats. - Journal of Veterinary Diagnostic Investigation 22: 224-230
- Lukešová A., Nováková A. (2007): Interactions between the soil micro-flora and invertebrates in Slovak and Moravian caves. - In: Contributions to Soil Zoology in Central Europe III. Tajovský K., Schlaghamerský K., Pižl V. (eds): 89-96
- Lyon G.M., Bravo A.V., Espino A., Lindsley M.D., Gutierrez R.E., Rodriguez I., Corella A., Caprillo F., McNeil M.M., Warnosk D.W., Hajjeh R.A. (2004): Histoplasmosis associated with exploring a bat-inhanted cave in Costa Rica, 1998 - 1999. - The American Society of Tropical Medicine and Hygiene 70(4): 438–442
- Malloch (1997): Fungi in the Ramioul cave  
<http://www.botany.utoronto.ca/ResearchLabs/MallochLab/Malloch/Caves/Ramioul.html>
- Martínková N., Bačkor P., Horáček I. et al. (2010): Increasing Incidence of *Geomyces destructans* Fungus in Bats from the Czech Republic and Slovakia. - Plos One 5 (11): 1-7
- Marvanová L., Kalousková V., Hanuláková D., Scháněl L. (1992): Microscopic fungi in the Zbrašov aragonite caves (Mikromycety Zbrašovských jeskyní). – Česká Mykologie 46(3–4): 243–250
- Matočec N., Ozimec R. (2001): Observations on *Cordyceps riverae* (Hypocreales, Ascomycota) in Croatian caves. - Natural Croat. 10(3): 197-206

- Meteyer C.U., Buckles E.L., Blehert D.S., Hicks A.C., Green D.E., et al. (2009): Histopathologic criteria to confirm white-nose syndrome in bats. - *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 21: 411-414
- Mosca A.M.L., Campanino F. (1962): Soil mycological analyses of natural caves in Piemontesi. - *Allionia* 8: 27-43
- Mueller G.M., Bills G.F., Foster S. (eds.) (2004): Biodiversity of fungi. Inventory and monitoring methods. - Elsevier Inc., Amsterdam etc.
- Nagai K., Suzuki K., Okada G. (1998): Studies on the distribution of alkalophilic and alkali-tolerant soil fungi II: Fungal flora in two limestone caves in Japan. - *Mycoscience* 39: 293-298
- Nieves-Rivera Á.M. (2003): Mycological survey of Río Camuy caves park, Puerto Rico. - *Journal of Cave and Karst Studies* 65(1): 23-28
- Nieves-Rivera Á.M., Santos-Flores E.J., Dugan F.M., Miller T.E. et al. (2009): Guanophilic fungi in three caves of southwestern Puerto Rico. - *International Journal of Speleology* 38(1): 61 - 70
- Nováková A. (2004a): Microscopic fungi in caves of the National Park Slovak Karst. - *Phytopedon* 3(1): 26-31
- Nováková A. (2004b): Saprotrófní mikroskopické houby v jeskyních Národného parku Slovenský kras. - In: Zborník referátov – Výskum, využívanie a ochrana jaskýň 4. vedecká konferencia s medzinárodnou účasťou p. 162-168
- Nováková A. (2006): Mikroskopické houby ve vybraných jeskyních České a Slovenské Republiky. - In: Šimonovičová A., Dlapa P., Mičuda R. (Eds.), *Život v pôdě VII*. p. 240-250
- Nováková A. (2008): Mikroskopické houby v jeskynných sedimentech a hieroglyfech - úvodní studie. - In: *Život v pôdě IX*. - zborník referátov z medzinárodného seminára p. 48-59
- Nováková A. (2009): Microscopic fungi isolated from the Domica Cave system (Slovak Karst National Park, Slovakia). A review. - *International Journal of Speleology* 38(1): 71-82
- Nováková A., Kolařík M. (2010): *Chrysosporium speluncarum*, a new species resembling *Ajellomyces capsulatus*, obtained from bat guano in caves of temperate Europe. - *Mycological Progress*: 253-260
- Orpurt P.A. (1964): The microfungus flora of bat cave soils from Eleuthera Island, the Bahamas. - *Canadian Journal of Botany* 42: 1629-1633
- Pepeljnjak S., Šegvic M. (2003): Occurrence of fungi in air and on plants in vegetation of different climatic regions in Croatia. - *Aerobiologia* 19: 11-19
- Poulson T. L., White W. B. (1969): The cave environment. - *Science* 165: 971-981
- Puechmaille S.J., Verdeyroux P., Fuller H., Gouilh M.A., Bekaert M, et al. (2010): White-nose syndrome fungus (*Geomyces destructans*) in bat, France. - *Emerging Infectious Diseases* 16: 290-293
- Reichard J.D., Kunz T.H. (2009): White-nose syndrome inflicts lasting injuries to the wings of little brown myotis (*Myotis lucifugus*). - *Acta Chiropterologica* 11(2): 457-464
- Rombach M.C., Samson R.A. (1983): Insektenschimmels uit Limburgse kalkgrotten. - *Natuurhistorisch Maandblad* 72(3): 45-49
- Rutherford J.M., Huang L.H. (1994): A study of fungi of remote sediments in west Virginia caves and a comparison with reported species in the literature. - *NSS Bulletin* 56: 38-45
- Samson R.A., Rombach M.C., Seifert K.A. (1984): *Hirsutella guignardii* and *Stilbella kervillei*, two troglotrophic entomogenous hyphomycetes. - *Persoonia* 12 (2): 123-134
- Sugita T., Kikuchi K., Makimura K., Urata K., Someya T., Kamei K., Niimi M., Uehara Y. (2005): *Trichosporon* Species Isolated from Guano Samples Obtained from Bat-Inhabited Caves in Japan. - *Applied And Environmental Microbiology* 71(11): 7626-7629
- Suzuki A., Kimura M., Kimura S., Shimada K., Miyaji M., Kaufman L. (1995): An outbreak of acute pulmonary histoplasmosis among travelers to a bat-inhabited cave in Brazil. - *Kansenshogaku Zasshi* 69 (4): 444-449
- Šimonovičová A., Godyová M., Ševc I. (2004): Airborne and soil microfungi as contaminants of stone in a hypogean cemetery. - *International Biodeterioration and Biodegradation* 54: 7-11
- Šimonovičová A., Chovanová K., Pangallo D., Lehotská B. (2011): *Geomyces destructans* associated with bat disease WNS detected in Slovakia. - *Biologia* 66(3): 562-564
- Taylor M.L., Chávez-Tapia C. B., Rojas-Martínez A., Reyes-Montes M. del R., Bobadilla del Valle M., Zúniga G. (2005): Geographical distribution of genetic polymorphism of the pathogen

- Histoplasma capsulatum* isolated from infected bats, captured in a central zone of Mexico. - FEMS Immunology and Medical Microbiology 45: 451–458
- Taylor M.L., Chávez-Tapia C. B., Vargas-Yanez, G. Rodríguez-Arellanes, Pena-Sanddoyal G. R., Toriello C., Pérez A., Reyes-Montes M. R. (1999): Environmental conditions favoring bat infection with *Histoplasma capsulatum* in Mexican shelters. - The American Society of Tropical Medicine and Hygiene 61(6): 914–919
- Trimarchi C.V., Debbie J.G. (1977): Naturally occurring rabies virus and neutralizing antibody in two species of insectivorous bats of New York State. - Journal of wildlife diseases 13: 336-369
- Ulloa M., Lappe P., Aguilar S., Park H., Pérez-Mejía A., Toriello C., Taylor M.L (2006): Contribution to the study of the mycobiota present in the natural habitats of *Histoplasma capsulatum*: an integrative study in Guerrero, Mexico. - Revista Mexicana de Biodiversidad 77: 153-168
- Vaughan M.J., Maier R.M., Pryor B.M. (2011): Fungal communities on speleothem surfaces in Kartchner Caverns, Arizona, USA. - International Journal of Speleology 40 (1): 65-77
- Volz P.A., Yao J.P. (1991): Micro-fungi of the Hendrie river water cave, Mackinac county, Michigan- NSS Bulletin 53: 104-106
- Wang W., Ma X., Ma Y. Mao L., Wu F., Ma X., An L., Feng H. (2010): Seasonal dynamics of airborne fungi in different caves of the Mogao Grottoes, Dunhuang, China. - International Biodeterioration & Biodegradation 64: 461-466
- Weinstein R.N., Montiel O.P., Johnstone K. (2000): Influence of growth temperature on lipid and soluble carbohydrate synthesis by fungi isolated from fillfield soil in the maritime Antarctic. - Mycologia 92(2): 222–229
- Wibbelt G., Kurth A., Hellmann D., Weishar M., Barlow A., Veith M., Pruger J., Gorfol T., Grosche L., Bontadina F., Zophel U., Seidl H.-P., Cryan P.M., Blehert D.S. (2010): White nose syndrome fungus (*Geomyces destructans*) in bats, Europe. - Emerging Infectious Diseases 16(8): 1237-1242
- Williams-Guillen K., Perfecto I., Vandermeer J. (2008): Bats limits insects in a neotropical agroforestry system. - Science 320: 70
- Zalar P., Hennebert G.L., Gunde-Cimerman N., Cimerman A. (1997): *Mucor troglophilus*, a new species from cave crickets. - Mycotaxon 65: 507–516